

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 etologiko eta biologikoa erakusten duten ugaztunak dira, genetikoki hoberen ezagutzen diren animalietako batzuk gainera, genomika konparatuari esker. Azkeneko honek hautespen positiboa noiz eman den ulertaraztea baimendu du kasu batzuetan. Primateetan, harrera sentsoari, 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 erabilita, ortologoak inferitu, espezie-zuhaitza eraiki, azkeneko honekin 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 eman dela ondorioztatu da (BRANCH eta BRANCH-SITES, $p < 0,05$). *ZP1* ugalketari lotutakoa dugu; *OR4D5* usaimenaren pertzepzioa baimentzen duen geneetako bat da; *GPR151* noizepziolari lotuta dago; *HTR1B* serotoninaren harreran parte hartzen du; eta *PPP1R3A* metabolismo energetikoarekin erlazionatzen da. Ikerketa honetan, gene hauetan detektatutako hautespen positiboaren seinaleak azaltzeko proposamen sentsudun bat bilatzen saiatu gara, modu esangarrian hautespenaren aldeko emaitzak eman dituzten espezie horietan. Etorrizunera begira, oso interesgarria litzateke analisisetarako 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: Hominoideak, 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 shew 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.

1

*Harremanetan jartzeko/ Corresponding author: Neskuts Izagirre Arribalzaga. Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalien Fisiologia Saila. Zientzia eta Teknologia Fakultatea. UPV/EHU. Leioa, Bizkaia.  neskuts.izagirre@ehu.eus

Nola aipatu / How to cite: Loidi, Iker; Alonso, Santos; Izagirre, Neskuts (2023). Hominoideoen analisi filogenomikoa: sei tximu espezetan hautespen positiboa detektatzeko azterketa, Ekaia, 47, xx-xx. (<https://doi.org/10.1387/ekaia.25152>).

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

ISSN 0214-9001-e-ISSN 2444-3225 / © 2024 UPV/EHU



Obra Creative Commons Atribución 4.0 Internacional-en lizentziapean 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 kontsideratu daitekeen ezaugarri deskribatzaile nabarmenik [2]. Beste modu batera esanda, animalia hauek ugaztun ororen arbaso amankomunaren ezaugarri ugari kontserbatu dituzte, berritasun ebolutibo gutxi batzuk garatzearekin batera [3]. Ustez, espezializazio nabarmen baten falta honek baimendu zuen primateak hego-hemisferioko kontinente guztietan zehar hedatzea [1].

Gizakiak, mundu zaharreko tximinoak, giboak eta Asiako zein Afrikako tximu antropomorfoak duela 28 milioi urte hasitako erradiazio-prozesu dibertso baten azkeneko ordezkariak dira, eta batera katarrinoen taldea osatzen dute [4]. Miozenoan zehar, egungo tximino antropomorfoen eta zerkopitekoideoen arbasoa-amankomunak bi leinu ezberdin emango zituen, egun hominoideo gisa ezagutzen ditugun espezieak itxuratzeko 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, 5 erpinetako gainazala duten atzeko hagin zabalak, burmuinaren garapen ikaragarria eta brakiazioa baimentzeko sorbaldaren antolakuntza anatomiko berezia erakusten dutenak [1].

Edozein organismoren eboluzioa aztertzeko, genomak konparatzea da metodorik eraginkor eta oparoenetariko bat. Izan ere, metodo honek leinu ezberdinen genomak sortutako berritasun ebolutiboak detektatzea baimentzen 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. 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 emandako aldaketak ulertzen lagun dezakete [6].

Azterketa genomikoek islatu bezala, primate ez-humanoeak gizakiak baino aldakortasun genetiko intraespezifikoa handiagoa erakusten dute, nahiz eta egungo tximino-populazioak ez izan gurea bezain handiak [6-8]. Espezie bakoitzak bere historia ebolutibo propioa erakutsi dezake, eta azpipopulazio bakoitzak, aldi berean, gertakari ezberdinak nozitu ahal izan ditu; hau da, primate espezie guztietan definitu 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 ematen diren mutazio hauek 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 handitu edo txikitzen duen mekanismo ebolutiboa da. Alelo bat kaltegarria suertatzen bada, orduan hautespenak alelo hori daramatzaten indibiduoak desagerraraziko ditu - bere 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 jasan dutela esan daiteke [10].

Azterketa askok erakutsitakoaren arabera, modu positiboan hautatu diren geneak ugariak dira primateen artean, eta hauek guztiek argi erakusten dute hautespen naturalaren zeregina, funtsezko suertatzen baitira organismoaren biziraupena eta, beraz, geneen transmisioa bermatzerako momentuan. Funtzioaren araberako lau kategoria ezberdinetan sailkatu daitezke positiboki hautatutako gene hauek [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 laboratu 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 ugari substantzia toxikoak elimintzera zuzenduta daude (toxinak elimintzera). 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 behararen atzean primateen beharizan 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, espeziaiorako 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 genetikoek eskainitako 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 eskainitako *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.

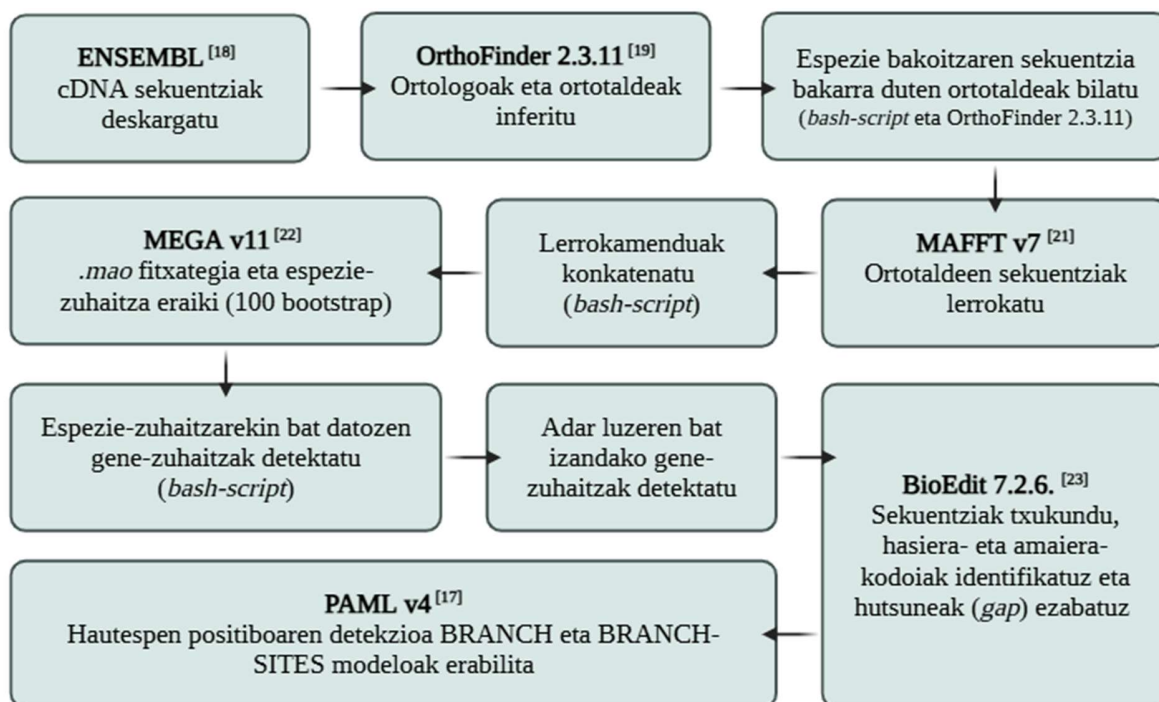
2. METODOLOGIA

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 lautadetako 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 bideratzeko ezin hobeagoak dira: jatorri bera dutenez gero, aitzindari amankomun bat dute, baina espeziarioak 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 honen adarren fidagarritasuna ebaluatzeko, 100 *bootstrap* bidezko birlaginketa egin zen. Balio hura 100etik zenbat eta hurbilago, handiagoa da adarraren fidagarritasuna, horrek adierazten baitu informazio genetikoak sendo babesten duela harreman filogenetiko hori.

Lortutako zuhaitza erreferentzia gisa 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 gene hauetatik interesekoak zirenak hartu ziren bakarrik, eta horretarako espezie baterako adar luze bat aurkezten zuten horiek hautatu ziren. Izan ere, adar luze baten presentziak espezie horrek besteekiko distantzia genetiko 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] erabilita bideratu zen hautespen positiboaren detekzioa (1. irudia). PAML-ko CodeML programa erabilita, ordezkapen sinonimo eta ez-sinonimoen arteko erratioa ($\omega = \text{dn/ds}$) 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 (H_0 , ez dago hautespenik; $\omega < 1$) eta hipotesi alternatibo (H_1 , hautespena ematen da; $\omega > 1$) bana 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 ($\ln L$) erabilita, *log-likelihood ratio* testa (LRT) aplikatu zen jarraian. Modelo bakoitzarentzat planteatutako hipotesi bakoitzaren bi probabilitateak konparatzen ditu metodo honek, oinarritzko formula honi jarraituta:

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

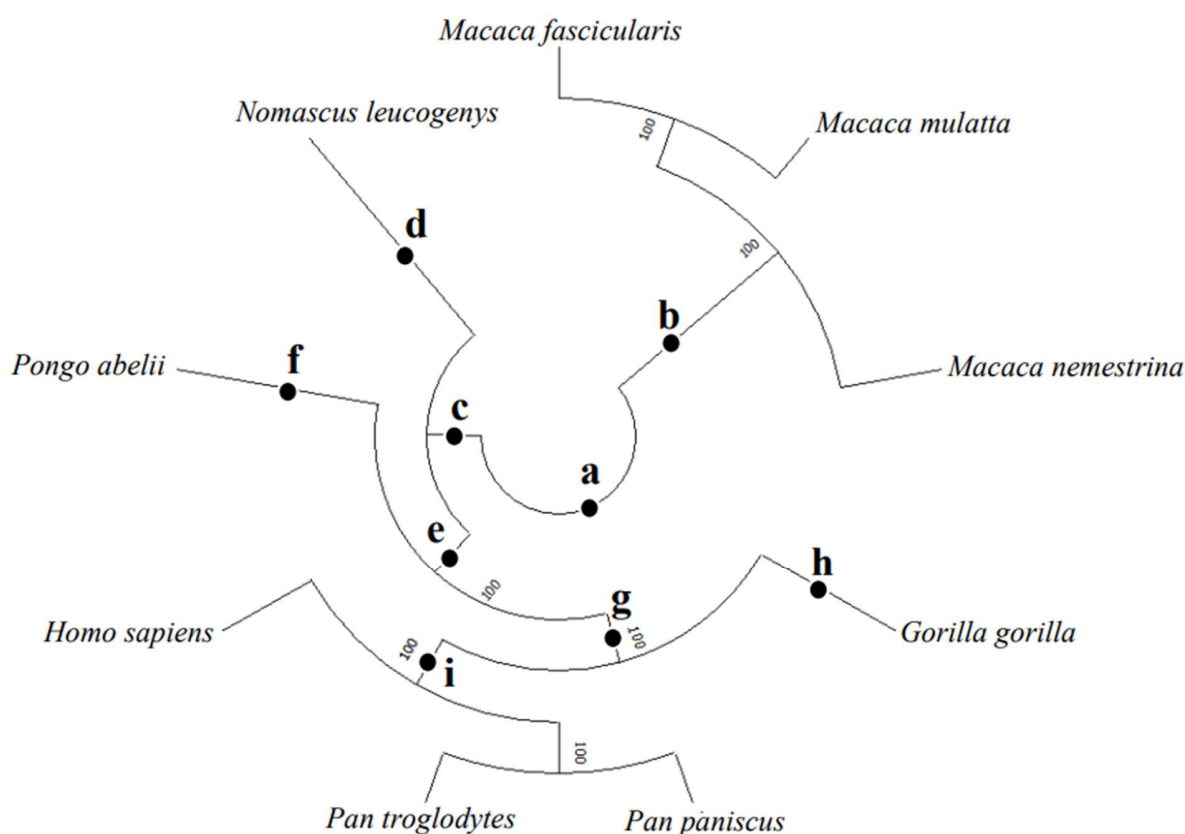
Ondoren, LRT delakoaren p balioa estimatu zen, χ^2 testa erabilita. Hori horrela, $p < 0,05$ izatekotan, H_0 errefusatu zen eta, ondorioz, hautatutako adarren ω balioa 1 baino handiagoa suertatzen zen esangarriki. Halakorik gertatzekotan, espezie horren gene horretan hautespen positiboa gertatu izan dela ondorioztatu zen, 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-a ortotalde bateren batean sailkatu zen; %10,4-a 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

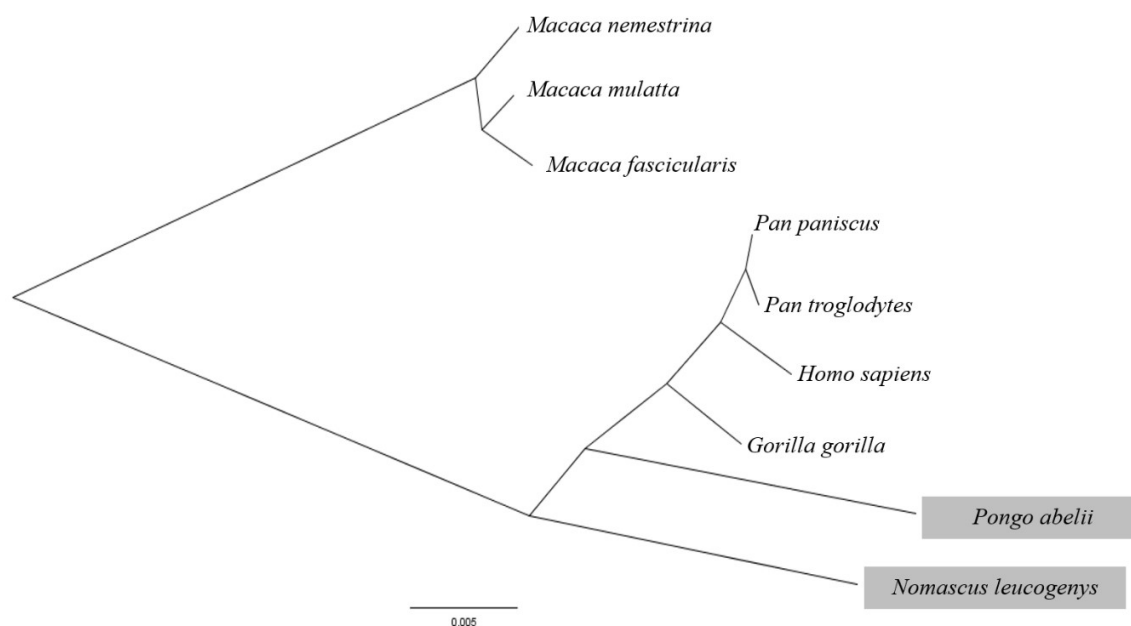
haien artean lerrokatu ondoren, 9 espezieak batzen zituen espezie-zuhaitz filogenetikoa eraikitzea lortu zen, adarrek 100eko *bootstrap* balioa erakutsita (2. irudia).

Espezie-zuhaitza eraikitzeko 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 zeukatenak) ziren 5 aurkitu ziren (i.e., 3. irudia). Gene-zuhaitzen adarren luzera espezieen arteko distantzia genetikoko proportzionala da. Horrela, besteak baino luzeagoa den adarraren bat erakusten duen zuhaitzak gene horretarako espezie batek desberdintasun genetikoa handiagoak dituela adierazten du eta, beraz, nolabaiteko hautespena gertatu izanaren seinaleztat interpretatu daiteke.



2. irudia. Espezie-zuhaitz filogenetikoa, *Maximum Likelihood* metodoa erabilita. Gure datuetan oinarritutako espezie-zuhaitz honek hominoideoen filogeniarako proposatutako zuhaitzarekin bat egiten du.

Ondo bereizten dira talde monofiletikotzat har daitezkeen taxoiak: **a)** *Catarrhini* infraordena; **b)** *Cercopithecoidea* superfamilia (*outgroup*); **c)** *Hominoidea* superfamilia; **d)** *Hylobatidae* familia; **e)** *Hominidae* familia; **f)** *Ponginae* azpifamilia; **g)** *Homininae* azpifamilia; **h)** *Gorillini* tribua; **i)** *Hominini* tribua. Adarren esangarritasuna *bootstrap* balio altuek frogatu zuten (100 adar guztietan).



3. irudia. 17924. ortotaldearen gene-zuhaitza; *PPP1R3A* genea. Gene-zuhaitz honetarako, intereseko bi adar ikus ditzakegu grisez markatuta. Bi adar horien luzerak adieraziko luke bi espezie horiek genetikoki gainerakoetatik urrunago egon daitezkeela, gene horri dagokionez behintzat. Hau da, gene honentzat, espezie hauek besteekiko distantzia genetiko handiagoa garatu ahal izan dute, adibidez, hautespen naturalak faboratu ahal izan dituen mutazioak gertatu direlako.

UCSC Genome Browser datu-basea erabilia, gene hauen izaera ondorioztatu zen: metabolismoari lotutako *PPP1R3A* genea (proteina fosfatasaren 1 entzimaren 3A azpiunitate erregulazaila), ugalketarekin erlazionatutako *ZP1* genea (zona pellucida-ko esperma-atxikipenerako 1 proteina), eta harrera sentsorialarekin zerikusia duten *GPR151* (G-proteinara atxikitutako 151 hartzailea), *OR4D5* (4D5 usain-hartzailea), eta *HTR1B* (5-hidroxitriptamina 1B hartzailea) geneak.

Adar zehatz batean hautespen positiboa eman den detektatzeko balio duen BRANCH analisiren kasuan, gene guztietan hautespen positiboaren aldeko seinaleak identifikatu ziren adar batean behintzat: *Nomascus leucogenys* espeziearen adarrean *PPP1R3A* ($df=1$; $p=0,0023^{**}$) eta *HTR1B* ($df=1$; $p=0,0027^{**}$) genetarako, *Pan paniscus* eta *Gorilla gorilla* espezieen adarretan *ZP1* 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* ($df=1$; $p=0,0194^*$) genetarako. Adar zehatz bateko leku zehatz batean hautespena detektatzeko erabili zen BRANCH-SITES analisiak, ordea, *Gorilla gorilla* espeziearen adarraren leku batean baino ez zuen hautespenaren seinalea detektatu, *OR4D5* generako ($df=1$; $p=0,0191^*$). Leku hura

130. nukleotidoa suertatu zen, $p=0,89$ probabilitatearekin; hau da, %89-eko ziurtasunarekin, leku horrek nolabaiteko hautespena nozitu duela ondoriozta daiteke (1. Taula).

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

GENEA	Especiea	BRANCH		BRANCH-SITES	
		2ΔL	p- balioa	2ΔL	p- balioa
GPR151	<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
OR4D5	<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
HTR1B	<i>Nomascus</i>	9,0319	0,0027**	0,0000	1,0000
	<i>Pongo</i>	1,4741	0,2247	0,3940	0,5302
	<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
PP1R3A	<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
ZP1	<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 lagunek [12], gainera, gu 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 honek obuluen zona pellucida (ZP) izeneko glikokaliza egituratzen duten proteinetako bat kodetzen du, eta egitura hura obulua babestu eta ernalketa erregulatzeaz arduratzen da [25]. BRANCH modeloan oinarrituta, bi izan ziren gene honetan hautespen positiboak erakutsitako espezieak: bonoboa (*P. paniscus*) eta mendebaldeko lautadetako gorila (*G. gorilla*).

Bonoboa txinpantzearen (*P. troglodytes*) ahaiderik 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 iparraldeko lurraldetan paratuta dauden sozietate patriarkal eta agresiboak ezartzen dituzten bitartean [26]. Ezberdintasun etologiko horren atzean autodomestikazio prozesu bat legoke [27]. Bonoboen aitzindariak Kongo ibaia hegoaldera zeharkatu zutenean, baliabideen eskuragarritasun handiagoa lortu zuten, bertan txinpantzeekin lehian dauden espezie asko falta direlako (adb. gorilak). Hori horrela, bonoboen arbasoek askoz ere maiztasun txikiagoz sortu behar zituzten txinpantzeen generoan hain arruntak diren fisio-fusio taldeak [27]. Talde hauek populazio handi baten noizbehinkako 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 handiago eta egonkorragoak sortzen hasi ziren [28]. Egonkortasun horrek emeen arteko erlazioak indartzen hastea eragin zuen, denbora gehiago 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, autodomestikazioa emanez. Hare eta 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 aliantza sendo eta luzeagoei esker. Gure ustez, *ZPI* genean ikusitako hautespenaren seinaleak obulazio aldaketa honekin 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 emandako mutazioek obulazio-aldaketak sor ditzakete.

Goriletan ez da autodomestikaziorik ikusi; beraz, aurreko azalpenak ez du zentsurik. Interpretazio bat ernalketa espezifikoarekin lotuta egon zitekeen. Egun existitzen diren bi gorila espezieen arbasoak duela 1,75 miloi urte inguru banatu ziren, baina duela 500 mila urteko bien arteko gene-fluxuaren seinaleak behatu dira bi espezieen genoman [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, *ZP1* genean mutazio ez-sinonimoak faboratu ahal izan ziren. Ez dago argi, ordea, guk hemen proposatutakoa posiblea den. Izan ere, *ZP1* ez da zuzenean lotzen ernalketaren espezifikotasunarekin [31], eta ikerketa honetan ez dira bestelako gorila-espezieak ikertu.

Harrera sensorialari dagokionez, GPCR familiako hiru gene ezberdinetan detektatu zen hautespen naturala. Lehenengoa, *OR4D5* genea dugu. BRANCH modeloa erabilita, gene honetan hautespen positiboaren seinaleak identifikatu ziren Sumatrako orangutanaren (*P. abelii*) adarrean. Usaimenaren pertzepzioa baimentzen duten hartzailetako 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 honekin bat datoz ere; izan ere, bi generoak (*Pongo* eta *Citrus*) Miozeno-Pleistozenoan zehar sortu eta hedatu ziren Asia hego-ekialdeko gune kontinental eta intsularretik [33-36]. Interpretazio honek, gainera, Trimmer eta lagunek [37] adierazitakoarekin bat egiten du, gizakietan limonenoaren pertzepzioari lotutako fenotipoa sustatzen duelako gene honek. posiblea 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 ahal zaiela 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 honek hautespen positiboaren aldeko seinaleak eman zituen iparraldeko papo-txuridun giboien (*N. leucogenys*) adarrean. Serotonina-sisteman parte hartzen duen 5-HT1B hartzailea kodetzeaz arduratzen da gene hau

[39]. Mutazio ez-sinonimoen nagusitasun hau 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 monopolizatzeko agresibitate handia garatzera bultzatzen ditu [41]. Proposatutako hipotesi honen alde egiten dute zenbait ikerketek; izan ere, gene hau inhibitzen denean, gizaki eta saguen agresibitate-maila emendatu egiten da, eta polimorfismo batzuek banakoan promiskuitatea murrizten laguntzen dute [39,42-44]. Garrantzitsua da azpimarratzea, gainera, gene honetan ematen diren aldaketek arretan soilik dutela eragina [45].

Azkenik, *GPR151* izan zen hautespen positiboa nozitu izanaren seinaleak emandako harrera sensorialari lotutako azkeneko genea. BRANCH modeloan, Sumatrako orangutanak erakutsi zituen hautespen naturalaren aldeko seinaleak. Hau dugu gure hipotesia: orangutanetan, nozizepsioa (minaren pertzepzio kontzientea) murrizteko mutazioak faboratu ahal izan dira gene honen kasuan, euren bizimodu zuhaitzarraren eta pisu handiaren ondorioz maiz nozitzen dituzten haustura oseoen sendaketa-prozesuak hain estresagarri ez suertatzeko. Gene honen funtzioa nahiko ezezaguna izaten jarraitzen du, baina gure hipotesia Xia eta 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 antropomorforenak baino haustura-seinale gehiago dituzte; hau da, orangutanetan hezurak maizago apurtzen dira [47, 48]. Honen arrazoia euren bizimodua litzateke: zuhaitzarrak diren tximu antropomorfo bakarrak dira, pisu nabarmena dutenak. Ondorioz, erorketak maiztasun handiz pairatzen dituzte. Gerta liteke min gutxiago detektatzeko gaitasun hau 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 fosfatasa-1 (PP1) entzimara batzen dena; konplexu hau gluzemia maila emendatzean aktibatzen da, muskuluetan glukogenogenesisia abiaraziz [49]. BRANCH modeloan, giboia erakutsi zuen hautespen positiboa gene honetarako. Gure interpretazioa hauxe litzateke: brakiazioak eta bizimodu zuhaitzarrak hilobatidoak lirainak izatea bultzatuko zuten agian, gene honen

gain-adierazpena ekarritako mutazioak faboratuz. Hori horrela, bi lorpen izango zituzten primate hauek: energia muskular ugaria (glukogeno asko) eta pisu txikia (gantz gutxi). Honek bat egiten du Delibegovic eta lagunek [50] ikusitakoarekin, gene honen inhibizioak arratoien pisua eta gantz-edukia emendatzea ekartzen baitu, glukosa lipido bilakatzen delako glukogeno baino. Savage eta lagunek [51] ikusi zuten, gainera, gene honetan eman daitekeen FS mutazioak gizaki 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 zuhaitzarrak gantz-edukia murriztera bultzatu ditu espezie asko [53].

Gure analisisian ez da immunologiarekin erlazionatutako generik detektatu. Arrazoa espezie-zuhaitz eta gene-zuhaitzen arteko desadostasunean egon zitekeen, 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. Halan, etorkizunera begira, ikerketan baztertu diren geneak (bai desadostasuna dela medio zein 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 molekularra eta jokabidearen arteko erlazioa sendotu ahal izateko, azterketa etologiko gehiago beharko lirateke.

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: emergin 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., R. 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 linages 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]. RIJKSEN, 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 Aggression, 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 Chemistr*, **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.