

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Andrej ZUPAN

GENETSKA STRUKTURA SLOVENCEV, KOT JO  
RAZKRIVAJO POLIMORFIZMI KROMOSOMA Y IN  
MITOHONDRIJSKE DNA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Ljubljana 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA

Andrej ZUPAN

**GENETSKA STRUKTURA SLOVENCEV, KOT JO RAZKRIVAJO  
POLIMORFIZMI KROMOSOMA Y IN MITOHONDRIJSKE DNA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

**GENETIC STRUCTURE OF SLOVENIANS AS REVEALED BY  
CHROMOSOME Y AND MITOCHONDRIAL DNA POLYMORPHISMS**

DOCTORAL DISSERTATION

Ljubljana 2014

Doktorska disertacija je zaključek podiplomskega študija bioloških in biotehniških znanosti s področja genetike na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani. Raziskovalno delo je bilo opravljeno na Oddelku za molekularno genetiko Inštituta za patologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani.

Na podlagi Statuta Univerze v Ljubljani ter po sklepu Senata Biotehniške fakultete in sklepa Senata Univerze z dne 7.12.2011 je bilo potrjeno, da kandidat izpolnjuje pogoje za neposreden prehod na doktorski Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti ter opravljanje doktorata znanosti s področja genetike. Za mentorja je bil imenovan prof. dr. Damjan Glavač.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Peter Dovč

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Damjan Glavač

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za patologijo, Oddelek za molekularno genetiko

Član: prof. dr. Jože Balažic

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za sodno medicino

Datum zagovora: 4. marec 2014

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisani se strinjam z objavo svoje naloge v polnem besedilu na spletni strani digitalne knjižnice Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddal v elektronski obliki, identična tiskani različici.

Andrej Zupan

### KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI)

**ŠD** Dd  
**DK** UDK 575.17(043.3)=163.6  
**KG** slovenska populacija/mtDNA/kromosom Y/NRY/populacijska genetika/genetski označevalci/polimorfizmi/mikrosateliti/STR/haploskupina/haplotip/bialelni označevalci/ HRM/PCA/MDS/mrežna analiza  
**AV** ZUPAN, Andrej, univ. dipl. biokem.  
**SA** GLAVAČ, Damjan (mentor)  
**KZ** SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
**ZA** Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Podiplomski študij bioloških in biotehniških znanosti, področje genetike  
**LI** 2014  
**IN** GENTSKA STRUKTURA SLOVENCEV, KOT JO RAZKRIVAJO POLIMORFIZMI KROMOSOMA Y IN MITOHONDRIJSKE DNA  
**TD** Doktorska disertacija  
**OP** XIII, 109 str., 23 pregl., 24 sl., 4 pril., 184 vir.  
**IJ** sl  
**JI** sl/en  
**AI** Z namenom določitve slovenskega genetskega nabora na osnovi polimorfizmov kromosoma Y in mitohondrijske DNA na mikrogeografski ravni in z namenom primerjave slovenske populacije kot celote z drugimi sosednjimi populacijami smo analizirali 42 bialelnih označevalcev kromosoma Y in 17 mikrosatelitnih tandemskih ponovitev pri 399 posameznikih ter HVR-I, HVR-II in polimorfizme v kodirajočem delu mtDNA pri 402 posameznikih iz petih slovenskih pokrajin (Primorska, Dolenjska, Gorenjska, Štajerska in Prekmurje). Analiza kromosoma Y je razkrila 29 različnih haploskupin pri slovenski populaciji, z najpogostejšimi R1a1a, R1b, I2a1 in I1. Analiza genetskih razmerij med slovensko in sosednjimi populacijami na osnovi kromosoma Y je razkrila pomembne genetske povezave slovenskega genetskega nabora z zahodnoslovanskimi populacijami, kar nakazuje obstoj skupne prednike populacije na območju Srednje Evrope in (ali) intenziven pretok genov. Analiza mtDNA je razkrila 47 haploskupin in podhaploskupin, z najpogostejšimi H\*, H1\*, J1c, T2 in U5a. Intrapopulacijska primerjava je razkrila frekvenčni gradient haploskupine J1c med slovenskimi populacijami, s frekvenčnim maksimumom 24,5 odstotka pri primorski populaciji. Visoka frekvenca haploskupine J1c pri primorski populaciji bi lahko pomenila genetsko sled zgodnje neolitske širitve vzdolž obale vzhodnega Jadranskega morja, kar je v skladu z arheološkim horizontom, znanim kot kultura impresso. Interpopulacijska analiza na osnovi mtDNA je razkrila genetske povezave s slovaško populacijo, kar nakazuje skupnega prednika in (ali) pretok genov med obema populacijama. Rezultati nakazujejo morebiten vpliv zgodnjega neolitskega genetskega prispevka na sodobno slovensko populacijo in na pomembnost regionalnega vzorčenja v genetskih populacijskih študijah.

### KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD)

**DN** Dd  
**DC** UDC 575.17(043.3)=163.6  
**CX** Slovenian population/mtDNA/chromosome Y/NRY/population genetics/genetic marker/polymorphism/microsatellites/STR/haplogroup/haplotype/biallelic marker/HRM/PCA/MDS/network analysis  
**AU** ZUPAN, Andrej  
**AA** GLAVAC, Damjan (supervisor)  
**PP** SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101  
**PB** University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Postgraduate study of biological and Biotechnical Sciences, field of genetics  
**PY** 2014  
**TI** GENETIC STRUCTURE OF SLOVENIANS AS REVEALED BY CHROMOSOME Y AND MITOCHONDRIAL DNA POLYMORPHISMS  
**DT** Doctoral Dissertation  
**NO** XIII, 109 p., 23 tab., 24 fig., 4 ann., 184 ref.  
**LA** sl  
**AL** sl/en  
**AB** In order to characterize the Slovenian maternal and paternal gene pool at micro-geographic level and to compare it with surrounding populations, we analyzed in this study 42 Y-chromosome biallelic markers and 17 microsatellite repeats in 399 individuals and HVR-I, HVR-II and coding region polymorphisms in 402 individuals, from five Slovenian regions. The analysis of Y-chromosome markers revealed 29 different haplogroups in the Slovenian population, with the most common being R1a1a, R1b, I2a1 and I1. Analysis of the genetic affiliations on the basis of Y-chromosome between different populations revealed strong affiliations of the Slovenian gene pool with West Slavic populations. The homogenous genetic strata of the West Slavic populations and the Slovenian population suggest the existence of a common ancestral Slavic population or/and gene flow. The analysis of mtDNA markers revealed 47 haplogroups and subhaplogroups, with the most common being H\*, H1, J1c, T2 and U5a. The intra-population comparison revealed a gradient of J1c haplogroup between different Slovenian populations, with the peak frequency of 24.5 % in the population of Littoral Region. The high frequency of J1c haplogroup among the population of Littoral Region could represent the genetic trace of the early Neolithic expansion along the East Adriatic coastal region, which is in line with the archaeological horizon known as an Impressed Ware culture, whose findings are characteristic for Slovenian Littoral Region. The inter-population analysis of Slovenian population as whole revealed affiliations of the Slovenian gene pool with the Slovak population, suggesting a common ancestry or significant gene flow between the two countries, which is concordance with the common Slavic ancestry. These results outline not only the possible impact of early Neolithic genetic input on a modern Slovenian genetic structure, but also an importance of regional sampling strategy.

## KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA (KDI) .....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION (KWD) .....	IV
KAZALO VSEBINE .....	V
KAZALO PREGLEDNIC .....	VII
KAZALO SLIK .....	VIII
KAZALO PRILOG .....	IX
SEZNAM OKRAJŠAV .....	X
SLOVARČEK .....	XI
<b>1 UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1 OPREDELITEV PROBLEMA .....	1
1.2 NAMEN RAZISKAVE .....	1
1.3 RAZISKOVALNE HIPOTEZE .....	3
<b>2 PREGLED OBJAV .....</b>	<b>4</b>
2.1 GENETSKI OZNAČEVALCI IN NJIHOVA UPORABA V POPULACIJSKIH ŠTUDIJAH .....	4
<b>2.1.1 Pregled genetskih označevalcev .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.2 Kromosom Y .....</b>	<b>5</b>
2.1.2.1 Struktura in evolucija kromosoma Y .....	5
2.1.2.2 Označevalci kromosoma Y .....	8
2.1.2.3 Filogenija haploskupin kromosoma Y .....	9
<b>2.1.3 Mitohondrijska DNA (mtDNA) .....</b>	<b>14</b>
2.1.3.1 Struktura in funkcija mtDNA .....	14
2.1.3.2 Filogenija haploskupin mtDNA .....	16
2.2 POPULACIJSKA ZGODOVINA EVROPSKEGA PROSTORA V KONTEKSTU GENETSKE VARIACIJE .....	19
<b>3 MATERIALI IN METODE .....</b>	<b>26</b>
3.1 VZORCI IN IZOLACIJA DNA .....	26
3.2 POMNOŽEVANJE DNA IN GENOTIPIZACIJA .....	28
<b>3.2.1 Bialelni označevalci kromosoma Y .....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.2 Mikrosatelitni označevalci kromosoma Y .....</b>	<b>29</b>
<b>3.2.3 Analiza mtDNA .....</b>	<b>32</b>
3.3 STATISTIČNA ANALIZA .....	35
<b>3.3.1 Analiza genetske diferenciacije med populacijami in AMOVA .....</b>	<b>35</b>
<b>3.3.2 Večrazsežno lestvičenje in rekonstrukcija filogenetskega drevesa .....</b>	<b>35</b>
<b>3.3.3 Analiza genetskih pregrad .....</b>	<b>36</b>
<b>3.3.4 Analiza glavnih komponent (PCA) .....</b>	<b>36</b>

<b>3.3.5</b>	<b>Mrežna analiza haplotipov kromosoma Y in mtDNA .....</b>	<b>36</b>
<b>3.3.6</b>	<b>Uporaba računalniških programov pri statističnih analizah .....</b>	<b>36</b>
<b>4</b>	<b>REZULTATI .....</b>	<b>38</b>
4.1	INCIDENCA IN RAZNOLIKOST BIALELNIH OZNAČEVALCEV	
	KROMOSOMA Y.....	38
4.1.1	Porazdelitev haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y pri slovenski populaciji in primerjava z nekaterimi evropskimi populacijami .....	38
4.1.2	Genetske razdalje med slovensko in nekaterimi evropskimi populacijami na podlagi bialelnih označevalcev kromosoma Y .....	43
4.1.3	Analiza genetskih pregrad .....	46
4.2	RAZNOLIKOST MIKROSATELITNIH OZNAČEVALCEV KROMOSOMA Y..	48
4.2.1	Porazdelitev mikrosatelitnih haplotipov in genetska raznolikost.....	48
4.2.2	Genetska razmerja med posameznimi populacijami .....	52
4.2.3	Analiza molekularne variance (AMOVA) .....	52
4.2.4	Ocena starosti najpogostejših haploskupin pri slovenski populaciji.....	53
4.2.5	Mikrosatelitna raznovrstnost znotraj posameznih haploskupin .....	59
4.3	INCIDENCA IN RAZNOLIKOST MITOHONDIJSKIH OZNAČEVALCEV....	69
4.3.1	Porazdelitev haploskupin mitohondrijskih označevalcev pri slovenski populaciji.....	69
4.3.2	Genetske razdalje med slovensko in nekaterimi evropskimi populacijami na podlagi označevalcev mtDNA.....	72
4.3.3	Haplotipi mtDNA pri slovenski populaciji in primerjava z nekaterimi evropskimi populacijami .....	77
5	RAZPRAVA.....	85
5.1	POLIMORFIZMI KROMOSOMA Y .....	85
5.2	POLIMORFIZMI mtDNA .....	88
6	SKLEPI .....	92
7	POVZETEK (SUMMARY).....	93
7.1	POVZETEK .....	93
7.2	SUMMARY .....	94
8	VIRI .....	95

## ZAHVALA

## PRILOGE

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Nukleotidna zaporedja začetnih oligonukleotidov NRY, dolžina produktov PCR in temperatura pripajanja ( $T_A$ ).....	30
Preglednica 2: Nukleotidna zaporedja začetnih oligonukleotidov mtDNA, dolžina produktov PCR in temperatura pripajanja ( $T_A$ ).....	33
Preglednica 3: Polimorfna mesta, ki so značilna za haploskupine mtDNA in metode detekcije .....	34
Preglednica 4: Frekvence haploskupin kromosoma Y (%) in raznolikost haploskupin v petih slovenskih pokrajinah .....	40
Preglednica 5: Frekvence haploskupin kromosoma Y (%) pri slovenski populaciji in nekaterih evropskih populacijah.....	41
Preglednica 6: $F_{st}$ -vrednosti haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y .....	45
Preglednica 7: Statistika haplotipov Y-STR, kot jih definira sedemnajst označevalcev STR kromosoma Y pri slovenski populaciji .....	49
Preglednica 8: Število haplotipov, skupnih med posameznimi slovenskimi pokrajinami, na osnovi sedemnajstih mikrosatelitnih označevalcev .....	49
Preglednica 9: Statistika haplotipov Y-STR, kot jih definira devet STR označevalcev kromosoma Y, pri slovenski in nekaterih evropskih populacijah .....	50
Preglednica 10: Statistika haplotipov Y-STR, kot jih definira devet STR označevalcev kromosoma Y, pri slovenski in nekaterih evropskih populacijah .....	51
Preglednica 11: $R_{st}$ -vrednosti devetih mikrosatelitnih označevalcev kromosoma Y med slovenskimi pokrajinami in nekaterimi evropskimi populacijami .....	54
Preglednica 12: $R_{st}$ -vrednosti devetih mikrosatelitnih označevalcev kromosoma Y med proučevanimi populacijami .....	55
Preglednica 13: Rezultati analize AMOVA na osnovi devetih mikrosatelitnih označevalcev. ....	58
Preglednica 14: Izračun starosti glavnih haploskupin glede na Zhivotovsky in sod. (2004).....	58
Preglednica 15: Mikrosatelitna raznovrstnost haploskupine R1a1 na podlagi sedmih mikrosatelitnih označevalcev .....	61
Preglednica 16: Mikrosatelitna raznovrstnost haploskupine R1b na podlagi sedmih mikrosatelitnih označevalcev .....	62
Preglednica 17: Mikrosatelitna raznovrstnost haploskupine I2a1 na podlagi sedmih mikrosatelitnih označevalcev .....	62
Preglednica 18: Frekvence haploskupin mtDNA (%) in raznolikost haploskupin v petih slovenskih pokrajinah.....	71
Preglednica 19: Frekvence haploskupin mtDNA (%) pri slovenski in nekaterih evropskih populacijah.....	73
Preglednica 20: $F_{st}$ -vrednosti haploskupin označevalcev mtDNA .....	74
Preglednica 21: Število haplotipov, skupnih med posameznimi slovenskimi pokrajinami, na osnovi regij HVRI in HVRII mtDNA.....	78
Preglednica 22: Statistika haplotipov mtDNA pri slovenski in nekaterih evropskih populacijah , kot jih definirajo polimorfizmi regij HVR-I in HVR-II.....	80
Preglednica 23: $F_{st}$ -vrednosti haplotipov označevalcev mtDNA .....	81

## KAZALO SLIK

Slika 1: Nerekombinantna regija kromosoma Y (Skaletsky in sod., 2003) .....	7
Slika 2: Poenostavljeni filogenetski drevo haploskupin kromosoma Y (McDonald ..., 2013).....	11
Slika 3: Haploskupine kromosoma Y v različnih predelih sveta (McDonald ..., 2013).....	12
Slika 4: Haploskupine kromosoma Y v različnih predelih Evrope (McDonald ..., 2013) .....	13
Slika 5: Shematska predstavitev mtDNA, skupaj z nekaterimi SNP v regiji HVR-II D-zanke ter z nekaterimi značilnimi SNP, ki definirajo devet najpogostejših evropskih mtDNA haploskupin (Blanco et al., 2011) .....	15
Slika 6: Poenostavljeni filogenetski drevo haplosk upin mtDNA (McDonald ..., 2013) .....	17
Slika 7: Haploskupine mtDNA v različnih predelih sveta (McDonald ..., 2013).....	18
Slika 8: Geografska porazdelitev večjih haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y ..	42
Slika 9: Grafična predstavitev $F_{st}$ -matrike haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y	44
Slika 10: Analiza primarnih komponent (PCA) na podlagi frekvenc haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y .....	46
Slika 11: Analiza genetskih pregrad na podlagi $F_{st}$ -matrike frekvenc haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y. ....	47
Slika 12: Drevo, konstruirano na podlagi $R_{st}$ -vrednosti in algoritma združevanja sosedov.....	56
Slika 13: Analiza večrazsežnega lestvičenja (MDS-analiza) na osnovi devetih mikrosatelitnih označevalcev .....	57
Slika 14: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine R1a1- M198 pri slovenskih populacijah.....	63
Slika 15: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine R1b- M343 pri slovenskih populacijah .....	64
Slika 16: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine I2a1- P37.2 pri slovenskih populacijah. ....	65
Slika 17: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine R1a1- SRY <sub>10831.2</sub> pri nekaterih slovanskih populacijah. ....	66
Slika 18: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine R1b- M343 pri nekaterih slovanskih populacijah .....	67
Slika 19: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine I2a1- P37.2 pri nekaterih slovanskih populacijah .....	68
Slika 20: Grafična predstavitev $F_{st}$ -matrike haploskupin označevalcev mtDNA .....	75
Slika 21: Analiza primarnih komponent (PCA) na podlagi frekvenc haploskupin DNA označevalcev mtDNA .....	76
Slika 22: Grafična predstavitev $F_{st}$ -matrike haplotipov mtDNA .....	82
Slika 23: Analiza večrazsežnega lestvičenja (MDS-analiza) na osnovi haplotipov mtDNA....	83
Slika 24: Mrežna analiza mitohondrijskih haplotipov na podlagi mitohondrijskih označevalcev regije HVR I. ....	84

## KAZALO PRILOG

Priloga A: Najpogostejši haplotipi mtDNA pri slovenski populaciji

Priloga B: Frekvence alelov na sedemnajstih lokusih Y-STR pri slovenski populaciji ( $N = 399$ )

Priloga C: Primer elektroferograma sedemnajstih označevalcev Y-STR

Priloga D: Primeri diferenčnih grafov analize talilne krivulje pri visoki ločljivosti (HRM)

## SEZNAM OKRAJŠAV

**bp:** bazni par

**dbSNP:** podatkovna zbirka polimorfizmov posameznih nukleotidov

**DHPLC:** denaturacijska tekočinska kromatografija visoke ločljivosti

**DNA:** deoksiribonukleinska kislina

**HLA:** človeški levkocitni antigeni

**HRM:** analiza talilne krivulje DNA pri visoki ločljivosti

**HVR:** hipervariabilna regija mitohondrijske DNA

**ky:** tisoč let

**MDS:** analiza večrazsežnega lestvičenja

**mtDNA:** mitohondrijska DNA

**NCBI:** nacionalni center za biotehnološke informacije (ZDA)

**np:** nukleotidna pozicija

**NRY:** nerekombinantni del kromosoma Y

**PCA:** analiza primarnih komponent

**PCR:** verižna reakcija s polimerazo

**RFLP:** polimorfizem dolžin restrikcijskih fragmentov

**SNP:** polimorfizem posameznega nukleotida

**STR:** kratke tandemske ponovitve

**YCC:** mednarodni konzorcij za raziskovanje kromosoma Y

**Y-STR:** kratke tandemske ponovitve kromosoma Y

## SLOVARČEK

**Alu ponovitev:** kratka ponovljiva zaporedja DNA, transpozicijski elementi (pribl. 300 bp) v genomih primatov; predstavljajo približno deset odstotkov človeškega genoma.

**Antigen:** vse telesne in zunajtelesne snovi, ki v organizmu izzovejo nastajanje protiteles.

**Alel:** ena od dveh ali več različic gena, ki ležijo na homolognih kromosomih na istem mestu. Vsebuje zapis za eno od oblik dedne lastnosti (npr. krvne skupine).

**Genetski označevalec:** fenotipski, biokemijski polimorfizem ali DNA-polimorfizem, ki ga uporabljam za genetski opis osebka ali populacij.

**Genetski zdrs:** naključna sprememba frekvence posameznega alela v končni populaciji.

**Haploskupina:** skupina podobnih haplotipov, ki imajo skupnega prednika z enakim genetskim označevalcem.

**Haplotip:** kombinacija različnih alelov (genetskih označevalcev), ki so na vezanih lokusih na istem kromosому (vezano dedovanje).

**Polimorfizem:** razlike med aleli oziroma istovrstnimi zaporedji nukleotidov v DNA.

**Prenos po Southernu:** metoda, s katero zaznamo specifična zaporedja pri vzorcih DNA.

**Psevdogen:** disfunkcionalen gen, ki je med evolucijo izgubil sposobnost izražanja v celici.

**Rekombinacija:** preurejanje molekul DNA oziroma njihovih delov v nova zaporedja z namenom nastanka novih kombinacij dednega materiala.

## 1 UVOD

### 1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Raziskovanje genetske raznovrstnosti in genskega pretoka med posameznimi geografskimi območji pri sodobnih populacijah lahko omogoči vpogled v prazgodovinske in zgodovinske demografske dogodke. Kljub dejству, da je treba ekstrapolacijsko moč posameznega lokusa pri napovedovanju zgodovinskih dogodkov različnih populacij dojemati z določeno mero previdnosti (razvoj in spreminjanje človeškega genoma sta neomajno povezana s prilagoditvijo na okoljske spremembe), razvoj robustnih in dobro definiranih filogenij nerekombinantne regije kromosoma Y (NRY) in mitohondrijske DNA (mtDNA) dovoljuje uporabo za raziskovanje preteklih populacijskih dogodkov (Cavalli-Sforza, 1994; Cavalli-Sforza, 2001; Underhill in sod., 2007). Genetski označevalci NRY omogočajo analizo genetske strukture posamezne populacije pri večji ločljivosti (kar je posledica večjega števila označevalcev NRY) v primerjavi z mtDNA, vseeno pa je določanje genetske strukture populacije na osnovi mtDNA prav tako pomemben del znanstvenih študij, saj analiza obeh vrst označevalcev dopušča možnost vpogleda v demografske razlike moških in ženskih linij, na katere so v preteklosti vplivali različni dejavniki, kot sta patrilokalnost in poligamija (Underhill in Kivisild, 2007). Kljub izjemnemu napredku pri določanju genetske strukture človeških populacij v zadnjih petnajstih letih pa lahko posamezne demografske dogodke smiselno in pravilno povežemo v celoto šele, ko jih lahko postavimo v širši interdisciplinarni znanstveni kontekst, ki zajema arheološka, lingvistična, paleobiološka in druga znanstvena dognanja.

V doktorski nalogi smo z analizo variacije polimorfizmov NRY in mtDNA pri petih slovenskih populacijah določili genetsko strukturo slovenske populacije kot celote ter definirali razlike med posameznimi slovenskimi pokrajinami in sosednjimi evropskimi populacijami. Na podlagi statistične analize smo definirali območja genetske diskontinuitete in jih skušali umestiti v zgodovinski kontekst.

### 1.2 NAMEN RAZISKAVE

Prvi del študije je potekal na osnovi genetskih označevalcev nerekombinantnega dela kromosoma Y (NRY). V študijo je bilo vključenih 399 vzorcev iz petih različnih slovenskih pokrajin (Primorska, Gorenjska, Dolenjska, Štajerska in Prekmurje). Skupno je bilo analiziranih 42 bialelnih označevalcev kromosoma Y, pri čemer so bili upoštevani genealoška hierarhija in priporočila mednarodnega konzorcija za raziskovanje kromosoma Y (Y Chromosome Consortium – YCC) in Mednarodnega združenja za genetsko haplotipno drevo (International Society of Genetic Haplotype Tree). Bialelni označevalci so bili analizirani z metodo analize talilne krivulje pri visoki ločljivosti (HRM). Rezultati so bili validirali z uporabo sekvenciranja. Poleg bialelnih označevalcev je bilo analiziranih

tudi 17 mikrosatelitnih tandemskih ponovitev (STR-označevalci), ki so zaradi višje frekvence mutacij v primerjavi z bialelnimi označevalci še posebej primerni za raziskovanje in primerjavo sorodnejših populacij. Za primerjalne statistične analize so bili poleg slovenskih vzorcev uporabljeni podatki iz tujih znanstvenih publikacij, s skupnim številom 5982 vzorcev. Z namenom primerjave slovenske populacije kot celote z nekaterimi drugimi evropskimi populacijami so bile izvedene analiza genetskih pregrad in analiza primarnih komponent na podlagi bialelnih označevalcev ter analiza večdimensionalnega lestvičenja na podlagi mikrosatelitnih označevalcev.

Drugi del populacijske študije je potekal na osnovi genetskih označevalcev hipervariabilnih regij I in II ter posameznih označevalcev, ki so v kodirajočem delu mtDNA. V študijo sta bila vključena 402 vzorca iz petih slovenskih pokrajin. Označevalci hipervariabilnih regij mtDNA so bili določeni s sekvenciranjem po Sangerju, medtem ko so bili označevalci, ki so v kodirajoči regiji, določeni s kombinacijo sekvenciranja po Sangerju in restriktijske analize. Za primerjalne statistične analize so bili poleg slovenskih vzorcev uporabljeni podatki iz tujih znanstvenih publikacij, s skupnim številom 6585 vzorcev. Z namenom primerjave slovenske populacije kot celote z nekaterimi drugimi evropskimi populacijami sta bili izvedeni analiza primarnih komponent na podlagi frekvence haploskupin in analiza večdimensionalnega lestvičenja na podlagi posameznih haplotipov.

Namen doktorske naloge je:

- rekonstrukcija zgodovinskih demografskih dogodkov na območju današnje Slovenije na podlagi analize bialelnih in mikrosatelitnih označevalcev pri slovenski populaciji;
- z uporabo informacij, dobljenih z genetsko študijo, kot tudi z arheološkimi informacijami, ki so na voljo, podati model razvoja slovenske populacije, ki bi lahko pojasnil porazdelitev posameznih haplotipov med slovenskimi pokrajinami;
- primerjava podatkov, pridobljenih z genetsko analizo, s sosednjimi in z drugimi evropskimi populacijami;
- izboljšanje poznavanja izvora slovenske populacije tako po moški (Y-kromosom) kot tudi po ženski liniji (mtDNA);
- vpeljava in razvoj metode analize talilne krivulje pri visoki ločljivosti (HRM) za študijo bialelnih označevalcev kromosoma Y.

### 1.3 RAZISKOVALNE HIPOTEZE

V okviru doktorske naloge smo postavili naslednje hipoteze:

- Predvidevamo, da je slovenska populacija v smislu genetske strukture relativno heterogena skupina, kar je posledica migracij genetsko različnih skupin ljudi skozi celotno zgodovino današnjega slovenskega ozemlja.
- Predvidevamo, da bomo lahko z analizo polimorfizmov ter s primerjalno analizo sosednjih in drugih evropskih populacij ter z upoštevanjem arheoloških in zgodovinskih podatkov postavili model razvoja slovenske populacije.
- Predvidevamo, da bo najpogostejsa haploskupina kromosoma Y v slovenski populaciji R1a, ki je najpogostejsa frekvenca v Vzhodni in Srednji Evropi.
- Predvidevamo, da bodo poleg haploskupine R1a pogoste tudi haploskupina I2a (zaradi geografske bližine balkanskega zatočišča med zadnjim vrhom ledene dobe), haploskupina R1b (kot najpogostejsa haploskupina v Zahodni Evropi) ter haploskupini E in J (kot posledica širitve neolitskih kmetov z bližnjega vzhoda).
- Predvidevamo, da bodo najpogostejsi haploskupini mtDNA H, J in U5a.
- Predvidevamo, da je metoda analiza talilne krivulje pri visoki ločljivosti primerna metoda za analizo polimorfizmov kromosoma Y.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 GENETSKI OZNAČEVALCI IN NJIHOVA UPORABA V POPULACIJSKIH ŠTUDIJAH

#### 2.1.1 Pregled genetskih označevalcev

Zgodnje znanstvene populacijske študije so temeljile na klasičnih antropometričnih značilnostih posameznikov, ki so jih skušali raziskovalci umestiti v geografski in časovni vidik etnične raznolikosti. Prizadevanja antropologov za rekonstrukcijo evolucijskih povezav in zgodovine človeštva na podlagi cefaličnega indeksa (razmerja med širino in dolžino lobanje) pred začetkom 20. stoletja so sčasoma pripeljala do ugotovitve, da so lahko posamezne morfološke značilnosti populacij pod velikim vplivom kratkotrajnih okoljskih sprememb in v manjši meri pod vplivom dednosti oz. dednih lastnosti (Cavalli-Sfortza, 1994). Zaradi tega dejstva lahko dve populaciji različnega etničnega izvora izkazujeta zelo podobne ali celo identične značilnosti, kar lahko privede do napačnih ugotovitev o izvoru in razvoju posameznih populacij (Cavalli-Sfortza, 1994).

Prvi primer raznolikosti, ki je sledila načelom Mendlovega dedovanja, so bile krvne skupine AB0, opisane na začetku 20. stoletja (Landsteiner, 1901, cit. po Cavalli-Sfortza, 1994). AB0-karakterizacija rdečih krvnih celic (eritrocitov) je bila prvi genski označevalec, s katerim se je merilo človeško gensko raznolikost. Prva znana genetska populacijska študija, ki je temeljila na analizi krvnih skupin AB0, je bila opravljena med prvo svetovno vojno (Hirschfeld L. in Hirschfeld H., 1919, cit. po Cavalli-Sfortza, 1994). V naslednjih letih so bili odkriti novi eritrocitni in limfocitni antigeni (HLA), s katerimi so raziskovalci odkrivali razlike v frekvencah posameznih alelov med različnimi populacijami. Šestdeseta leta prejšnjega stoletja pa so z razvojem proteinske elektroforeze pospešila in razširila analizo genetskih označevalcev. Različne proteine je bilo mogoče ločevati glede na velikost in naboj, kar je omogočalo analizo velikega števila celičnih antigenov, encimov in serumskih proteinov (Livingstone, 1958).

Napredek v genskem kloniranju in uporaba restrikcijskih endonukleaz sta v sedemdesetih letih prejšnjega stoletja pripeljala do odkritja nove vrste genetskega označevalca – polimorfizma DNA (Kan in Dozy, 1978). Prvi polimorfizmi DNA so temeljili na ločevanju različno dolgih fragmentov DNA s prenosom po Southernu po obdelavi DNA z restrikcijskimi endonukleazami. Tak tip polimorfizma imenujemo polimorfizem dolžin restrikcijskih fragmentov (angl. Restriction Fragment Length Polymorphism – RFLP), saj se aleli razlikujejo glede na dolžino restrikcijskega fragmenta, ki ga dobimo po restrikcijski reakciji. Najpogostejši vzrok za različno dolžino fragmentov je zamenjava nukleotidov na prepoznavnem mestu restrikcijske endonukleaze, manj pogosto pa tudi delecija ali insercija enega nukleotida. Tak tip polimorfizma imenujemo polimorfizem posameznega nukleotida (angl. Single Nucleotide Polymorphism – SNP). SNP-ji predstavljajo večji del genomske

variacije pri človeku. Po zadnjih podatkih podatkovne zbirke NCBI dbSNP (Build 138) vsebuje človeški genom nekaj več kot 40 milijonov validiranih SNP-jev (NCBI ..., 2013).

Poleg SNP-jev poznamo tudi polimorfizme ponovljivih zaporedij. Elementi ponovljivih zaporedij so razporejeni po celotnem človeškem genomu in jih v osnovi razdelimo v tandemske ponovitve (npr. mikrosateliti, minisateliti in telomerne ponovitve) ter razpršene ponovitve (npr. Alu ponovitve) (Batzer in sod., 1996; Grover in sod., 2005; Nikitina in Nazarenko, 2004; Weiner in sod., 1986). Minisateliti so sestavljeni iz ponavljajočih se zaporedij, sestavljenih iz devetih do nekaj sto baznih parov, medtem ko so mikrosateliti (angl. Short Tandem Repeats – STR) sestavljeni iz dveh do šestih baznih parov. Visoka variabilnost mini- in mikrosatelitov omogoča dobro genetsko individualizacijo posameznikov (forenzične analize), hkrati pa je zanje značilna tudi hitrejša evolucija v primerjavi s preostalim delom genoma (Weber in Wong, 1993).

## 2.1.2 Kromosom Y

### 2.1.2.1 Struktura in evolucija kromosoma Y

Kromosom Y je dolg okoli 60 milijonov baznih parov in ga v osnovi lahko razdelimo na dve regiji (slika 1):

- psevdootosomatsko regijo, ki predstavlja pet odstotkov celotnega kromosoma Y in je na obeh koncih kromosoma Y ter se med moško mejozo rekombinira s homolognimi regijami kromosoma X;
- nerekombinantno regijo kromosoma Y (NRY), ki predstavlja preostali del kromosoma Y (95 %). Za nerekombinantno regijo je značilna popolna odsotnost rekombinacije X-Y med moško mejozo (Freije in sod., 1992; Jobling in Tyler-Smith, 2003; Simmler in sod., 1985). Regijo NRY razdelimo na dva dela: heterokromatskega in evkromatskega.

Heterokromatska zaporedja so sestavljena iz satelitnih tandemskih ponovitev, medtem ko evkromatska zaporedja razdelimo v tri razrede (Skaletsky in sod., 2003):

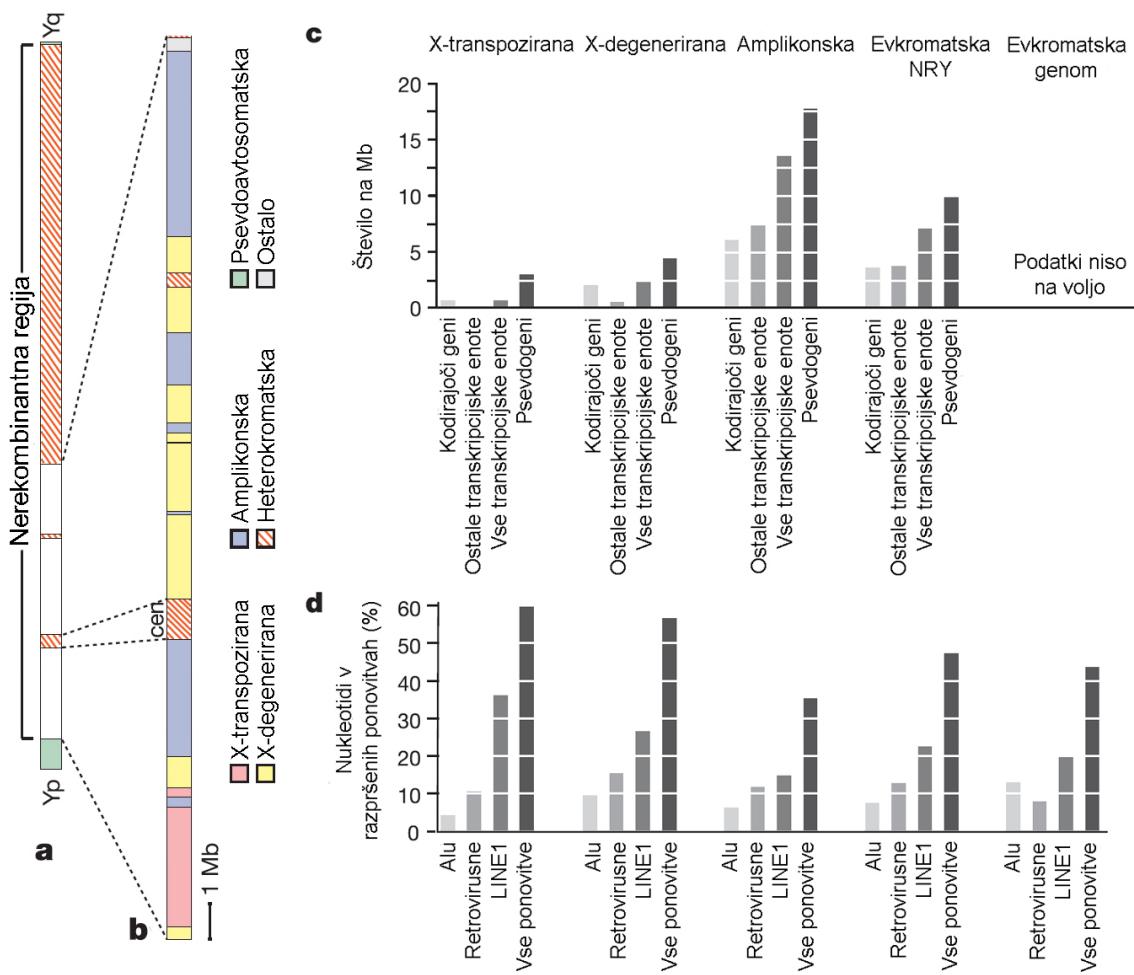
- X-transpozirana,
- X-degenerirana in
- amplikonska zaporedja.

X-transpozirana zaporedja predstavljajo 99-odstotno identičnost z zaporedji DNA na kromosому X (q21) in so rezultat procesa transpozicije X-Y, ki se je zgodila pred tremi do štirimi milijoni let. X-degenerirana zaporedja pa so ostanki starodavnih avtosomov, iz katerih sta se razvila današnja kromosoma X in Y. V regiji X-degeneriranih zaporedij so geni in psevdogeni, ki kažejo visoko stopnjo identičnosti (med 60 in 96 %) s homologi na

kromosomu X. Amplikonska zaporedja pa so v veliki meri sestavljena iz zaporedij, za katera je značilna skoraj 99,9-odstotna enakost z drugimi zaporedji NRY (Skaletsky in sod., 2003), in vsebujejo največjo gostoto genov med vsemi tremi omenjenimi razredi evkromatin. Najznačilnejša strukturalna lastnost amplikonske regije je osem velikih palindromov, pri čemer jih vsaj šest vsebuje gene, izražene v testisih (Skaletsky in sod. 2003).

Natančna fizična karta človeškega kromosoma Y je bila pridobljena leta 2001 (Tilford in sod., 2001). Dve leti pozneje je bilo pridobljeno tudi celotno nukleotidno zaporedje regije NRY (Skaletsky in sod., 2003), ki je razkrilo vsaj 156 transkripcijskih enot znotraj evkromatinskih zaporedij. Polovico transkripcijskih enot kodira 27 proteinov ali proteinskih družin, pri čemer jih je dvanajst izraženih v večini tkiv, 11 proteinov pa se izraža izključno v testisih. Omenjene najdbe potrjujejo model, po katerem gre za dva funkcionalno različna razreda genov NRY (Lahn in Page, 1997).

Razvoj kromosoma Y (enako velja tudi za kromosom X) se je začel pred okoli 300 milijoni let, ko naj bi se tako kromosom Y kot tudi kromosom X razvila iz para avtosomskih kromosomov (Graves in Schmidt, 1992). Prva stopnja razvoja naj bi se zgodila, ko je na enem izmed avtosomskih kromosomov prišlo do mutacije, s čimer je ta pridobil gen *SRY* (angl. Sex Determining Region on Y), kar naj bi bil glavni povod za razvoj moških osebkov (Lahn in Page, 1999). Naslednja faza evolucijskega razvoja je bila ohranitev divergencije z onemogočanjem rekombinacije. Glede na študijo Lahna in Pagea (1999) so bile potrebne vsaj štiri kromosomske inverzije za začetek evolucije kromosomov X in Y. Prva naj bi se zgodila pred okoli 300 milijoni let in zadnja pred okoli 30 milijoni let. Vsaka inverzija naj bi dodatno ločila evolucijsko pot obeh kromosomov, saj je vsak dodatni obrnjeni del kromosoma podaljšal dolžino segmenta DNA, ki ni bila več zmožna poravnave in rekombinacije. Pri kromosom Yu je omenjeni proces privadel do degeneracije in zmanjševanja kromosoma, saj so bile delecijske mutacije pogosteje na nerekombinantnem kromosому kot na kromosому X, ki je z rekombinacijo pri mejozi ohranjal svojo genetsko integriteto in velikost (Lahn in Page, 1999).



Slika 1: Nerekombinantna regija kromosoma Y (Skaletsky et al., 2003)

- a) Shematska predstavitev celotnega kromosoma, vključno s psevdoautosomatsko in heterokromatsko regijo.
- b) Povečana nerekombinantna regija, ki meji na psevdoautosomatsko regijo Yp in heterokromatsko regijo Yq. Prikazani so trije razredi evkromatskih zaporedij kot tudi heterokromatska zaporedja. Posamezni stolpec ponazarja 1 Mb na diagramu.
- c), d) Geni, psevdogeni in razpršene ponovitve treh razredov evkromatskih zaporedij.
- c) Gostote (število na Mb) kodirajočih genov, nekodirajočih transkripcijskih enot, skupnih transkripcijskih enot in psevdogenov.
- d) Odstotek nukleotidov, ki so v Alu, retrovirusnih, LINE1 in skupnih razpršenih ponovitvah.

Figure 1: The non-recombinant region of the Y chromosome (Skaletsky et al., 2003)

- a) Schematic representation of the whole chromosome, including the pseudoautosomal and heterochromatic regions.
- b) Enlarged view of a 24-Mb portion of the MSY, extending from the proximal boundary of the Yp pseudoautosomal region to the proximal boundary of the large heterochromatic region of Yq. Shown are three classes of euchromatic sequences, as well as heterochromatic sequences. A 1-Mb bar indicates the scale of the diagram.
- c), d) Gene, pseudogene and interspersed repeat content of three euchromatic sequence classes.
- c) Densities (numbers per Mb) of coding genes, non-coding transcription units, total transcription units and pseudogenes.
- d) Percentages of nucleotides contained in Alu, retroviral, LINE1 and total interspersed repeats.

### 2.1.2.2 Označevalci kromosoma Y

Med vsemi človeškimi kromosomi ima edino kromosom Y unikatno lastnost neposrednega prenosa genetskega zapisa po moški liniji z očeta na sina, brez vmesne stopnje rekombinacije. Taka lastnost kromosoma Y omogoča časovno in geografsko sledenje posameznim haplotipom (rezultat kombinacije posameznih genetskih označevalcev) vzdolž moške linije do samega izvora – prvega skupnega moškega prednika. Dodatna lastnost kromosoma Y je tudi efektivna velikost populacije, saj pod predpostavko razmerja spolov 1 : 1 kromosom Y v odnosu do avtosomskih kromosomov predstavlja eno četrtino, v odnosu do kromosoma X eno tretjino in enakovredno velikost v odnosu do mitohondrijske DNA (mtDNA). Zaradi manjše efektivne velikosti populacije je kromosom Y pod večjim vplivom genetskega zdrsa, evolucijske sile, ki vpliva, še posebej v manjših populacijah, na frekvenco različnih haplotipov. Kljub temu pa struktura haploskupin kromosoma Y kaže dobro kvalitativno povezavo s kontinentalnimi mejami, pri čemer se lahko specifičnost posameznih označevalcev razloži s filogenetskim razvojem posameznih linij, in ne s samim efektom genetskega zdrsa (Karafet in sod., 2008; Underhill in Kivisild, 2007).

DNA-označevalce kromosoma Y lahko razdelimo na:

- bialelne označevalce (SNP in manjše insercije/delecije) ter
- mikrosatelite in minisatelite (tandemske ponovitve).

Bialelni označevalci kromosoma Y so najpogosteji tip polimorfizmov, saj predstavljajo več kot 90 odstotkov vseh polimorfizmov DNA. Po zadnjih podatkih mednarodnega konzorcija za raziskovanje kromosoma Y (<http://www.isogg.org/tree/>) je kromosom Y filogenetsko drevo, konstruirano iz več kot 2500 bialelnih označevalcev. V filogenetskih študijah se uporabljo bialelni označevalci, za katere je značilna unikatna (oz. skoraj unikatna) pojavnost in katerih frekvenca omogoča zaznavo v populacijskih študijah. Za bialelne označevalce je značilna nizka frekvenca mutacij –  $5 \times 10^{-7}$  na pozicijo in na generacijo (Hammer, 1995). Uporaba bialelnih označevalcev kromosoma Y pri konstrukciji haploskupin in njihovi povezavi v skupno filogenetsko drevo po kriteriju največje varčnosti (angl. Maximum Parsimony) omogoča vpogled v razvoj in medsebojne odnose posameznih haploskupin.

Mikrosatelitni in minisatelitni označevalci so večinoma v nekodirajočih regijah kromosoma Y, njihova dolžina pa znaša od 10 do 100 bp (baznih parov) za minisatelite in od 2 do 6 bp za mikrosatelite. Mikrosateliti so v primerjavi z minisateliti pogosteje uporabljeni označevalci v populacijskih študijah. Preprostost genotipizacije mikrosatelitnih označevalcev je razširila krog njihove uporabe na različna področja, od uporabe v forenzičnih preiskavah (Butler in sod., 2003) do uporabe v populacijskih študijah (de Knijff, 2000). Ena izmed pomembnih lastnosti, po kateri se bialelni in mikrosatelitni označevalci razlikujejo, je hitrost nastajanja mutacij (angl. Mutation Rate). Za

mikrosatelitne označevalce je značilna pomembno večja hitrost nastajanja mutacij, ki v povprečju znaša  $2,8 \times 10^{-3}$  (na lokus, na generacijo). Mutacijska hitrost je bila ugotovljena pri raziskovanju kromosomskih parov oče-sin (Kayser in sod., 2000), medtem ko je bila efektivna hitrost nastajanja mutacij  $6,9 \times 10^{-4}$  (na generacijo) določena na podlagi mikrosatelitne variacije znotraj haploskupin, definiranih z bialelnimi označevalci pri populacijah z dobro dokumentirano novejšo zgodovino (npr. izvor romske populacije v Bolgariji) (Zhivotovsky in sod., 2004).

Skupna uporaba bialelnih in mikrosatelitnih označevalcev v populacijskih študijah omogoča določanje raznolikosti posameznih haploskupin, določenih z bialelnimi označevalci. Uporaba obeh vrst označevalcev kromosoma Y omogoča določanje izvora in razpršitve posameznih haploskupin, kajti izvor posamezne haploskupine na določenem geografskem območju ni določen s frekvenco haploskupine, pač pa z njeno raznolikostjo (Bosch in sod., 1999; de Knijff, 2000; Mountain in sod., 2002).

#### 2.1.2.3 Filogenija haploskupin kromosoma Y

Filogenija kromosoma Y je doživela razcvet z odkritjem in vpeljavo nove metode za odkrivanje sprememb na nivoju DNA – denaturacijske tekočinske kromatografije visoke ločljivosti (DHPLC), saj je omogočala hitro in relativno poceni detekcijo SNP označevalcev. Tako je bilo leta 1997 objavljenih 19 novih DNA označevalcev, odkritih z DHPLC metodo (Underhill in sod., 1997), število DNA označevalcev pa je kmalu po tem skokovito narastlo (Hammer in sod., 1998; Underhill in sod., 2000; Underhill in sod., 2001). Novo odkriti kromosom Y DNA označevalci so spodbudili zagon raziskav številnim raziskovalnim skupinam, ki so preučevale različne svetovne populacije. Z objavljenimi publikacijami se je razvila tudi neenotna nomenklatura posameznih haploskupin, ki je oteževala primerjavo populacijskih podatkov različnih raziskovalnih skupin. Zaradi potrebe po poenotenu nomenklurnega sistema je leta 2002 kromosom Y konzorcij (YCC, Y Chromosome Consortium) objavil standardizirano nomenklaturo kromosom Y filogenetskega drevesa bialelnih označevalcev (YCC, 2002). Omenjeni nomenklturni sistem je poenotil standarde poimenovanja 153 haploskupin na podlagi 245 bialelnih označevalcev. Konzorcij je tudi določil uporabo imena haplotip, ki se uporablja za skupine kromosoma Y, definirane s STR polimorfizmi (YCC, 2002). Od leta 2002 naprej se z odkrivanjem novih polimorfizmov, ki definirajo nove haploskupine, filogenetsko drevo kromosoma Y redno posodablja in spreminja (YCC, 2002).

Pogled na filogenetsko drevo bialelnih haploskupin kromosoma Y razkrije dve najstarejši veji, ki pripadata haploskupinama A in B (slika 2). Obe haploskupini sta značilni v zmernih do nižjih frekvencah v podsaharski Afriki, večinoma pa pripadajo lovskonabiralnim populacijam oz. njihovim potomcem (Cavalli-Sforza, 2001; Semino in sod., 2002). Razlog za nižjo frekvenco najstarejših linij v podsaharski populaciji je najverjetneje

v širitevi haploskupine E, značilne za okoli 80 odstotkov današnje afriške populacije. Pred okoli 3000–4000 leti je iz Zahodne Afrike prišlo do migracije poljedelskih ljudstev, ki so najverjetneje v precejšnji meri zamenjala paleolitski genetski signal najstarejših afriških linij (Underhill in sod., 2001).

Največja variabilnost in najstarejše linije bialelnih haplotipov filogenetskega drevesa kromosoma Y, odkrite v Afriki, potrjujejo teorijo izvora sodobnega človeka na afriški celini. Arheološki dokazi pričajo o vsaj dveh migracijskih poteh izven Afrike, ki sta se zgodili pred približno 60.000 leti (Cavalli-Sforza, 1994). Prva, južna migracijska pot naj bi potekala po obalni poti čez južni predel arabskega polotoka, indijske podceline in vse do Avstralije. Druga, severna pot naj bi potekala čez sinajski polotok vse do Levante, od koder naj bi se razširila naprej v Azijo, Evropo in Ameriko (Lahr in Foley, 1994).

Mutacija M168, ki je skupna vsem danes zunaj Afrike živečim moškim (odsotna pa je pri najstarejših afriških haploskupinah A in B), predstavlja molekularno sled do skupnega afriškega prednika, ki je pred 60.000 leti zapustil Afriko in naselil druge celine. Mutaciji M168 lahko sledimo tako časovno kot tudi geografsko, do populacij na različnih celinah (Cavalli-Sforza, 1994).

Neafriške veje filogenetskega drevesa razdelimo na:

- haploskupino C,
- haploskupino DE,
  - haploskupini D in E,
- haploskupino F,
  - haploskupine G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S in T.

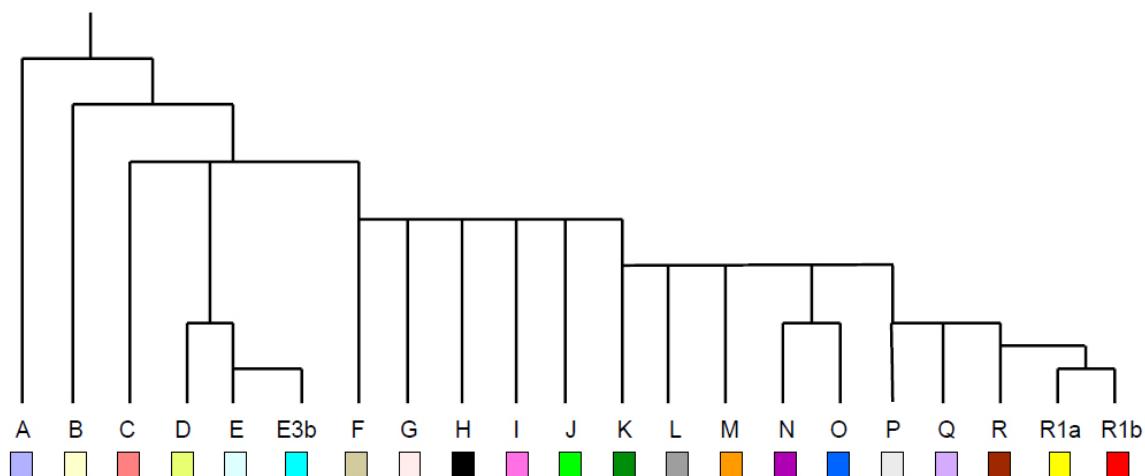
Haploskupina C je definirana z mutacijo RPS4Y (M130). Mutacija ni bila zaznana v nobeni afriški populaciji, zato se domneva, da je nastala kmalu po migraciji iz Afrike na območju Azije. Podskupine haploskupine C (slika 3) so prisotne v Srednji in Severni Aziji, Ameriki, Avstraliji in Oceaniji (Berger in sod., 2005; Forster in sod., 1998; Underhill in sod., 2001).

Haploskupina DE (definirana z označevalcem YAP) se deli na haploskupini D in E. Obe imata skupnega prednika v Afriki, kjer je verjetno tudi prišlo do delitve haploskupine na haploskupino E, ki je najštevilčnejša haploskupina v Afriki, in haploskupine D, ki je postala del zgodnjega naselitvenega vala v Aziji (Underhill in sod., 2001) (slika 3).

Haploskupina F je definirana z mutacijo M89. Podobno kot haploskupini C in DE se je tudi haploskupina F pojavila kmalu po migraciji anatomske sodobnega človeka iz Afrike (Kivisild in sod., 2003). Iz haploskupine F so nastajale nove haploskupine, značilne za različne predele sveta. Ena izmed večjih podhaploskupin je haploskupina K, ki jo

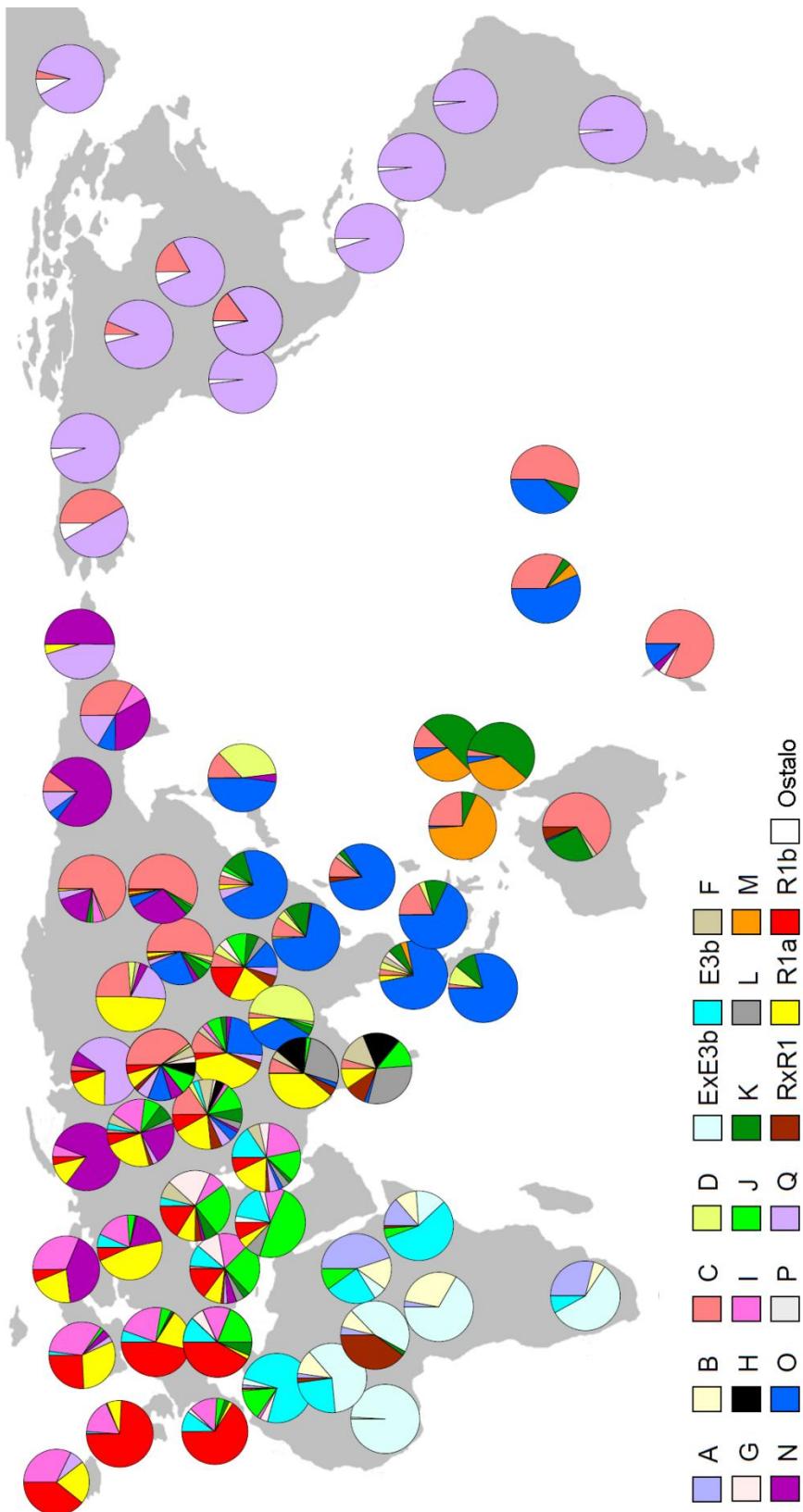
razdelimo še na haploskupino L, značilno za Jugozahodno Azijo, in haploskupino M, značilno za Oceanijo in Novo Gvinejo (Jobling in Tyler-Smith, 2003; Kayser in sod., 2000), medtem ko je haploskupina O značilna za Južno in Jugozahodno Azijo, Severno Kitajsko in Mandžurijo ter za nekatere sibirske populacije (Karafet in sod., 2002; Su in sod., 1999; Tajima in sod., 2002). Haploskupina F se je razširila tudi proti Srednji Aziji, kjer se je razvila še na podhaploskupino P, značilno za sibirske populacije in ameridine, ter evrazijsko haploskupino R (Hammer in sod., 2001; Karafet in sod., 2002; Underhill in sod., 2001; Wells in sod., 2001) (slika 3).

Večina linij kromosoma Y v evropskih populacijah spada v haploskupine E, G, I, J, N in R, pri čemer je najpogostejsa haploskupina R (slika 4). Več kot 50 odstotkov evropskih moških linij pripada haploskupini R oz. podhaploskupini R1 (definirani z M173) (Wells in sod., 2001).



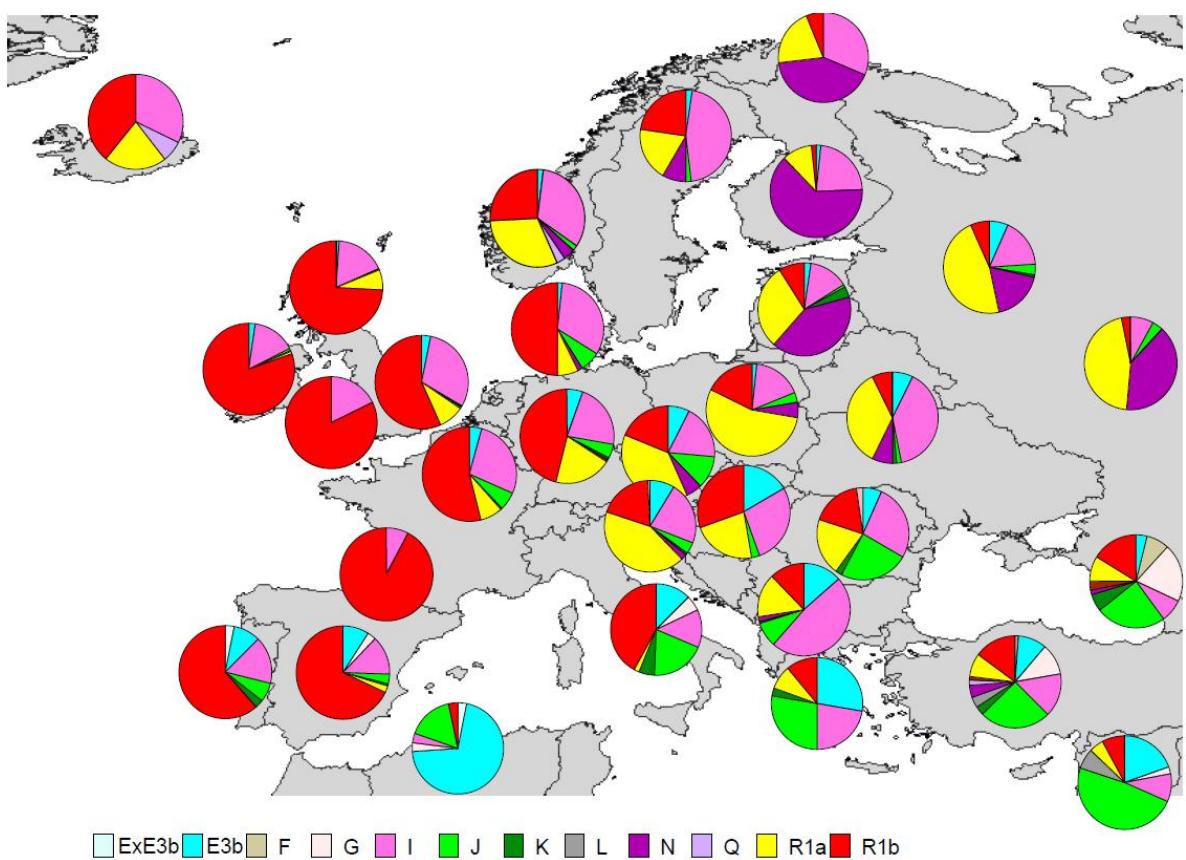
Slika 2: Poenostavljen filogenetsko drevo haploskupin kromosoma Y (McDonald ..., 2013).

Figure 2: Simplified Tree of Y Haplogroups (McDonald ..., 2013).



Slika 3: Haploskupine kromosoma Y v različnih predelih sveta (McDonald ..., 2013).

Figure 3: Y Chromosome Haplogroups of the World (McDonald ..., 2013).



Slika 4: Haploskupine kromosoma Y v različnih predelih Evrope (McDonald ..., 2013).

Figure 4: European Y Chromosome Haplogroups (McDonald ..., 2013).

## 2.1.3 Mitohondrijska DNA (mtDNA)

### 2.1.3.1 Struktura in funkcija mtDNA

Poleg nerekombinantnega dela kromosoma Y se za namene populacijskih študij pogosto uporablja tudi mitohondrijska DNA (mtDNA). mtDNA je krožna molekula dolžine 16.569 bp, ki se nahaja znotraj mitohondrija, celičnega organela, odgovornega za proizvajanje energije (slika 5). Človeško mtDNA lahko razdelimo na dve regiji:

- kodirajočo regijo dolžine 15.000 bp, ki vsebuje 37 različnih genov, in
- nekodirajočo regijo (D-zanka) oz. kontrolno regijo, ki uravnava delitev mtDNA in gensko izražanje.

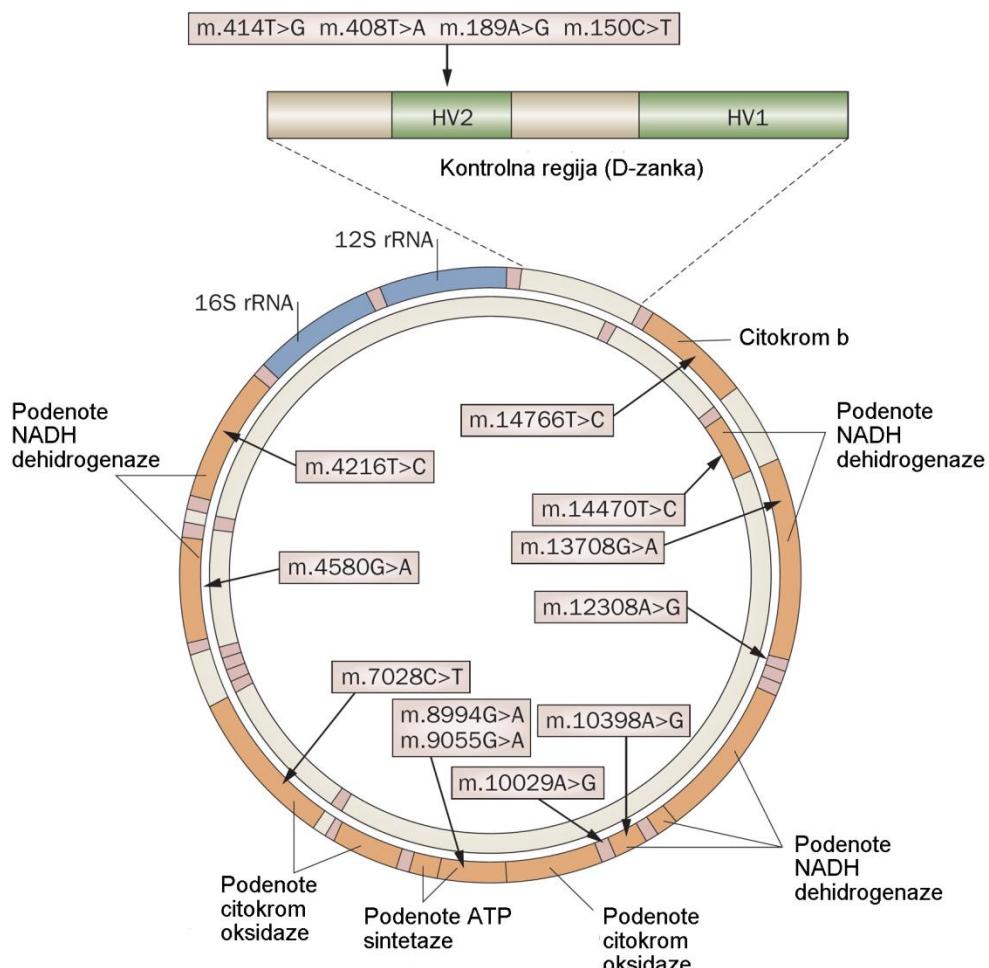
Kontrolno regijo nadalje razdelimo v tri hipervariabilne regije (Malyarchuk in sod., 2002):

- HVR-I (16.024–16.365 np),
- HVR-II (73–340 np),
- HVR-III (438–574 np).

Mutacije v kodirajoči regiji mtDNA so povezane z različimi dednimi oblikami bolezni, npr. z Leberjevo hereditarno optično nevropatijo (Man in sod., 2002).

V primerjavi z jedrnim delom humanega genoma je za mtDNA značilna od pet- do desetkrat večja hitrost nastajanja mutacij (Brown in sod., 1982), pri čemer je za kontrolno regijo značilna desetkrat višja stopnja mutacij v primerjavi s kodirajočo regijo mtDNA (Francalacci in sod., 1996). V kontrolni regiji mtDNA se nahajata dve regiji z najvišjo stopnjo polimorfnih mest – HVR-I in HVR-II (Lutz in sod., 1998).

Poleg polimorfne narave mtDNA in velike mutacijske hitrosti v primerjavi z jedrnim genomom je za mtDNA značilno tudi dedovanje po ženski liniji. Mitohondrijski genom se prenaša z matere na potomce obeh spolov, pri čemer samo ženski potomci prenašajo mitohondrijski genom naprej na naslednje generacije (Giles in sod., 1980). Za mtDNA sta podobno kot za NRY značilni odsotnost rekombinacije in majhna efektivna velikost populacije, zaradi česar je mtDNA (tako kot kromosom Y) še posebej izpostavljena genetskemu zdrusu (Cavalli-Sforza, 1994).



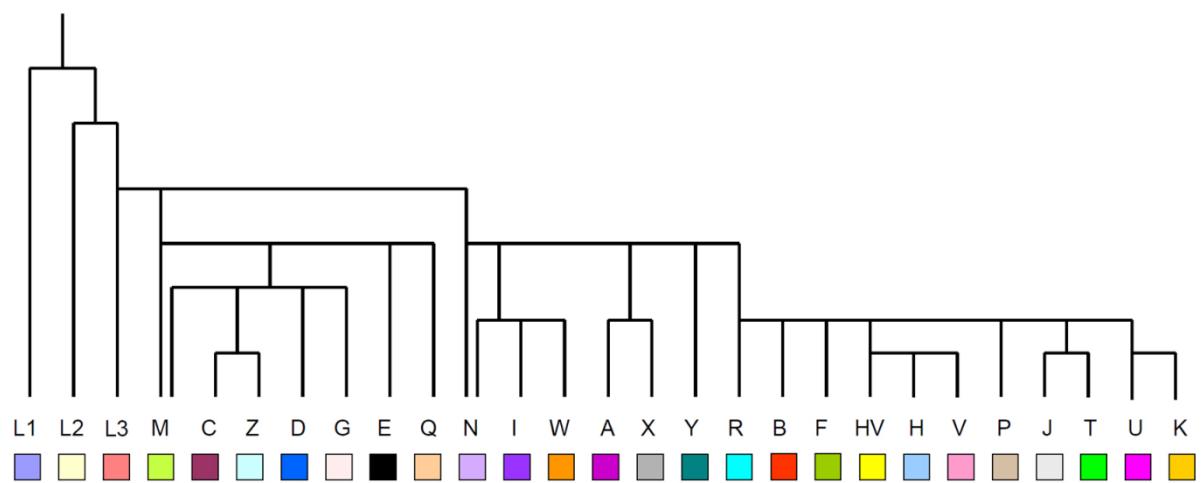
Slika 5: Shematska predstavitev mtDNA, skupaj z nekaterimi SNP v regiji HVR-II D-zanke ter z nekaterimi značilnimi SNP, ki definirajo devet najpogostejših evropskih mtDNA haploskupin (H, I, J, K, T, U, V, W in X) (Blanco in sod., 2011).

Figure 5: Schematic of the mtDNA molecule showing the SNP sites in the hot-spot D-loop HVR-II region and some of the characteristic SNPs that identify the nine most common European mtDNA haplogroups (H, I, J, K, T, U, V, W and X) (Blanco et al., 2011).

Prve populacijske analize mtDNA, ki so temeljile na zgoraj opisani analizi RFLP (Denaro in sod., 1981; Johnson in sod., 1983), so omogočale vpogled v globalno filogenijo mitohondrijskega genoma. Leta 1987 je študija Rebecce Cann (Cann in sod., 1987) pokazala, da se mitohondrijsko filogenetsko drevo cepi na dve glavni veji, katerih divergenca se je začela pred okoli 200.000 leti. Ena izmed vej filogenetskega drevesa je vezana izključno na populacije podsaharske Afrike, medtem ko druga veja povezuje preostale neafriške populacije. Tako obliko filogenetskega drevesa so razložili raziskovalci s hipotezo, da anatomska sodobni ljudje izhajajo iz skupnega prednika, ki je pred 200.000 leti živel v Afriki. Skupnega prednika so poimenovali mitohondrijska Eva (Cann in sod., 1987).

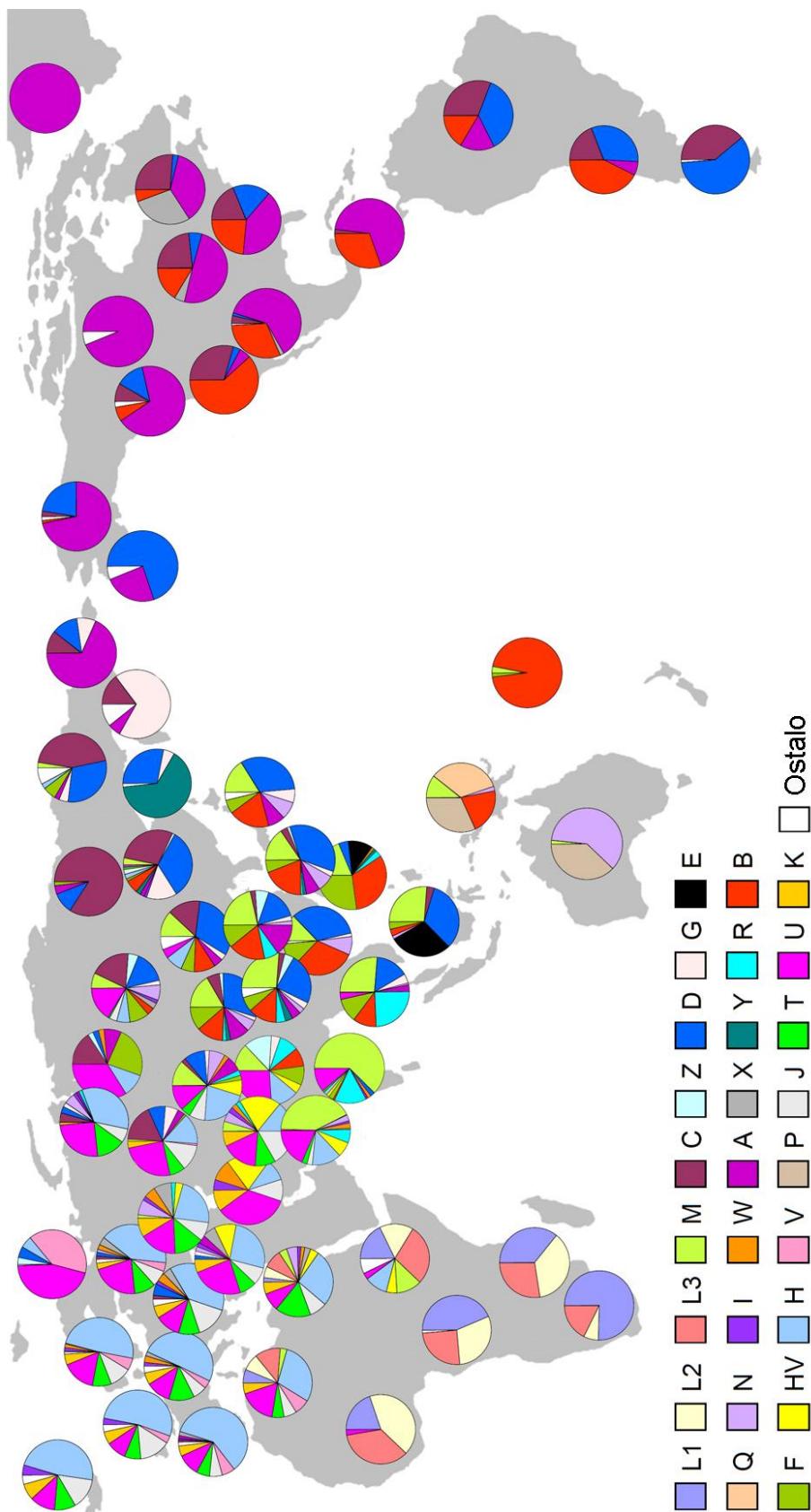
#### 2.1.3.2 Filogenija haploskupin mtDNA

Za afriško celino je značilna velika raznolikost haploskupin mtDNA v primerjavi z drugimi predeli sveta, kar sovpada s teorijo afriškega izvora (Ingman in sod., 2000; Zietkiewicz in sod., 1998). Velika večina afriških haplotipov spada v haploskupine L1, L2 in L3, pri čemer vsi neafriški haplotipi izvirajo iz haploskupine L3. Iz haploskupine L3 izhajata dve izvorni neafriški haploskupini, M in N, ki sta definirani s prisotnostjo ali z odsotnostjo RFLP prepoznavnega mesta na nukleotidni poziciji (np) 10394 (restriktivna endonukleaza *DdeI*) in np 10397 (*AluI*). Izračunani čas divergence obeh izvornih linij, ki temelji na izračunu absolutnega časa iz raznovrstnosti mtDNA in ocenjene stopnje mutacij, kaže na ločitev obeh linij pred okoli 60.000 leti (Forster in Matsumura, 2005). Predvideva se, da je prva migracija anatomska sodobnih ljudi iz Afrike potekala mimo južnega predela arabskega polotoka, čez Indijo do Avstralije in Papue Nove Gvineje (Bowler in sod., 2003). Obalna pot je omogočala hitro napredovanje, saj na njej ni bilo treba premagovati večjih gorskih verig in drugih geografskih ovir, bližina morja pa je omogočala dostop do konstantnega vira hrane. Migracija anatomska sodobnega človeka se je nadaljevala proti Srednji Aziji in Evropi, kjer so prvi naseljeni naleteli na težje klimatske pogoje in zahtevnejši teren. Kljub temu so pred okoli 40.000–50.000 leti anatomska sodobni ljudje dosegli evrazijsko celino, kjer so nastale nove podhaploskupine (Forster, 2004). Tako so nastale za Evropo značilne haploskupine H, I, J, K, T, U, V, W in X, pri čemer vse izvirajo iz haploskupine N. Medtem ko so za Vzhodno Azijo značilne haploskupine A, B, C, D, F, G, M\*, Y in Z, s pomembnimi regionalnimi razlikami (Kivisild in sod., 2002; Tanaka in sod., 2004), pa je za Srednjo Azijo značilna mešanica tako evropskih kot tudi vzhodnoazijskih haploskupin, kar je najverjetneje posledica mešanja različnih populacij vzdolž kontinentalnih trgovskih poti (Comas in sod., 2004). Ena izmed zadnjih prvotnih migracijskih poti je potekala pred okoli 20.000 leti čez Azijo in Beringov kopenski most (v ledeni dobi je bila gladina morja trideset metrov nižja od današnje) do ameriške celine, kjer so značilne haploskupine A, B, C in D ter manjši delež haploskupine X (Brown in sod., 1998; Torroni in sod., 1992; Wallace in Torroni, 1992).



Slika 6: Poenostavljeni filogenetski drevo haploskupin mtDNA (McDonald ..., 2013).

Figure 6: Simplified Tree of mtDNA Haplogroups (McDonald ..., 2013).



Slika 7: Haploskupine mtDNA v različnih predelih sveta (McDonald ..., 2013).

Figure 7: mtDNA Haplogroups of the World (McDonald ..., 2013).

## 2.2 POPULACIJSKA ZGODOVINA EVROPSKEGA PROSTORA V KONTEKSTU GENETSKE VARIACIJE

Zgodovina anatomskega sodobnega človeka v Evropi se začne pred okoli 40.000 leti, v mlajšem paleolitiku. Arheološke najdbe iz tistega časa v jami Peštera cu Oase v Romuniji pričajo o prihodu anatomskega sodobnega človeka v Evropo (Trinkaus in sod., 2003). Omenjeno obdobje arheološko zaznamuje prihod aurignacienske kulture, za katero sta značilni figurativna umetnost kipcev paleolitske Venere in jamske poslikave. Na današnjem slovenskem prostoru je najpomembnejše arheološko najdišče tega časa Potočka zijalka v vzhodnih Karavankah na skoraj 1700 metrih nadmorske višine, kjer sta bili poleg kamnitih in koščenih artefaktov najdeni tudi koščena šivanka in piščal (olševska kultura) (Štih in sod., 2008). Z obdobjem mlajšega paleolitika in s prihodom anatomskega sodobnega človeka v Evropo je povezana tudi haploskupina I kromosoma Y. Omenjena haploskupina naj bi glede na prostorsko in časovno komponento nastala na evropskem prostoru med paleolitsko kolonizacijo anatomskega sodobnega ljudi. V genetski strukturi današnjih evropskih populacij predstavlja omenjena haploskupina okoli 20 odstotkov celotnega evropskega genskega nabora (Rootsi in sod., 2004; Semino in sod., 2000; Underhill in sod., 2007). Najstarejše linije mtDNA v evropski populaciji spadajo v haploskupino U5 (Malyarchuk in sod., 2010; Richards in sod., 2000; Richards in sod., 1998). Starost haploskupine U5 v Evropi je ocenjena na okoli 36.000 let, pri čemer je časovni obseg prvih migracij omenjene haploskupine v Evropo ocenjen v razmeroma širokem časovnem okviru (55.000–30.000 let) (Malyarchuk in sod., 2010; Soares in sod., 2009). Pomemben dokaz o vlogi omenjene haploskupine med lovsko-nabiralniškimi družbami poznega paleolitika je odkrila študija iz leta 2009, po kateri je kar 82 odstotkov vseh starodavnih DNA lovsko-nabiralniških družb Srednje in Severne Evrope pripadalo linijam haploskupine U, pri čemer je največ linij pripadalo podhaploskupini U5 (Bramanti in sod., 2009). Za današnje populacije Srednje Evrope so značilne frekvence haploskupine U5, v razponu od petih do sedmih odstotkov, s frekvenčnim maksimumom 40 odstotkov pri skandinavski populaciji Laponcev (Bramanti in sod., 2009). Prvo naselitev anatomskega sodobnega ljudi je prekinila zadnja večja ohladitev (zadnji vrh ledene dobe), ki je v Evropi pred okoli 20.000 leti prisilila paleolitsko človeško populacijo v umik v t. i. zatočišča, ki so bila ob sredozemski obali, na Iberskem polotoku, Balkanu, v Levanti in na ravninah Vzhodne Evrope (Gamble in sod., 2004; Gamble in sod., 2005). Zadnji poledenitveni sunek je bil uničujoč tudi za cvetočo olševsko kulturo na slovenskem prostoru (Štih in sod., 2008).

Pred okoli 15.000 leti je prišlo do ponovne otoplitrve na evropskem prostoru in do umika ledenih ploskev, ki so prekrivale velik del Evrope. Ugodnejši klimatski pogoji poznega paleolitika so omogočili drugi paleolitski naselitveni sunek oz. t. i. paleolitsko rekolonizacijo evropskega prostora, ki je potekala iz paleolitskih zatočišč (Gamble in sod., 2004; Gamble in sod., 2005). Starejše študije so pojasnjevale velik del genetske strukture sodobnih populacij s paleolitsko rekolonizacijo. Tako je bila tudi porazdelitev linij mtDNA haploskupin H1, H3, H5, V in U5b1 ter haploskupine R1b kromosoma Y razložena s

paleolitsko rekolonizacijo iz franko-kantabrijskega in iberskega paleolitskega zatočišča, medtem ko naj bi haploskupina R1a predstavljala paleolitsko rekolonizacijo iz zatočišča na območju današnje Ukrajine (Achilli in sod., 2004; Pereira in sod., 2005; Rosser in sod., 2000; Semino in sod., 2000; Torroni in sod., 1998; Torroni in sod., 2000). Vendar so poznejše študije pokazale genetsko diskontinuiteto med lokalnimi lovsko-nabiralniškimi družbami paleolitika in kmetijskimi družbami evropskega neolitika ter tako poudarile pomemben vpliv neolitika in poznejših zgodovinskih obdobij na genetsko strukturo današnjih evropskih populacij (Balaresque in sod., 2010; Bramanti in sod., 2009; Brotherton in sod., 2013; Garcia in sod., 2011; Pinhasi in sod., 2012). Kljub temu pa je paleolitska rekolonizacija pustila genetsko sled pri današnjih evropskih populacijah. Tako naj bi se haploskupina I kromosoma Y razširila iz franko-iberskega zatočišča (I1 (M253) in I2a2 (P214)) in iz balkanskega zatočišča (I2a1 (P37.2)) na širše območje Evrope (Rootsi in sod., 2004; Underhill in sod., 2007), najpogostejše linije Vzhodne Evrope, še posebej U4, pa so verjetno vsaj delno rezultat paleolitske rekolonizacije z območja vzhodnih zatočišč, najverjetneje današnje Ukrajine (Malyarchuk in sod., 2008). Prej omenjene študije na starodavnih vzorcih DNA dokazujojo pomembnost haploskupine U5, ki je najverjetneje predstavljala pogosto haploskupino mtDNA med populacijami poznegra paleolitika. Vendar pa ponovna širitev iz t. i. zatočišč na širše območje Evrope ni pomenila goste poselitve lovsko-nabiralniških družb mezolitika, kar se odraža tudi v maloštevilnih in slabo raziskanih arheoloških najdiščih na slovenskih tleh (Štih in sod., 2008).

Pred okoli 12.000–13.000 leti se je na območju rodovitnega polmeseca (Levante) pojavila kultura gojenja kulturnih rastlin in domačih živali, ki se je počasi širila proti Južni Evropi, ki je v obdobju pred okoli 10.000 leti prešla v neolitik, medtem ko je severozahodne predele Evrope dosegla šele 4000 let pozneje (Cavalli-Sforza, 1994). Na evropski celini je za neolitsko kulturo srednjega dela Balkanskega polotoka in Panonske nižine tipična poslikana keramika, medtem ko je za Srednjo Evropo značilna keramika, okrašena s trakastimi motivi iz vrezanih ali žlebljenih črt (linearnotrakasta kultura) (Dolinar in sod., 2011). Za obalna območja Južne Evrope zgodnjega neolitika je značilen pojav kulture impresso. Nastala je pred okoli 8000 leti in tako pomeni prvo neolitsko širjenje proti Evropi, vzdolž obalne poti vzhodnega Sredozemlja. Za slovenski prostor je značilen razcvet kulture impresso na območju Krasa, kjer so bili najdeni najstarejši neolitski ostanki na slovenskem prostoru in ki nakazujejo povezanost neolitskih kultur Krasa s sredozemskimi kulturami Kvarnerja in Dalmacije. V nasprotju s kraškim svetom pa je za osrednjo in vzhodno Slovenijo značilna kultura mlajšega neolitika, ki kaže povezavo prebivalcev mlajšega neolitika po dolinah Save in Drave s kulturami srednjega dela Balkanskega polotoka in Panonske nižine (z lengyelsko kulturo) (Dolinar in sod., 2011; Štih in sod., 2008).

Vprašanje širjenja kmetijske kulture v Evropo je bilo v preteklosti polarizirano na dva osnovna koncepta:

- model demskega širjenja, ki je zagovarjal tezo širjenja kmetijske kulture s širjenjem neolitskih kmetov z Bližnjega vzhoda. Omenjena teza je bila podprta z arheološkimi, lingvističnimi ter genetskimi dokazi, saj je zagovarjala porazdelitev alelov pri sodobnih populacijah s širjenjem kmetijskih populacij v Evropo (Cavalli-Sforza, 1996; Pinhasi in sod., 2012; Renfrew, 1992),
- model kulturnega širjenja, ki je pripisoval tranzicijo kmetijske kulture na podlagi t. i. kulturne difuzije, pri čemer so avtohtoni prebivalci sprejeli kmetijski način življenja na podlagi stikov z naprednejšimi oblikami neolitske kulture, pri tem pa naj ne bi prišlo do večjih demografskih migracij z Bližnjega vzhoda (Pinhasi in sod., 2012).

Obema modeloma širjenja kmetijstva so sledile tudi genetske študije, katerih rezultati so bili velikokrat nasprotujoči si, saj so skušale zagovarjati enega izmed navedenih modelov. Ocene genetskega prispevka bližnjevhodnih kmetov v genetsko strukturo sodobnih evropskih populacij so bile nasprotujoče si, saj so znašale 20–70 odstotkov (Belle in sod., 2006; Bosch in sod., 2001; Chikhi in sod., 2002; Dupanloup in sod., 2004; Pinhasi in sod., 2012; Richards in sod., 1996; Richards in sod., 2000; Richards in sod., 2002; Rosser in sod., 2000; Semino in sod., 2004; Torroni in sod., 1998; Torroni in sod., 2000).

Z razvojem in s širjenjem agrikulture je povezanih več linij kromosoma Y in mtDNA. Zgodne študije na osnovi bialelnih označevalcev kromosoma Y so pokazale frekvenčni gradient haploskupin J2 (M172), E1b1b1 (M35), F (M89) in G (M201), z maksimumom na Bližnjem vzhodu, kar so pojasnili z demsko difuzijo neolitskih kmetov v Evropo, ki naj bi skupno znašala 22 odstotkov današnjega evropskega genetskega nabora (Cruciani in sod., 2004; Giacomo in sod., 2004; Semino in sod., 2000; Semino in sod., 2004). Podobno kot analiza linij kromosoma Y je tudi analiza prvih naseljencev (angl. founder analysis) na osnovi mtDNA pokazala nizek prispevek bližnjevhodnih neolitskih linij v genetski strukturi evropskih populacij (Richards in sod., 2000), kar je bilo dodatno potrjeno tudi na starodavni DNA z neolitskih arheoloških najdišč (Haak in sod., 2005). Poznejše študije so pomen neolitskih migracij še dodatno zmanjševale in omejile na posamezne linije specifičnih haploskupin (J2b2 (M241)), medtem ko so na podlagi nizke frekvence in raznovrstnosti haploskupine E1b1b1a1b (V13) predlagale evropski mezolitski izvor omenjene haploskupine ter posledično kulturno širjenje kmetijstva na območje Balkana in širše (Battaglia in sod., 2009; Cruciani in sod., 2007).

Vprašljivost paleolitske genetske kontinuitete evropskih populacij je nakazala študija iz leta 2009, v kateri je analiza na starodavni DNA z arheoloških najdišč lovsko-nabiralniških in neolitskih družb pokazala genetsko diskontinuiteto (Bramanti in sod., 2009). Velik vpliv neolitika na genetsko strukturo Evropejcev je pokazala tudi študija iz leta 2010 (Balaresque in sod., 2010), ki je zajela 2574 evropskih vzorcev in je pokazala širjenje haploskupine R1b1b (M269) z Bližnjega vzhoda čez Anatolijo v neolitiku ter tako umestila izvor velikega dela Evropejcev v čas neolitske tranzicije. Omenjena študija je tako zanikala

hipoteze starejših študij o paleolitskemu izvoru haploskupine R1b v Evropi. Omenjene zaključke je potrdila tudi nova študija na starodavni DNA z neolitskih arheoloških najdišč, ki je potrdila afiniteto neolitskih kmetov Srednje Evrope (arheološka najdišča linearnotrakaste keramike) z Bližnjim vzhodom (Haak in sod., 2010). Kljub temu pa nekatere študije nakazujejo diskontinuiteto med neolitskimi in sodobnimi populacijami v določenih pokrajinah, kar kaže na kompleksne in pokrajinsko specifične demografske procese pri prehodu Evrope v neolitik (Bramanti in sod., 2009; Lacan in sod., 2011; Malmstrom in sod., 2009).

Z evropsko neolitsko tranzicijo je povezan tudi prihod indoevropskega jezika v Evropo, o čemer govori anatolska hipoteza Renfrewa, ki postavlja prvotno domovino indoevropejcev v neolitsko Anatolijo, od koder naj bi se indoevropski jezik širil skupaj z neolitsko kmetijsko kulturo pred okoli 10.000 leti (Renfrew, 1987). Na prvi pogled nasprotujoča kurganska hipoteza Gimbutasove postavlja prvotno domovino indoevropejcev na območje pontsko-kaspijske stepi pred okoli 5000 leti, kjer so arheološka izkopavanja odkrila veliko kurganskih grobov (skeletni pokopi v obliki gomil). Na območju kurganskih grobov so bila med drugim najdena tudi bronasto orožje ter okostja konjev in bojnih vozov, kar naj bi dalo takratnim indoevropejcem pri širjenju proti zahodu (in vzhodu) vojaško in gospodarsko premoč nad tedanjo evropsko populacijo (Gimbutas, 1956, cit. po Wells in sod., 2001). Kurganska hipoteza je dobila genetsko osnovo leta 2001 (Wells in sod., 2001), ko je bila širitev kurganske kulture povezana s širitevijo specifične haploskupine R1a1a (M17), vendar je bilo pozneje izračunano, da starost haploskupine R1a1a presega starost ocenjene indoevropske jezikovne skupine, prav tako omenjene haploskupine skorajda ne zaznamo pri nekaterih današnjih indoevropskih jezikih (npr. keltskih in semitskih) (Underhill in sod., 2010). Obe, na prvi pogled izključujoči se, teoriji je povezal med seboj Cavalli-Sforza (Cavalli-Sforza, 2001). Po njegovi teoriji je bil prvotni kraj indoevropske današnja Turčija pred okoli 10.000 leti, od koder naj bi se del neolitskih kmetov preselil v pontsko-kaspijske stepi, kjer se je zatem razvila kurganska kultura. Širjenje indoevropskega jezika v Evropo naj bi tako po njegovi hipotezi potekalo iz severne in južne smeri (Cavalli-Sforza, 2001). Obdobje brona pred okoli 5000 leti je z novimi izumi močno spremenilo kulturno podobo takratne Evrope, kako je vplivalo na genetsko strukturo takratnih populacij, pa za zdaj ni znano. Bronasta doba (predvsem pozna bronasta doba (13.–9. st. pr. n. št.)) je tudi na slovenskem prostoru povezana z velikimi spremembami v materialnem in duhovnem smislu takratnih prebivalcev. Za mlajšo bronasto dobo je značilna kultura žarnih grobišč, kar pomeni glede na starejša obdobja (s skeletnimi grobnimi gomilami) veliko spremembo v socialnem, duhovnem in kulturnem življenju takratnih ljudi (Štih in sod., 2008).

V šestem stoletju našega štetja so današnji slovenski prostor začela naseljevati slovanska plemena. Zgodovinsko naseljevanje slovanskih plemen na velik del evropske celine je eden izmed zanimivejših delov evropske zgodovine, saj je slovanskim plemenom uspelo v razmeroma kratkem času (nekaj stoletij) naseliti velik del Evrope. Kraj izvora prvih

slovanskih plemen je še vedno predmet razprav med različnimi strokovnjaki, ki postavljam na podlagi analiz toponimov, etnonimov in arheoloških ostankov različne hipoteze o izvoru Slovanov oz. o slovanski domovini (Schenker, 1995). Kljub temu pa se je izoblikovalo večinsko mnenje, da lahko domovino Slovanov umestimo v srednje porečje reke Dnjeper v današnji Ukrajini (Barford, 2001). Genetska študija slovanskih populacij na podlagi označevalcev Y-STR DNA je potrdila porečje reke Dnjeper kot možno lokacijo slovanske domovine (Rebala in sod., 2007). Beseda Slovani se prvič pojavi v srednjeveških besedilih bizantinskih piscev, v katerih se v oblikah *Sklavenoi*, *Sklabenoi* itd. rabi za ljudstva, ki so ogrožala meje bizantinskega cesarstva. V zgodnjih srednjeveških in srednjeveških besedilih so Slovani poimenovani z besedami *Sklaveni*, *Sclavini*, *Sclavi*, *Schlavi*, *Sclavenia*, *Sclavinia* in *Slavania*. Poleg besede *Sclavi* so nekateri zahodni učenjaki (Fredegar leta 660) uporabljali tudi besedo *Wendi* (nem. *Wenden*), pri čemer velja poudariti, da so izraz *Veneti* uporabljali že antični pisci za ljudstva na vzhodnem delu germanskih ozemelj (Barford, 2001). O izvoru besede Slovan sta vsaj dve različni hipotezi; po prvi je izvorna beseda slava, po drugi pa slovo ('beseda, govor'), torej, kot nekdo, ki ga razumejo in govori slovanski jezik. Po drugi strani so Slovani germanske sosede imenovali Nemci, tj. kot nekoga, ki je nem oz. ne govori slovanskega jezika (Barford, 2001). Širitev Slovanov na nova ozemlja je še vedno proces, ki je slabo pojasnjen. Kljub temu pa širjenje Slovanov in slovanske kulture ni bil enkratni proces, temveč ga lahko jemljemo kot širjenje, ki je potekalo v več stopnjah oz. v ponavljajočih se migracijskih valih. Širjenje Slovanov na nova ozemlja je običajno pomenilo popolno opustitev kulture staroselcev (prvotnih prebivalcev), propad škofij in mest ter uveljavitev slovanske materialne in duhovne kulture. Popolna opustitev staroselske kulture pa ni nujno pomenila izgon oz. iztrebljenje staroselskega prebivalstva (Barford, 2001; Grafenauer, 1950; Štih in sod., 2008). Območje današnje Slovenije in širše je bilo po naselitvi Slovanov priča mešanici kultur različnih ljudstev, od slovanskih, avarskih, karolinških vzhodnorimskih in do rimskeih antičnih ostankov. Ohranitev staroselskega prebivalstva nakazuje tudi obstoj toponimov, ki vključuje besedo *Vlah*, kot so Slovani imenovali romanske staroselce (Grafenauer, 1950).

Slovansko naseljevanje na območje današnje Slovenije je potekalo iz dveh različnih smeri. Prvi slovanski val je prišel s severa okoli leta 550, kjer naj bi Slovani naselili ozemlje ob Donavi med Travno in Dunajsko kotlino, do leta 580 pa Panonijo, dolino Mure in vzhodno Koroško. Drugi val naj bi prišel z vzhoda, kjer naj bi v osemdesetih letih šestega stoletja prekrili Celjsko in Ljubljansko kotlino, Rož in Ziljsko dolino, zgornjo dolino Drave in Sočo (Grafenauer, 1950; Žužek, 2007). Nekatere novejše interpretacije zgodovine naseljevanja Slovanov na današnje ozemlje Slovenije postavljajo hipotezo o močnejšem severnem slovanskem naselitvenem valu, postavljenem v rahlo poznejšem časovnem okvirju (Žužek, 2007).

Slovani so z genetskega stališča nosilci različnih haploskupin kromosoma Y, s prevladujočima haploskupinama R1a1a (M17) in I2a1 (P37.2, xM26) (Pericic in sod.,

2005). Študija slovanskih populacij iz leta 2005 (Pericic in sod., 2005) je pokazala najvišjo frekvenco haploskupine I2a1 pri hercegovski populaciji (64 %) in bosanski populaciji (52 %), pri čemer haploskupina I2a1 ohranja visoko frekvenco (30 %) tudi pri slovanskih populacijah Jugovzhodne Evrope in se postopoma znižuje pri slovanskih populacijah Srednje in Vzhodne Evrope (7–22 %). Haploskupina R1a1a, ki je v evropski populaciji pogosta med Slovani in Ugro-Finci, je v omenjeni študiji pokazala upadanje frekvence v smeri juga in zahoda, s 25–34-odstotno frekvenco pri hrvaški populaciji ter z 12–16-odstotno pri bosanski, hercegovski in srbski populaciji. Omenjena študija je pokazala tudi visoko frekvenco haploskupine E1b1b1a1 (M78) pri balkanskih populacijah kot posledico zgodovinskih migracij z območja rodovitnega polmeseca. Študija iz leta 2007, ki je temeljila na mikrosatelitni analizi slovanskih populacij (Rebala in sod., 2007), je pokazala obstoj dveh skupin med slovanskimi populacijami. Prva, ki izkazuje precejšnjo genetsko homogenost, obsega zahodno- in vzhodnoslovanske populacije, skupaj s slovensko in zahodnorvaško populacijo, kar pripisujejo homogenemu genetskem jedru prvoBitne slovanske populacije. Druga skupina je zajemala južnoslovanske populacije, pri čemer je njen genetsko diferenciacijo od preostalih slovanskih narodov pojasnjevala s prihodom in z genetskim mešanjem ugro-finskih in turških populacij. Študija zahodnoslovanskih populacij na osnovi mikrosatelitnih označevalcev (Wozniak in sod., 2010) je pokazala na genetsko oddaljenost zahodnoslovanskih populacij v primerjavi z rusko populacijo in določila nov haplotip Y-STR, značilen za zahodnoslovanske populacije. Obstoj haplotipa, ki se nahaja pri višjih frekvencah znotraj zahodnoslovanskih populacij, je bil potrjen pri podrobni analizi haploskupine R1a1 evropskih populacij (Underhill in sod., 2010). Analiza haploskupine R1a1 je odkrila nov genetski označevalec M458, ki pripada haploskupini R1a1a1b1a1 in za katero je značilen omenjeni haplotip. Frekvenca haploskupine R1a1a1b1a1 doseže najvišjo stopnjo pri poljski populaciji (čez 30 %), medtem ko je pri južnoslovanskih populacijah manj pogosta (Underhill in sod., 2010).

Leta 2003 je bila objavljena študija variabilnosti mtDNA, ki je vključevala slovenske in ruske vzorce (Malyarchuk in sod., 2003). Študija je pokazala prisotnost značilnih zahodnoevrazijskih haploskupin pri obeh populacijah, pri čemer je bila opažena genetska razlika med bosansko in slovensko populacijo, kar avtorji razlagajo kot posledico dveh različnih migracijskih poti v srednjem veku. Raziskava iz leta 2007 (Grzybowski in sod., 2007), ki je vključevala poljsko in rusko populacijo, je pokazala vlogo ugro-finskih plemen pri nastajanju nabora mtDNA pri ruski populaciji. Novejša študija ruske populacije (Morozova in sod., 2012) pa je pokazala, da je današnja struktura ruskega genetskega nabora mtDNA posledica genetske strukture slovanskih plemen med srednjeveško kolonizacijo vzhodnoevropskih ravnic. Študija celotnega mitohondrijskega genoma iz leta 2013, ki je vključevala zahodno- in vzhodnoslovanske populacije, je odkrila številne linije mtDNA, značilne za Srednjo in Vzhodno Evropo (H5a1f, H5a2, H5a1r, H5a1s, H5b4, H5a1a, H5u1 in nekatere podskupine H5a1a in H6a1a9), ki jim lahko sledimo okoli 4000

let nazaj v zgodovino, kar naj bi nakazovalo delno naseljevanje Slovanov v predele Srednje in Vzhodne Evrope že v bronasti in železni dobi (Mielnik-Sikorska in sod., 2013).

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 VZORCI IN IZOLACIJA DNA

V študijo so bili vključeni skupaj 403 vzorci slovenskih krvodajalcev (Zavod za transfuzijsko medicino Republike Slovenije) iz petih različnih slovenskih pokrajin (Primorska, Gorenjska, Dolenjska, Štajerska in Prekmurje). Vzorci polne krvi so bili zbrani na naslednjih lokacijah:

- Primorska (N = 49): Tolmin (N = 36), Idrija (N = 13);
- Gorenjska (N = 55): Škofja Loka (N = 52), Kranj (N = 3);
- Dolenjska (N = 113): Črnomelj (N = 69), Metlika (N = 39), Ivančna Gorica (N = 5);
- Štajerska (N = 104): Žalec (45), Mozirje (N = 36), Brežice (N = 23);
- Prekmurje (N = 82): Lendava.

Vključevalna kriterija v populacijsko študijo sta bila kraj rojstva in kraj bivanja v pokrajini, v kateri je potekalo vzorčenje. Genomska DNA je bila izolirana iz levkocitov periferne krvi z metodo izsoljevanja (Miller in sod., 1988). Količina izolirane DNA je bila določena z merjenjem absorbance pri 260 nm s spektrofotometrom NanoDrop-1000 (Thermo Scientific, ZDA). Preverjeno je bilo razmerje absorbacij pri A260/A230, katerega meja za ustrezno čistost je nad 1, in A260/A280, katerega meja za ustrezno čistost je nad 1,8.

Z namenom določanja genetskih razmerij med slovensko in nekaterimi drugimi evropskimi populacijami so bili pridobljeni populacijski podatki kromosoma Y iz naslednjih raziskav: frekvence haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y za hrvaško (N = 108), bosansko in hercegovsko (N = 210), srbsko (N = 113) in makedonsko (N = 79) populacijo so bile pridobljene iz raziskave Pericic in sod. (2005). Frekvence haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y za Poljsko (N = 99), Češko (N = 75), Slovaško (N = 80) in severovzhodno Italijo (N = 67) so bile pridobljene iz raziskave Battaglia in sod. (2009). Frekvence haploskupin bialelnih označevalcev za Madžarsko (N = 215) so bile pridobljene iz raziskave Volgyi in sod. (2009), za Črno goro (N = 404) iz raziskave Mirabal in sod. (2010), za Avstrijo (N = 616) iz raziskave Niederstatter in sod. (2012) in za Bolgarijo (N = 100) iz raziskave Martinez-Cruz in sod. (2012). Za podrobnejšo študijo haploskupin R1b in R1a so bili uporabljeni podatki iz študije Myres in sod. (2010) in iz študije Underhill in sod. (2010).

Podatki Y-STR so bili pridobljeni iz raziskave Berger in sod. (2005), za populacijo Avstrije (N = 219); iz raziskave Zaharova in sod. (2001), za populacijo Bolgarije (N = 148); iz raziskave Klarić in sod. (2005), za populacijo Bosne in Hercegovine (N = 181); iz raziskave Wozniak in sod. (2007), ter Wozniak in sod. (2010), za populacijo Češke (N = 196), Slovaške (N = 80) in Poljske (N = 370); iz raziskave Derenko in sod. (2006), Derenko in sod. (2007), Roewer in sod. (2008), Wozniak in sod. (2007) ter Wozniak in

sod. (2010), za populacijo evropskega dela Rusije ( $N = 950$ ); iz raziskave Barac in sod. (2003), za populacijo Hrvaške ( $N = 457$ ); iz raziskave Volgyi in sod. (2009), za populacijo Madžarske ( $N = 215$ ), iz raziskave Jakovski in sod. (2011), za populacijo Makedonije ( $N = 262$ ), iz raziskave Turrina in sod. (2006), za populacijo severovzhodne Italije ( $N = 155$ ) in iz raziskave Mirabal in sod. (2010), za populacijo Srbije ( $N = 179$ ) in Črne gore ( $N = 404$ ).

Z namenom določanja genetskih razmerij med slovensko in nekaterimi drugimi evropskimi populacijami so bili pridobljeni populacijski podatki mtDNA iz naslednjih raziskav: Achilli in sod. (2007), za populacijo Avstrije ( $N = 99$ ), Bosne in Hercegovine ( $N = 144$ ), Češke ( $N = 83$ ), Estonije ( $N = 558$ ), Italije ( $N = 346$ ), Latvije ( $N = 299$ ), Poljske ( $N = 542$ ), Romunije ( $N = 94$ ), Slovaške ( $N = 129$ ), Švice ( $N = 228$ ) in Turčije ( $N = 340$ ); Babalini in sod. (2005), za populacijo Hrvaške ( $N = 96$ ); Karachanak in sod. (2012) ter Richards in sod. (2000), za populacijo Bolgarije ( $N = 996$ ); Achilli in sod. (2007) ter Hedman in sod. (2007), za populacijo Finske ( $N = 312$ ); Achilli in sod. (2007) ter Richard in sod. (2007), za populacijo Francije ( $N = 332$ ); Achilli in sod. (2007), Brandstatter in sod. (2006), Lutz in sod. (1998), Richards in sod. (2000) ter Tetzlaff in sod. (2007), za populacijo Nemčije ( $N = 905$ ); Brandstatter in sod. (2007) ter Brandstatter in sod. (2008), za populacijo Madžarske ( $N = 533$ ) in Achilli in sod. (2007) ter Irwin in sod. (2010), za populacijo Rusije ( $N = 549$ ).

Podatki o haplotipih mtDNA so bili pridobljeni iz naslednjih raziskav: Congiu in sod. (2012) ter Malyarchuk in sod. (2003), za populacijo Bosne in Hercegovine ( $N = 144$ ); Congiu in sod. (2012) ter Irwin in sod. (2007), za populacijo Madžarske ( $N = 211$ ); Congiu in sod. (2012) ter Rousselet in Mangin, (1998), za populacijo Francije ( $N = 50$ ); Congiu in sod. (2012) ter Tagliabruni in sod. (2001), za populacijo Italije ( $N = 83$ ); Congiu in sod. (2012) ter Lutz in sod. (1998), za populacijo južne Nemčije ( $N = 200$ ); Congiu in sod. (2012) ter Poetsch in sod. (2003), za populacijo severovzhodne Nemčije ( $N = 300$ ); Congiu in sod. (2012) ter Vanecek in sod. (2004), za populacijo Češke ( $N = 93$ ); Baasner in sod. (1998) ter Congiu in sod. (2012), za populacijo zahodne Nemčije ( $N = 50$ ); Congiu in sod. (2012) ter Pereira in sod. (2000), za populacijo Portugalske ( $N = 241$ ); Alvarez in sod. (2007) ter Congiu in sod. (2012), za populacijo Španije ( $N = 312$ ); Alvarez in sod. (2007) ter Congiu in sod. (2012), za populacijo Švice; Congiu in sod. (2012) ter Malyarchuk in sod. (2008), za populacijo Slovaške ( $N = 70$ ); Congiu in sod. (2012) ter Zgonjanin in sod. (2010), za populacijo Srbije ( $N = 104$ ) in Congiu in sod. (2012); Parson in sod. (1998) za populacijo Avstrije ( $N = 101$ ).

V grafičnih predstavitevah so uporabljene dvo-, tri- in štiričrkovne kode za posamezne države: Avstrija (AT), Bolgarija (BUL), Bosna in Hercegovina (BIH), Češka (CZE), Slovaška (SVK), Slovenija (SLO), Poljska (POL), evropski del Rusije (RUS), Hrvaška (CRO), Madžarska (HUN), Makedonija (MK), severovzhodna Italija (ITA), Srbija (SRB), Črna gora (ME), Estonija (EST), Finska (FIN), Francija (FRA), Nemčija (GER), Latvija (LAT), severovzhodna Nemčija (GNE), Portugalska (POR), Romunija (ROM), južna

Nemčija (GRS), Španija (SPA), Švica (SWI), Turčija (TUR), zahodna Nemčija (GRW), Gorenjska (UC), Dolenjska (LC), Primorska (LITT), Štajerska (STY) in Prekmurje (PRM).

### 3.2 POMNOŽEVANJE DNA IN GENOTIPIZACIJA

#### 3.2.1 Bialelni označevalci kromosoma Y

V študiji je bilo analiziranih 42 bialelnih označevalcev kromosoma Y, pri čemer se je upoštevalo hierarhično zaporedje bialelnih označevalcev kromosoma Y, v skladu s priporočili mednarodnega konzorcija za raziskovanje kromosoma Y (Karafet in sod., 2008) in Mednarodnega združenja za genetsko genealogijo haplotipov (International Society of Genetic Genealogy Haplotype; <http://www.isogg.org/tree/>). Uporabljeni so bili naslednji označevalci:

SRY10831.1 (Hammer in sod., 1998), YAP (Hammer in Horai, 1995), M215 (Underhill in sod., 2001), M78 (Underhill in sod., 2001), M201 (Underhill in sod., 2001), P15 (Hammer in sod., 2000), M286 (Cinnioglu in sod., 2004), M170 (Underhill in sod., 2001), M253 (Cinnioglu in sod., 2004), M21 (Underhill in sod., 1997), M227 (Underhill in sod., 2001), P109 (Wilder in sod., 2004), P259 (Karafet in sod., 2008), P215 (Karafet in sod., 2008), P37.2 (YCC, 2002), M223 (Underhill in sod., 2001), M423 (Underhill in sod., 2007), M26 (Underhill in sod., 2001), 12f2 (Rosser in sod., 2000), M172 (Underhill in sod., 2001), M410 (Sengupta in sod., 2006), M12 (Underhill in sod., 1997), M207 (Underhill in sod., 2001), M173 (Underhill in sod., 2001), M420 (Underhill in sod., 2010), SRY10831.2 (Hammer in sod., 1998), M198 (Underhill in sod., 2001), M434 (Underhill in sod., 2010), M458 (Underhill in sod., 2010), M334 (Underhill in sod., 2010), M343 (Cinnioglu in sod., 2004), P297 (Karafet in sod., 2008), M269 (Cruciani in sod., 2002), L23 (Myres in sod., 2010), M412 (Myres in sod., 2010), L11 (Myres in sod., 2010), S116 (Myres in sod., 2010), U152 (Karafet in sod., 2008), M126 (Underhill in sod., 2001), M160 (Underhill in sod., 2001), U106 (Karafet in sod., 2008) in U198 (Karafet in sod., 2008).

Bialelni označevalci so bili analizirani z analizo talilne krivulje pri visoki ločljivosti (angl. High Resolution Melt Analysis – HRM), z izjemo insercije YAP in preuređitve p12f2, ki sta bili analizirani z agarozno gelsko elektroforezo. Analiza HRM je bila izvedena z aparatom Qiagen Rotor Gene-Q (Qiagen, Nemčija) in s kompletom Qiagen Type-IT HRM PCR (Qiagen, Nemčija) glede na priporočila proizvajalca. Začetni oligonukleotidi so bili prilagojeni analizni metodi HRM (preglednica 1), z izjemo začetnih oligonukleotidov za označevalca YAP in p12f2 (Hammer in Horai, 1995; Rosser in sod., 2000). Pred začetkom analize z metodo HRM se je specifični odsek kromosoma Y pomnožil z reakcijo PCR s polimerazo HotStart Taq (Qiagen, Nemčija). Reakcija PCR je potekala v reakcijskem volumnu 15 µL, z dodanim 1X HRM PCR Master Mix (Qiagen, Nemčija), 0,24 µM oligonukleotidi in s 15 ng vzorca DNA (v primeru nespecifičnega pomnoževanja je bila v reakcijsko mešanico dodana raztopina 5X Q (Qiagen, Nemčija)). Pogoji pomnoževanja in

analiza HRM so bili izbrani glede na priporočila proizvajalca: pet minut začetne denaturacije pri 95 °C; 40 ciklov; 10 sekund denaturacije pri 95 °C, 30 sekund pripajanja začetnih oligonukleotidov pri optimizirani TA in podaljševanje ter analiza HRM od 65 do 95 °C pri dviganju temperature za 0,1 °C. Fluorescenčni signal se je zaznavalo med procesom podaljševanja in analizo HRM, na zelenem kanalu in kanalu HRM. Analiza rezultatov HRM je bila izvedena s programsko opremo Rotor-Gene Q Series Software 2.0.2.

Rezultat analize HRM je bil potrjen z določanjem nukleotidnega zaporedja s sekvenciranjem po Sangerjevi metodi na sekvenatorju DNA ABI Prism 310 (Applied Biosystems, ZDA). Produkte analize HRM smo očistili s kompletom za čiščenje produktov reakcije PCR QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Nemčija) po navodilih proizvajalca. Očiščene produkte reakcij PCR smo uporabili za sekvenčno reakcijo, ki je vsebovala 2 µl terminatorja BigDye, redčenega v razmerju 1 : 1 s sekvenčnim pufrom (Applied Biosystems, ZDA), 1 µl začetnega oligonukleotida, 1 µl očiščenega produkta PCR in do 10 µl dH<sub>2</sub>O. Sekvenčna reakcija je potekala pri naslednjih pogojih: začetna denaturacija 20 sekund pri 96 °C; 25 ciklov s hitrostjo temperturnih prehodov 1 °C/s (denaturacija 20 s pri 96 °C; pripajanje začetnih oligonukleotidov 10 sekund pri 50 °C; podaljševanje verige štiri minute pri 60 °C). Produkte DNA, dobljene pri sekvenčni reakciji, smo očistili z obarjanjem v etanolu po navodilih proizvajalca (Applied Biosystems, ZDA). Očiščene produkte smo raztopili v deioniziranem formamidu (Applied Biosystems, ZDA) in jih denaturirali eno minuto pri 95 °C, zatem pa ohladili na ledu.

### 3.2.2 Mikrosatelitni označevalci kromosoma Y

V študiji je bilo analiziranih 17 različnih mikrosatelitnih označevalcev (DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS385a/b, DYS437, DYS438, DYS439, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 in GATA H4). Mikrosatelitni označevalci so bili pomnoženi v reakciji PCR s kompletom AmpFlSTR Yfiler (Applied Biosystems, ZDA), glede na priporočila proizvajalca: enajst minut začetne denaturacije pri 95 °C; 30 ciklov; ena minuta denaturacije pri 94 °C, ena minuta pripajanja začetnih oligonukleotidov pri 61 °C; ena minuta podaljševanja pri 72 °C; osemdeset minut končnega podaljševanja pri 60 °C.

Uspešno pomnoženi produkti PCR so bili razredčeni v razmerju 1 : 7. 1 µL smo dodali 0,6 µL standarda LIZ ter 19,4 µL deioniziranega formamida (Applied Biosystems, ZDA). Tako pripravljene vzorce smo denaturirali tri minute pri 95 °C in jih nato analizirali pri standardnih pogojih v kapilari dolžine 36 cm in polimeru POP-4 (Applied Biosystems, ZDA). Podatke smo analizirali z računalniškim programom GeneScan 3.7 (Applied Biosystems, ZDA).

Preglednica 1: Nukleotidna zaporedja začetnih oligonukleotidov NRY, dolžina produktov PCR in temperatura pripajanja ( $T_A$ ). Znak Q pomeni dodatek raztopine Q v reakcijski mešanici PCR.

Table 1: Primer sequences of NRY, length of PCR amplificon and annealing temperature ( $T_A$ ). Q denotes the addition of Q solution in PCR reaction.

	<b>SNP</b>	<b>Začetni oligonukleotid (5'-3')</b>	<b>Dolžina (bp)</b>	<b><math>T_A</math> (°C)</b>
1	M78.F	TCAGTGGTTCTGCATTACTCCGT	183	58
	M78.R	GAGCTATAGTGTCCCTCACCTTC		
2	M170.F	GTTTGTCAAATAATTGAGCTCT	167	62 Q
	M170.R	ACTTTCAACATTAAAGACCACACA		
3	M173.F	GCACAGTACTCACTTAGGTTGC	147	58
	M173.R	AAACACTGGCTTATCATTCTG		
4	M207.F	TCAGAAGTATCCCTGAAGAAGGA	126	58
	M207.R	AGGTCACTTCAACCTCTGTTGGA		
5	M215.F	CATCCCAGAAATATAACACAGAAC	183	58 Q
	M215.R	AATCCAGCACAGAAC		
6	M253.F	AGATGCTCAGCTAACTAGTCCTGT	120	58 Q
	M253.R	TGTAGCAACTGTATGTAGCAAGCA		
7	M343.F	TGTCTTCACGTAGCCGAGAGAA	149	58
	M343.R	ACCTTGTCCTCTTGCTCTTCCC		
8	YAP.F	CAGGGGAAGATAAAGAAATA	150 (455)	53
	YAP.R	AAGCCACTATTAGACAACCT		
9	P37.2.F	GGCTGCAGGTCTTAAGAGAGTGT	150	62 Q
	P37.2.R	GGAATCCATTAGATGGTGTGGG		
10	P215.F	TTGGTAAGGGACTAGTGGCTGCAT	148	58
	P215.R	AGCTTCCACAAATTACTACACACACA		
11	12f2a.F	CTGACTGATAAAATGCTTACAGATC	88	58 Q
	12f2a.R	GGATCCCTTCCTTACACCTTATAC		
12	M201-F	TCAGATCTAATAATCCAGTATCAACTGAGG	142	58
	M201-R	ACGCCCTTGGTGGCATAGTATCT		
13	M223-F	TGTCTAGGAAAGTCGTGGAGGCAA	117	58
	M223-R	CCGCTGGAGCTGCACATTGATAAA		
14	SRY10831-2.F	ACACAAGGCACCACATAGGTGAAC	187	58
	SRY10831-2.R	TGGGATCATTCACTGATCTGGCCTC		
15	M21-F	CTCTGTATGTTGGAGAGAAATCAAAGGTC	110	58
	M21-R	ACAAACTGGAAGCTAAGTCAACTG		
16	M26-F	TCACAGCAGAAGAGACCAAGACAGC	124	58
	M26-R	TCATAGGCCATTCACTGTTCTCT		
17	SRY10831-1.F	ACACAAGGCACCACATAGGTGAAC	187	58
	SRY10831-1.R	TGGGATCATTCACTGATCTGGCCTC		
18	M172-F	GCCTCTCAGTATCAACAGGT	130	58
	M172-R	AGGTACAGAGAAAGTTGGACT		
19	M198-F	GCCATTCCAGTCATGATGAGGT	148	58
	M198-R	CTTGTGATAGCATGCCGTTGCCT		

se nadaljuje...

Nadaljevanje preglednice 1: Nukleotidna zaporedja začetnih oligonukleotidov NRY, dolžina produktov PCR in temperatura pripajanja ( $T_A$ ). Znak Q pomeni dodatek raztopine Q v reakcijski mešanici PCR.

Continuation of table 1: Primer sequences of NRY, length of PCR amplificon and annealing temperature ( $T_A$ ). Q denotes the addition of Q solution in PCR reaction.

	<b>SNP</b>	<b>Začetni oligonukleotid (5'-3')</b>	<b>Dolžina (bp)</b>	<b><math>T_A</math> (°C)</b>
20	M227-F	TTCCTCGACTGTCAGGCTAA		
	M227-R	GCCTTCGGTGTAGGCAAAGAAA	87	58
21	M269-F	TGATCATGCCTAGCCTCATTCCCTC		
	M269-R	TGCCTTCTGAGGCACATATGATAA	147	58
22	M286-F	GGATATACCAAGTCTGGATAGCGG		
	M286-R	TAGCTTCAAGCAATCCACCCACCT	143	58
23	M410-F	AATGGAGACCTAGTGGAGGCTTCT		
	M410-R	AAACCATGCAGGCTGGAAGAGTAG	128	58
24	P15-F	ACAGGCACACTCAACAGACAGTGA		
	P15-R	TGCAACTTTCATCTGCCTTCAG	114	58
25	M434.F	<u>TTCCCAGGTTCAAGCGATT</u>		
	M434.R	TGGTGAAACCCCTGTCTCTACTA	114	54 Q
26	M126.F	AGTTGCTCCAAGCAGAACAGTCAAC		
	M126.R	GCTTGGCAACATCTCGGGAAACA	149	59
27	P109-F	GGTACTATGTTCACCTCCTGGGAGTA		
	P109-R	CTGCGCCTGCCCTTCTTTATT	113	58
28	P259-F	TGTCAGGCTAACAGACTCCTCTTC		
	P259-R	TTGCCTCGGTGTAGGCAAAGA	80	58
29	P297-F	AGAGAGACAGGTGTCTGACTCAA		
	P297-R	ACTGTTGGAAAGGAACATAGCCA	115	58
30	M334-F	TCTTGATGCCACGTAGCTGGAAA		
	M334-R	AAGAGGGACTGTGGTAAAGTGCT	89	58
31	M458-F	AAGTGACTTACAGCTCAGGTGCCA		
	M458-R	TGGACATCGTGTCTTCCAGACCT	139	58
32	M420-F	AAATGGTGGAAAGCAGATTGGCCTG		
	M420-R	GGGACCATATTCCCAAATACTGCTT	101	54 Q
33	M160.F	ACATGACAGGAATATATTGA		
	M160.R	CCTCTGAACGTCTAACCA	178	59
34	L23.F	AAATTGTGCCACTGCACTCCAGC		
	L23.R	GGGTAGATGGCTAGTAATAAGATTGTGGG	110	59
35	M412.F	CCAGCTGAACAGGTGCTTCATTGT		
	M412.R	TTACAGGTGAAGTGGACCCATAC	150	58
36	L11.F	GACATGTGTGATGTCTTCTCCACC		
	L11.R	CTGGCTTCTCAAAGCACCCACAT	141	59
37	U106.F	GCTCTGGTCATAGGGATTCTGAATAG		
	U106.R	ACCTGAAATGACACCTGGAGGGAA	150	59
38	S116.F	AGGTCCCTGCTAATGTATCTGCTGC		
	S116.R	AGCTGACTTCAGATCCAGTGCTCA	138	59
39	U152.F	GTCAATGGTAGTTAATGGGAGTAGC		
	U152.R	ACATTCCACGCTTGAGGATAAGA	103	59
40	M12.F	AATAATGGCTCACTGCAAGCCTC		
	M12.R	CTGAGCAACATAGTGACCC	146	52
41	M423.F	CTTAATGTCCTGGAGGTCTG		
	M423.R	GCCTTCCAGTTGTAGATAACGAT	110	59
42	U198.F	TCATCATTGCATGGGTATAACTG		
	U198.R	TTAGGTTCTATGGTGATTGAACCT	77	59

### 3.2.3 Analiza mtDNA

Z namenom določitve SNP v hipervariabilni regiji mtDNA (HVR) smo določili nukleotidno zaporedje HVR-I (15.997–16.400 np) in HVR-II (30–407) regije s sekvenciranjem po Sangerjevi metodi. Reakcija PCR je potekala v 25 µl volumnu, pri čemer smo uporabili 25 ng DNA, 2,5 µl 10X HotMasterTaq Buffer (5Prime, Nemčija), 0,125 µl polimeraze DNA (5 U/µl, HotMasterTaq, 5Prime, Nemčija), 0,5 µl 5µM začetnega oligonukleotida (Operon, Nemčija) (preglednica 2), 1,75 µl 33 µM mešanice dNTP (Applied Biosystems, ZDA) in do 25 µl H<sub>2</sub>O. Reakcija PCR je potekala po naslednjem programu: dvominutna začetna denaturacija pri 94 °C; 40 ciklov; dvajsetsekundna denaturacija pri 94 °C; desetsekundno pripenjanje začetnih oligonukleotidov pri 59 °C; petindvajsetsekundno podaljševanje pri 65 °C; sedemminutno končno podaljševanje verige pri 65 °C. Produkte pomnoževanja PCR smo čistili s kompletom za čiščenje produktov reakcije PCR QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Nemčija) po navodilih proizvajalca. Očiščene produkte reakcij PCR smo uporabili za sekvenčno reakcijo, ki je potekala po prej opisanem protokolu. Dobljeno nukleotidno zaporedje hipervariabilnih regij je bilo primerjano glede na cambriško referenčno zaporedje mtDNA (Andrews in sod., 1999) in analizirano z računalniškim programom MitoTool (<http://www.mitotool.org/>). Haploskupine, pridobljene z analizo hipervariabilnih regij, smo dodatno potrdili in razčlenili z analizo kodirajočih SNP, z uporabo metode RFLP in sekvenciranja po Sangerjevi metodi. Sekvenciranje po Sangerju je potekalo po prej opisanem protokolu, metoda RFLP pa je bila izvedena po naslednjem protokolu: po pomnoževanju PCR specifičnega odseka mtDNA smo 4 µl produkta PCR dodali 3,2 U restriktijske endonukleaze (New England Biolabs, Velika Britanija), 1 µl ustreznega reakcijskega pufra NEB (New England Biolabs, Velika Britanija), 0,1 µl 100X govejega serumskega albumina BSA (New England Biolabs, Velika Britanija) in do 10 µl dH<sub>2</sub>O. Reakcijsko mešanico smo inkubirali čez noč pri ustreznih temperaturah. Produkte analize RFLP smo detektirali z agarozno gelsko elektroforezo.

Preglednica 2: Nukleotidna zaporedja začetnih oligonukleotidov mtDNA, dolžina produktov PCR in temperatura pripajanja ( $T_A$ ). Znak Q pomeni dodatek raztopine Q v reakcijski mešanici PCR.

Table 2: Primer sequences of mtDNA, length of PCR amplificon and annealing temperature ( $T_A$ ). Q denotes the addition of Q solution in PCR reaction.

	<b>Regija / SNP</b>	<b>Začetni oligonukleotid (5'-3')</b>	<b>Dolžina (bp)</b>	<b><math>T_A</math> (°C)</b>
1	HVR1.F	CTCCACCATTAGCACCCAAAGC		
	HVR1.R	TGATTCACGGAGGATGGTG	446	59
2	HVR2.F	GGTCTATCACCTATTAAACCAC		
	HVR2.R	CTGTTAAAAGTGCATACGCCA	422	59
3	H.(7028TC).F	CTGAGCCCTAGGATTCATCTTC		
	H.(7028TC).R	TCTAGGGTAGCCTGAGAATAG	200	56
4	H1.(3010GA).F	CCAATAACTTGACCAACCGAAC		
	H1.(3010GA).R	AGATAGAAACCGACCTGGATTAC	206	56
5	H11.(8448TC).F	AAGAGAACCAAACACCTCTTACA		
	H11.(8448TC).R	GGGCAATGAATGAAGCGAAC	223	56
6	H3.(6776TC).F	GGCTTCGGAATAATCTCCATA		
	H3.(6776TC).R	GTGTGGCGAGTCAGCTAAATA	232	56
7	H5.(456CT).F	AACAAAGAACCTAACACCAG		
	H5.(456CT).R	GGGTTGGTTGGTTCGG	200	56
8	H6.(16482AG).F	GCACATTACAGTCAAATCCCTTC		
	H6.(16482AG).R	GGGAACGTGTGGCTATTAA	213	56
9	H8.(13101AC).F	GCAGCAGCAGGAAATC		
	H8.(13101AC).R	TGCGAACAGAGTGGTGATAG	210	56
10	HV0,V(15904CT).F	TAGCATCCGTACTATACTTCACAAC		
	HV0,V(15904CT).R	GAATCTTAGCTTGGGTGCTAATG	201	56
11	J1b.(8269).F	ACTACGGTCAATGCTCTGAAAT		
	J1b.(8269).R	CTGTAAGAGGTGTTGGTTCTCT	202	56
12	J1c.(14798).F	ATTCTCGCACGGACTACAAAC		
	J1c.(14798).R	TGTGGTGATTGGAGGATCAG	213	56
13	K1.(1189TC).F	AGACCCAAACTGGGATTAGATAC		
	K1.(1189TC).R	CGGTATATAGGCTGAGCAAGAG	203	56
14	K2.(9716TC).F	GTCCCACCTCTAACACATCC		
	K2.(9716TC).R	GGAAGCCTGTGGCTACAAA	226	56
15	T1.(12633CT).F	CAGCTCTCCCTAACGCTTCAA		
	T1.(12633CT).R	GAACAGTTGGAATAGGTTAGC	201	56
16	T2.(11812AG).F	CACGGGCTTACATCCTCATTAC		
	T2.(11812AG).R	GTGGTTACTAGCACAGAGATTC	200	56
17	U.(12308AG).F	AACAGCTATCCATTGGTCTTAGGCCCTAA		
	U.(12308AG).R	GTAAACGAGGGTGGTAAGGATG	133	53 Q
18	U5b.(7768AG).F	TCATGATCACGCCCTCATATC		
	U5b.(7768AG).R	CGTTGACCTCGTCTGTTATGT	206	56

Preglednica 3: Polimorfna mesta, ki so značilna za haploskupine mtDNA in metode detekcije (znak + pomeni prisotnost restrikcijskega mesta, znak – pa odsotnost restrikcijskega mesta).

Table 3: Polymorphic sites, diagnostic for specific mtDNA haplogroups and methods for their detection ("+" presence of restriction site, "-" absence of restriction site).

	<b>Haploskupina</b>	<b>np</b>	<b>Metoda</b>	<b>Restrikcijska endonukleaza, mesto cepitve in temperatura inkubacije</b>	
1	H	7028CT	RFLP	–	7025 <i>AluI</i> (37 °C)
2	H1	3010GA	RFLP	–	3005 <i>BccI</i> (37 °C)
3	H11	8448TC	sekvenciranje		
4	H3	6776TC	sekvenciranje		
5	H5	456CT	sekvenciranje		
6	H6	16482AG	RFLP	+	16478 <i>DdeI</i> (37 °C)
7	H8	13101AC	sekvenciranje		
8	HV0, V	15904CT	RFLP	+	15904 <i>MseI</i> (37 °C)
9	J1	3010GA	RFLP	–	3005 <i>BccI</i> (37 °C)
10	J1b	8269	sekvenciranje		
11	J1c	14798	sekvenciranje		
12	K1	1189TC	sekvenciranje		
13	K2	9716TC	sekvenciranje		
14	T1	12633CT	sekvenciranje		
15	T2	11812AG	sekvenciranje		
16	U	12308AG	RFLP	+	12311 <i>DdeI</i> (37 °C)
17	U5a	14793AG	sekvenciranje		
18	U5b	7768AG	sekvenciranje		

### 3.3 STATISTIČNA ANALIZA

#### 3.3.1 Analiza genetske diferenciacije med populacijami in AMOVA

Genetska diferenciacija je bila določena z izračunom fiksacijskega indeksa ( $F_{st}$ ), ki je definiran kot

$$F_{st} = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_T^2}, \quad \dots (1)$$

pri čemer je celotna variacija frekvence alelov  $\sigma_T^2$  seštevek variacije frekvence alelov znotraj populacije  $\sigma_b^2$  in variacije frekvence alelov med populacijami  $\sigma_a^2$ .  $F_{st}$ -matrika razdalje med populacijami je bila izračunana v primeru bialelnih označevalcev kromosoma Y in mtDNA. V primeru mikrosatelitnih označevalcev kromosoma Y je bila izračunana  $R_{st}$ -matrika razdalj  $R_{st}$  ( $F_{st}$ -analog, za določanje razdalj pri mikrosatelitnih označevalcih). Za test značilnosti je bilo uporabljenih 1000 permutacij.

Z analizo molekularne variance (AMOVA) (Excoffier in sod., 2005) se oceni raven variance, ki jo lahko pripisemo različnim ravnom populacijske organizacije. V primeru mikrosatelitnih ponovitev kromosoma Y se upošteva varianca v številu ponovitev posameznih lokusov znotraj populacije in med različnimi populacijami. Za test značilnosti je bilo uporabljenih 20.000 permutacij.

#### 3.3.2 Večrazsežno lestvičenje in rekonstrukcija filogenetskega drevesa

Razdalje med haplotipi kromosoma Y in mtDNA, pridobljene po prej opisani metodi, so bile uporabljene za večrazsežnostno lestvičenje (angl. Multidimensional Scaling Analysis – MDS). Analiza večrazsežnega lestvičenja se uporablja za določanje razlik med različnimi populacijami v dvorazsežni (ali večrazsežni) grafični obliki, pri čemer točkovne razdalje na grafu odražajo opažene genetske razdalje med populacijami. Vrednost cenovne funkcije (angl. Goodness of Fit) med genetskimi razdaljami na grafu in izvirnimi genetskimi razdaljami je izmerjena s t. i. stresnim testom, kjer vrednost 0 odraža popolno ujemanje in vrednost 1 popolno neujemanje.

Konstrukcija filogenetskega drevesa na osnovi  $R_{st}$ -matrike razdalj mikrosatelitnih označevalcev kromosoma Y je poleg analize MDS dodatni način, s katerim grafično ponazorimo genetske razdalje med populacijami. Drevesa so bila konstruirana na podlagi metode združevanja sosedov (angl. Neighbor-Joining) (Saitou in Nei, 1987).

### 3.3.3 Analiza genetskih pregrad

Matrika genetskih razdalj, konstruirana na podlagi frekvenc bialelnih haplotipov, je bila uporabljena tudi za analizo genetskih pregrad (angl. Barrier Analysis). Analiza omogoča vpogled v območja največjih sprememb v frekvenci alelov na določenem geografskem območju. Za detekcijo pregrad je bil uporabljen Monmonierjev algoritem maksimalne razdalje (Manni in sod., 2004). Za ocenitev robustnosti izračunanih pregrad je bilo z metodo vezenja pridobljenih 1000 matrik.

### 3.3.4 Analiza glavnih komponent (PCA)

Genetske povezave (oz. razmerja) med populacijami lahko vizualiziramo ne samo na podlagi genetskih razdalj, ampak tudi na podlagi osnovnih frekvenc alelov. Analiza glavnih komponent (angl. Principal Component Analysis – PCA) je postopek za poenostavitev multivariantnih podatkov, z minimalno in merljivo izgubo informacije (Cavalli-Sforza, 1994). Analiza glavnih komponent je bila uporabljena za določanje razmerij med populacijami na osnovi frekvenc haploskupin kromosoma Y in mtDNA.

### 3.3.5 Mrežna analiza haplotipov kromosoma Y in mtDNA

Za določanje razmerij med haplotipi znotraj posamezne haploskupine kromosoma Y in mtDNA je bila izvedena mrežna analiza na podlagi algoritma »median-joining« (Bandelt in sod., 1999). Mreže so sestavljene iz posameznih vozlov, ki predstavljajo populacijo oz. haplotip, in povezav, ki predstavljajo evolucijsko pot. Na tak način lahko določimo evolucijska razmerja med posameznimi haplotipi in starost haplotipov, analiza pa omogoča tudi določitev prednikega haplotipa. Pri mrežni analizi haplotipov kromosoma Y in mtDNA so bile posameznim lokusom in substitucijam dodane uteži glede na njihovo ocenjeno stopnjo mutiranja (Hasegawa in sod., 1993; Kayser in sod., 2000; Richards in sod., 1998; Soares in sod., 2009), pri čemer so lokusi in substitucije z najvišjo stopnjo mutacij najmanj obteženi.

### 3.3.6 Uporaba računalniških programov pri statističnih analizah

Genetske razdalje ( $F_{st}$  in  $R_{st}$ ), parametre genetske raznovrstnosti (povprečna genska raznovrstnost, povprečno število razlik, genska raznovrstnost), AMOVA in določitev skupnih haplotipov so bili izračunani v programu Arlequin 3.5 (Excoffier in Lischer, 2010). Analizi PCA in MDS sta bili izvedeni v programu XLSTAT 2012.2.02. Ustrezna oblika podatkov za uporabo v programu Arlequin je bila izdelana v programu Microsoft Excel, z dodatkom Microsat Toolkit Excel plugin (Park, 2001). Mrežna analiza haplotipov je bila konstruirana v programih Network 4.6.1.1 in Network Publisher 2.0 (Fluxus

Engineering). Za analizo genetskih pregrad je bil uporabljen računalniški program Barrier 2.2 (Manni in sod., 2004). Za konstruiranje 1000 matrik iz osnovne matrike genetskih razdalj sta bila uporabljena računalniška programa GENDIST in SEQBOOT, ki sta del programskega paketa PHYLIP 3.69 (Felsenstein, 1993). Filogenetsko drevo na podlagi  $R_{st}$ -razdalj mikrosatelitnih označevalcev je bilo konstruirano v programih Phylip 3.69 (Felsenstein, 1993) in FigTree 1.3.1 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/>). Osnovne frekvence haploskupin in haplotipna raznovrstnost ter starost mikrosatelitne variacije so bili izračunani v programu Microsoft Excel. Starost haploskupin mtDNA je bila določena v okviru mrežne analize mtDNA haplotipov v programu Network 4.6.1.1.

## 4 REZULTATI

### 4.1 INCIDENCA IN RAZNOLIKOST BIALELNIH OZNAČEVALCEV KROMOSOMA Y

#### 4.1.1 Porazdelitev haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y pri slovenski populaciji in primerjava z nekaterimi evropskimi populacijami

Porazdelitev haploskupin v petih slovenskih pokrajinah, skupaj z njihovo raznolikostjo, je podana v preglednici 4. Bialelni označevalci definirajo 29 različnih haploskupin s skupno raznolikostjo  $0,86 \pm 0,012$ , pri čemer je mogoče opaziti najvišjo raznolikost haploskupin v Prekmurju ( $0,89 \pm 0,021$ ) in najnižjo na Primorskem ( $0,84 \pm 0,035$ ) ter Dolenjskem ( $0,84 \pm 0,029$ ).

Najpogostejša haploskupina pri slovenski populaciji je haploskupina R1a1a (M198) s skupno frekvenco 36,2 odstotka. Haploskupina doseže frekvenčni maksimum na Dolenjskem (40 %) ter minimum v Prekmurju (30,5 %), vendar statistična primerjava geografskih pokrajin ne pokaže geografskega strukturiranja ( $\chi^2 = 1,29$ ,  $ps = 4$ ,  $P > 0,05$ ). Skupna frekvencia haploskupine R1a1a sovpada s frekvencami drugih vzhodnoevropskih držav, še posebej s populacijami Ukrajine in Slovaške, medtem ko je v primerjavi s populacijami Belorusije, Rusije in Poljske frekvanca haploskupine R1a1a občutno manjša. V primerjavi z balkanskimi populacijami pa je frekvanca omenjene haploskupine občutno višja (Bosch in sod., 2006; Marjanovic in sod., 2005; Pericic in sod., 2005; Semino in sod., 2000; Underhill in sod., 2010). Podhaploskupina R1a1a1b1a1 (M458), ki jo najdemo pri višjih frekvencah med zahodno- in vzhodnoslovanskimi populacijami (Underhill in sod., 2010), je v slovenski populaciji pri razmeroma nizkih frekvencah (s skupno frekvenco 4,2 %), z izjemo Štajerske, kjer je frekvanca nekoliko višja (6,7 %), medtem ko omenjene podhaploskupine na Gorenjskem ne zaznamo.

Najpogostejša zahodnoevropska haploskupina R1b (M343) je z 20,3 odstotka druga najpogostejša haploskupina v slovenski populaciji. Najvišjo frekvenco doseže na Primorskem (27,1 %) ter najnižjo na Gorenjskem (16,3 %), pri čemer statistična primerjava geografskih pokrajin ne pokaže neenakomerne porazdelitve ( $\chi^2 = 3,32$ ,  $ps = 4$ ,  $P > 0,05$ ). Največji delež haploskupine R1b predstavlja podhaploskupini R1b1a2a1a1 (U106) in R1b1a2a1a2b (U152) (skupaj 13,2 %), s frekvenčnim maksimumom (20,8 %) na Primorskem. Obe haploskupini kažeta v primerjavi s sosednjimi vzhodnoevropskimi populacijami rahlo višjo frekvenco in v primerjavi s sosednjimi zahodnoevropskimi populacijami rahlo nižjo frekvenco (Myres in sod., 2010) ter tako odražata geografsko umeščenost Slovenije v srednjeevropski prostor. Pri balkanskih populacijah opazimo oster upad obeh podhaploskupin, z najvišjimi frekvencami okoli enega odstotka (Myres in sod., 2010).

Haploskupina I2a1 (P37.2) je skupaj s podhaploskupino I2a1b (M423) tretja najpogostejša haploskupina v slovenski populaciji, s skupno frekvenco 12,9 odstotka. Primerjava haploskupin med različnimi slovenskimi pokrajinami pokaže frekvenčni maksimum na Gorenjskem (16,4 %) in frekvenčni minimum na Primorskem, kjer omenjena haploskupina doseže 10,4 odstotka. Frekvenca haploskupine I2a1 v slovenski populaciji to umešča na spodnji rob balkanskih populacij, s frekvenčnim maksimumom 60 odstotkov v populaciji Bosne in Hercegovine (Marjanovic in sod., 2005; Pericic in sod., 2005; Roots in sod., 2004).

Haploskupina I1 (M253) se z 11,9 odstotka uvršča med pogostejše haploskupine v slovenski populaciji. Frekvenčni maksimum doseže v Prekmurju (15,8 %), medtem ko je na Dolenjskem prisotna samo pri 4,5 odstotka populacije. Skupna frekvenca omenjene haploskupine postavlja slovensko populacijo ob bok preostalim srednjeevropskim populacijam (Rootsi in sod., 2004).

Zadnja haploskupina s skupno frekvenco, višjo od petih odstotkov, je haploskupina J2 (M172), ki doseže v slovenski populaciji frekvenco 5,3 odstotka, kar jo postavlja na raven drugih srednjeevropskih populacij (Giacomo in sod., 2004; Semino in sod., 2004). Haploskupina doseže frekvenčni maksimum na Gorenjskem (9,1 %) in frekvenčni minimum na Dolenjskem (1,8 %), statistična primerjava haploskupin med različnimi slovenskimi pokrajinami pa ne kaže neenakomerne porazdelitve ( $\chi^2 = 4,55$ ,  $ps = 4$ ,  $P > 0,05$ ).

Druge haploskupine izkazujejo nižjo skupno frekvenco od petih odstotkov, z dvema izjemama, ki kažeta pokrajinsko povišano frekvenco. Haploskupina E1b1b1a1 (M78) in G2a (P15) dosežeta frekvenčni maksimum 7,3 odstotka in 5,5 odstotka na Dolenjskem.

Preglednica 4: Frekvence haploskupin kromosoma Y (%) in raznolikost haploskupin v petih slovenskih pokrajinah. Haploskupine s frekvenco nad pet odstotkov so poudarjene.

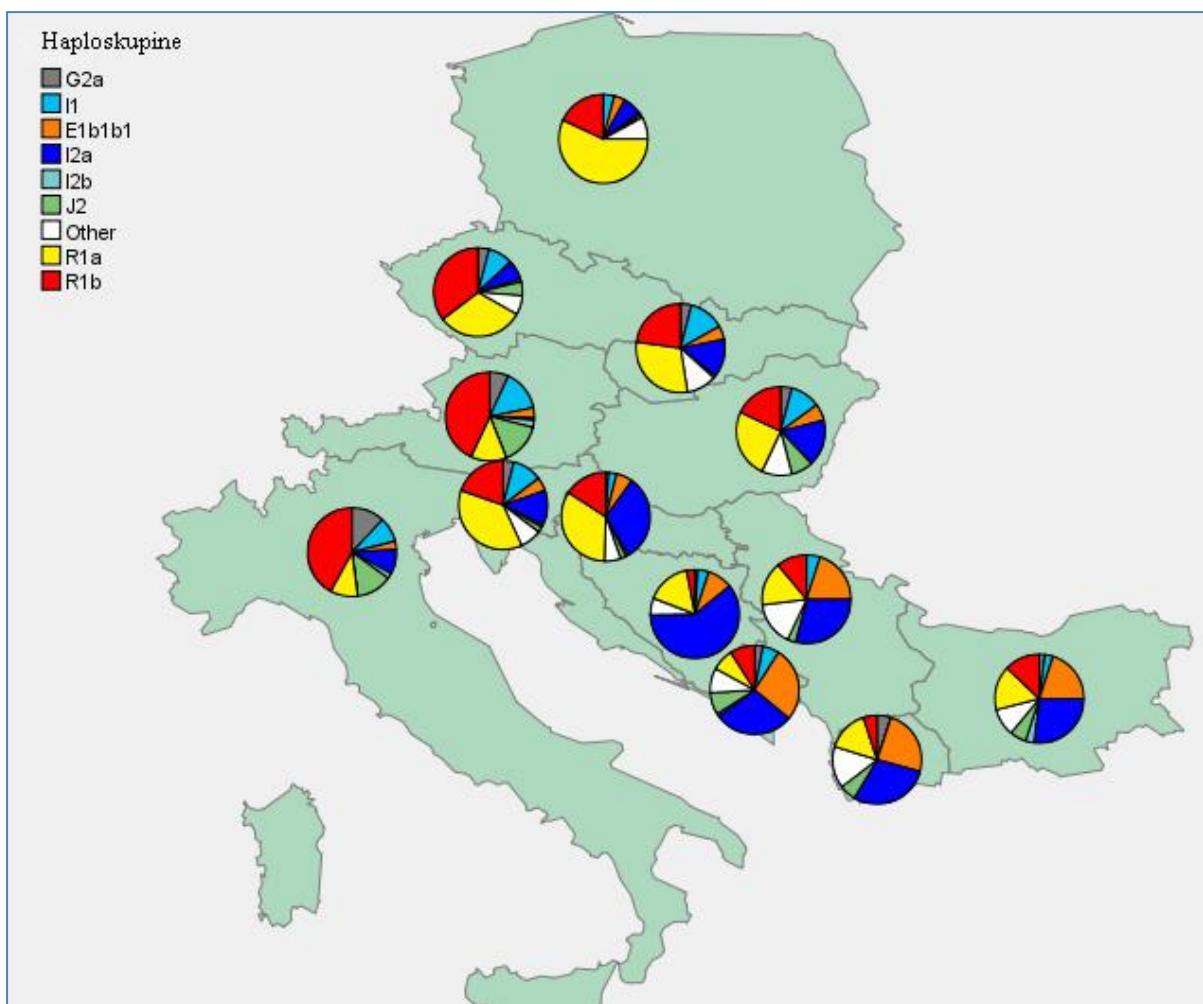
Table 4: Y-chromosome haplogroup frequencies (%) and haplogroup diversities in five Slovenian regions. Haplogroups with total frequency of more than five percent are highlighted.

Haploskupina	Primorska	Gorenjska	Dolenjska	Štajerska	Prekmurje	Skupaj
E1b1b (M215)	2,1	1,8	7,3	5,8	2,4	3,7
E1b1b*	0	1,8	0	0	0	0,4
E1b1b1a1 (M78)	2,1	0	7,3	5,8	2,4	3,3
G2a (P15)	0	5	5,5	2,9	2,4	3,0
I* (M170)	2,1	3,6	0	0	1,2	1,4
<b>I1 (M253)</b>	<b>14,6</b>	<b>7,3</b>	<b>4,5</b>	<b>14,4</b>	<b>15,8</b>	<b>11,9</b>
I1*	14,6	7,3	2,7	12,5	13,4	10,7
I1a1 (M227)	0	0	0	1,9	1,2	0,7
I1a2a (P109)	0	0	1,8	0	1,2	0,5
I2* (P215)	0	0	5,5	0	2,4	1,4
<b>I2a1 (P37,2)</b>	<b>10,4</b>	<b>16,4</b>	<b>10,0</b>	<b>16,4</b>	<b>12,2</b>	<b>13,0</b>
I2a1*	0	0	0,9	1,0	0	0,1
<b>I2a1b (M423)</b>	<b>10,4</b>	<b>16,4</b>	<b>9,1</b>	<b>15,4</b>	<b>12,2</b>	<b>12,9</b>
I2a2a (M223)	0	1,8	0,9	0	0	0,5
J* (12f2a)	0	0	0,9	0	0	0,2
<b>J2 (M172)</b>	<b>6,3</b>	<b>9,1</b>	<b>1,8</b>	<b>4,8</b>	<b>3,6</b>	<b>5,3</b>
J2*	6,3	7,3	0,9	0	1,2	3,1
J2b (M12)	0	1,8	0,9	4,8	2,4	2,2
R* (M207)	0	1,8	0	0	0	0,4
R1* (M173)	0	0	0	1,0	1,2	0,5
R1a1* (SRY <sub>10831,2</sub> )	2,1	0	1,8	1,0	2,4	1,3
<b>R1a1a (M198)</b>	<b>35,4</b>	<b>34,5</b>	<b>40,0</b>	<b>37,5</b>	<b>30,5</b>	<b>36,2</b>
<b>R1a1a*</b>	<b>33,3</b>	<b>32,7</b>	<b>36,4</b>	<b>29,8</b>	<b>25,6</b>	<b>31,6</b>
R1a1a1b1a* (M434)	0	1,8	0	0	0	0,4
R1a1a1b1a1* (M458)	2,1	0	3,6	6,7	4,9	3,8
R1a1a1b1a1a (M334)	0	0	0	1,0	1,2	0,4
<b>R1b (M343)</b>	<b>27,1</b>	<b>16,3</b>	<b>19,0</b>	<b>14,5</b>	<b>24,4</b>	<b>20,3</b>
R1b*	0	0	1,8	1,0	0	0,6
R1b1a2* (M269)	0	0	0	0	3,7	0,7
R1b1a2a* (L23)	6,3	3,6	5,5	0	3,7	3,6
R1b1a2a1* (M412)	0	0	0	0	2,4	0,5
R1b1a2a1a* (L11)	0	1,8	0	0	0	0,4
<b>R1b1a2a1a1 (U106)</b>	<b>10,4</b>	<b>3,6</b>	<b>4,5</b>	<b>9,6</b>	<b>9,8</b>	<b>7,9</b>
R1b1a2a1a2* (S116)	0	0	3,6	1,0	2,4	1,3
<b>R1b1a2a1a2b (U152)</b>	<b>10,4</b>	<b>7,3</b>	<b>3,6</b>	<b>2,9</b>	<b>2,4</b>	<b>5,3</b>
Ostalo	0,0	2,4	2,7	1,9	0	1,0
Velikost populacije	48	55	110	104	82	399
Raznolikost haploskupin	0,84 ±0,035	0,86 ±0,035	0,84 ±0,029	0,86 ±0,021	0,89 ±0,021	0,86 ±0,012

Preglednica 5: Frekvence haploskupin kromosoma Y (%) pri slovenski populaciji in nekaterih evropskih populacijah.

Table 5: Y-chromosome haplogroup frequencies (%) in Slovenian and several European populations.

	<b>E1b1b (M215)</b>	<b>G2a (P15)</b>	<b>I1 (M253)</b>	<b>I2a1 (P37.2)</b>	<b>I2a2a (M223)</b>	<b>J2 (M172)</b>	<b>R1a1 (SRY<sub>10831.2</sub>)</b>	<b>R1b (M343)</b>
<b>Slovenija</b>	3,7	3,0	11,9	13,0	0,5	5,3	37,5	20,3
<b>Poljska</b>	4,0	0,0	4,0	7,0	1,0	1,0	<b>57,0</b>	18,0
<b>Češka</b>	0,0	4,0	9,0	7,0	1,0	5,0	31,0	35,0
<b>Slovaška</b>	5,0	4,0	<b>13,0</b>	14,0	1,0	0,0	30,0	23,0
<b>Hrvaška</b>	6,0	1,0	3,0	32,0	1,0	2,0	34,0	16,0
<b>Bosna in Hercegovina</b>	9,0	1,0	4,0	<b>60,0</b>	0,0	0,0	16,0	3,0
<b>Srbija</b>	20,0	0,0	5,0	29,0	0,0	3,0	16,0	11,0
<b>Črna Gora</b>	<b>27,0</b>	3,0	6,0	29,0	1,0	8,0	8,0	9,0
<b>Makedonija</b>	24,0	5,0	0,0	29,0	0,0	6,0	15,0	5,0
<b>Bulgarija</b>	19,0	4,0	8,0	16,0	0,0	11,0	10,0	4,0
<b>Madžarska</b>	6,0	4,0	11,0	17,0	0,0	8,0	25,0	18,0
<b>Avstrija</b>	15,0	<b>15,0</b>	10,0	3,0	<b>2,0</b>	7,0	14,0	32,0
<b>Italija</b>	3,0	12,0	9,0	9,0	<b>2,0</b>	<b>13,0</b>	10,0	<b>42,0</b>



Slika 8: Geografska porazdelitev večjih haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y.

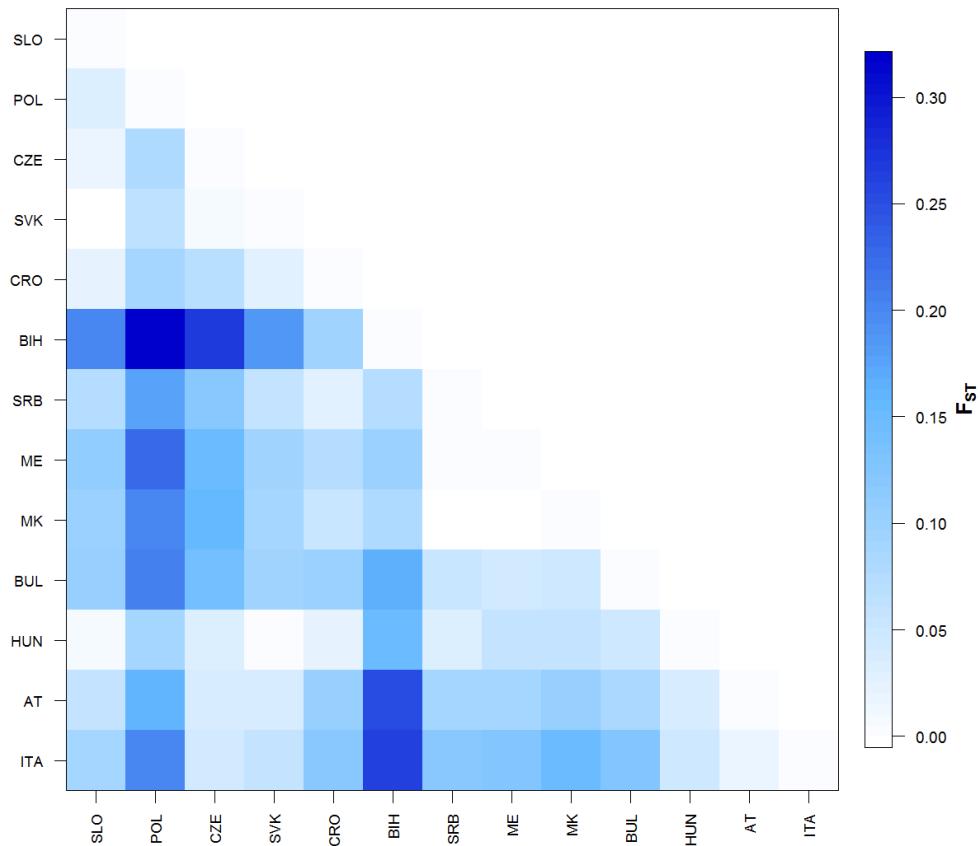
Figure 8: Geographical distribution of the major Y-chromosome biallelic haplogroups.

#### **4.1.2 Genetske razdalje med slovensko in nekaterimi evropskimi populacijami na podlagi bialelnih označevalcev kromosoma Y**

Z namenom primerjave genetske raznolikosti med slovensko in nekaterimi evropskimi populacijami smo izračunali  $F_{st}$ -matriko genetskih razdalj bialelnih označevalcev kromosoma Y (preglednica 6) in izvedli analizo primarnih komponent na podlagi frekvenc haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y (slika 10).

Primerjava genetski razdalj slovenske populacije z drugimi (preglednica 6, slika 9) razkrije največjo razliko med slovensko populacijo in populacijo Bosne in Hercegovine ( $P < 0,001$ ), ki tudi sicer izkazuje najvišjo genetsko diferenciacijo v primerjavi z drugimi srednjeevropskimi populacijami (najvišjo s poljsko populacijo,  $P < 0,001$ ), medtem ko slovenska populacija izkazuje najmanjšo genetsko diferenciacijo s populacijami Srednje Evrope, še posebej s slovaško ( $P > 0,05$ ), z madžarsko ( $P > 0,05$ ) in s češko populacijo ( $P < 0,05$ ). Matrika razdalj nakazuje višjo genetsko bližino populacij Srednje Evrope, vključno z neslovanskimi populacijami (v severovzhodni Italiji, Avstriji in na Madžarskem), pri čemer se oblikuje najnižja stopnja diferenciacije v skupini zahodnoslovanskih populacij, vključno s slovensko populacijo. Na drugi strani lahko opazimo nizko raven genetskih razlik med nekaterimi slovanskimi populacijami Jugovzhodne Evrope, npr. med populacijo Makedonije in Srbije ( $P > 0,05$ ) ter Makedonije in Črne gore ( $P < 0,05$ ).

Analiza primarnih komponent (PCA-analiza, slika 10) odraža  $F_{st}$ -matriko razdalj, saj se po prvi primarni komponenti, ki pojasni 51,2 odstotka celotne variacije, srednjeevropske države (Poljska, Slovaška, Slovenija, Češka, Madžarska, Avstrija in severovzhodna Italija) razlikujejo od držav Balkana (Hrvaške, Bosne in Hercegovine, Srbije, Makedonije, Črne gore in Bolgarije). Druga primarna komponenta, ki pojasni 23 odstotkov skupne genetske variacije, Poljsko razlikuje od preostalih populacij pri pozitivnem polu in Črno goro pri negativnem polu. Združitev obeh primarnih komponent nakaže dve gruči genetsko podobnih populacij, in sicer zahodnoslovansko skupino, vključno s slovensko populacijo na eni in z večino južnoslovanskih na drugi strani (slika 10). Neslovanski populaciji Italije in Avstrije tvorita posebno gručo in ob upoštevanju obeh primarnih komponent kažeta precejšnjo genetsko diferenciacijo od drugih srednjeevropskih populacij. Madžarska populacija izkazuje s svojo sredinsko lego pri PCA-analizi najmanjšo genetsko diferenciacijo v razmerju do vseh drugih populacij, kar odraža njen geografsko in etnozgodovinsko pozicijo v Srednji Evropi.



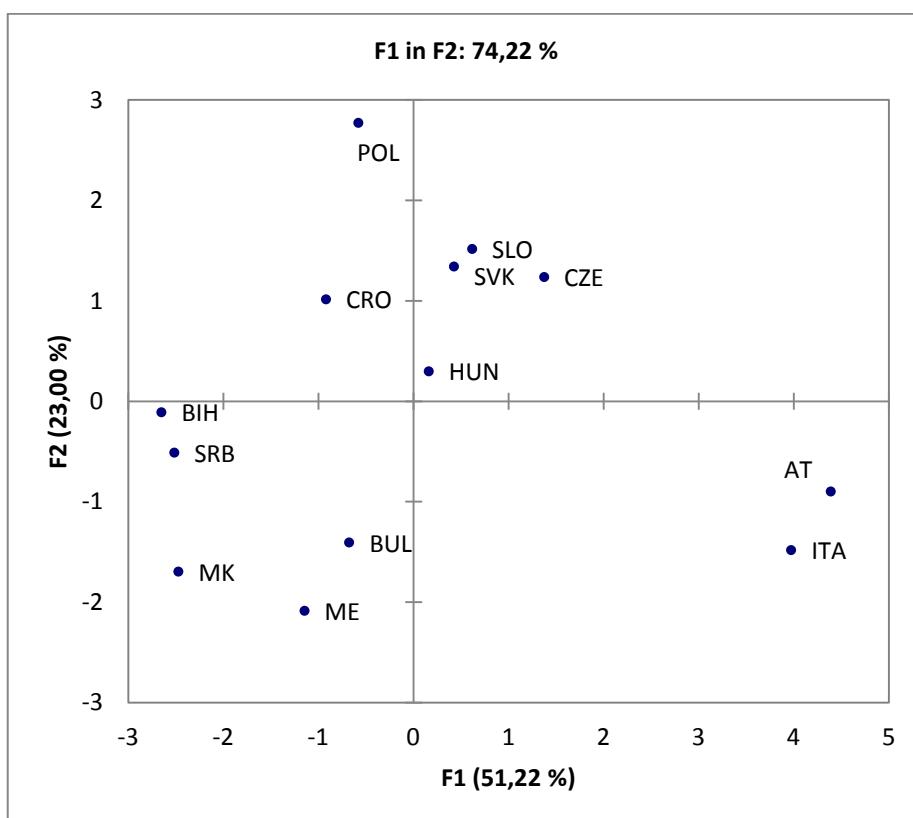
Slika 9: Grafična predstavitev  $F_{ST}$ -matrike haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y.

Figure 9: Graphical representation of  $F_{ST}$  values for Y chromosome biallelic haplogroups.

Preglednica 6:  $F_{st}$ -vrednosti haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y. Značilne in neznačilne vrednosti so označene kot + oz. – ( $P = 0,05$ ).

Table 6: Fst values based on raw frequencies of biallelic haplogroups in studied populations. Significant and nonsignificant values are indicated as “+” and “-“ signs respectively ( $P = 0,05$ ).

	<b>SLO</b>	<b>POL</b>	<b>CZE</b>	<b>SVK</b>	<b>CRO</b>	<b>BIH</b>	<b>SRB</b>	<b>ME</b>	<b>MK</b>	<b>BUL</b>	<b>HUN</b>	<b>AT</b>	<b>ITA</b>
<b>SLO</b>	0	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
<b>POL</b>	0,03153	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>CZE</b>	0,01634	0,07681	0	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>SVK</b>	0,00548	0,06193	0,00888	0	+	+	+	+	+	+	-	+	+
<b>CRO</b>	0,02364	0,0865	0,069	0,02519	0	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>BIH</b>	0,20115	0,32129	0,26653	0,18779	0,09311	0	+	+	+	+	+	+	+
<b>SRB</b>	0,07195	0,17543	0,11926	0,05914	0,02964	0,07256	0	-	-	+	+	+	+
<b>ME</b>	0,10977	0,22745	0,15144	0,0929	0,07297	0,09705	0,00134	0	-	+	+	+	+
<b>MK</b>	0,09885	0,20039	0,15427	0,09129	0,05156	0,08078	0,00111	0,00143	0	+	+	+	+
<b>BUL</b>	0,10301	0,20547	0,14121	0,09226	0,09893	0,16731	0,05161	0,04152	0,05033	0	+	+	+
<b>HUN</b>	0,00935	0,08922	0,03232	0,00164	0,02219	0,15019	0,03513	0,06003	0,0597	0,04752	0	+	+
<b>AT</b>	0,05955	0,16283	0,03858	0,03957	0,10576	0,25451	0,08974	0,08783	0,10566	0,08581	0,04001	0	+
<b>ITA</b>	0,08728	0,20066	0,04386	0,058	0,12199	0,26356	0,11842	0,12628	0,14869	0,123	0,04989	0,0179	0



Slika 10: Analiza primarnih komponent (PCA) na podlagi frekvenc haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y.

Figure 10: Principal component analysis (PCA) based on haplogroup frequency of Y chromosome biallelic markers.

#### 4.1.3 Analiza genetskih pregrad

Z namenom določitve genetskih pregrad med slovensko in nekaterimi evropskimi populacijami smo izvedli analizo genetskih pregrad (slika 11) na podlagi Monmonierovega algoritma z uporabo matrike  $F_{st}$  genetskih razdalj frekvenc haplotipov bialelnih označevalcev kromosoma Y. Analiza je razkrila ločitev genetskega nabora med neslovanskimi populacijami Avstrije in severovzhodne Italije ter slovanskimi populacijami Srednje Evrope, z močno podporo vezenja (87–98 %). Visoka frekvenca haploskupine I2a1 pri populaciji Bosne in Hercegovine se odraža v močnih genetskih pregradah, ki jo obdajajo (88–90 %) ter jo ločujejo od preostalih balkanskih populacij, med katerimi sicer ni zaznati močnejših genetskih pregrad. Močno genetsko pregrado med slovanskimi populacijami Srednje Evrope je mogoče opaziti pri poljski populaciji (69–83 %), kar jo ločuje od preostalih slovanskih populacij Srednje Evrope, med katerimi ni opaziti močnejših genetskih pregrad. Najšibkejše genetske pregrade je mogoče opaziti med

populacijami Slovenije, Slovaške in Madžarske na eni ter populacijami Srbije, Črne gore in Makedonije na drugi strani.



Slika 11: Analiza genetskih pregrad na podlagi  $F_{st}$ -matrike frekvenc haploskupin bialelnih označevalcev kromosoma Y. Zelene povezovalne črte so Delaunayeve povezave med posameznimi populacijami. Debeline posamezne črte je proporcionalna številu vključitev v eno izmed 1000 izračunanih pregrad. Številke ob robu pregrad pomenijo delež od skupne številke 1000 ponovitev pri metodi vezenja.

Figure 11: Barrier analysis based on haplogroup frequency of Y chromosome biallelic markers. Green lines represent Delaunay connections. The thickness of each edge of a barrier is proportional to the number of times it was included in one of the 1.000 computed barriers and numbers along the edges indicate the fraction of 1.000 bootstrap replicates.

## 4.2 RAZNOLIKOST MIKROSATELITNIH OZNAČEVALCEV KROMOSOMA Y

### 4.2.1 Porazdelitev mikrosatelitnih haplotipov in genetska raznolikost

Analiza sedemnjstih označevalcev Y-STR pri 399 slovenskih posameznikih je pokazala 348 (87,2 %) različnih haplotipov s skupno raznolikostjo  $0,9993 \pm 0,00025$ , kar je v skladu z drugimi evropskimi populacijami (Barac in sod., 2003; Roewer in sod., 2005; Zaharova in sod., 2001). Analiza porazdelitve haplotipov med različnimi slovenskimi populacijami (dolenjsko, gorenjsko, primorsko, štajersko in prekmursko) je pokazala skupno 300 (86,2 %) posameznih edinstvenih haplotipov (tj. haplotipov, ki se pojavijo samo pri enem posamezniku, samo pri eni populaciji) (preglednica 7). Nadaljnja analiza je pokazala skupno 37 (10,6 %) večkratnih edinstvenih haplotipov (tj. haplotipov, ki so skupni različnim posameznikom v eni populaciji, ne nahajajo pa se pri ostalih populacijah) in skupno 11 haplotipov (3,1 %), ki si jih delijo posamezniki iz različnih populacij (preglednica 7). Primerjava haplotipov, ki si jih posamezne slovenske populacije delijo med seboj oz. so jih skupni, je pokazala, da je v štajerski in prekmurski populaciji največji delež skupnih haplotipov, sledita jima populaciji Primorske in Gorenjske (preglednica 8). Med dolenjsko in drugimi slovenskimi populacijami je število skupnih haplotipov enakomerno porazdeljeno, medtem ko analiza ni pokazala skupnih haplotipov med populacijami Štajerske in Primorske ter Štajerske in Gorenjske. Pri vseh omenjenih populacijah je analiza haplotipov pokazala visoko raven raznolikosti haplotipov, pri čemer je bila najvišja stopnja raznolikosti pri gorenjski ter najnižja pri primorski populaciji (preglednica 7). Poleg raznolikosti haplotipov sta bili na podlagi mikrosatelitne variabilnosti določeni tudi povprečna genska raznolikost in povprečna vrednost razlike v parih (preglednica 7). Povprečna genska raznolikost pri vseh 17 lokusih se je gibala med vrednostjo 0,60 pri primorski in 0,63 pri gorenjski populaciji. Najvišja vrednost povprečne vrednosti razlike v parih je bila prav tako pri gorenjski populaciji ( $10,79 \pm 4,98$ ), ki so ji sledile štajerska, dolenjska, prekmurska in primorska populacija (preglednica 7).

Statistična analiza porazdelitve haplotipov na osnovi devetih označevalcev Y-STR med slovensko populacijo kot celoto na eni in nekaterimi evropskimi populacijami na drugi strani je pokazala največji delež haplotipov, ki so skupni slovenski populaciji, pri slovaški (32 %) in hrvaški populaciji (28 %), medtem ko je najmanjši delež haplotipov, ki so skupni slovenski populaciji, pri ruski (14 %) in makedonski populaciji (16 %) (preglednici 9 in 10). Primerjava raznolikosti haplotipov je pokazala najvišjo vrednost raznolikosti pri populacijah Bosne in Hercegovine ( $1,000 \pm 0,0013$ ) in severovzhodne Italije ( $0,997 \pm 0,0014$ ) ter najnižjo vrednost pri populacijah Bolgarije ( $0,978 \pm 0,0057$ ) in Črne gore ( $0,985 \pm 0,0018$ ) (preglednici 9 in 10). Primerjava povprečne genske raznolikosti in povprečnih vrednosti razlike v parih je pokazala najvišjo vrednost pri populaciji Madžarske ( $0,63 \pm 0,33$  in  $5,64 \pm 2,71$ ) ter najnižjo vrednost pri populaciji Bosne in Hercegovine ( $0,55 \pm 0,30$  in  $4,91 \pm 2,41$ ) ter Poljske ( $0,55 \pm 0,29$  in  $4,91 \pm 4,40$ ) (preglednici 9 in 10).

Preglednica 7: Statistika haplotipov Y-STR, kot jih definira sedemnajst označevalcev STR kromosoma Y pri slovenski populaciji. \* Klasifikacija po Kayser in sod. (2001).

Table 7: 17 Y-STR haplotype statistics in Slovenian population. \*Classification by Kayser et al. (2001).

	Primorska	Gorenjska	Dolenjska	Štajerska	Prekmurje
Število posameznikov	48	55	110	104	82
Število haplotipov	44	54	98	91	74
Diskriminacija (%)	91,7	98,1	89,0	87,5	90,2
Skupine haplotipov*					
Posamezen edinstven	37	48	81	73	61
Delež	(0,84)	(0,89)	(0,83)	(0,80)	(0,82)
Večkraten edinstven	4	1	12	12	8
Delež	(0,09)	(0,02)	(0,12)	(0,13)	(0,11)
Skupen edinstven	41	49	93	85	69
Delež	(0,93)	(0,91)	(0,95)	(0,93)	(0,93)
Ne edinstven	3	5	5	6	5
Delež	(0,07)	(0,09)	(0,05)	(0,07)	(0,07)
Razmerje (edinstven/ne edinstven)	13,7	12,3	18,6	14,2	13,8
Raznolikost haplotipov	0,996 ±0,0057	0,999 ±0,0036	0,998 ±0,0016	0,997 ±0,0018	0,998 ±0,0023
Povprečna genska raznolikost	0.60 ±0.31	0.63 ±0.33	0.62 ±0.32	0.62 ±0.32	0.61 ±0.31
Povprečna vrednost razlike v parih	10.21 ±4.75	10.79 ±4.98	10.54 ±4.84	10.55 ±4.84	10.30 ±4.75

Preglednica 8: Število haplotipov, skupnih med posameznimi slovenskimi pokrajinami, na osnovi sedemnajstih mikrosatelitnih označevalcev.

Table 8: Number of shared haplotypes between different Slovenian regions, based on 17 Y-STRs.

	Primorska	Gorenjska	Dolenjska	Štajerska	Prekmurje
Primorska	-				
Gorenjska	3	-			
Dolenjska	2	2	-		
Štajerska	0	0	2	-	
Prekmurje	1	1	1	4	-

Preglednica 9: Statistika haplotipov Y-STR, kot jih definira devet STR označevalcev kromosoma Y, pri slovenski in nekaterih evropskih populacijah.  
\*Klasifikacija po Kayser in sod. (2001).

Table 9: 9 Y-STR haplotype statistics in Slovenian and some European populations. \*Classification by Kayser et al. (2001).

Parameter	Avstrija	Bolgarija	Bosna in Hercegovina	Poljska	Slovaška	Češka republika	Rusija (evropski del)
Število posameznikov	130	148	105	500	80	169	950
Število haplotipov	111	85	104	312	71	126	532
Diskriminacija (%)	85,4	57,4	99,0	62,4	88,8	74,6	56,0
Skupine haplotipov*							
Posamezen edinstven	52	35	50	154	21	53	302
Delež	(0,47)	(0,41)	(0,48)	(0,49)	(0,30)	(0,42)	(0,57)
Večkraten edinstven	1	9	1	7	0	3	3
Delež	(0,009)	(0,11)	(0,01)	(0,02)	(0,00)	(0,02)	(0,006)
Skupen edinstven	53	44	51	161	21	56	305
Delež	(0,48)	(0,52)	(0,49)	(0,52)	(0,30)	(0,44)	(0,57)
Ne edinstven	58	41	53	158	50	70	227
Delež	(0,52)	(0,48)	(0,51)	(0,51)	(0,70)	(0,56)	(0,43)
Razmerje (edinstven/ne edinstven)	0,91	1,07	0,96	1,02	0,42	0,80	1,34
Število (delež) haplotipov, skupnih s slovensko populacijo	29 (0,26)	16 (0,19)	21 (0,20)	59 (0,19)	23 (0,32)	28 (0,22)	76 (0,14)
Raznolikost haplotipov	0,996 ±0,0019	0,978 ±0,0057	1,000 ±0,0013	0,994 ±0,0009	0,996 ±0,0029	0,994 ±0,0017	0,995 ±0,0005
Povprečna genska raznolikost	0,62 ±0,33	0,61 ±0,32	0,55 ±0,30	0,55 ±0,29	0,60 ±0,33	0,61 ±0,32	0,59 ±0,31
Povprečna vrednost razlike v parih	5,62 ±2,71	5,42 ±2,63	4,91 ±2,41	4,91 ±4,40	5,43 ±2,64	5,46 ±2,64	5,28 ±2,55

Preglednica 10: Statistika haplotipov Y-STR, kot jih definira devet STR označevalcev kromosoma Y, pri slovenski in nekaterih evropskih populacijah.  
\* Klasifikacija po Kayser in sod. (2001).

Table 10: 9 Y-STR haplotype statistics in Slovenian and some European populations. \*Classification by Kayser et al. (2001).

Parameter	Hrvaška	Madžarska	Makedonija	Italija (severovzhodna)	Slovenija	Črna Gora	Srbija
Število posameznikov	197	228	262	153	399	404	179
Število haplotipov	154	177	182	127	240	185	117
Diskriminacija (%)	78,2	77,6	69,5	83,0	60,2	45,8	65,4
Skupine haplotipov*							
Posamezen edinstven	65	82	92	65	92	64	35
Delež	(0,42)	(0,46)	(0,51)	(0,51)	(0,38)	(0,35)	(0,30)
Večkraten edinstven	0	2	6	3	11	12	3
Delež	(0,0)	(0,01)	(0,03)	(0,02)	(0,05)	(0,06)	(0,03)
Skupen edinstven	65	84	98	68	103	76	38
Delež	(0,42)	(0,47)	(0,54)	(0,54)	(0,43)	(0,41)	(0,32)
Ne edinstven	89	93	90	59	137	109	79
Delež	(0,58)	(0,53)	(0,49)	(0,46)	(0,57)	(0,59)	(0,68)
Razmerje (edinstven/ne edinstven)	0,76	0,90	1,09	1,15	0,75	0,70	0,48
Število (delež) haplotipov, skupnih s slovensko populacijo	43 (0,28)	37 (0,21)	29 (0,16)	24 (0,19)	/	38 (0,21)	30 (0,26)
Raznolikost haplotipov	0,996 $\pm 0,0011$	0,995 $\pm 0,0013$	0,991 $\pm 0,0025$	0,997 $\pm 0,0014$	0,995 $\pm 0,0007$	0,985 $\pm 0,0018$	0,991 $\pm 0,0026$
Povprečna genska raznolikost	0,59 $\pm 0,32$	0,63 $\pm 0,33$	0,60 $\pm 0,32$	0,62 $\pm 0,33$	0,58 $\pm 0,31$	0,59 $\pm 0,31$	0,58 $\pm 0,31$
Povprečna vrednost razlike v parih	5,31 $\pm 2,57$	5,64 $\pm 2,71$	5,40 $\pm 2,61$	5,60 $\pm 2,70$	5,26 $\pm 2,55$	5,28 $\pm 2,56$	5,19 $\pm 2,52$

#### **4.2.2 Genetska razmerja med posameznimi populacijami**

Genetska razmerja med posameznimi populacijami so bila določena z izračunom Slatkinove  $R_{st}$ -statistike genetskih razdalj, ki temelji na frekvenci mikrosatelitnih alelov (Slatkin, 1995). Rezultat statistične analize je podan v obliki matrike parnih  $R_{st}$ -vrednosti med različnimi populacijami (preglednici 11 in 12).

Preglednica 11 prikazuje matriko  $R_{st}$  parnih vrednosti med različnimi slovenskimi populacijami, ki so jim bile za primerjavo dodane še nekatere druge evropske populacije. Primerjava različnih slovenskih populacij je pokazala minimalne, statistično neznačilne genetske razdalje med posameznimi slovenskimi populacijami (ob upoštevanju statistične meje petih odstotkov).

Statistično pomembne razlike je pokazala primerjava slovenske populacije kot celote z nekaterimi drugimi evropskimi populacijami (preglednica 12). Analiza je potrdila statistično pomembne vrednosti pri 87 od skupno 91 primerjav (95,6 %), ob upoštevanju statistično značilne meje petih odstotkov. V odnosu do slovenske populacije opazimo največjo genetsko razdaljo pri populacijah Bolgarije, Makedonije ter Bosne in Hercegovine, medtem ko je najmanjša razdalja pri slovaški populaciji. Genetske razdalje  $R_{st}$  so grafično prikazane s filogenetskim drevesom (slika 12), ki je bilo konstruirano na podlagi algoritma združevanja sosedov. Analiza je pokazala dobro stopnjo ujemanja med genetskimi in etničnimi afiliacijami. Tako opazimo genetsko bližino zahodnoslovanskih populacij, ki se jim pridružita tudi slovenska in evropski del ruske populacije, medtem ko na drugi strani filogenetskega drevesa opazimo genetsko bližino južnoslovanskih populacij. Populaciji Italije in Avstrije pričakovano kažeta genetsko oddaljenost od preostalih slovenskih populacij.

Z namenom prikaza genetskih razlik v dveh dimenzijah je bila izvedena analiza večrazsežnega lestvičenja (MDS-analiza), ki temelji na  $R_{st}$ -matriki genetskih razdalj (slika 13). Nizka vrednost cenovne funkcije (angl. stress value) 0,052 kaže na dobro ujemanje med dvorazsežnim grafom in parnimi  $R_{st}$ -vrednostmi. Podobno kot pri PCA-analizi MDS-analiza nakazuje obstoj dveh nasprotujučih si gruč med slovenskimi populacijami. V spodnjem levem kvadrantu MDS-grafa so južnoslovanske, v zgornjem desnem kotu pa zahodnoslovanske populacije, skupaj s slovensko populacijo in populacijo evropskega dela Rusije. Populaciji Avstrije in severovzhodne Italije sta v desnem spodnjem kvadrantu MDS-grafa in podobno kot pri filogenetskem drevesu kažeta genetsko odmaknjenost od preostalih populacij (slika 13).

#### **4.2.3 Analiza molekularne variance (AMOVA)**

Z namenom testiranja genetske homogenosti med populacijami je bila izvedena analiza molekularne variance (AMOVA) (preglednica 13). Uporabljenih je bilo devet

označevalcev Y-STR med desetimi slovanskimi populacijami. Najvišja varianca med skupinami ( $R_{ct} = 17,60$ ,  $P < 0,01$ ) in najmanjša varianca med populacijami znotraj skupin ( $R_{sc} = 2,63$ ,  $P < 0,01$ ) je bila dosežena, ko sta bili populaciji Slovenije in Hrvaške grupirani s preostalimi zahodnoslovanskimi populacijami (slovaške, češke in poljske). Na drugi strani je lingvistično grupiranje populacij na zahodnoslovansko jezikovno skupino (Slovaška, Češka in Poljska) in južnoslovansko jezikovno skupino (Slovenija, Hrvaška, Bosna in Hercegovina, Srbija, Makedonija, Črna gora in Bolgarija) vodilo v minimalno varianco med skupinami ( $R_{ct} = 11,7$ ,  $P < 0,01$ ) in maksimalno varianco med populacijami znotraj skupin ( $R_{sc} = 81,15$ ,  $P < 0,01$ ).

#### **4.2.4 Ocena starosti najpogostejših haploskupin pri slovenski populaciji**

Molekularna raznovrstnost posameznih linij je v tesni povezavi z razvojem posameznih haplotipov tekom daljših zgodovinskih obdobij in je torej funkcija starosti posameznih linij, stopnje mutacij mikrosatelitnih označevalcev in demografske zgodovine posamezne populacije. Zato lahko z analizo raznovrstnosti analizirane populacije in z znano stopnjo mutacije mikrosatelitnih lokusov določimo starost posameznih linij znotraj določene populacije. Ocena starosti je bila določena za pet najpogostejših haploskupin pri slovenski populaciji (preglednica 14). Ocenjena stopnja mutacije mikrosatelitnih označevalcev je bila povzeta po (Zhivotovsky in sod., 2004) in znaša  $6,9 \times 10^{-4}$  na generacijo (25 let). Analiza je ocenila kot najstarejše linije haploskupini R1b1a2a1a1 (U106) in R1a1a (M198) ter kot najmlajše I1 (M253) in I2a1b (M423).

Preglednica 11:  $R_{st}$ -vrednosti devetih mikrosatelitnih označevalcev kromosoma Y med slovenskimi pokrajinami in nekaterimi evropskimi populacijami. Značilne in neznačilne vrednosti so označene kot + oz. - ( $P = 0,05$ ).

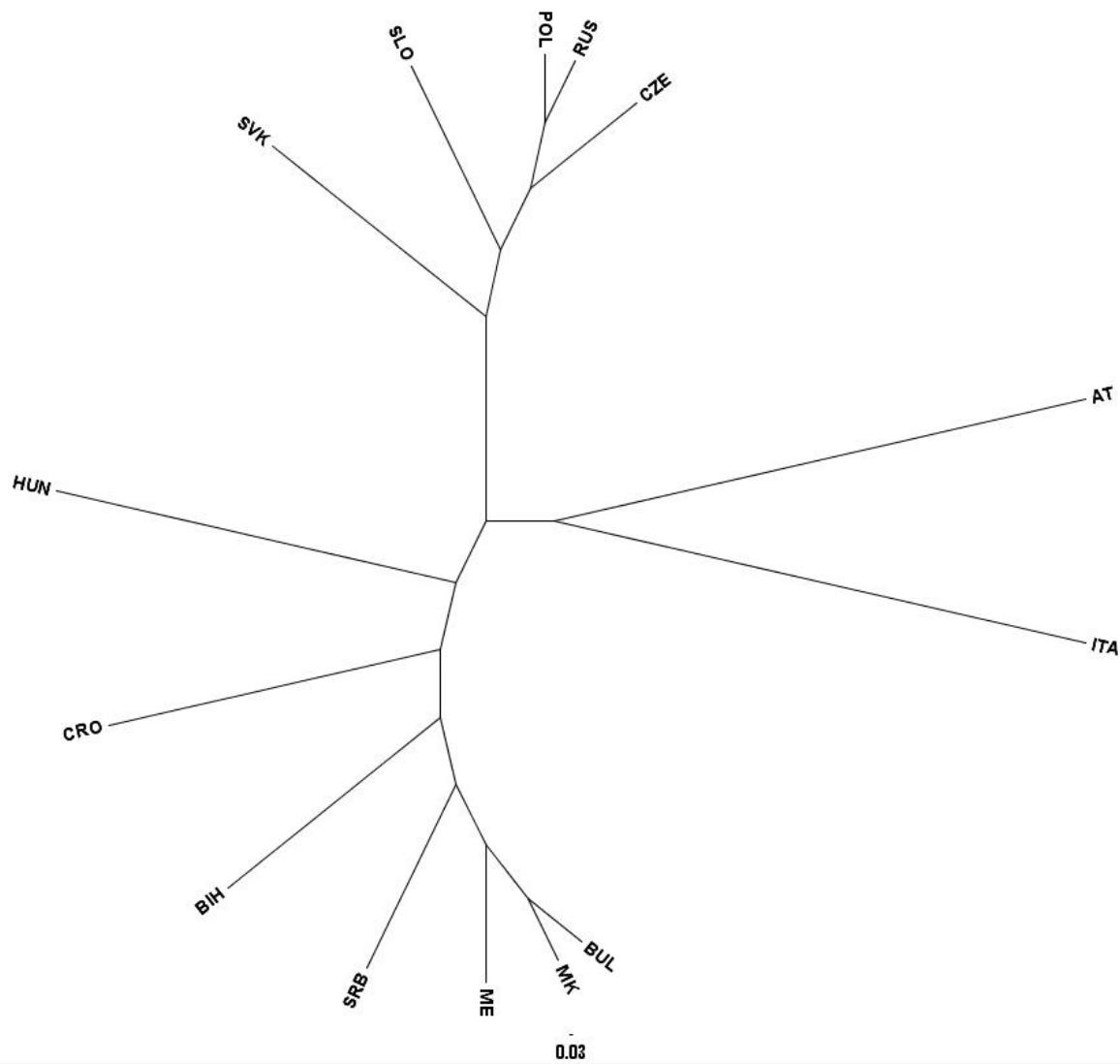
Table 11:  $R_{st}$  values for 9 Y-STR loci in Slovenian regions and some European populations. Significant and nonsignificant values are indicated as "+" and "-" signs respectively ( $P = 0,05$ ).

	POL	SVK	CZE	CRO	HUN	DOLENJSKA	GORENJSKA	PREKMURJE	PRIMORSKA	ŠTAJERSKA
POL		+	+	+	+	+	+	+	-	+
SVK	0,04008		+	+	+	-	-	-	-	-
CZE	0,01741	0,01402		+	+	+	+	-	-	+
CRO	0,09611	0,04299	0,09849		+	+	-	+	+	+
HUN	0,07416	0,01281	0,05555	0,01127		-	+	+	+	+
DOLENJSKA	0,02664	0,00000	0,02358	0,02831	0,01156		-	-	-	-
GORENJSKA	0,03875	0,00000	0,02784	0,01659	0,00000	0,00000		-	-	-
PREKMURJE	0,01995	0,00085	0,00005	0,05820	0,02470	0,00466	0,00369		-	-
PRIMORSKA	0,00898	0,00000	0,00000	0,06577	0,02994	0,00219	0,00830	0,00000		-
ŠTAJERSKA	0,02379	0,00000	0,01657	0,03471	0,01408	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	

Preglednica 12:  $R_{st}$ -vrednosti devetih mikrosatelitnih označevalcev kromosoma Y med proučevanimi populacijami. Značilne in neznačilne vrednosti so označene kot + oz. – ( $P = 0,05$ ).

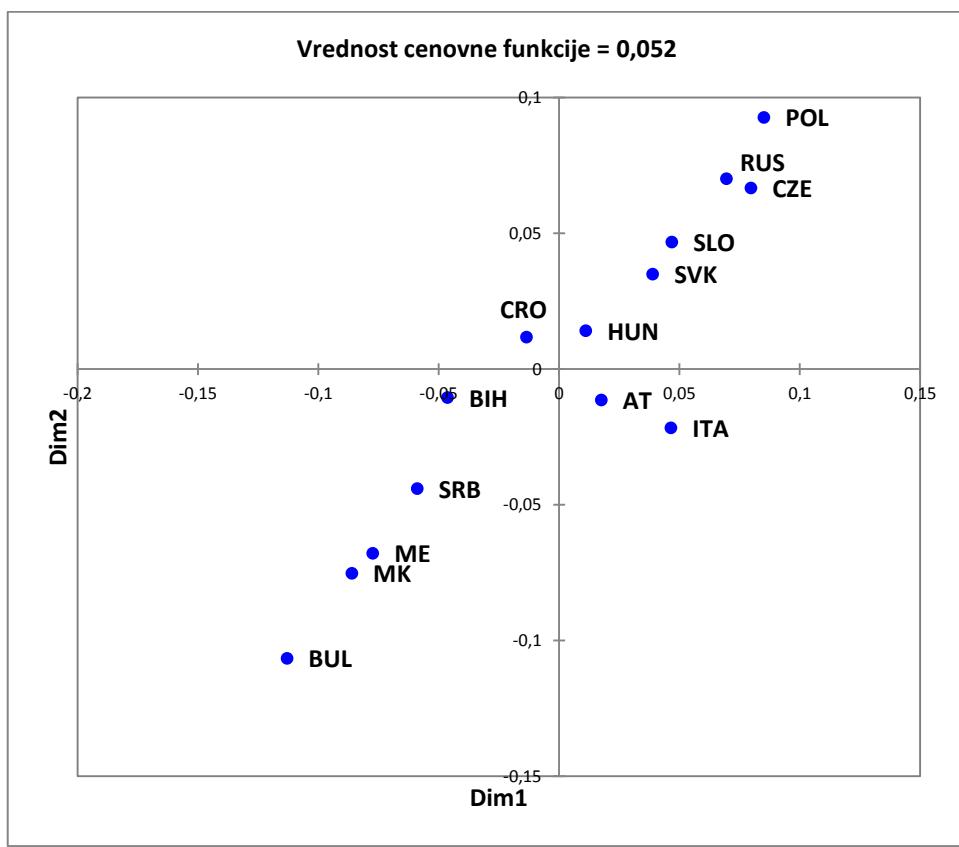
Table 12:  $R_{st}$  values for 9 Y-STR loci in studied populations. Significant and nonsignificant values are indicated as “+” and “-“ signs respectively ( $P = 0,05$ ).

	AT	BUL	BIH	POL	SVK	CZE	RUS	CRO	HUN	MK	ITA	SLO	ME	SRB
AT		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
BUL	0,12570		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BIH	0,08098	0,11397		+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
POL	0,12497	0,34063	0,16108		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SVK	0,03117	0,20023	0,08007	0,04008		+	+	+	+	+	+	-	+	+
CZE	0,07361	0,30774	0,16605	0,01741	0,01402		+	+	+	+	+	+	+	+
RUS	0,08773	0,30281	0,12782	0,00850	0,01673	0,00708		+	+	+	+	+	+	+
CRO	0,05183	0,14585	0,01067	0,09611	0,04299	0,09849	0,07032		+	+	+	+	+	+
HUN	0,01842	0,14537	0,04097	0,07416	0,01281	0,05555	0,04779	0,01127		+	+	+	+	+
MK	0,09483	0,01634	0,06300	0,27641	0,16162	0,24700	0,24731	0,09146	0,10348		+	+	-	+
ITA	0,00659	0,16895	0,12644	0,14099	0,04227	0,07419	0,09699	0,09235	0,04348	0,13706		+	+	+
SLO	0,04610	0,24589	0,09279	0,02494	0,00165	0,01516	0,00959	0,04078	0,01692	0,18889	0,06637		+	+
ME	0,08467	0,02337	0,05003	0,26287	0,14857	0,23101	0,22876	0,08080	0,09349	0,00317	0,12035	0,17246		+
SRB	0,06999	0,04882	0,01450	0,21511	0,10985	0,19701	0,17791	0,03687	0,05800	0,01611	0,11031	0,13057	0,00912	



Slika 12: Drevo, konstruirano na podlagi  $R_{st}$ -vrednosti in algoritma združevanja sosedov.

Figure 12: Neighbour-Joining tree based on pairwise  $R_{st}$  values.



Slika 13: Analiza večrazsežnega lestvičenja (MDS-analiza) na osnovi devetih mikrosatelitnih označevalcev.

Figure 13: Multidimensional scaling analysis (MDS analysis) based on 9 Y-STRs.

Preglednica 13: Rezultati analize AMOVA na osnovi devetih mikrosatelitnih označevalcev.

Table 13: AMOVA results for nine microsatellite markers.

Skupine	Med skupinami (Rct)	Med populacijami znotraj skupin (Rsc)	Znotraj populacij (Rst)
1. MK, ME, SRB, BIH, CRO, BUL			
2. SLO, SVK, CZE, POL	17,13 (P<0,01)	2,87 (P<0,01)	80,00 (P<0,01)
1. MK, ME, SRB, BIH, BUL			
2. SLO, SVK, CZE, POL, CRO	17,60 (P<0,01)	2,63 (P<0,01)	79,77 (P<0,01)
1. MK, ME, SRB, BIH, CRO, SLO, BUL			
2. SVK, CZE, POL	11,70 (P<0,05)	7,15 (P<0,01)	81,15 (P<0,01)

Preglednica 14: Izračun starosti glavnih haploskupin glede na Zhivotovsky in sod. (2004).

Table 14: Age estimates of major haplogroups according to Zhivotovsky et al. (2004).

Haploskupina	Starost (ky) STR variacije
I1 (M253)	8,47 ± 1,91
I2a1b (M423)	8,90 ± 2,27
R1a1a (M198)	10,71 ± 2,01
R1b1a2a1a1 (U106)	11,58 ± 3,00
R1b1a2a1a2b (U152)	9,06 ± 1,97

#### **4.2.5 Mikrosatelitna raznovrstnost znotraj posameznih haploskupin**

Populacijska analiza s sočasno uporabo bialelnih in mikrosatelitnih označevalcev omogoča določanje mikrosatelitne raznovrstnosti znotraj posameznih haploskupin, s čimer lahko pridobimo pomembne informacije o starosti posameznih haploskupin na določenem geografskem območju, pretoku genov (angl. Gene Flow) med posameznimi populacijami in filogenetskimi razmerji med posameznimi haplotipi. V ta namen smo združili informacije, pridobljene iz bialelnih in mikrosatelitnih označevalcev, ter izračunali raznovrstnost haplotipov znotraj treh najpogostejših haploskupin in določili povprečno gensko raznolikost in povprečno vrednost razlike v parih pri slovenski in nekaterih drugih evropskih populacijah. Raznovrstnost haplotipov znotraj posameznih haploskupin smo grafično ponazorili z mrežno analizo haplotipov (angl. Network Analysis) v programu Network. Za določitev haplotipa prvih naseljencev (angl. Founder Haplotype) oz. predniškega haplotipa (angl. Ancestral Haplotype) v dani populaciji smo uporabili načela koalescenčne teorije z naslednjimi predpostavkami (Crandall in Templeton, 1993):

- najstarejši haplotipi imajo praviloma najvišje frekvence,
- najstarejši haplotipi imajo minimalno povprečno razdaljo do ostalih haplotipov in se navadno nahajajo v sredini mreže haplotipov,
- najstarejši haplotipi se praviloma nahajajo v različnih populacijah na širšem geografskem področju,
- najstarejši haplotipi imajo praviloma večje število povezav,
- haplotipi iste populacije so praviloma povezani z samo eno povezavo, saj so se razvili najkasneje in tako niso imeli časa za širjenje.

Z namenom primerjave populacij različnih slovenskih pokrajin smo konstruirali tri različne mreže haplotipov (haplotipi so bili konstruirani na podlagi štirinajstih mikrosatelitnih označevalcev) naslednjih haploskupin: R1a1a (M198), R1b (M343) in I2a1 (P37.2). Mrežna analiza haplotipov slovenske populacije pri haploskupini R1a1a (slika 14) razkrije potencialen predniški haplotip, ki sicer ne zadosti vsem kriterijem koalescenčne teorije, vendar je prisoten pri vseh populacijah in je v slovenski populaciji z najvišjo frekvenco, s prevladujočima frekvencama pri štajerski in prekmurski populaciji, kar vsaj delno nakazuje širitev haploskupine R1a1a iz severovzhodne Slovenije. Preostali dve mrežni analizi ne razkrivata pomembnih filogenetskih razmerij, saj izkazujeta razpršeno porazdelitev posameznih haplotipov (sliki 15 in 16).

Zanimivejše povezave med posameznimi haplotipi znotraj specifičnih haploskupin razkrije mrežna analiza slovenske populacije kot celote, skupaj z nekaterimi slovanskimi evropskimi populacijami (analiza temelji na sedmih mikrosatelitnih označevalcih). Mrežna analiza haploskupine R1a1 ( $SRY_{10831.2}$ ) (slika 17) razkrije zapleteno strukturo z velikim številom akumuliranih haplotipov in s sredinskim krogom, ki predstavlja hipotetični haplotip prvih naseljencev oz. predniški haplotip. Omenjeni haplotip je prisoten pri osmih od skupno desetih analiziranih populacij, z najvišjo frekvenco med zahodnoslovanskimi

populacijami, vključno s slovensko, medtem ko omenjeni haplotip ni prisoten pri makedonski in srbski populaciji (slika 17). Analiza haplotipne raznovrstnosti znotraj haploskipine R1a1-SRY<sub>10831.2</sub> nakazuje najvišjo raznovrstnost pri populacijah Bosne in Hercegovine ter Makedonije (preglednica 15), kar najverjetnejše nakazuje razpršen dotok haplotipov R1a1 na omenjena geografska območja. Haplotipna raznovrstnost R1a1 pri slovenski populaciji je v skladu z raznovrstnostjo drugih zahodnoslovanskih populacij.

Mrežna analiza druge najpogostejše haploskupine, R1b (M343) (slika 18) je razkrila prisotnost prednškega haplotipa, ki je med skupno desetimi analiziranimi populacijami prisoten pri sedmih, z najvišjo frekvenco pri populaciji Črne gore, medtem ko je pri populacijah Slovaške, Bolgarije in Makedonije nismo zasledili. Visoka frekvenca prednškega haplotipa pri populaciji Črne gore se odraža v pomembno nizki vrednosti haplotipne raznovrstnosti ter nakazuje t. i. učinek prvih naseljencev (angl. Founder Effect) pri omenjenem haplotipu. Najvišjo haplotipno raznovrstnost pri haploskupini R1b zasledimo pri hrvaški in makedonski populaciji, medtem ko je slovenska haplotipna raznovrstnost podobna haplotipni raznovrstnosti drugih zahodnoslovanskih populacij (preglednica 16).

Tretja najpogostejša haploskupina pri slovenski populaciji, I2a1 (P37.2), razkriva najvišjo stopnjo haplotipne raznovrstnosti pri populaciji Bosne in Hercegovine (preglednica 17), kar je v kontekstu paleolitske kontinuitete omenjene haploskupine na območju dinarskega gorstva. Mrežna analiza haplotipov (slika 19) je razkrila v središču prednški haplotip, ki je prisoten pri vseh analiziranih populacijah, z najvišjo frekvenco pri južnoslovanskih. Najnižjo haplotipno raznovrstnost pri haploskupini I2a1 je mogoče opaziti pri češki populaciji, kar bi bila lahko posledica majhnega števila vzorcev, medtem ko se haplotipna raznovrstnost slovenske populacije v primerjavi z drugimi analiziranimi populacijami giblje pri povprečni vrednosti (preglednica 17).

Preglednica 15: Mikrosatelitna raznovrstnost haploskupine R1a1 na podlagi sedmih mikrosatelitnih označevalcev.

Table 15: Microsatellite diversity of R1a1 haplogroup based on seven microsatellite markers.

Populacija	N (R1a1)	Število haplotipov	Raznovrstnost haplotipov	Povprečna genska raznolikost	Povprečna vrednost razlike v parih
Avstrija	18	15	$0,9739 \pm 0,0293$	$0,3903 \pm 0,2428$	$2,7320 \pm 1,5196$
Bolgarija	14	9	$0,9341 \pm 0,0448$	$0,3265 \pm 0,2137$	$2,2857 \pm 1,3327$
Bosna in Hercegovina	21	19	$0,9905 \pm 0,0178$	$0,3925 \pm 0,2418$	$2,7476 \pm 1,5163$
Češka	56	29	$0,9448 \pm 0,0185$	$0,3475 \pm 0,2121$	$2,4325 \pm 1,3385$
Črna gora	31	17	$0,9247 \pm 0,0352$	$0,3220 \pm 0,2025$	$2,2538 \pm 1,2740$
Hrvaška	52	31	$0,9668 \pm 0,0119$	$0,3537 \pm 0,2155$	$2,4759 \pm 1,3593$
Italija	10	8	$0,9556 \pm 0,0594$	$0,4159 \pm 0,2692$	$2,9111 \pm 1,6661$
Madžarska	61	35	$0,9672 \pm 0,0110$	$0,4013 \pm 0,2382$	$2,8093 \pm 1,5039$
Makedonija	34	24	$0,9768 \pm 0,0132$	$0,3998 \pm 0,2407$	$2,7986 \pm 1,5156$
Poljska	286	89	$0,9611 \pm 0,0049$	$0,3536 \pm 0,2120$	$2,4753 \pm 1,3414$
Rusija	454	114	$0,9580 \pm 0,0046$	$0,3423 \pm 0,2062$	$2,3964 \pm 1,3053$
Slovaška	24	16	$0,9529 \pm 0,0260$	$0,3054 \pm 0,1961$	$2,1377 \pm 1,2312$
Slovenija	152	60	$0,9518 \pm 0,0097$	$0,3609 \pm 0,2162$	$2,5261 \pm 1,3672$
Srbija	26	17	$0,9600 \pm 0,0217$	$0,3578 \pm 0,2219$	$2,5046 \pm 1,3946$

---

Preglednica 16: Mikrosatelitna raznovrstnost haploskupine R1b na podlagi sedmih mikrosatelitnih označevalcev.

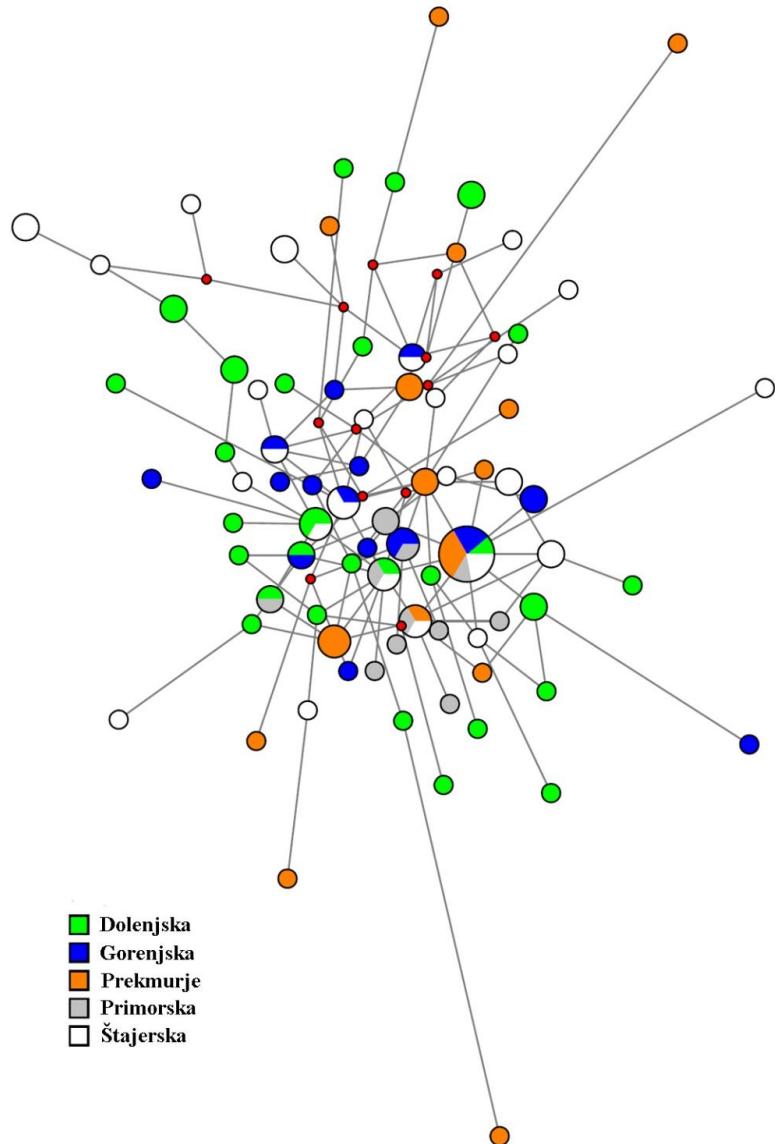
Table 16: Microsatellite diversity of R1b haplogroup based on seven microsatellite markers.

Populacija	N (R1b)	Število haplotipov	Raznovrstnost haplotipov	Povprečna genska raznolikost	Povprečna vrednost razlike v parih
Avstrija	42	30	$0,9663 \pm 0,0164$	$0,3843 \pm 0,2317$	$2,6899 \pm 1,4601$
Češka	52	30	$0,9548 \pm 0,0165$	$0,3721 \pm 0,2246$	$2,6048 \pm 1,4167$
Črna gora	38	11	$0,6543 \pm 0,0836$	$0,2048 \pm 0,1419$	$1,4339 \pm 0,8938$
Hrvaška	16	14	$0,9833 \pm 0,0278$	$0,3690 \pm 0,2337$	$2,5833 \pm 1,4602$
Italija	70	36	$0,9627 \pm 0,0109$	$0,3315 \pm 0,2034$	$2,3205 \pm 1,2847$
Madžarska	41	28	$0,9573 \pm 0,0197$	$0,3742 \pm 0,2268$	$2,6195 \pm 1,4294$
Makedonija	23	18	$0,9802 \pm 0,0176$	$0,4331 \pm 0,2612$	$3,0316 \pm 1,6394$
Poljska	68	35	$0,9451 \pm 0,0150$	$0,3669 \pm 0,2210$	$2,5685 \pm 1,3952$
Rusija	55	39	$0,9758 \pm 0,0104$	$0,4266 \pm 0,2511$	$2,9865 \pm 1,5845$
Slovaška	17	13	$0,9485 \pm 0,0435$	$0,3877 \pm 0,2423$	$2,7132 \pm 1,5153$
Slovenija	79	34	$0,9546 \pm 0,0100$	$0,3305 \pm 0,2026$	$2,3135 \pm 1,2798$

Preglednica 17: Mikrosatelitna raznovrstnost haploskupine I2a1 na podlagi sedmih mikrosatelitnih označevalcev.

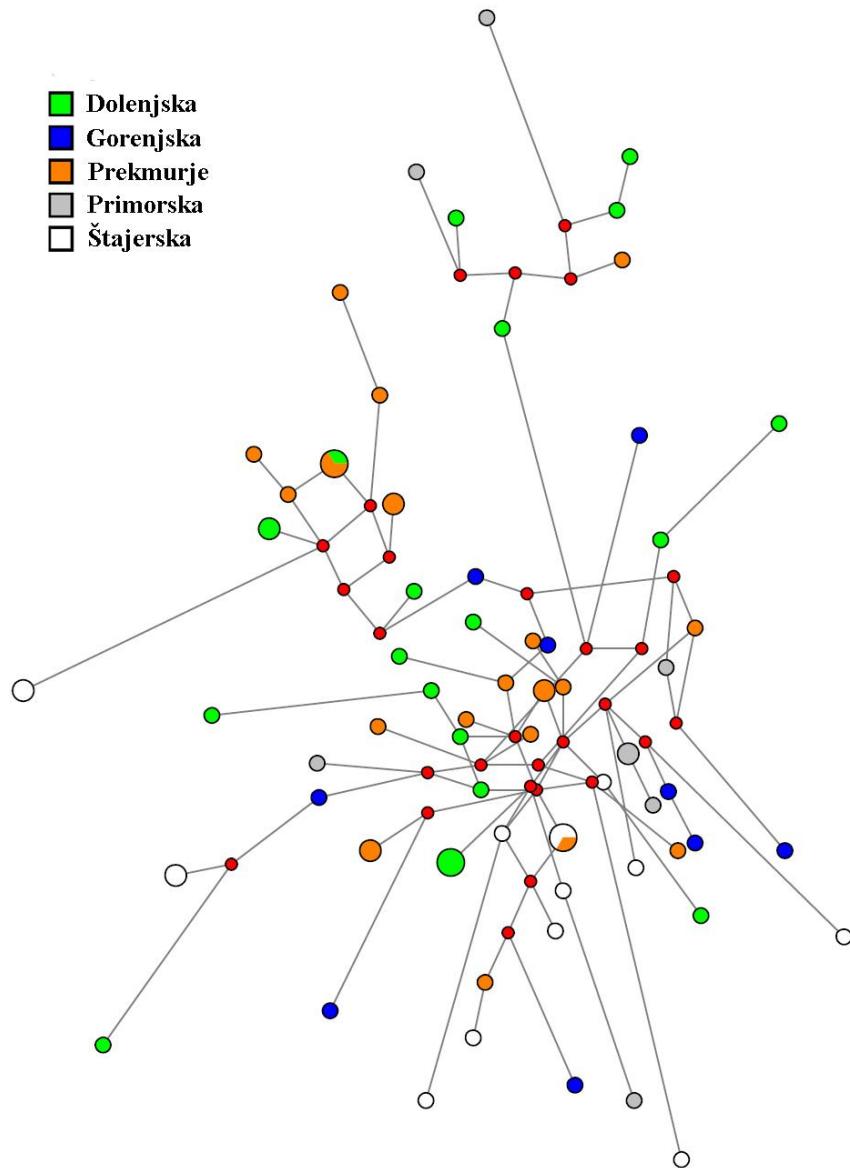
Table 17: Microsatellite diversity of I2a1 haplogroup based on seven microsatellite markers.

Populacija	N (I2a1)	Število haplotipov	Raznovrstnost haplotipov	Povprečna genska raznolikost	Povprečna vrednost razlike v parih
Bolgarija	24	12	$0,9094 \pm 0,0380$	$0,2847 \pm 0,1855$	$1,9928 \pm 1,1648$
Bosna in Hercegovina	54	45	$0,9927 \pm 0,0065$	$0,3801 \pm 0,2283$	$2,6604 \pm 1,4405$
Češka	13	8	$0,8590 \pm 0,0886$	$0,3242 \pm 0,2138$	$2,2692 \pm 1,3313$
Črna gora	117	32	$0,9010 \pm 0,0181$	$0,2475 \pm 0,1607$	$1,7325 \pm 1,0162$
Hrvaška	62	37	$0,9632 \pm 0,0121$	$0,3601 \pm 0,2179$	$2,5204 \pm 1,3755$
Madžarska	40	26	$0,9513 \pm 0,0230$	$0,3418 \pm 0,2108$	$2,3923 \pm 1,3284$
Makedonija	56	24	$0,9195 \pm 0,0232$	$0,2972 \pm 0,1872$	$2,0805 \pm 1,1811$
Poljska	36	23	$0,9619 \pm 0,0159$	$0,3773 \pm 0,2292$	$2,6413 \pm 1,4432$
Rusija	116	43	$0,9404 \pm 0,0287$	$0,3128 \pm 0,1931$	$2,1895 \pm 1,2205$
Slovaška	11	10	$0,9818 \pm 0,0463$	$0,3117 \pm 0,2105$	$2,1818 \pm 1,3061$
Slovenija	53	26	$0,9543 \pm 0,0142$	$0,2934 \pm 0,1855$	$2,0537 \pm 1,1700$
Srbija	68	27	$0,9078 \pm 0,0248$	$0,2756 \pm 0,1758$	$1,9293 \pm 1,1102$



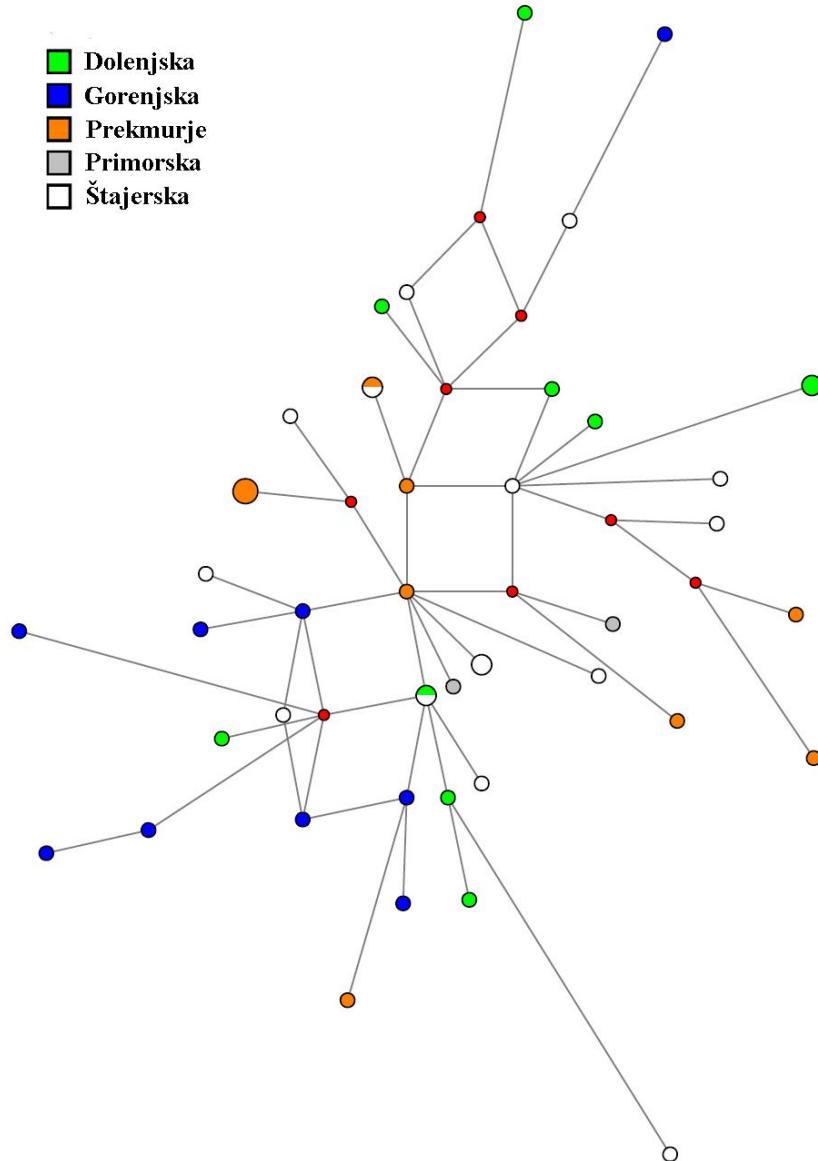
Slika 14: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine R1a1a-M198 pri slovenskih populacijah. Vsak krog predstavlja posamezni haplotip, pri čemer je površina kroga sorazmerna številu posameznikov, ki jih krog vsebuje.

Figure 14: Median-joining network constructed for different Slovenian populations, representing Y-STR variation within haplogroup R1a1a-M198. Circles represent haplotypes, with areas proportional to the number of individuals they contain.



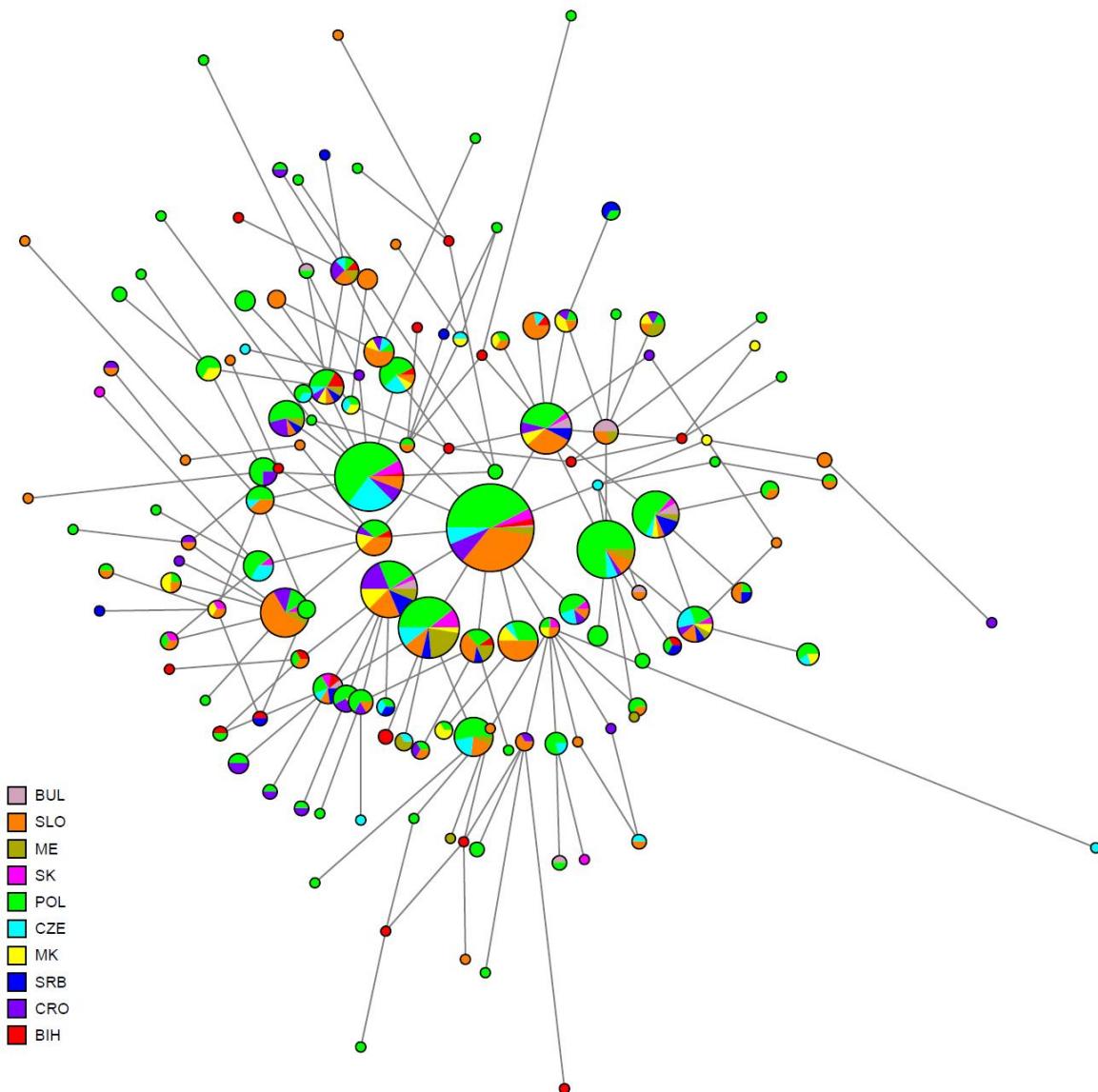
Slika 15: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine R1b-M343 pri slovenskih populacijah. Vsak krog predstavlja posamezni haplotip, pri čemer je površina kroga sorazmerna številu posameznikov, ki jih krog vsebuje.

Figure 15: Median-joining network constructed for different Slovenian populations, representing Y-STR variation within haplogroup R1b-M343. Circles represent haplotypes, with areas proportional to the number of individuals they contain.



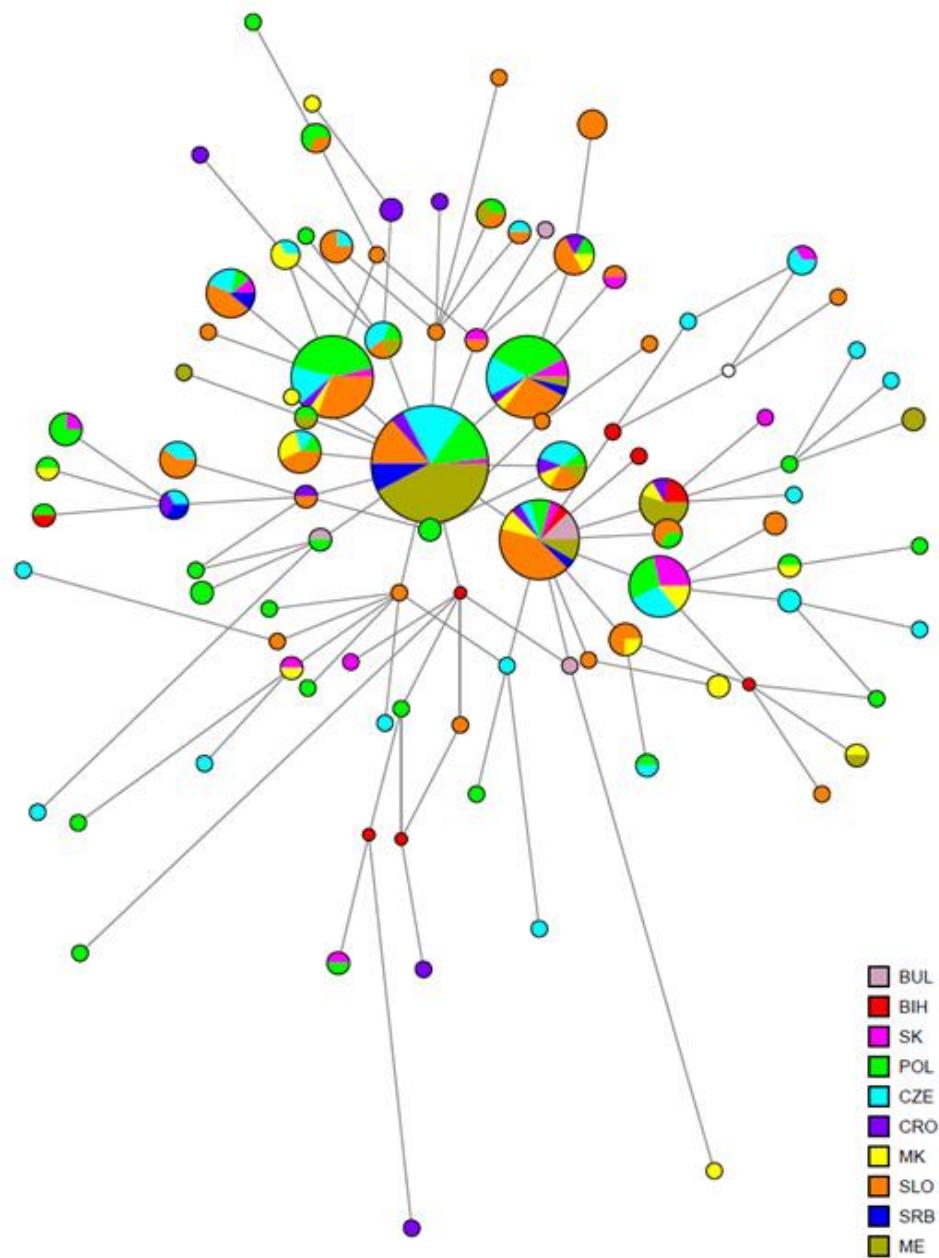
Slika 16: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine I2a1-P37.2 pri slovenskih populacijah. Vsak krog predstavlja posamezni haplotip, pri čemer je površina kroga sorazmerna številu posameznikov, ki jih krog vsebuje.

Figure 16: Median-joining network constructed for different Slovenian populations, representing Y-STR variation within haplogroup I2a1-P37.2. Circles represent haplotypes, with areas proportional to the number of individuals they contain.



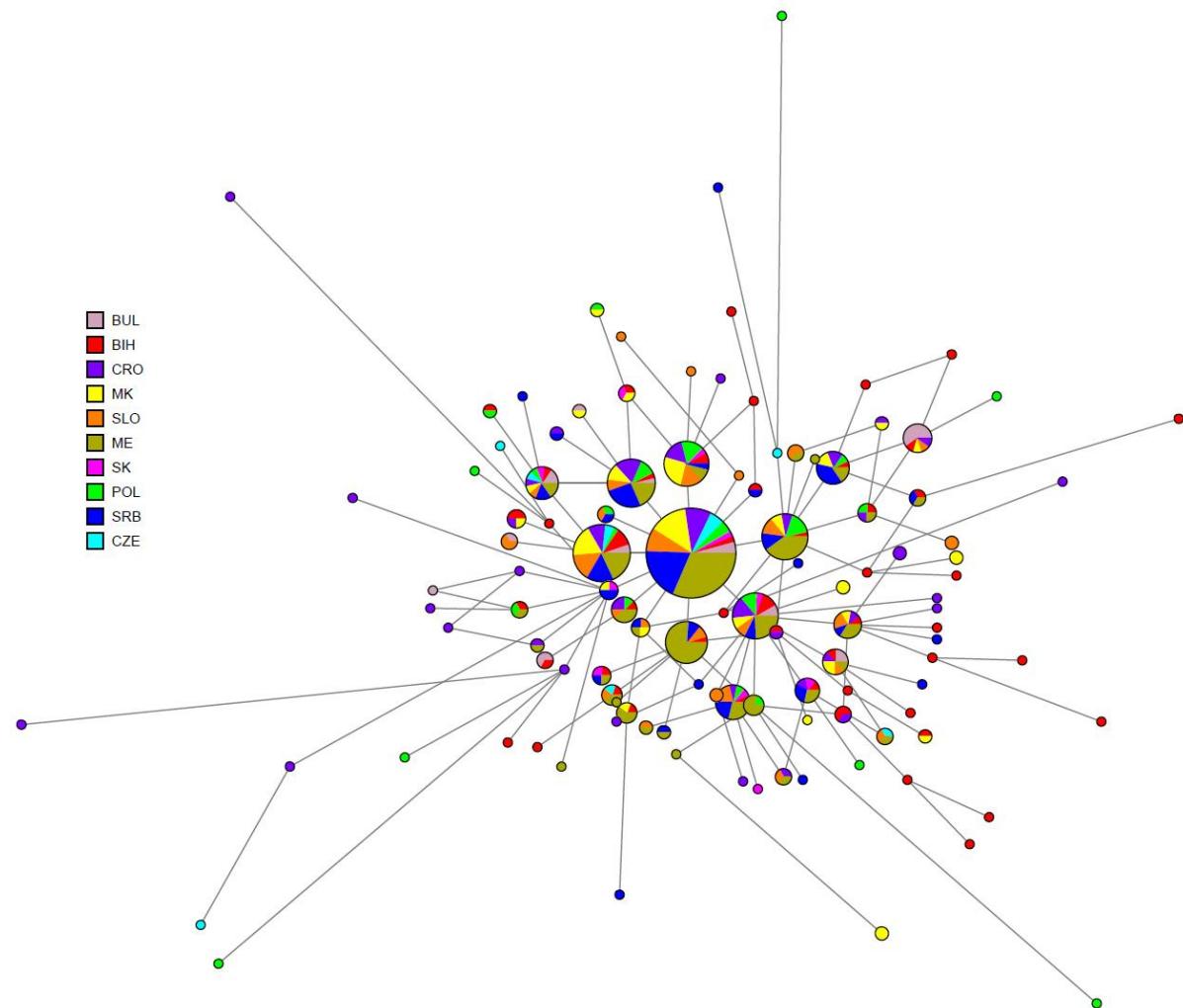
Slika 17: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine R1a1-SRY<sub>10831.2</sub> pri nekaterih slovanskih populacijah. Vsak krog predstavlja posamezni haplotip, pri čemer je površina kroga sorazmerna številu posameznikov, ki jih krog vsebuje.

Figure 17: Median-joining network constructed for different Slav populations, representing Y-STR variation within haplogroup R1a1-SRY<sub>10831.2</sub>. Circles represent haplotypes, with areas proportional to the number of individuals they contain.



Slika 18: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine R1b-M343 pri nekaterih slovanskih populacijah. Vsak krog predstavlja posamezni haplotip, pri čemer je površina kroga sorazmerna številu posameznikov, ki jih krog vsebuje.

Figure 18: Median-joining network constructed for different Slav populations, representing Y-STR variation within haplogroup R1b-M343. Circles represent haplotypes, with areas proportional to the number of individuals they contain.



Slika 19: Mrežna analiza na podlagi mikrosatelitnih označevalcev znotraj haploskupine I2a1-P37.2 pri nekaterih slovanskih populacijah. Vsak krog predstavlja posamezni haplotip, pri čemer je površina kroga sorazmerna številu posameznikov, ki jih krog vsebuje.

Figure 19: Median-joining network constructed for different Slav populations, representing Y-STR variation within haplogroup I2a1-P37.2. Circles represent haplotypes, with areas proportional to the number of individuals they contain.

## 4.3 INCIDENCA IN RAZNOLIKOST MITOHONDRIJSKIH OZNAČEVALCEV

### 4.3.1 Porazdelitev haploskupin mitohondrijskih označevalcev pri slovenski populaciji

Analiza hipervariabilne regije I in II mtDNA pri slovenski populaciji ( $N = 402$ ) je razkrila 36 haploskupin in podhaploskupin (preglednica 18). Frekvenca posameznih haploskupin in podhaploskupin sovpada s povprečnim evropskim mitohondrijskim genskim naborom, za katerega je značilno bistveno nižje geografsko strukturiranje v primerjavi s kromosomom Y (Macaulay in sod., 1999; Malyarchuk in sod., 2008; Richards in sod., 2000; Richards in sod., 1998; Soares in sod., 2010). Raznolikost haploskupin se giblje od najnižje vrednosti  $0,90 \pm 0,025$  pri primorski populaciji do najvišje vrednosti  $0,95 \pm 0,007$  pri štajerski populaciji, pri čemer znaša skupna raznolikost haploskupin pri slovenski populaciji  $0,94 \pm 0,004$ .

Podobno kot pri večini evropskih populacij (Macaulay in sod., 1999; Richards in sod., 1998) je tudi pri slovenski najpogostejsi mitohondrijski haploskupina H (37,8 %). Primerjava posameznih slovenskih pokrajin je pokazala najvišjo frekvenco omenjene haploskupine pri gorenjski (52,7 %) ter najnižjo pri primorski populaciji (30,6), vendar statistični izračun ni pokazal neenakomerne geografske porazdelitve ( $\chi^2 = 4,03$ ,  $ps = 4$ ,  $P > 0,05$ ). Razčlenitev haploskupine H je razkrila dodatnih sedem podhaploskupin, med katerimi je najvišja frekvenca v haploskupini H1 (11,2 %), medtem ko preostale haploskupine ne presežejo meje štirih odstotkov. K haploskupini H prištevamo tudi sestrsko haploskupino HV0, ki je prisotna pri slovenski populaciji s skromnimi tremi odstotki, kar postavlja slovensko populacijo ob bok drugim evropskim populacijam (Soares in sod., 2010).

Druga najpogostejsa haploskupina pri slovenski populaciji (25,9 %) je najstarejša evropska haploskupina U (Soares in sod., 2010), ki je v slovenski populaciji sestavljena iz podhaploskupin U1–U6 in podhaploskupine K. Primerjava frekvenc med posameznimi slovenskimi pokrajinami je razkrila enakomerno porazdelitev ( $\chi^2 = 5,06$ ,  $ps = 4$ ,  $P > 0,05$ ) s frekvenčnim maksimumom pri primorski populaciji (38,8 %) in z minimumom pri dolenjski (21,2 %). Najpogostejsa podhaploskupina je U5 (10,2 %), ki jo razčlenimo še na U5a (7 %) in U5b (2,7 %). Haploskupina U5 naj bi nastala med paleolitskim naseljevanjem evropskega prostora, pomembno vlogo pa naj bi imela tudi med rekolonizacijo Evrope ob koncu zadnjega vrha ledene dobe (Malyarchuk in sod., 2010).

Tretja najpogostejsa slovenska haploskupina J1 (11,7 %) je edina mitohondrijska linija, ki kaže pri primerjavi različnih slovenskih pokrajin statistično pomembno geografsko strukturiranje ( $\chi^2 = 21,74$ ,  $ps = 4$ ,  $P < 0,01$ ). Haploskupina J1 doseže frekvenčni maksimum pri primorski populaciji, kjer zasledimo v primerjavi z evropskim povprečjem občutno povišano frekvenco (24,5 %), medtem ko omenjeno haploskupino pri gorenjski populaciji komaj zaznamo (1,8 %). Haploskupino J1 razčlenimo na podhaploskupini J1b in J1c, pri

čemer je haploskupina J1c pogosteža pri vseh slovenskih pokrajinah, z izjemo Prekmurja, kjer prevladuje haploskupina J1b.

Haploskupina T je zadnja haploskupina, ki preseže mejo petih odstotkov. Pri slovenski populaciji jo zaznamo pri 11,2 odstotka, pri čemer večji delež predstavlja podhaploskupina T2 (9,7 %). Primerjava frekvenc med različnimi slovenskimi pokrajinami kaže enakomerno porazdelitev omenjene haploskupine ( $\chi^2 = 1,68$ ,  $ps = 4$ ,  $P > 0,05$ ) s frekvenčnim maksimumom v Prekmurju (13,4 %) in z minimumom na Gorenjskem (7,3 %).

Haploskupina N je razmeroma redka evropska haploskupina, ki običajno ne preseže petih odstotkov (Richards in sod., 1998). V skladu z večino evropskih populacij omenjena haploskupina tudi pri slovenski populaciji ne preseže meje petih odstotkov. Skupna frekvenca omenjene haploskupine pri slovenski populaciji znaša 4,7 odstotka ter doseže frekvenčni maksimum pri štajerski populaciji (9,7 %), medtem ko je pri primorski populaciji ne zasledimo.

Preglednica 18: Frekvence haploskupin mtDNA (%) in raznolikost haploskupin v petih slovenskih pokrajinah. Haploskupine s frekvenco nad pet odstotkov so poudarjene.

Table 18: mtDNA haplogroup frequencies (%) and haplogroup diversities in five Slovenian regions. Haplogroups with total frequency of more than five percent are highlighted.

Haploskupina	Primorska	Gorenjska	Dolenjska	Štajerska	Prekmurje	Skupaj
<b>H</b>	<b>30,5</b>	<b>52,7</b>	<b>38,1</b>	<b>35,0</b>	<b>34,2</b>	<b>38,1</b>
H*	8,2	14,5	12,4	9,7	11,0	11,2
<b>H1</b>	<b>12,2</b>	<b>21,8</b>	<b>7,1</b>	<b>9,7</b>	<b>11,0</b>	<b>12,4</b>
H2	2,0	0,0	3,5	1,9	2,4	2,0
H3	2,0	0,0	1,8	3,9	3,7	2,3
H5	4,1	7,3	2,7	2,9	1,2	3,6
H6	0,0	5,5	6,2	4,9	0,0	3,3
H8	0,0	1,8	2,7	1,0	1,2	1,3
H11	2,0	1,8	1,8	1,0	3,7	2,1
<b>HV</b>	<b>2,0</b>	<b>9,0</b>	<b>2,7</b>	<b>7,8</b>	<b>11,0</b>	<b>6,5</b>
HV*	0,0	3,6	0,0	0,0	3,7	1,5
HV0*	0,0	1,8	0,9	4,9	6,1	2,7
V	2,0	3,6	1,8	2,9	1,2	2,3
<b>U</b>	<b>34,5</b>	<b>21,8</b>	<b>21,2</b>	<b>29,1</b>	<b>24,4</b>	<b>26,2</b>
U1	4,1	0,0	0,9	1,0	1,2	1,4
U2	4,1	5,5	3,5	1,9	2,4	3,5
U3	2,0	5,5	3,5	1,0	1,2	2,6
U4	6,1	1,8	1,8	2,9	1,2	2,8
<b>U5</b>	<b>14,2</b>	<b>5,5</b>	<b>6,2</b>	<b>15,5</b>	<b>7,4</b>	<b>9,8</b>
>U5a	12,2	5,5	5,3	9,7	3,7	7,3
>U5b	2,0	0,0	0,9	5,8	3,7	2,5
U6	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,2
<b>K</b>	<b>4,0</b>	<b>3,6</b>	<b>5,3</b>	<b>5,8</b>	<b>11,0</b>	<b>5,9</b>
>K1	2,0	1,8	5,3	5,8	9,8	4,9
>K2	2,0	1,8	0,0	0,0	1,2	1,0
<b>J1</b>	<b>24,5</b>	<b>1,8</b>	<b>19,5</b>	<b>6,8</b>	<b>3,6</b>	<b>11,2</b>
J1b	0,0	0,0	2,7	1,9	2,4	1,4
<b>J1c</b>	<b>24,5</b>	<b>1,8</b>	<b>16,8</b>	<b>4,9</b>	<b>1,2</b>	<b>9,8</b>
<b>T</b>	<b>8,2</b>	<b>7,3</b>	<b>12,4</b>	<b>11,6</b>	<b>13,5</b>	<b>10,6</b>
T1	0,0	1,8	0,9	2,9	3,7	1,9
<b>T2</b>	<b>8,2</b>	<b>5,5</b>	<b>11,5</b>	<b>8,7</b>	<b>9,8</b>	<b>8,7</b>
N*	0,0	5,4	2,7	9,7	3,6	4,3
N1	0,0	1,8	2,7	4,9	0,0	1,9
N2*	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
W	0,0	1,8	0,0	2,9	1,2	1,2
X	0,0	1,8	0,0	1,9	2,4	1,2
Ostalo	0,0	1,8	3,5	0,0	9,7	3,0
Velikost populacije	49	55	113	103	82	402
Raznolikost haploskupin	0,90 ±0,025	0,92 ±0,022	0,92 ±0,011	0,95 ±0,007	0,94 ±0,009	0,94 ±0,004

#### **4.3.2 Genetske razdalje med slovensko in nekaterimi evropskimi populacijami na podlagi označevalcev mtDNA**

Z namenom določitve genetskih razmerij med slovensko in nekaterimi evropskimi populacijami (preglednica 19) smo izračunali  $F_{st}$ -matriko genetskih razdalj (preglednica 20, slika 20) in izvedli analizo primarnih komponent na podlagi frekvenc haploskupin mtDNA (slika 21).

Primerjava genetskih razdalj na podlagi frekvenc haploskupin mtDNA je pokazala enakomerno porazdeljenost posameznih haploskupin med različnimi evropskimi populacijami z nekaterimi izjemami. Višjo stopnjo genetske diferenciacije, ki je statistično značilna pri vseh parnih primerjavah ( $P < 0,05$ ), izkazuje madžarska populacija, ki se v primerjavi s preostalimi evropskimi populacijami razlikuje predvsem z nižjo frekvenco haploskupine H\* ter višjima frekvencama haploskupin K in N. Višja frekvenca haploskupine N je značilna tudi za finsko populacijo, pri kateri opazimo tudi višjo frekvenco haploskupine U5b. Obe omenjeni populaciji izkazujeta tudi najvišjo genetsko razdaljo v odnosu do slovenske populacije, ki v kontekstu evropskega genetskega nabora ne kaže pomembnih odstopanj (preglednica 20). Primerjava genetskih razdalj pokaže tudi statistično pomembno razliko med večino evropskih in turško populacijo, ki jo od drugih evropskih populacij ločuje predvsem višja frekvenca haploskupine M (Mergen in sod., 2004).

Analiza primarnih komponent (PCA-analiza, slika 21) odraža matriko  $F_{st}$  genetskih razdalj, saj prva komponenta, ki pojasni 22,52 odstotka celotne variacije, loči neevropsko turško populacijo od drugih evropskih populacij, medtem ko druga komponenta, ki pojasni 16,17 odstotka celotne variacije, loči ugro-finski populaciji od preostalih evropskih populacij. Združitev obeh komponent (38,68 %) nakaže gručo evropskih populacij, med katerimi so majhne razlike v frekvenci posameznih haploskupin, in ločitev ugro-finske populacije na eni strani ter turške populacije od preostalih evropskih populacij na drugi strani.

Preglednica 19: Frekvence haploskupin mtDNA (%) pri slovenski in nekaterih evropskih populacijah.

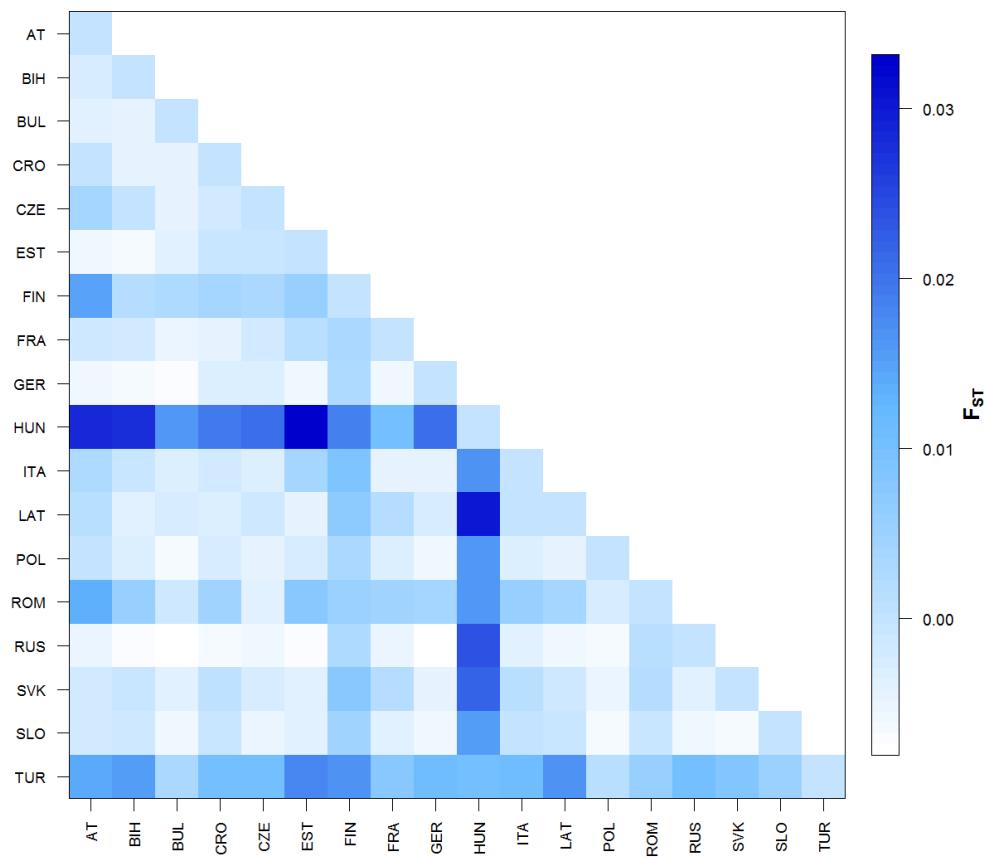
Table 19: mtDNA haplogroup frequencies (%) in Slovenian and several European populations.

	H*	H5	HVO	HV	J	T1	T2	U1	U2e	U3	U4	U5a	U5b	U6	K	N	X	Ostalo
<b>AT (N=99)</b>	43,4	3,0	1,0	1,0	10,1	2,0	8,1	0,0	1,0	1,0	4,0	8,1	0,0	0,0	7,1	3,0	1,0	6,1
<b>BIH (N=144)</b>	42,4	5,6	6,3	0,0	6,9	1,4	3,5	1,4	0,0	0,7	5,6	6,9	4,9	0,0	4,2	4,9	1,4	4,2
<b>BUL (N=996)</b>	38,2	3,3	3,5	3,9	7,7	4,6	5,9	1,3	1,0	2,1	3,9	4,5	2,5	0,0	5,9	5,2	2,0	4,3
<b>CRO (N=96)</b>	37,5	7,3	5,2	3,1	3,1	2,1	4,2	1,0	4,2	2,1	2,1	8,3	2,1	0,0	6,3	7,3	0,0	4,2
<b>CZE (N=83)</b>	33,7	7,2	6,0	3,6	8,4	3,6	9,6	0,0	1,2	1,2	1,2	8,4	3,6	0,0	3,6	4,8	3,6	0,0
<b>EST (N=558)</b>	42,1	3,0	3,2	1,1	9,9	1,3	6,5	0,2	1,3	0,9	5,7	10,0	4,3	0,0	2,7	5,0	0,9	2,0
<b>FIN (N=312)</b>	36,2	2,6	6,1	0,0	6,1	1,6	4,2	0,3	0,6	0,0	1,6	5,8	14,1	0,0	6,1	10,6	1,9	2,2
<b>FRA (N=332)</b>	37,7	4,8	5,7	0,6	5,1	2,4	8,7	0,0	2,1	0,6	2,1	5,1	3,6	0,6	10,5	3,9	1,2	5,1
<b>GER (N=905)</b>	40,7	4,8	4,1	0,3	9,2	2,5	7,8	0,4	0,2	1,8	2,9	5,1	3,9	0,0	7,0	5,0	1,1	3,3
<b>HUN (N=533)</b>	25,5	3,9	4,7	0,8	8,6	1,5	3,9	0,8	0,8	0,2	1,7	2,8	3,2	0,2	21,2	10,5	1,3	8,4
<b>ITA (N=346)</b>	37,9	9,5	5,2	2,3	6,1	1,7	7,5	0,9	1,4	1,2	2,9	2,0	1,2	0,0	9,2	5,2	4,9	0,9
<b>LAT (N=299)</b>	37,8	6,7	3,0	2,3	6,4	1,7	7,7	0,0	3,0	1,7	9,4	7,0	2,0	0,0	2,3	8,4	0,3	0,3
<b>POL (N=542)</b>	35,4	6,3	4,1	1,1	9,4	1,8	7,9	0,0	0,7	5,0	4,6	4,1	3,1	0,0	3,9	7,0	2,0	3,5
<b>ROM (N=94)</b>	27,7	7,4	6,4	1,1	8,5	8,5	5,3	0,0	0,0	3,2	4,3	7,4	5,3	0,0	3,2	6,4	2,1	3,2
<b>RUS (N=549)</b>	40,1	4,9	4,7	2,2	7,3	2,9	7,8	0,4	1,5	0,9	3,5	6,9	2,6	0,0	4,0	4,9	2,2	3,3
<b>SVK (N=129)</b>	38,0	7,0	2,3	1,6	14,7	1,6	7,0	0,0	1,6	2,3	1,6	7,0	1,6	0,0	3,9	7,0	0,0	3,1
<b>SLO (N=402)</b>	34,6	3,2	5,2	1,2	11,7	2,0	9,2	1,0	3,2	2,5	2,5	7,0	2,7	0,2	6,2	3,5	1,2	2,7
<b>TUR (N=340)</b>	29,1	2,9	0,6	5,0	9,4	3,2	5,3	3,2	1,2	5,6	1,5	1,2	1,8	0,0	5,6	6,8	4,4	13,2

Preglednica 20:  $F_{st}$ -vrednosti haploskupin označevalcev mtDNA. Značilne in neznačilne vrednosti so označene kot + oz. – ( $P = 0,05$ ).

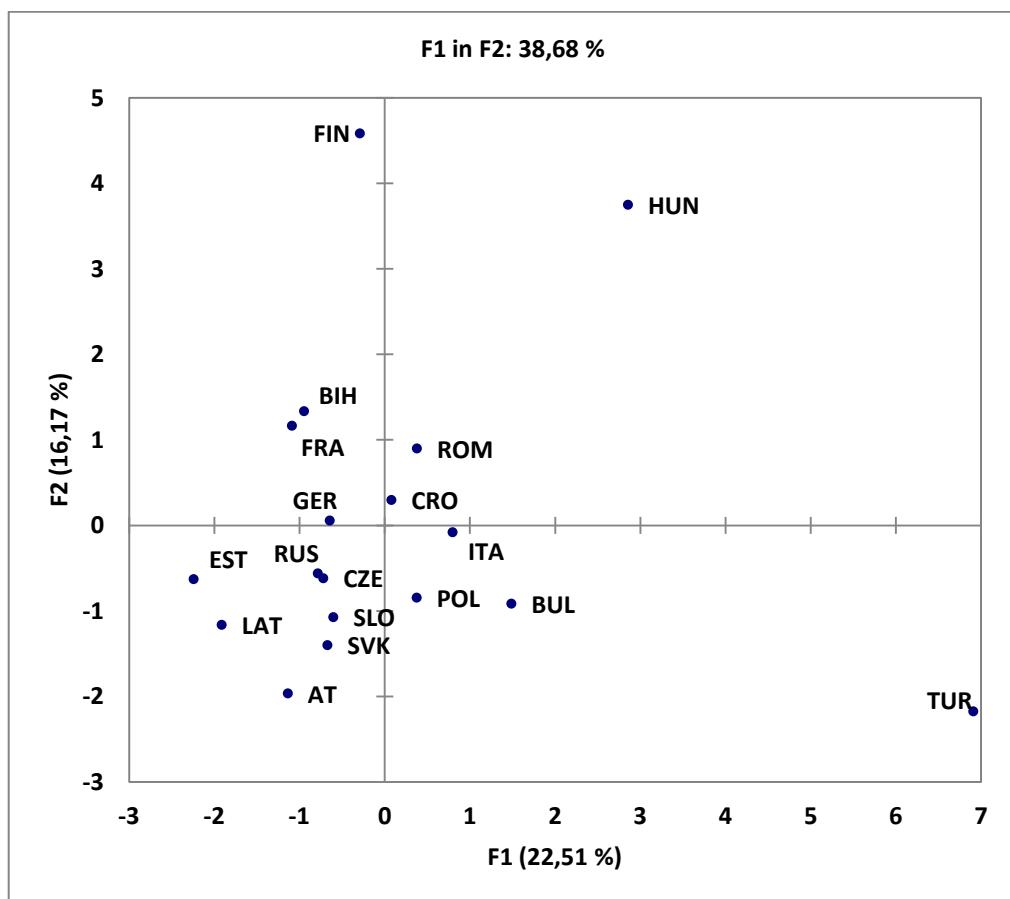
Table 20:  $F_{st}$  values based on raw frequencies of mtDNA haplogroups in studied populations. Significant and nonsignificant values are indicated as “+” and “–“ signs respectively ( $P = 0,05$ ).

	AT	BIH	BUL	CRO	CZE	EST	FIN	FRA	GER	HUN	ITA	LAT	POL	ROM	RUS	SVK	SLO	TUR
AT	0.00000	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+
BIH	-0.00288	0.00000	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
BUL	-0.00385	-0.00463	0.00000	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
CRO	0.00026	-0.00446	-0.00469	0.00000	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
CZE	0.00411	0.00028	-0.00474	-0.00205	0.00000	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
EST	-0.00573	-0.00666	-0.00409	-0.00096	-0.00041	0.00000	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
FIN	0.01473	0.00192	0.00255	0.00365	0.00302	0.00550	0.00000	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
FRA	-0.00125	-0.00201	-0.00521	-0.00437	-0.00215	0.00110	0.00314	0.00000	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
GER	-0.00608	-0.00656	-0.00712	-0.00327	-0.00290	-0.00591	0.00257	-0.00609	0.00000	+	-	-	-	-	-	-	-	+
HUN	0.02824	0.02799	0.01619	0.01936	0.02058	0.03315	0.01883	0.01011	0.02044	0.00000	+	+	+	+	+	+	+	+
ITA	0.00244	-0.00041	-0.00317	-0.00213	-0.00310	0.00380	0.00893	-0.00468	-0.00426	0.01678	0.00000	-	-	-	-	-	-	+
LAT	0.00159	-0.00355	-0.00276	-0.00301	-0.00138	-0.00444	0.00719	0.00204	-0.00241	0.03041	0.00007	0.00000	-	-	-	-	-	+
POL	-0.00007	-0.00322	-0.00649	-0.00256	-0.00450	-0.00235	0.00306	-0.00316	-0.00581	0.01626	-0.00333	-0.00478	0.00000	-	-	-	-	-
ROM	0.01326	0.00583	-0.00099	0.00428	-0.00355	0.00774	0.00494	0.00479	0.00393	0.01637	0.00566	0.00392	-0.00263	0.00000	-	-	-	-
RUS	-0.00499	-0.00714	-0.00795	-0.00617	-0.00586	-0.00710	0.00267	-0.00530	-0.00805	0.02391	-0.00393	-0.00595	-0.00632	0.00142	0.00000	-	-	+
SVK	-0.00223	-0.00074	-0.00370	0.00032	-0.00268	-0.00368	0.00791	0.00169	-0.00459	0.02166	0.00121	-0.00118	-0.00523	0.00198	-0.00414	0.00000	-	-
SLO	-0.00215	-0.00109	-0.00610	-0.00064	-0.00506	-0.00357	0.00478	-0.00390	-0.00550	0.01520	-0.00019	-0.00087	-0.00669	-0.00085	-0.00582	-0.00615	0.00000	-
TUR	0.01397	0.01515	0.00291	0.01012	0.01013	0.01813	0.01645	0.00796	0.01079	0.01031	0.01125	0.01644	0.00146	0.00578	0.01008	0.00840	0.00517	0.00000



Slika 20: Grafična predstavitev  $F_{ST}$ -matrike haploskupin označevalcev mtDNA.

Figure 20: Graphical representation of  $F_{ST}$  values for mtDNA haplogroups.



Slika 21: Analiza primarnih komponent (PCA) na podlagi frekvenc haploskupin DNA označevalcev mtDNA.

Figure 21: Principal component analysis (PCA) based on haplogroup frequency of mtDNA markers.

#### **4.3.3 Haplotipi mtDNA pri slovenski populaciji in primerjava z nekaterimi evropskimi populacijami**

Analiza hipervariabilne regije I in II mtDNA pri slovenski populaciji ( $N = 402$ ) je razkrila skupno 292 različnih haplotipov (72,6 %), porazdeljenih med šestintrideset haploskupin in podhaploskupin (preglednica 18). Najpogosteji haplotip pri slovenski populaciji zasledimo pri enajstih posameznikih (A263G, C315.1C) kot del haploskupine H, pri čemer ne zaznamo mikrogeografskega strukturiranja (haplotip nakazuje enakomerno porazdeljenost med slovenskimi pokrajinami). Drugi najpogosteji haplotip (A73G, G185A, A188G, G228A, A263G, C295T, C315.1C, C16069T, T16126C) zasledimo pri desetih posameznikih s Primorskega in z Dolenjskega. Omenjeni haplotip je del HVR I motiva C16069T, T16126C, značilnega za haploskupino J (slika 24), ki ob upoštevanju obeh variabilnih regij mtDNA tvori razmeroma pestro haplotipno skupino, ki ji po pogostnosti dominira jugozahodna Slovenija, vendar v njej zasledimo tudi posameznike iz preostalih slovenskih pokrajin (slika 24). HVR I haplotipni motiv C16291T in T16298C tvori ob upoštevanju regije HVR II (z izjemo citozinskih ponovitev) homogeno haploskupino HV0, značilno za Prekmurje, ki se ji z različnimi haplotipi pridružujejo preostale slovenske pokrajine. Značilna evropska haplotipna motiva T239C in T16362C (Malyarchuk in sod., 2003) tvorita pri slovenski populaciji haploskupino H6, kjer so z omenjenim haplotipom zastopane vse slovenske pokrajine z izjemo Primorske (slika 24). Haploskupina U skupaj s podhaploskupinami U2, U3, U4, U5a in U5b kaže, ob upoštevanju obeh hipervariabilnih regij, visoko stopnjo haplotipne pestrosti z velikim številom unikatnih haplotipov (slika 24). V slovenski populaciji redka haploskupina N1a nakazuje zanimivo haplotipno homogenost in geografsko strukturiranje pri slovenski populaciji, saj se pojavlja pri štajerski populaciji z značilno in v veliki meri homogeno haplotipno strukturo, medtem ko jo pri preostalih slovenskih populacijah ne zaznamo. Haplotipi, ki pripadajo preostalim haploskupinam, ob upoštevanju obeh hipervariabilnih regij, izkazujejo haplotipno in geografsko raznovrstnost, z redkimi izjemami, ki ne vsebujejo večjega števila osebkov (slika 24).

Izračun haplotipne raznolikosti pri slovenski populaciji kot celoti kaže v primerjavi z drugimi evropskimi analiziranimi populacijami visoko stopnjo haplotipne raznolikosti ( $0,9971 \pm 0,0006$ ) kot tudi visoko stopnjo nukleotidne raznovrstnosti ( $0,0116 \pm 0,0059$ ) s skupnim številom variabilnih mest 185. Primerjalna analiza med skupno petnajstimi evropskimi populacijami razkrije najvišjo stopnjo haplotipne in nukleotidne raznovrstnosti pri slovaški populaciji ( $0,9974 \pm 0,00317$ ;  $0,01364 \pm 0,00709$ ), ki ji sledi slovenska populacija, medtem ko zasledimo najnižjo stopnjo haplotipne in nukleotidne raznovrstnosti pri južnonemški in portugalski populaciji ( $0,9821 \pm 0,004627$ ;  $0,01060 \pm 0,00558$  in  $0,9870 \pm 0,004177$ ;  $0,01198 \pm 0,00623$ ) (preglednica 22).

Preglednica 21: Število haplotipov, skupnih med posameznimi slovenskimi pokrajinami, na osnovi regij HVRI in HVRII mtDNA.

Table 21: Number of shared haplotypes between different Slovenian regions, based on HVRI and HVRII region of mtDNA.

	Primorska	Gorenjska	Dolenjska	Štajerska	Prekmurje
Primorska	-				
Gorenjska	6	-			
Dolenjska	5	5	-		
Štajerska	4	7	5	-	
Prekmurje	4	3	3	2	-

Genetska razmerja med posameznimi evropskimi in slovensko populacijo kot celoto so bila dodatno določena z izračunom  $F_{st}$  genetske razdalje, ki temelji na frekvenci posameznih haplotipov pri določeni populaciji. Rezultat statistične analize je podan v obliki matrike parnih  $F_{st}$ -vrednosti med različnimi populacijami (preglednica 23, slika 22). Statistično pomembne, vendar nizke genetske razlike je pokazala primerjava slovenske populacije kot celote s populacijo Bosne in Hercegovine, z južno- in vzhodnonemško ter s portugalsko populacijo, pri čemer velja poudariti, da je primerjalna analiza pokazala nizke genetske razlike med vsemi primerjanimi evropskimi populacijami, kar potrjuje tudi nizko število statistično pomembnih vrednosti (20 %), ob upoštevanju statistično značilne meje petih odstotkov. Z namenom prikaza genetskih razlik v dveh dimenzijah je bila izvedena analiza večrazsežnega lestvičenja (MDS-analiza), ki temelji na  $F_{st}$ -matriki genetskih razdalj haplotipov mtDNA (slika 23). Nizka vrednost cenovne funkcije 0,000156 kaže na dobro ujemanje med dvorazsežnim grafom in parnimi  $F_{st}$ -vrednostmi. Nizke genetske razlike med posameznimi populacijami so se odrazile tudi pri MDS-analizi, pri čemer večina populacij tvori osrednjo gručo, od katere vidno odstopajo samo južno- in vzhodnonemška populacija ter populacija Bosne in Hercegovine. MDS-analiza nakazuje genetsko bližino slovenske populacije z zahodnoslovanskima populacijama Slovaške in Češke ter z madžarsko populacijo.

Pomembno informacijo o pretoku genov med posameznimi populacijami in o morebitnem skupnem izvoru lahko pridobimo s statistično analizo haplotipov mtDNA, ki si jih posamezne populacije delijo oz. so jim skupne. Primerjalna analiza haplotipov med različnimi slovenskimi populacijami nakazuje največ haplotipov, ki so skupni posameznim populacijam, med Štajersko in Gorenjsko ter med Gorenjsko in Primorsko, medtem ko

najmanj skupnih haplotipov zasledimo med Prekmurjem in Štajersko ter med Prekmurjem in Gorenjsko ter Dolenjsko (preglednica 21). Primerjalna analiza med slovensko populacijo kot celoto in posameznimi evropskimi populacijami razkriva največji delež haplotipov, skupnih s slovensko populacijo, pri slovaški populaciji (0,27), medtem ko zaznamo najmanjši delež pri španski in južnonemški populaciji (preglednica 22).

Koalescenčna starost posameznih haploskupin je bila izračunana na podlagi mrežne analize mitohondrijskih haplotipov (slika 24), in sicer z izračunom povprečne razdalje (glede na število mutacij) med izvornim haplotipom in njegovimi potomci ( $\rho$ -ocenitev), pri čemer je bila upoštevana stopnja mutacije 1/20.180 let. Z omenjenim izračunom smo dobili oceno starosti posamezne haploskupine v slovenski populaciji, in sicer: U5a –  $16.994 \pm 5519$ , J1c –  $10.348 \pm 2927$  let, T2 –  $20.180 \pm 5200$  let, K1 –  $18.627 \pm 5597$  in HV –  $12.108 \pm 6692$ , kar je v skladu s starostjo omenjenih haploskupin, podanih v literaturi (Malyarchuk in sod., 2006; Pala in sod., 2012; Soares in sod., 2009).

Preglednica 22: Statistika haplotipov mtDNA pri slovenski in nekaterih evropskih populacijah , kot jih definirajo polimorfizmi regij HVR-I in HVR-II.

Table 22: mtDNA haplotype statistics in Slovenian and some European populations as defined by HVRI and HVRII region.

	N	Število haplotipov	Število (delež) haplotipov, skupnih s slovensko populacijo	haplotipna raznovrstnost	nukleotidna raznovrstnost
BIH	144	102	25 (0,25)	0,9891 ± 0,003701	0,01095 ± 0,00576
HUN	211	171	33 (0,19)	0,9914 ± 0,003128	0,01206 ± 0,00628
ITA	83	73	13 (0,18)	0,9910 ± 0,005918	0,01213 ± 0,00635
FRA	50	46	9 (0,20)	0,9959 ± 0,005282	0,01091 ± 0,00582
GRS	200	140	10 (0,07)	0,9821 ± 0,004627	0,01060 ± 0,00558
GNE	300	204	41 (0,20)	0,9933 ± 0,001618	0,01134 ± 0,00592
CZE	93	78	11 (0,14)	0,9908 ± 0,004796	0,01372 ± 0,00711
GRW	50	43	6 (0,14)	0,9893 ± 0,008337	0,01097 ± 0,00584
POR	241	179	22 (0,12)	0,9870 ± 0,004177	0,01198 ± 0,00623
SLO	402	292	/	0,9971 ± 0,00060	0,01320 ± 0,00680
SPA	312	227	10 (0,04)	0,9954 ± 0,00112	0,01259 ± 0,00651
SWI	154	123	27 (0,22)	0,9951 ± 0,00226	0,01238 ± 0,00644
SVK	70	64	17 (0,27)	0,9974 ± 0,00317	0,01364 ± 0,00709
SRB	104	87	18 (0,21)	0,9949 ± 0,00220	0,01270 ± 0,00661
AT	101	89	11 (0,12)	0,9930 ± 0,00411	0,01210 ± 0,00632

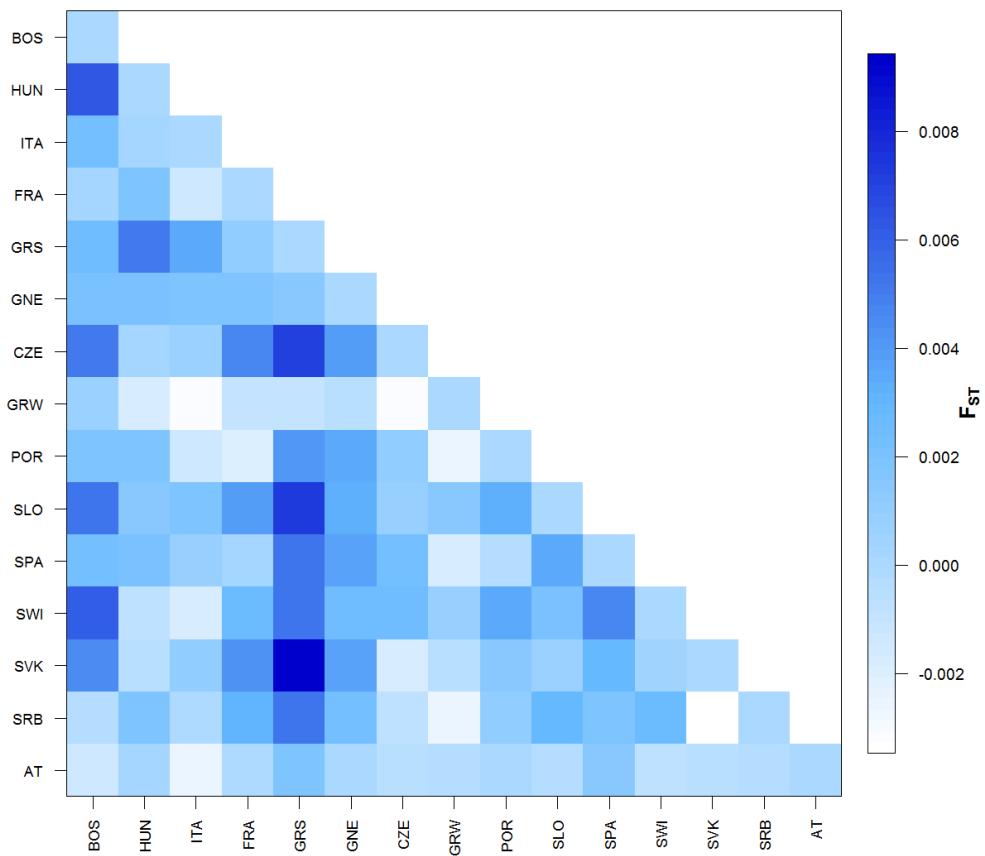
Zupan, A. Genetska struktura Slovencev, kot jo razkrivajo polimorfizmi kromosoma Y in mitohondrijske DNA.  
Dokt. disertacija. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 2014.

---

Preglednica 23:  $F_{st}$ -vrednosti haplotipov označevalcev mtDNA. Značilne in neznačilne vrednosti so označene kot + oz. - ( $P = 0,05$ ).

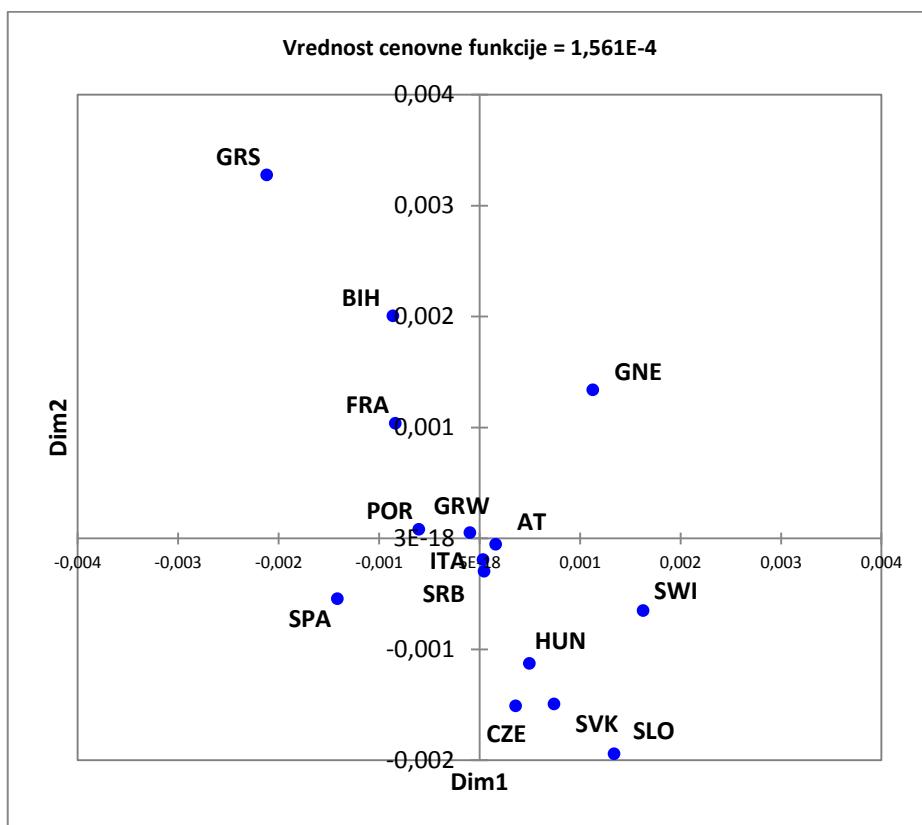
Table 23: Fst values based on mtDNA haplotypes in studied populations. Significant and nonsignificant values are indicated as "+" and "-" signs respectively ( $P = 0,05$ ).

	BIH	HUN	ITA	FRA	GRS	GNE	CZE	GRW	POR	SLO	SPA	SWI	SVK	SRB	AT
BIH	0,00000	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-
HUN	0,00635	0,00000	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
ITA	0,00228	0,0003	0,00000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
FRA	0,00026	0,00178	-0,00146	0,00000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GRS	0,00239	0,00501	0,00347	0,00099	0,00000	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
GNE	0,00204	0,00209	0,00194	0,0019	0,00154	0,00000	+	-	+	+	+	-	-	-	-
CZE	0,00502	0,00017	0,00058	0,00474	0,00708	0,00397	0,00000	-	-	-	-	-	-	-	-
GRW	0,00068	-0,00181	-0,00317	-0,0009	-0,00094	-0,00061	-0,00313	0,00000	-	-	-	-	-	-	-
POR	0,00177	0,00185	-0,00132	-0,0019	0,00411	0,00342	0,00097	-0,00253	0,00000	+	-	+	-	-	-
SLO	0,00524	0,00142	0,00178	0,00381	0,00736	0,00321	0,00095	0,00143	0,00318	0,00000	+	-	-	-	-
SPA	0,0023	0,00215	0,00092	0,00034	0,00531	0,00367	0,00232	-0,00173	-0,00043	0,00344	0,00000	+	-	-	-
SWI	0,00603	-0,00072	-0,00186	0,00259	0,00532	0,00238	0,00251	0,00086	0,00355	0,00198	0,00469	0,00000	-	-	-
SVK	0,00439	-0,00059	0,00098	0,00429	0,00942	0,00372	-0,00181	-0,00056	0,00152	0,00066	0,00292	0,00039	0,00000	-	-
SRB	-0,00033	0,0018	-0,00007	0,00303	0,00538	0,00224	-0,00081	-0,00258	0,0011	0,00288	0,00187	0,00268	-0,00348	0,00000	-
AT	-0,00129	0,0002	-0,00249	-0,00012	0,00196	-0,00005	-0,00053	-0,00045	-0,00003	-0,00027	0,00142	-0,00072	-0,0006	-0,00042	0,00000



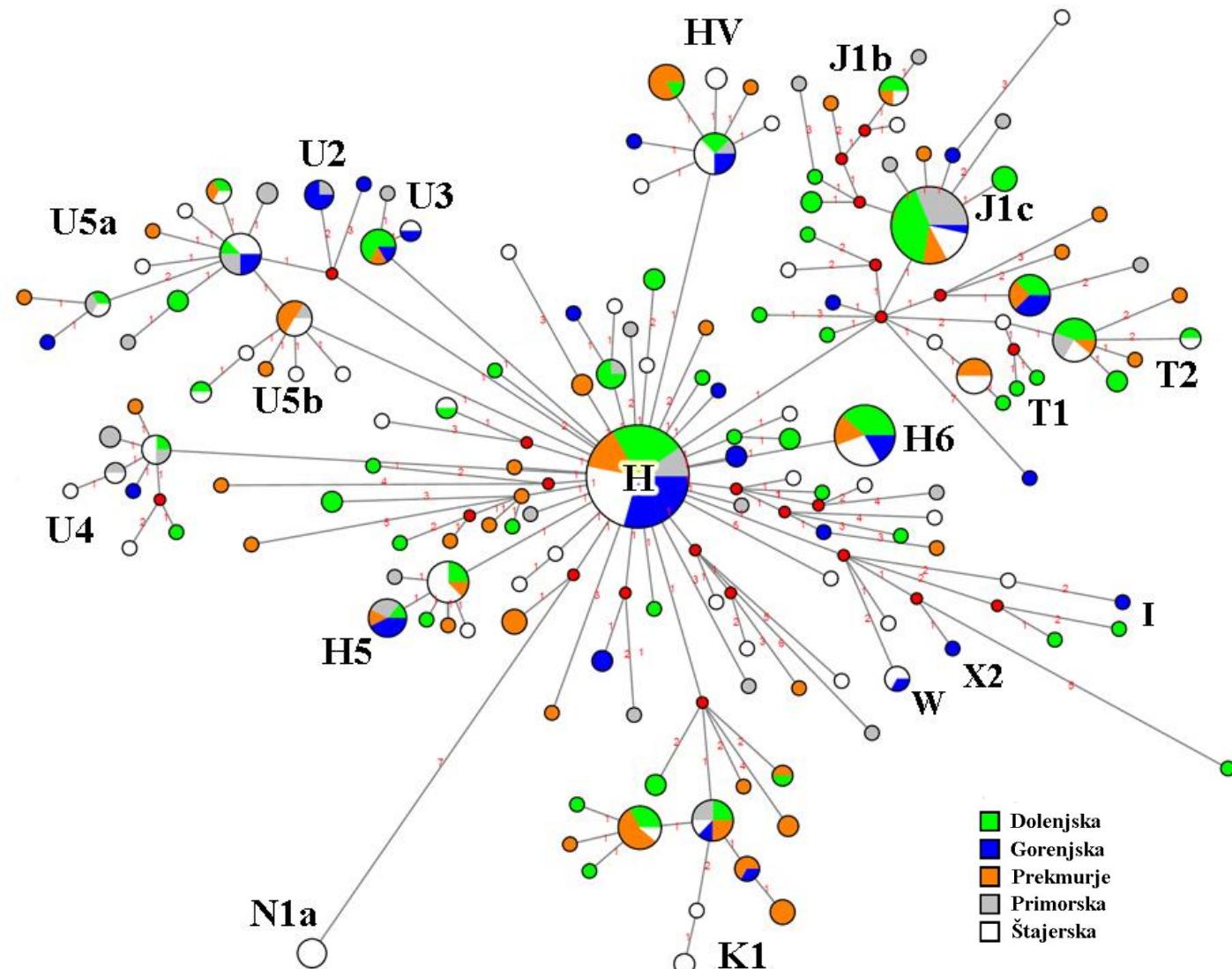
Slika 22: Grafična predstavitev  $F_{ST}$ -matrike haplotipov mtDNA.

Figure 22: Graphical representation of  $F_{ST}$  values for mtDNA haplotypes.



Slika 23: Analiza večrazsežnega lestvičenja (MDS-analiza) na osnovi haplotipov mtDNA.

Figure 23: Multidimensional scaling analysis (MDS analysis) based on mtDNA haplotypes.



Slika 24: Mrežna analiza mitohondrijskih haplotipov na podlagi mitohondrijskih označevalcev regije HVR I. Vsak krog predstavlja posamezen haplotip, pri čemer je površina kroga sorazmerna številu posameznikov, ki jih krog vsebuje.

Figure 24: Network analysis of all mitochondrial haplotypes, based on HVR I control region. Circles represent haplotypes, with areas proportional to the number of individuals they contain.

## 5 RAZPRAVA

Geografska razgibanost slovenske pokrajine, ki se razprostira čez gorati alpski svet na severu do ravnic panonske nižine Prekmurja na vzhodu, obalnega območja Primorske na zahodu in gričevnate Dolenjske na jugovzhodu, se odraža v raznoliki jezikovni strukturi slovenskega jezika s sedmimi narečnimi skupinami, v katerih je okrog petdeset različnih narečij, ki se govorijo v različnih slovenskih pokrajinah. Visoka stopnja strukturiranosti slovenskega jezika bi lahko nakazovala na precejšnjo genetsko raznolikost slovenskega prostora, vendar pa lahko jezikovne skupine in genetsko strukturo povezujemo le v izjemnih primerih, ko so meje med različnimi populacijami geografsko jasno izpostavljene (npr. neprehodni gorski teren ali morje) (Harding in Sokal, 1988). Evolucijska hitrost govorjenega jezika je neprimerno večja v primerjavi z genetsko evolucijo (oz. s hitrostjo nastajanja novih mutacij), dodatno pa so na jezik in širšo kulturo v preteklosti velikokrat vplivale t. i. elite, ki so na podlagi modela »elitne dominance« spreminjale kulturo in jezik določene populacije, ne da bi bistveno vplivale na njeno genetsko strukturo (Cavalli-Sforza, 1994).

### 5.1 POLIMORFIZMI KROMOSOMA Y

Geostrateška lokacija današnjega slovenskega ozemlja je omogočala dotok genov različnih ljudstev v različnih zgodovinskih obdobjih, ki so oblikovali in spreminjali genetsko strukturo ljudi, živečih na današnjem slovenskem prostoru. Razčlenitev slovenske populacije na posamezne pokrajine sicer ni pokazala statistično pomembnih razlik med posameznimi slovenskimi pokrajinami na ravni haploskupin kromosoma Y, kljub temu pa je analiza na ravni haplotipov posameznih haploskupin razkrila določene genetske posebnosti na mikrogeografski ravni.

Gorenjska, s svojo značilno alpsko krajino, je bila v preteklosti geografsko najnedostopnejše območje Slovenije, ki je promoviralo genetsko izolacijo, kar potrjuje tudi analiza haplotipov, ki je razkrila največ posameznih edinstvenih haplotipov pri gorenjski populaciji. Pri tej smo zaznali tudi najvišjo frekvenco haploskupine I2a1-P37.2, ki je v sosednji Avstriji skorajda ne zaznamo in ki v precejšnji meri vpliva na močno izraženo genetsko mejo med Avstrijo in Slovenijo (analiza genetskih pregrad). Omenjena haploskupina je najverjetneje imela pomembno vlogo pri prazgodovinskem oblikovanju genetske strukture prvih naseljencev na današnjem slovenskem ozemlju, kar je bila posledica bližine t. i. balkanskega zatočišča med zadnjim vrhom ledene dobe poznega paleolitika. Širitev haploskupine I2a1-P37.2 naj bi potekala med koncem zadnjega vrha ledene dobe in zgodnjim neolitikom, ko so milejši podnebni pogoji omogočali rekolonizacijo evropskega prostora (Pericic in sod., 2005; Underhill in sod., 2007). Skupna frekvanca omenjene haploskupine pri slovenski populaciji znaša trinajst odstotkov, pri

čemer jo izračun starosti na podlagi variacije STR ( $8,9 \pm 2,27$  ky) postavlja v časovno obdobje konca paleolitika in začetka mezolitika, kar potrjuje navedbe prej omenjene študije. Širjenje haploskupine I2a1 z območja dinarskega gorstva smo potrdili tudi z analizo mikrosatelistne variabilnosti med različnimi preiskovanimi populacijami Evrope, saj je najvišja stopnja variabilnosti zaznana ravno pri populaciji Bosne in Hercegovine. Vendar pa prisotnosti haploskupine I2a1 na območju današnje Slovenije ne moremo pripisati zgolj naselitvi paleolitskih lovsko-nabiralniških družb. Del linij haploskupine I2a1 lahko pripisemo tudi t. i. neolitski tranziciji oz. širitvi neolitskih kmetov z območja rodovitnega polmeseca, ki je pojasnjena z modelom »vala napredovanja« (Cavalli-Sforza, 1994). Po tej teoriji je neolitski val bližnjevhodnih kmetov na območje Balkana in njihovo napredovanje proti severu spodbudil premik tako neolitskih kot tudi paleolitskih linij proti severu in tako tudi na današnje slovensko ozemlje. Kljub vsemu pa haploskupine I2a1 ne moremo povezovati izključno s paleolitskim balkanskim zatočiščem in poznejšo neolitsko tranzicijo. Študija iz leta 2009 (Battaglia in sod., 2009) je pokazala najvišjo stopnjo mikrosatelistne variacije haploskupine I2a1 na območju današnje Ukrajine (kjer je bilo, podobno kot na Balkanu, paleolitsko zatočišče). Navedena mikrosatelistna variacija najstarejše linije haploskupine I2a1 vsaj delno postavlja na območje današnje Ukrajine, iz česar lahko postavimo del linij haploskupine I2a1 v prvotno slovansko domovino ter jih umestimo v kontekst slovanskih migracij, ki so omenjene linije prinesle tudi na današnje slovensko ozemlje.

Primorska je bila v preteklosti meja med slovanskim in romanskim etničnim prostorom, ki je bila začrtana že v osmem stoletju našega štetja, ko so Slovani naselili ozemlje vse do roba Furlanske nižine (Štih in sod., 2008). Etnična meja se je ohranila vse do današnjih dni, kar se odraža tudi v močni genetski razmejitvi, kot jo definira analiza genetskih pregrad. Kljub temu je za primorsko populacijo značilna visoka frekvenca haploskupine R1b-M343 (27,1 %), kar nakazuje vpliv zahodnoevropskega genetskega nabora, kjer omenjena haploskupina dosega visoke frekvence (Myres in sod., 2010; Semino in sod., 2000). Z dodatno razčlenitvijo haploskupine R1b smo razkrili dve pogostejši haploskupini – R1b1a2a1a1-U106 in R1b1a2a1a2b-U152, pri čemer obe kažeta frekvenčni maksimum pri primorski populaciji. Študiji iz leta 2010 in 2011 (Cruciani in sod., 2011; Myres in sod., 2010) pri evropskih populacijah sta razkrili frekvenčni maksimum haploskupine R1b1a2a1a1-U106 na območju vzhodno od rečnega bazena reke Ren, medtem ko je frekvenčni maksimum R1b1a2a1a2b-U152 mogoče opaziti v Švici, severni Italiji, Franciji in na zahodnem Poljskem. Čeprav je razlog v frekvenčnih maksimumih pri naštetih populacijah obrazložen z učinkom ustanovitelja in s poznejšo demografsko širitvijo (Myres in sod., 2010), je ugotovitev, da haploskupina R1b1a2a1a2b-U152 geografsko sovpada s pojavom halštsiske in latenske kulture, še posebej zanimiva. Starost haploskupine R1b1a2a1a2b-U152 ( $9,06 \pm 1,97$  ky) pri slovenski populaciji sicer močno presega obe omenjeni zgodovinski obdobji in jo postavlja ob bok neolitski tranziciji, kljub temu pa

njenega pretoka v poznejših zgodovinskih obdobjih (npr. po trgovskih poteh železnodobne halštatske kulture) ne moremo izključiti.

Štajerska in Prekmurje izkazujeta minimalno medsebojno genetsko diferenciacijo, kar je posledica geografske bližine in razmeroma lahko prehodnega terena, ki je omogočal precejšnji pretok genov med obema populacijama, kar smo zaznali z večjim številom haplotipov, skupnih obema populacijama. Mrežna analiza haplotipov pri haploskupini R1a1a-M198 je razkrila morebiten predniški haplotip na slovenskem prostoru, ki je skupen vsem slovenskim populacijam, vendar z najvišjo frekvenco pri štajerski in prekmurski populaciji, kar bi lahko vsaj delno nakazovalo izvor in smer širjenja omenjene haploskupine. Haploskupina R1a1a-M198, ki je najpogostejša na slovenskem prostoru, kaže v svetovnem merilu transkontinentalne značilnosti, saj dosega frekvenčne maksimume v Vzhodni Evropi, Rusiji in Indiji, kljub temu pa je mogoče opaziti najvišjo stopnjo variabilnosti med indoarijsko in dravidijansko populacijo (Underhill in sod., 2010), kar bi lahko nakazovalo na izvor omenjene haploskupine na območju indijske podceline. Haploskupina R1a1a naj bi prvotno v eneolitiku prodrla v Evropo in s tem na današnji slovenski prostor z migracijo ljudi, ki so arheološko označeni kot kurganska kultura, pozneje pa je bila haploskupina povezana tudi s slovanskimi migracijami (Pericic in sod., 2005; Rosser in sod., 2000; Semino in sod., 2000; Wells in sod., 2001). Razčlenitev omenjene skupine pri slovenski populaciji je pokazala prisotnost haploskupine R1a1a1b1a1-M458, značilne za zahodnoslovanske populacije, s frekvenčnim maksimumom pri štajerski populaciji. Omenjena haploskupina bi lahko pomenila zgodovinsko demsko širitev z območja današnje Poljske, kjer frekvenca omenjene haploskupine doseže več kot trideset odstotkov (Underhill in sod., 2010). Poleg haploskupine R1a1a1b1a1 je bil pri populaciji Prekmurja opažen tudi frekvenčni maksimum haploskupine I1-M253, ki je značilen za Severno Evropo in bi lahko bil povezan s prazgodovinskimi migracijami iz Severne Evrope (Rootsi in sod., 2004), lahko pa je odraz genskega priliva germanskih ljudstev v poznejših zgodovinskih obdobjih, še posebej, če upoštevamo starost omenjene haploskupine pri slovenski populaciji ( $8,47 \pm 1,91$  ky).

Analiza bialelnih označevalcev kromosoma Y pri dolenjski populaciji je razkrila frekvenčni maksimum haploskupine R1a1a-M198, ki pa na slovenskem prostoru ne kaže mikrogeografskega strukturiranja, saj je porazdelitev omenjene haploskupine precej enakomerna. Kljub temu pa lahko pri dolenjski in tudi štajerski populaciji opazimo povisano frekvenco haploskupine E1b1b1a1-M78, ki jo pri drugih slovenskih populacijah komajda zaznamo oz. analiza njene prisotnosti ni pokazala. Haploskupina E1b1b1a1 spada med pogostejše haploskupine v Evropi. Zanjo je značilen neenakomeren vzorec porazdelitve, pri čemer doseže visoko frekvenco (17–27 %) pri balkanskih populacijah (Pericic in sod., 2005), njen izvor pa lahko glede na mikrosatelitno variacijo postavimo v Severovzhodno Afriko (Cruciani in sod., 2007). Čas prihoda haploskupine E1b1b1a1 na območje Balkana je nejasen, saj so ga različne študije postavljele v mezolitik kot tudi v

bakreno dobo (Battaglia in sod., 2009; Cinnioglu in sod., 2004; Cruciani in sod., 2007), njeno širitev proti kontinentalni Evropi pa povezale z rečnim sistemom Vardar–Morava–Donava (Pericic in sod., 2005). Vendar pa moramo izrazitejšo pojavnost haploskupine E1b1b1a1 na območju vzhodne Slovenije, in še posebej Belo krajine, povezati predvsem s poznejšimi zgodovinskimi dogodki, pri čemer velja izpostaviti uskoško naseljevanje med 15. in 17. stoletjem, ki je takrat redko poseljeno Belo krajino najbolj zaznamovalo. Nadaljnje genetske raziskave v obstoječih uskoških skupnostih (Bojanci, Marindol, Miliči in Paunoviči) bi omogočile natančnejši vpogled v genetsko strukturo omenjenih skupnosti in njihov vpliv na slovensko jugovzhodno pokrajino.

Analiza filogenetskih odnosov na osnovi označevalcev kromosoma Y med slovensko populacijo kot celoto in drugimi preučevanimi populacijami je razkrila pomembne in statistično značilne povezave med slovenskim genetskim naborom in genetskim naborom zahodnoslovanskih populacij. Še posebej močne povezave je mogoče opaziti med slovensko in slovaško populacijo, med katerima smo zaznali tudi največ skupnih haplotipov, kar nakazuje skupen izvor obeh populacij in (ali) intenziven pretok genov med obema populacijama v zgodovinskih obdobjih. Rezultat analize genetskih povezav, ki nakazuje genetsko bližino med slovensko, slovaško in do določene mere tudi češko populacijo, lahko povežemo z zanimivo zgodovinsko vzporednico Samove plemenske zveze, ki naj bi glede na zgodovinske vire združevala prva slovanska plemena in naj bi obsegala široko območje od današnje Češke in Slovaške vse do prostora poznejše Karantanije v vzhodnih Alpah (Štih in sod., 2008). Vendar pa je treba poudariti, da je obseg Samove plemenske zveze treba dojemati s precejšnjo mero previdnosti, saj arheoloških dokazov o tako velikem obstoju take politične zveze v tedanjem času ni (Barford, 2001), povezava z genetskimi vzorci sodobnih populacij pa je zelo špekulativna. Kljub temu pa homogeni genetski sklad zahodnoslovanskih populacij in slovenske populacije kot celote potrjuje obstoj skupnega genetskega jedra, iz katerega so se razvili sodobni slovanski narodi Srednje Evrope. Razvoj slovenske populacije iz skupne zahodnoslovanske veje sovpada tudi z Bezla jevno teorijo o zahodnoslovanskem jezikovnem jedru slovenskega jezika, ki se je pozneje razvijal pod južnoslovanskim vplivom (Bezlaj, 1967). Omenjene jezikovno-genetske povezave smo potrdili tudi z analizo AMOVA, ki razkriva najvišjo stopnjo variacije med različnimi skupinami v primeru, ko je slovenska populacija združena z zahodnoslovansko jezikovno skupino.

## 5.2 POLIMORFIZMI mtDNA

Analiza polimorizmov mtDNA pri slovenski populaciji je razkrila, da slovenski mitohondrijski genetski nabor pripada najpogostejšim zahodnoevrazijskim haploskupinam, skupnim večjemu delu evropskih populacij (H, J, K, N1, T, U4, U5, V, X in W) (Macaulay in sod., 1999; Richards in sod., 1998; Torroni in sod., 1998).

Več kot tretjina slovenskega genetskega nabora pripada haploskupini H, ki kaže široko geografsko razpršenost in izjemno visoko frekvenco pri večini evropskih populacij, pogosta pa je tudi v Severni Afriki in na Bližnjem vzhodu, pri čemer ohranja zmerne frekvence (5–10 %) tudi v Severni Indiji in Srednji Aziji (Achilli in sod., 2004; Richards in sod., 2000; Richards in sod., 2002). Prvotne študije so postavile prihod haploskupine H v obdobje paleolitika pred zadnjo večjo ohladitvijo (zadnjim vrhom ledene dobe) in njen razširjenost čez celotno evropsko celino povezale s paleolitsko rekolonizacijo podhaploskupin H1 in H3 iz iberskega zatočišča (Achilli in sod., 2004; Pereira in sod., 2005). Omenjeno tezo so poznejše študije zavrnile ter povezale haploskupino H s poznejšimi neolitskimi migracijami (Bramanti in sod., 2009; Brotherton in sod., 2013; Garcia in sod., 2011), ki so zaznamovale tudi prostor današnje Slovenije. Primerjava posameznih haplotipov znotraj haploskupine H in njenih podhaploskupin (priloga A) nakazuje izjemno heterogeno haplotipno strukturo najpogosteje slovenske haploskupine, kar najverjetneje nakazuje kompleksne demografske dogodke v zgodovinskih obdobjih današnjega slovenskega prostora. Podoben vzorec kot haploskupina H nakazujeta tudi haploskupini T in K, medtem ko pri haploskupini J1c zasledimo presenetljivo in statistično pomembno neenakomerno geografsko razporeditev pri slovenski populaciji.

Haploskupina J1c izkazuje pri slovenski populaciji frekvenčni gradient, ki poteka od severozahodne pokrajine, kjer so frekvence haploskupine J1c nizke, do zahodne in jugovzhodne pokrajine, kjer frekvenca haploskupine J1c doseže skoraj četrtino celotne populacije, kar je tudi v primerjavi z evropskim prostorom izjemno. Primerjava haplotipov znotraj haploskupine J1c je pokazala veliko mero homogenosti pri primorski in dolenjski populaciji (priloga A in slika 22), kar bi lahko nakazovalo na učinek prvih naseljencev ali na učinek ozkega grla (angl. Bottleneck) pri omenjenih populacijah, kljub temu pa bi lahko analiza omenjene haploskupine na ravni celotnega mitohondrijskega genoma razkrila dodatno segmentacijo haploskupine J1c. Študija iz leta 1998 (Richards in sod., 1998) pripisuje širitev haploskupine J neolitski tranziciji vzdolž sredozemske obale, pri čemer lahko postavimo homogeno genetsko jedro haploskupine J1c pri delu primorske in dolenjske populacije v kontekst neolitskih migracij na današnji slovenski prostor ter jih arheološko povežemo z najstarejšimi neolitskimi ostanki na območju današnje Slovenije, ki pričajo o razcvetu starejšega neolitika na območju jugozahodne Slovenije in še posebej Krasa, ki se arheološko manifestira kot jadranska keramika impresso (Štih in sod., 2008). Povezava med kulturo impresso zgodnjega neolitika in genetsko strukturo sodobne populacije bi lahko nakazovala na genetsko kontinuiteto nekaterih ženskih linij na omenjenem območju Slovenije od zgodnjega neolitika naprej. Vendar pa lahko dokončno potrditev omenjene hipoteze postavimo le z analizo prazgodovinskih sledi DNA pri omenjeni kulturi, saj lahko genetski gradienti nastanejo tudi zaradi stohastičnih procesov, kot je genetski zdrs ali selekcijski pritisk, ki lahko v precejšnji meri vplivajo na frekvenco posamezne haploskupine in s tem izkrivijo pogled na pretekle demografske dogodke oz. nas privedejo do napačnih zaključkov (Chikhi, 2009). Kljub temu pa bi prihod neolitskih

kmetov na današnje slovensko ozemlje, ki je bilo v zgodnjem neolitiku verjetno izjemno redko poseljeno z lovsko-nabiralniškimi družbami, pomenil demografsko rast in širitev neolitskih linij, kar bi omogočalo njihovo ohranitev med poznejšim zgodovinskim dogajanjem. Novejše študije, ki temeljijo na prazgodovinski DNA, pričajo o heterogenem genetskem vzorcu starodavnih neolitskih kultur na evropskem prostoru, kar nakazuje dotok različnih genetskih linij v različne predele Evrope med neolitsko tranzicijo (Pinhasi in sod., 2012). Omenjene študije starodavnih vzorcev pri lovsko-nabiralniških družbah so dokazale diskontinuiteto oz. odsotnost današnjih najpogostejših evropskih linij H, T, K in J na evropskem prostoru, pri čemer je večina linij mtDNA prazgodovinskih DNA pripadala haploskupini U.

Haploskupina U s 25,9 odstotka je druga najpogostejša haploskupina mtDNA pri slovenski populaciji, statistično pomembnih razlik med posameznimi slovenskimi pokrajinami pa ni. Dodatna razčlenitev haploskupine U je razkrila najpogostejši podhaploskupini U5a in U5b pri slovenski populaciji. Obe podhaploskupini naj bi nastali med zadnjo večjo ohladitvijo poznga paleolitika, tj. pred okoli 29 tisoč leti (Soares in sod., 2009), kar potrjuje tudi visok delež haploskupine U5 med lovsko-nabiralniškimi družbami (Bramanti in sod., 2009). Tako bi lahko olševsko kulturo poznga paleolitika v vzhodnih Alpah povezali z omenjeno haploskupino, pri čemu pa je treba poudariti, da je podobno kot pri haploskupini I2a1b kromosoma Y tudi pri haploskupini U5 pomemben vpliv paleolitskih zatočišč, ki so omogočala dotok linij haploskupine U5 z območja dinarskega gorstva, ter tudi preostalih paleolitskih zatočišč med paleolitsko rekolonizacijo Evrope. Razmeroma velika haplotipna raznovrstnost haploskupine U5 pri slovenski populaciji je verjetno posledica dotoka genov v poznejših zgodovinskih obdobjih, ki so zaznamovala slovenski prostor, vendar je njihov prispevek k skupni frekvenci haploskupine U5 brez analize prazgodovinskih ostankov DNA genetsko težje opredeliti. Vprašljivost kontinuitete paleolitskih linij na območju Srednje Evrope in Slovenije še dodatno potrjuje študija iz leta 2009 (Bramanti in sod., 2009), ki razkriva, da so haplotipi, ki pripadajo prazgodovinskima haploskupinama U5 in U4, med sodobnimi populacijami Srednje Evrope izjemno redki.

V nasprotju s kraškim svetom pa je bilo območje severovzhodne Slovenije pod vplivom druge neolitske širitvene poti, značilne za rečni sistem reke Donave. Arheološko jo poznamo v zgodnji obliki kot linearnotrakasto kulturo oz. pozneje kot lengyelsko kulturo. Raziskava starodavnih vzorcev DNA linearnotrakaste kulture (Haak in sod., 2010) je razkrila, da je 25 odstotkov neolitskih kmetov, ki so pripadali omenjeni kulturi, imelo haploskupino N1a, kar je bistveno višja frekvenca kot pri sodobnih evropskih populacijah in kaže na delno genetsko diskontinuiteto na tem območju. Pri slovenski populaciji smo haploskupino N1a zaznali samo pri štajerski populaciji (4,9 %), medtem ko je pri drugih slovenskih populacijah nismo. Njena haplotipna struktura je izjemno homogena, kar kaže na skupnega prednika pri omenjeni haploskupini.

Interpopulacijska analiza na osnovi mtDNA je, podobno kot pri kromosому Y, razkrila najmočnejše genetske povezave med slovensko, češko in slovaško populacijo. Dodatno genetsko povezanost med populacijo Slovenije in Slovaške je razkrila statistična analiza skupnih haplotipov med posameznimi populacijami, saj je bilo ponovno ugotovljenih največ skupnih haplotipov med populacijo Slovenije in Slovaške, kar nakazuje na skupno prednisko populacijo in (ali) na pomemben genetski pretok med obema populacijama.

## 6 SKLEPI

Analiza kromosoma Y in mtDNA je razkrila tako geografsko (vpliv vzhodnega, južnega, zahodnega in severnega evropskega prostora) kot tudi časovno (vpliv različnih prazgodovinskih in zgodovinskih časovnih obdobij) raznolikost slovenskega genetskega nabora.

Analiza je razkrila 29 različnih haploskupin kromosoma Y, z najpogostejšimi R1a1a, R1b, I2a1 in I1, ter 47 različnih haploskupin in podhaploskupin mtDNA, z najpogostejšimi H\*, H1, J1c, T2 in U5a.

Medpopulacijska analiza na osnovi kromosoma Y in mtDNA je razkrila pomembno genetsko povezanost slovenske populacije z zahodnoslovanskimi, še posebej s slovaško, s katero si deli največji delež haplotipov, kar nakazuje skupno prednisko populacijo in (ali) pomemben pretok genov. Genetsko povezanost slovenske populacije z zahodnoslovanskimi smo povezali tudi z Bezlajevo hipotezo o izvoru slovenskega jezika.

Primerjava različnih slovenskih pokrajin na osnovi kromosoma Y je razkrila nekatere posebnosti na mikrogeografski ravni v slovenskih pokrajinah, kot sta povišana frekvenca haploskupine E1b1b1a1 (M78) v Beli krajini, kar bi lahko bila posledica naseljevanja Uskokov, in najvišji delež posameznih edinstvenih haplotipov pri gorenjski populaciji kot posledico večje izoliranosti v zgodovinskih obdobjih.

Primerjava različnih slovenskih pokrajin na osnovi mtDNA je razkrila statistično pomemben frekvenčni gradient haploskupine J1c, s frekvenčnim maksimumom pri primorski populaciji. Rezultat smo povezali z arheološkim horizontom – s kulturo impresso, ki je značilnost zgodnjega neolitika slovenskega Krasa. Omenjeni rezultat podaja morebitno pomembnost zgodnjega neolitika za sodobno slovensko populacijo ter opozarja na pomembnost strategije regionalnega vzorčenja.

Z uspešno analizo bialelnih označevalcev kromosoma Y na podlagi analize talilne krivulje pri visoki ločljivosti smo dokazali ustreznost metode za namene genotipizacije polimorfizmov kromosoma Y.

## 7 POVZETEK (SUMMARY)

### 7.1 POVZETEK

Slovensko ozemlje je geografsko umeščeno med alpsko gorsko verigo, Jadranskim morjem, Panonsko nižino in dinarskim gorstvom, zato je omogočalo prehod različnim populacijam v različnih časovnih obdobjih. Turbulentno zgodovinsko dogajanje in pesra pokrajina sta oblikovala raznoliko sodobno populacijo, katere genetska analiza omogoča delni vpogled v prazgodovinske in zgodovinske demografske dogodke.

V prvem delu študije smo analizirali bialelne in mikrosatelitne označevalce kromosoma Y pri slovenski populaciji. Analizirali smo 42 bialelnih označevalcev in 17 mikrosatelitnih označevalcev kromosoma Y pri 399 posameznikih iz petih slovenskih pokrajin (Primorske, Gorenjske, Dolenjske, Štajerske in Prekmurja). Analiza označevalcev DNA kromosoma Y je razkrila genetsko raznoliko strukturo slovenske populacije, z 29 različnimi haploskupinami. Najpogosteje haploskupine so R1a1a, R1b, I2a1 in I1. Medpopulacijska analiza, ki obsega 5928 vzorcev, je razkrila genetsko povezanost slovenskega genetskega nabora z zahodnoslovanskimi populacijami. Homogeni genetski sklad zahodnoslovanskih in slovenske populacije podaja možnost obstoja skupne predniške populacije v Srednji Evropi in (ali) pomembnega pretoka genov med populacijami.

V drugem delu študije smo analizirali regiji HVR-I in HVR-II mtDNA ter polimorfizme kodirajoče regije mtDNA pri 402 posameznikih iz petih slovenskih pokrajin (Primorske, Gorenjske, Dolenjske, Štajerske in Prekmurja). Analiza je razkrila 47 različnih haploskupin in podhaploskupin, z najpogostejsimi H\*, H1, J1c, T2 in U5a. Primerjava posameznih slovenskih pokrajin je razkrila frekvenčni gradient haploskupine J1c med različnimi pokrajinami, s frekvenčnim maksimumom 24,5 odstotka pri primorski populaciji. Visoka frekvenca haploskupine J1c pri primorski populaciji bi lahko pomenila genetsko sled zgodnje neolitske širitve vzdolž vzhodne jadranske obale, kar je v skladu z arheološkim horizontom, znanim kot kultura impresso, ki je na slovenskem prostoru značilna za Kras. Medpopulacijska analiza s skupnim številom 6585 vzorcev je razkrila povezanost slovenskega genetskega nabora s slovaško populacijo, kar nakazuje obstoj skupne predniške populacije in (ali) pomemben pretok genov med populacijama. Omenjeni rezultati ne nakazujejo samo možnosti zgodnjega neolitskega vpliva na genetsko strukturo sodobne slovenske populacije, temveč tudi pomembnost regionalne strategije vzorčenja.

## 7.2 SUMMARY

The Slovenian territory is geographically positioned between the Alps, the Adriatic Sea, the Pannonian basin and the Dinaric Mountains and, as such, has served as a passageway for different populations over different periods of time. Turbulent historic events and the diverse geography of the region have produced a diverse contemporary population whose genetic analysis provided insight into past demographic events.

In the first part of this study we analysed Y-chromosome biallelic and STR markers in Slovenian population. A total of 42 Y-chromosomal biallelic markers and 17 Y-STRs were genotyped in 399 individuals from five different Slovenian regions (Littoral Region, Upper Carniola, Lower Carniola, Styria and Prekmurje). Analysis of Y-chromosomal markers in five Slovenian regions revealed a diverse genetic landscape with 29 different haplogroups in the Slovenian population. The most common haplogroups were R1a1a, R1b, I2a1 and I1. Analysis also revealed close genetic affiliations of Slovenian population with West Slavic populations. The homogenous genetic strata of the West Slavic populations and the Slovenian population suggest the existence of a common ancestral Slavic population in central European region and/or extensive gene flow between the populations.

In the second part of the study we analysed HVR-I, HVR-II and coding region polymorphisms of mtDNA in 402 individuals from five Slovenian regions (Littoral Region, Upper Carniola, Lower Carniola, Styria and Prekmurje). The analysis revealed 47 haplogroups and subhaplogroups, with the most common being H\*, H1, J1c, T2 and U5a. The intra-population comparison revealed a sharp gradient of J1c haplogroup between different Slovenian populations, with the peak frequency of 24.5 % in the population of Littoral Region. The high frequency of J1c haplogroup among the population of Littoral Region could represent the genetic trace of the early Neolithic expansion along the East Adriatic coastal region, which is in line with the archaeological horizon known as an Impressed Ware culture, whose findings are characteristic for Slovenian Littoral Region. The inter-population analysis of Slovenian population as whole revealed affiliations of the Slovenian gene pool with the Slovak population, suggesting a common ancestry or significant gene flow between the two countries, which is in concordance with the common Slavic ancestry. These results outline not only the impact of early Neolithic genetic input on a modern Slovenian genetic structure, but also an importance of regional sampling strategy.

## 8 VIRI

- Achilli A., Olivieri A., Pala M., Metspalu E., Fornarino S., Battaglia V., Accetturo M., Kutuev I., Khusnutdinova E., Pennarun E., Cerutti N., Di G. C., Crobu F., Palli D., Matullo G., Santachiara-Benerecetti A.S., Cavalli-Sforza L. L., Semino O., Villemans R., Bandelt H. J., Piazza A., Torroni A. 2007. Mitochondrial DNA variation of modern Tuscans supports the near eastern origin of Etruscans. *American Journal of Human Genetics*, 80, 4: 759-768
- Achilli A., Rengo C., Magri C., Battaglia V., Olivieri A., Scozzari R., Cruciani F., Zeviani M., Briem E., Carelli V., Moral P., Dugoujon J. M., Roostalu U., Loogvali E. L., Kivisild T., Bandelt H.J., Richards M., Villemans R., Santachiara-Benerecetti A.S., Semino O., Torroni A. 2004. The molecular dissection of mtDNA haplogroup H confirms that the Franco-Cantabrian glacial refuge was a major source for the European gene pool. *American Journal of Human Genetics*, 75, 5: 910-918
- Alvarez J. C., Johnson D. L., Lorente J. A., Martinez-Espin E., Martinez-Gonzalez L. J., Allard M., Wilson M. R., Budowle B. 2007. Characterization of human control region sequences for Spanish individuals in a forensic mtDNA data set. *Legal Medicine*, 9, 6: 293-304
- Andrews R. M., Kubacka I., Chinnery P. F., Lightowers R. N., Turnbull D. M., Howell N. 1999. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nature Genetics*, 23, 2: 147
- Baasner A., Schafer C., Junge A., Madea B. 1998. Polymorphic sites in human mitochondrial DNA control region sequences: population data and maternal inheritance. *Forensic Science International*, 98, 3: 169-178
- Babalini C., Martinez-Labarga C., Tolk H.V., Kivisild T., Giampaolo R., Tarsi T., Contini I., Barac L., Janicijevic B., Martinovic K., I, Pericic M., Sujoldzic A., Villemans R., Biondi G., Rudan P., Rickards O. 2005. The population history of the Croatian linguistic minority of Molise (southern Italy): a maternal view. *European Journal of Human Genetics*, 13, 8: 902-912
- Balaresque P., Bowden G.R., Adams S.M., Leung H.Y., King T.E., Rosser Z.H., Goodwin J., Moisan J.P., Richard C., Millward A., Demaine A.G., Barbujani G., Previdere C., Wilson I.J., Tyler-Smith C., Jobling M.A. 2010. A predominantly neolithic origin for European paternal lineages. *PLoS Biology*, 8, 1: e1000285  
doi:10.1371/journal.pbio.1000285
- Bandelt H. J., Forster P., Rohl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16, 1: 37-48
- Barac L., Pericic M., Klaric I.M., Janicijevic B., Parik J., Roots I., Rudan P. 2003. Y chromosome STRs in Croatians. *Forensic Science International*, 138, 1-3: 127-133
- Barford P.M. 2001. *The Early Slavs*. New York, Cornell University Press: 416 str.
- Battaglia V., Fornarino S., Al-Zahery N., Olivieri A., Pala M., Myres N.M., King R.J., Roots I., Marjanovic D., Primorac D., Hadziselimovic R., Vidovic S., Drobnić K., Durmishi N., Torroni A., Santachiara-Benerecetti A.S., Underhill P.A., Semino O. 2009. Y-chromosomal evidence of the cultural diffusion of agriculture in Southeast Europe. *European Journal of Human Genetics*, 17, 6: 820-830
- Batzer M.A., Arcot S.S., Phinney J.W., Alegria-Hartman M., Kass D.H., Milligan S.M., Kimpton C., Gill P., Hochmeister M., Ioannou P.A., Herrera R.J., Boudreau D.A., Scheer W.D., Keats B.J., Deininger P.L., Stoneking M. 1996. Genetic variation of

- recent Alu insertions in human populations. *Journal of Molecular Evolution*, 42, 1: 22-29
- Belle E.M., Landry P.A., Barbujani G. 2006. Origins and evolution of the Europeans' genome: evidence from multiple microsatellite loci. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273, 1594: 1595-1602
- Berger B., Lindinger A., Niederstatter H., Grubwieser P., Parson W. 2005. Y-STR typing of an Austrian population sample using a 17-loci multiplex PCR assay. *International Journal of Legal Medicine*, 119, 4: 241-246
- Bezlaj F. 1967. Eseji o slovenskem jeziku. Ljubljana, Mladinska knjiga: 184 str.
- Blanco F.J., Rego I., Ruiz-Romero C. 2011. The role of mitochondria in osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 7, 3: 161-169
- Bosch E., Calafell F., Comas D., Oefner P.J., Underhill P.A., Bertranpetti J. 2001. High-resolution analysis of human Y-chromosome variation shows a sharp discontinuity and limited gene flow between northwestern Africa and the Iberian Peninsula. *American Journal of Human Genetics*, 68, 4: 1019-1029
- Bosch E., Calafell F., Gonzalez-Neira A., Flaiz C., Mateu E., Scheil H.G., Huckenbeck W., Efremovska L., Mikerezi I., Xiroiris N., Grasa C., Schmidt H., Comas D. 2006. Paternal and maternal lineages in the Balkans show a homogeneous landscape over linguistic barriers, except for the isolated Aromuns. *Annals of Human Genetics*, 70, 4: 459-487
- Bosch E., Calafell F., Santos F.R., Perez-Lezaun A., Comas D., Benchemsi N., Tyler-Smith C., Bertranpetti J. 1999. Variation in short tandem repeats is deeply structured by genetic background on the human Y chromosome. *American Journal of Human Genetics*, 65, 6: 1623-1638
- Bowler J.M., Johnston H., Olley J.M., Prescott J.R., Roberts R.G., Shawcross W., Spooner N.A. 2003. New ages for human occupation and climatic change at Lake Mungo, Australia. *Nature*, 421, 6925: 837-840
- Bramanti B., Thomas M.G., Haak W., Unterlaender M., Jores P., Tambets K., Antanaitis-Jacobs I., Haidle M.N., Jankauskas R., Kind C.J., Lueth F., Terberger T., Hiller J., Matsumura S., Forster P., Burger J. 2009. Genetic discontinuity between local hunter-gatherers and central Europe's first farmers. *Science*, 326, 5949: 137-140
- Brandstatter A., Egyed B., Zimmermann B., Duftner N., Padar Z., Parson W. 2007. Migration rates and genetic structure of two Hungarian ethnic groups in Transylvania, Romania. *Annals of Human Genetics*, 71, 6: 791-803
- Brandstatter A., Klein R., Duftner N., Wiegand P., Parson W. 2006. Application of a quasi-median network analysis for the visualization of character conflicts to a population sample of mitochondrial DNA control region sequences from southern Germany (Ulm). *International Journal of Legal Medicine*, 120, 5: 310-314
- Brandstatter A., Zimmermann B., Wagner J., Gobel T., Rock A.W., Salas A., Carracedo A., Parson W. 2008. Timing and deciphering mitochondrial DNA macro-haplogroup R0 variability in Central Europe and Middle East. *BMC Evolutionary Biology*, 8, 191 doi:10.1186/1471-2148-8-191
- Brotherton P., Haak W., Templeton J., Brandt G., Soubrier J., Jane A.C., Richards S.M., Sarkissian C.D., Ganslmeier R., Friederich S., Dresely V., van O.M., Kenyon R., Van der Hoek M.B., Korlach J., Luong K., Ho S.Y., Quintana-Murci L., Behar D.M., Meller H., Alt K.W., Cooper A., Adhikarla S., Ganesh Prasad A.K., Pitchappan R., Varatharajan S.A., Balanovska E., Balanovsky O., Bertranpetti J., Comas D.,

- Martinez-Cruz B., Mele M., Clarke A.C., Matisoo-Smith E.A., Dulik M.C., Gaiesti J.B., Owings A.C., Schurr T.G., Vilar M.G., Hobbs A., Soodyall H., Javed A., Parida L., Platt D.E., Rooyru A.K., Jin L., Li S., Kaplan M.E., Merchant N.C., John M.R., Renfrew C., Lacerda D.R., Santos F.R., Soria Hernanz D.F., Spencer W.R., Swamikrishnan P., Tyler-Smith C., Paulo V.P., Ziegler J.S. 2013. Neolithic mitochondrial haplogroup H genomes and the genetic origins of Europeans. *Nature Communications*, 4: 1764  
doi:10.1038/ncomms2656
- Brown M.D., Hosseini S.H., Torroni A., Bandelt H.J., Allen J.C., Schurr T.G., Scozzari R., Cruciani F., Wallace D.C. 1998. mtDNA haplogroup X: An ancient link between Europe/Western Asia and North America? *American Journal of Human Genetics*, 63, 6: 1852-1861
- Brown W.M., Prager E.M., Wang A., Wilson A.C. 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution*, 18, 4: 225-239
- Butler J.M., Shen Y., McCord B.R. 2003. The development of reduced size STR amplicons as tools for analysis of degraded DNA. *Journal of Forensic Sciences*, 48, 5: 1054-1064
- Cann R.L., Stoneking M., Wilson A.C. 1987. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature* 325, 6099: 31-36
- Cavalli-Sforza LL. 1994. The history and geography of human genes. Princeton, Princeton University Press: 1059 str.
- Cavalli-Sforza LL. 1996. The spread of agriculture and nomadic pastoralism: insight from genetics, linguistics, and archeology. V: *The Origin and Spread of Agriculturalism in Eurasia*. Harris, D. R. (ed.). London, UCL Press: 51-69
- Cavalli-Sforza LL. 2001. Genes, peoples and languages. Berkeley, University of California Press: 224 str.
- Chikhi L. 2009. Update to Chikhi et al.'s "Clinal variation in the nuclear DNA of Europeans" (1998): genetic data and storytelling--from archaeogenetics to astrologenetics? *Human Biology*, 81, 5-6 :639-643
- Chikhi L., Nichols R.A., Barbujani G., Beaumont M.A. 2002. Y genetic data support the Neolithic demic diffusion model. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 99, 17: 11008-11013
- Cinnioglu C., King R., Kivisild T., Kalfoglu E., Atasoy S., Cavalleri G.L., Lillie A.S., Roseman C.C., Lin A.A., Prince K., Oefner P.J., Shen P., Semino O., Cavalli-Sforza L.L., Underhill P.A. 2004. Excavating Y-chromosome haplotype strata in Anatolia. *Human Genetics* 114, 2: 127-148
- Comas D., Plaza S., Wells R.S., Yuldaseva N., Lao O., Calafell F., Bertranpetti J. 2004. Admixture, migrations, and dispersals in Central Asia: evidence from maternal DNA lineages. *European Journal of Human Genetics*, 12, 6: 495-504
- Congiu A., Anagnostou P., Milia N., Capocasa M., Montinaro F., Destro B.G. 2012. Online databases for mtDNA and Y chromosome polymorphisms in human populations. *Journal of Anthropological Sciences*, 90: 201-215
- Crandall K.A., Templeton A.R. 1993. Empirical tests of some predictions from coalescent theory with applications to intraspecific phylogeny reconstruction. *Genetics* 134, 3: 959-969

- Cruciani F., La F.R., Santolamazza P., Sellitto D., Pascone R., Moral P., Watson E., Guida V., Colomb E.B., Zaharova B., Lavinha J., Vona G., Aman R., Cali F., Akar N., Richards M., Torroni A., Novelletto A., Scozzari R. 2004. Phylogeographic analysis of haplogroup E3b (E-M215) y chromosomes reveals multiple migratory events within and out of Africa. *American Journal of Human Genetics*, 74, 5: 1014-1022
- Cruciani F., La F.R., Trombetta B., Santolamazza P., Sellitto D., Colomb E.B., Dugoujon J.M., Crivellaro F., Benincasa T., Pascone R., Moral P., Watson E., Melegh B., Barbujani G., Fuselli S., Vona G., Zagradisnik B., Assum G., Brdicka R., Kozlov A.I., Efremov G.D., Coppa A., Novelletto A., Scozzari R. 2007. Tracing past human male movements in northern/eastern Africa and western Eurasia: new clues from Y-chromosomal haplogroups E-M78 and J-M12. *Molecular Biology and Evolution*, 24, 6: 1300-1311
- Cruciani F., Santolamazza P., Shen P., Macaulay V., Moral P., Olckers A., Modiano D., Holmes S., Destro-Bisol G., Coia V., Wallace D.C., Oefner P.J., Torroni A., Cavalli-Sforza L.L., Scozzari R., Underhill P.A. 2002. A back migration from Asia to sub-Saharan Africa is supported by high-resolution analysis of human Y-chromosome haplotypes. *American Journal of Human Genetics*, 70, 5: 1197-1214
- Cruciani F., Trombetta B., Antonelli C., Pascone R., Valesini G., Scalzi V., Vona G., Melegh B., Zagradisnik B., Assum G., Efremov G.D., Sellitto D., Scozzari R. 2011. Strong intra- and inter-continental differentiation revealed by Y chromosome SNPs M269, U106 and U152. *Forensic Science International: Genetics* 5, 3: e49-e52  
doi: 10.1016/j.fsigen.2010.07.006
- de Knijff P. 2000. Messages through bottlenecks: on the combined use of slow and fast evolving polymorphic markers on the human Y chromosome. *American Journal of Human Genetics*, 67, 5: 1055-1061
- Denaro M., Blanc H., Johnson M.J., Chen K.H., Wilmsen E., Cavalli-Sforza L.L., Wallace D.C. 1981. Ethnic variation in Hpa 1 endonuclease cleavage patterns of human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 78, 9: 5768-5772
- Derenko M., Malyarchuk B., Denisova G., Wozniak M., Grzybowski T., Dambueva I., Zakharov I. 2007. Y-chromosome haplogroup N dispersals from south Siberia to Europe. *Journal of Human Genetics*, 52, 9: 763-770
- Derenko M., Malyarchuk B., Denisova G.A., Wozniak M., Dambueva I., Dorzhu C., Luzina F., Miscicka-Sliwka D., Zakharov I. 2006. Contrasting patterns of Y-chromosome variation in South Siberian populations from Baikal and Altai-Sayan regions. *Human Genetics* 118, 5: 591-604
- Dimo-Simonin N., Grange F., Taroni F., Brandt-Casadevall C., Mangin P. 2000. Forensic evaluation of mtDNA in a population from south west Switzerland. *International Journal of Legal Medicine*, 113, 2: 89-97
- Dolinar M.F., Gabrič A., Golec B., Kosi M., Nabergoj T., Rihtaršič M. 2011. Slovenski zgodovinski atlas. Ljubljana, Nova revija: 253 str.
- Dupanloup I., Bertorelle G., Chikhi L., Barbujani G. 2004. Estimating the impact of prehistoric admixture on the genome of Europeans. *Molecular Biology and Evolution*, 21, 7: 1361-1372
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 1: 47-50

- Excoffier L., Lischer H.E. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 3: 564-567
- Felsenstein J. 1993. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Seattle, Department of Genetics, University of Washington.  
<http://cmgm.stanford.edu/phylip/> (maj 2013)
- Forster P. 2004. Ice Ages and the mitochondrial DNA chronology of human dispersals: a review. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 359, 1442: 255-264
- Forster P., Kayser M., Meyer E., Roewer L., Pfeiffer H., Benkmann H., Brinkmann B. 1998. Phylogenetic resolution of complex mutational features at Y-STR DYS390 in aboriginal Australians and Papuans. *Molecular Biology and Evolution*, 15, 9: 1108-1114
- Forster P., Matsumura S. 2005. Evolution. Did early humans go north or south? *Science*, 308, 5724: 965-966
- Francalacci P., Bertranpetti J., Calafell F., Underhill P.A. 1996. Sequence diversity of the control region of mitochondrial DNA in Tuscany and its implications for the peopling of Europe. *American Journal of Physical Anthropology*, 100, 4: 443-460
- Freije D., Helms C., Watson M.S., Donis-Keller H. 1992. Identification of a second pseudoautosomal region near the Xq and Yq telomeres. *Science* 258, 5089: 1784-1787
- Gamble C., Davies W., Pettitt P., Richards M. 2004. Climate change and evolving human diversity in Europe during the last glacial. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 359, 1442: 243-253
- Gamble C., Davies W., Pettitt P., Hazelwood L., Richards M. 2005. The archaeological and genetic foundations of the European population during the late glacial: Implications for Agricultural Thinking. *Cambridge Archaeological Journal*, 15, 2: 193-223
- Garcia O., Fregel R., Larruga J.M., Alvarez V., Yurrebaso I., Cabrera V.M., Gonzalez A.M. 2011. Using mitochondrial DNA to test the hypothesis of a European post-glacial human recolonization from the Franco-Cantabrian refuge. *Heredity*, 106, 1: 37-45
- Giacomo F., Luca F., Popa L.O., Akar N., Anagnou N., Banyko J., Brdicka R., Barbujani G., Papola F., Ciavarella G., Cucci F., Stasi L., Gavrila L., Kerimova M.G., Kovatchev D., Kozlov A.I., Loutradis A., Mandarino V., Mammi' C., Michalodimitrakis E.N., Paoli G., Pappa K.I., Pedicini G., Terrenato L., Tofanelli S., Malaspina P., Novello A. 2004. Y chromosomal haplogroup J as a signature of the post-neolithic colonization of Europe. *Human Genetics*, 115, 5: 357-371
- Giles R.E., Blanc H., Cann H.M., Wallace D.C. 1980. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 77, 11: 6715-6719
- Grafenauer B. 1950. Nekaj vprašanj iz dobe naseljevanja južnih Slovanov. *Zgodovinski časopis*, 6: 23-129
- Graves J.A., Schmidt M.M. 1992. Mammalian sex chromosomes: design or accident? *Current Opinion in Genetics & Development*, 2, 6: 890-901
- Grover D., Kannan K., Brahmachari S.K., Mukerji M. 2005. ALU-ring elements in the primate genomes. *Genetica*, 124, 2-3: 273-289

- Grzybowski T., Malyarchuk B.A., Derenko M.V., Perkova M.A., Bednarek J., Wozniak M. 2007. Complex interactions of the Eastern and Western Slavic populations with other European groups as revealed by mitochondrial DNA analysis. *Forensic Science International, Genetics*, 1, 2: 141-147
- Haak W., Balanovsky O., Sanchez J.J., Koshel S., Zaporozhchenko V., Adler C.J., Der Sarkissian C.S., Brandt G., Schwarz C., Nicklisch N., Dresely V., Fritsch B., Balanovska E., Villem R., Meller H., Alt K.W., Cooper A. 2010. Ancient DNA from European early neolithic farmers reveals their near eastern affinities. *PLoS Biology*, 8, 11: e1000536  
doi:10.1371/journal.pbio.1000536
- Haak W., Forster P., Bramanti B., Matsumura S., Brandt G., Tanzer M., Villem R., Renfrew C., Gronenborn D., Alt K.W., Burger J. 2005. Ancient DNA from the first European farmers in 7500-year-old Neolithic sites. *Science*, 310, 5750: 1016-1018
- Hammer M.F. 1995. A recent common ancestry for human Y chromosomes. *Nature*, 378, 6555: 376-378
- Hammer M.F., Horai S. 1995. Y chromosomal DNA variation and the peopling of Japan. *American Journal of Human Genetics*, 56, 4: 951-962
- Hammer M.F., Karafet T., Rasanayagam A., Wood E.T., Altheide T.K., Jenkins T., Griffiths R.C., Templeton A.R., Zegura S.L. 1998. Out of Africa and back again: nested cladistic analysis of human Y chromosome variation. *Molecular Biology and Evolution*, 15, 4: 427-441
- Hammer M.F., Karafet T.M., Redd A.J., Jarjanazi H., Santachiara-Benerecetti S., Soodyall H., Zegura S.L. 2001. Hierarchical patterns of global human Y-chromosome diversity. *Molecular Biology and Evolution*, 18, 7: 1189-1203
- Hammer M.F., Redd A.J., Wood E.T., Bonner M.R., Jarjanazi H., Karafet T., Santachiara-Benerecetti S., Oppenheim A., Jobling M.A., Jenkins T., Ostrer H., Bonne-Tamir B. 2000. Jewish and Middle Eastern non-Jewish populations share a common pool of Y-chromosome biallelic haplotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 97, 12: 6769-6774
- Harding R.M., Sokal R.R. 1988. Classification of the European language families by genetic distance. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 85, 23: 9370-9372
- Hasegawa M., Di R.A., Kocher T.D., Wilson A.C. 1993. Toward a more accurate time scale for the human mitochondrial DNA tree. *Journal of Molecular Evolution*, 37, 4: 347-354
- Hedman M., Brandstatter A., Pimenoff V., Sistonen P., Palo J.U., Parson W., Sajantila A. 2007. Finnish mitochondrial DNA HVS-I and HVS-II population data. *Forensic Science International*, 172, 2-3: 171-178
- Ingman M., Kaessmann H., Paabo S., Gyllensten U. 2000. Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature* 408, 6813: 708-713
- Irwin J., Egyed B., Saunier J., Szamosi G., O'Callaghan J., Padar Z., Parsons T.J. 2007. Hungarian mtDNA population databases from Budapest and the Baranya county Roma. *International Journal of Legal Medicine*, 121, 5: 377-383
- Irwin J.A., Ikramov A., Saunier J., Bodner M., Amory S., Rock A., O'Callaghan J., Nuritdinov A., Atakhodjaev S., Mukhamedov R., Parson W., Parsons T.J. 2010. The mtDNA composition of Uzbekistan: a microcosm of Central Asian patterns. *International Journal of Legal Medicine*, 124, 3: 195-204

- Jakovski Z., Nikolova K., Jankova-Ajanovska R., Marjanovic D., Pojskic N., Janeska B. 2011. Genetic data for 17 Y-chromosomal STR loci in Macedonians in the Republic of Macedonia. *Forensic Science International, Genetics*, 5, 4: e108-e111
- Jobling M.A., Tyler-Smith C. 2003. The human Y chromosome: an evolutionary marker comes of age. *Nature Review Genetics*, 4, 8: 598-612
- Johnson M.J., Wallace D.C., Ferris S.D., Rattazzi M.C., Cavalli-Sforza L.L. 1983. Radiation of human mitochondria DNA types analyzed by restriction endonuclease cleavage patterns. *Journal of Molecular Evolution*, 19, 3-4: 255-271
- Kan Y.W., Dozy A.M. 1978. Polymorphism of DNA sequence adjacent to human beta-globin structural gene: relationship to sickle mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 75, 11: 5631-5635
- Karachanak S., Carossa V., Nesheva D., Olivier A., Pala M., Hooshier K.B., Grugni V., Battaglia V., Achilli A., Yordanov Y., Galabov A.S., Semino O., Toncheva D., Torroni A. 2012. Bulgarians vs the other European populations: a mitochondrial DNA perspective. *International Journal of Legal Medicine*, 126, 4: 497-503
- Karafet T.M., Mendez F.L., Meilerman M.B., Underhill P.A., Zegura S.L., Hammer M.F. 2008. New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree. *Genome Research*, 18, 5: 830-838
- Karafet T.M., Osipova L.P., Gubina M.A., Posukh O.L., Zegura S.L., Hammer M.F. 2002. High levels of Y-chromosome differentiation among native Siberian populations and the genetic signature of a boreal hunter-gatherer way of life. *Human Biology*, 74, 6: 761-789
- Kayser M., Krawczak M., Excoffier L., Dieltjes P., Corach D., Pascali V., Gehrig C., Bernini L.F., Jespersen J., Bakker E., Roewer L., de K.P. 2001. An extensive analysis of Y-chromosomal microsatellite haplotypes in globally dispersed human populations. *American Journal of Human Genetics*, 68, 4: 990-1018
- Kayser M., Roewer L., Hedman M., Henke L., Henke J., Brauer S., Kruger C., Krawczak M., Nagy M., Dobosz T., Szibor R., de K.P., Stoneking M., Sajantila A. 2000. Characteristics and frequency of germline mutations at microsatellite loci from the human Y chromosome, as revealed by direct observation in father/son pairs. *American Journal of Human Genetics*, 66, 5: 1580-1588
- Kivisild T., Roots S., Metspalu M., Mastana S., Kaldma K., Parik J., Metspalu E., Adojaan M., Tolk H.V., Stepanov V., Golge M., Usanga E., Papiha S.S., Cinnioglu C., King R., Cavalli-Sforza L., Underhill P.A., Villems R. 2003. The genetic heritage of the earliest settlers persists both in Indian tribal and caste populations. *American Journal of Human Genetics*, 72, 2: 313-332
- Kivisild T., Tolk H.V., Parik J., Wang Y., Papiha S.S., Bandelt H.J., Villems R. 2002. The emerging limbs and twigs of the East Asian mtDNA tree. *Molecular Biology and Evolution*, 19, 10: 1737-1751
- Klaric I.M., Lauc L.B., Pericic M., Janicijevic B., Terzic R., Colak I., Kvesic A., Rudan P. 2005. Evaluation of Y-STR variation in Bosnian and Herzegovinian population. *Forensic Science International*, 154, 2-3: 252-256
- Lacan M., Keyser C., Ricaut F.X., Brucato N., Tarrus J., Bosch A., Guilaine J., Crubezy E., Ludes B. 2011. Ancient DNA suggests the leading role played by men in the Neolithic dissemination. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 108, 45: 18255-18259

- Lahn B.T., Page D.C. 1997. Functional coherence of the human Y chromosome. *Science*, 278, 5338: 675-680
- Lahn B.T., Page D.C. 1999. Four evolutionary strata on the human X chromosome. *Science* 286, 5441: 964-967
- Lahr M.M., Foley R. 1994. Multiple dispersals and modern human origins. *Evolutionary Anthropology: Issues, News, and Reviews* 3, 2: 48-60
- Livingstone F.B. 1958. The distribution of the sickle cell gene in Liberia. *American Journal of Human Genetics*, 10, 1: 33-41
- Lutz S., Weisser H.J., Heizmann J., Pollak S. 1998. Location and frequency of polymorphic positions in the mtDNA control region of individuals from Germany. *International Journal of Legal Medicine*, 111, 2: 67-77
- Macaulay V., Richards M., Hickey E., Vega E., Cruciani F., Guida V., Scozzari R., Bonne-Tamir B., Sykes B., Torroni A. 1999. The emerging tree of West Eurasian mtDNAs: a synthesis of control-region sequences and RFLPs. *American Journal of Human Genetics*, 64, 1: 232-249
- Malmstrom H., Gilbert M.T., Thomas M.G., Brandstrom M., Stora J., Molnar P., Andersen P.K., Bendixen C., Holmlund G., Gothenstrom A., Willerslev E. 2009. Ancient DNA reveals lack of continuity between neolithic hunter-gatherers and contemporary Scandinavians. *Current Biology*, 19, 20: 1758-1762
- Malyarchuk B., Derenko M., Grzybowski T., Perkova M., Rogalla U., Vanecek T., Tsybovsky I. 2010. The peopling of Europe from the mitochondrial haplogroup U5 perspective. *PLoS One* 5, 4: e10285  
doi:10.1371/journal.pone.0010285.g001
- Malyarchuk B., Grzybowski T., Derenko M., Perkova M., Vanecek T., Lazur J., Gomolcak P., Tsybovsky I. 2008. Mitochondrial DNA phylogeny in Eastern and Western Slavs. *Molecular Biology and Evolution*, 25, 8: 1651-1658
- Malyarchuk B.A., Grzybowski T., Derenko M.V., Czarny J., Drobnić K., Miscicka-Sliwka D. 2003. Mitochondrial DNA variability in Bosnians and Slovenians. *Annals of Human Genetics*, 67, 5: 412-425
- Malyarchuk B.A., Grzybowski T., Derenko M.V., Czarny J., Miscicka-Sliwka D. 2006. Mitochondrial DNA diversity in the Polish Roma. *Annals of Human Genetics*, 70, 2: 195-206
- Malyarchuk B.A., Rogozin I.B., Berikov V.B., Derenko M.V. 2002. Analysis of phylogenetically reconstructed mutational spectra in human mitochondrial DNA control region. *Human Genetics*, 111, 1: 46-53
- Man P.Y., Turnbull D.M., Chinnery P.F. 2002. Leber hereditary optic neuropathy. *Journal of Medical Genetics*, 39, 3: 162-169
- Manni F., Guerard E., Heyer E. 2004. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human Biology*, 76, 2: 173-190
- Marjanovic D., Fornarino S., Montagna S., Primorac D., Hadziselimovic R., Vidovic S., Pojskic N., Battaglia V., Achilli A., Drobnić K., Andjelinovic S., Torroni A., Santachiara-Benerecetti A.S., Semino O. 2005. The peopling of modern Bosnia-Herzegovina: Y-chromosome haplogroups in the three main ethnic groups. *Annals of Human Genetics*, 69, 6: 757-763
- Martinez-Cruz B., Ioana M., Calafell F., Arauna L.R., Sanz P., Ionescu R., Boengiu S., Kalaydjieva L., Pamjav H., Makukh H., Plantinga T., van der Meer J.W., Comas D.,

- Netea M.G. 2012. Y-chromosome analysis in individuals bearing the Basarab name of the first dynasty of Wallachian kings. PLoS One 7, 7: e41803  
doi:10.1371/journal.pone.0041803
- McDonald group. 2013. Urbana, University of Illionis  
<http://www.scs.illinois.edu/~mcdonald/> (maj 2013)
- Mergen H., Oner R., Oner C. 2004. Mitochondrial DNA sequence variation in the Anatolian Peninsula (Turkey). Journal of Genetics, 83, 1: 39-47
- Mielnik-Sikorska M., Daca P., Malyarchuk B., Derenko M., Skonieczna K., Perkova M., Dobosz T., Grzybowski T. 2013. The history of Slavs inferred from complete mitochondrial genome sequences. PLoS One 8, 1: e54360  
doi: 10.1371/journal.pone.0054360
- Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research, 16, 3: 1215
- Mirabal S., Varljen T., Gayden T., Regueiro M., Vujovic S., Popovic D., Djuric M., Stojkovic O., Herrera R.J. 2010. Human Y-chromosome short tandem repeats: a tale of acculturation and migrations as mechanisms for the diffusion of agriculture in the Balkan Peninsula. American Journal of Physical Anthropology, 142, 3: 380-390
- Morozova I., Evsyukov A., Kon'kov A., Grosheva A., Zhukova O., Rychkov S. 2012. Russian ethnic history inferred from mitochondrial DNA diversity. American Journal of Physical Anthropology, 147, 3: 341-351
- Mountain J.L., Knight A., Jobin M., Gignoux C., Miller A., Lin A.A., Underhill P.A. 2002. SNPSTRs: empirically derived, rapidly typed, autosomal haplotypes for inference of population history and mutational processes. Genome Research, 12, 11: 1766-1772
- Myres N.M., Rootsi S., Lin A.A., Jarve M., King R.J., Kutuev I., Cabrera V.M., Khusnutdinova E.K., Pshenichnov A., Yunusbayev B., Balanovsky O., Balanovska E., Rudan P., Baldovic M., Herrera R.J., Chiaroni J., Di C.J., Villems R., Kivisild T., Underhill P.A. 2010. A major Y-chromosome haplogroup R1b Holocene era founder effect in Central and Western Europe. European Journal of Human Genetics, 19, 1: 95-101
- NCBI dbSNP Build 138. 2013. Bethesda, National Center for Biotechnology Information  
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_summary.cgi](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_summary.cgi) (april 2013)
- Niederstatter H., Rampl G., Erhart D., Pitterl F., Oberacher H., Neuhuber F., Hausner I., Gassner C., Schennach H., Berger B., Parson W. 2012. Pasture names with Romance and Slavic roots facilitate dissection of Y chromosome variation in an exclusively German-speaking alpine region. PLoS One 7, 7: e41885  
doi:10.1371/journal.pone.0041885
- Nikitina T.V., Nazarenko S.A. 2004. Human microsatellites: mutation and evolution. Genetika, 40, 10: 1301-1318
- Pala M., Olivieri A., Achilli A., Accetturo M., Metspalu E., Reidla M., Tamm E., Karmin M., Reisberg T., Hooshiar K.B., Perego U.A., Carossa V., Gandini F., Pereira J.B., Soares P., Angerhofer N., Rychkov S., Al-Zahery N., Carelli V., Sanati M.H., Houshmand M., Hatina J., Macaulay V., Pereira L., Woodward S.R., Davies W., Gamble C., Baird D., Semino O., Villems R., Torroni A., Richards M.B. 2012. Mitochondrial DNA signals of late glacial recolonization of Europe from near eastern refugia. American Journal of Human Genetics, 90, 5: 915-924
- Park S.D.E. 2001. Trypanotolerance in West African cattle and the population genetic effects of selection: PhD dissertation. Dublin, University of Dublin

- <http://animalgenomics.ucd.ie/sdepark/ms-toolkit/> (maj 2013)
- Parson W., Parsons T.J., Scheithauer R., Holland M.M. 1998. Population data for 101 Austrian Caucasian mitochondrial DNA d-loop sequences: application of mtDNA sequence analysis to a forensic case. *International Journal of Legal Medicine*, 111, 3: 124-132
- Pereira L., Prata M.J., Amorim A. 2000. Diversity of mtDNA lineages in Portugal: not a genetic edge of European variation. *Annals of Human Genetics*, 64, 6: 491-506
- Pereira L., Richards M., Goios A., Alonso A., Albaran C., Garcia O., Behar D.M., Golge M., Hatina J., Al-Gazali L., Bradley D.G., Macaulay V., Amorim A. 2005. High-resolution mtDNA evidence for the late-glacial resettlement of Europe from an Iberian refugium. *Genome Research*, 15, 1: 19-24
- Pericic M., Lauc L.B., Klaric I.M., Roots S., Janicijevic B., Rudan I., Terzic R., Colak I., Kvesic A., Popovic D., Sijacki A., Behluli I., Dordevic D., Efremovska L., Bajec D.D., Stefanovic B.D., Villemans R., Rudan P. 2005. High-resolution phylogenetic analysis of southeastern Europe traces major episodes of paternal gene flow among Slavic populations. *Molecular Biology and Evolution*, 22, 10: 1964-1975
- Pinhasi R., Thomas M.G., Hofreiter M., Currat M., Burger J. 2012. The genetic history of Europeans. *Trends in Genetics*, 28, 10: 496-505
- Poetsch M., Wittig H., Krause D., Lignitz E. 2003. Mitochondrial diversity of a northeast German population sample. *Forensic Science International*, 137, 2-3: 125-132
- Rebala K., Mikulich A.I., Tsybovsky I.S., Sivakova D., Dzupinkova Z., Szczerkowska-Dobosz A., Szczerkowska Z. 2007. Y-STR variation among Slavs: evidence for the Slavic homeland in the middle Dnieper basin. *Journal of Human Genetics*, 52, 5: 406-414
- Renfrew C. 1987. Archeology and Language: The puzzle of Indo-European Origins. London, Jonathan Cape: 346 str.
- Renfrew C. 1992. Archeology, genetics and linguistic diversity. V: MAN. Vol. 27. Renfrew C. (ed.). Manchester, Royal Anthropological Institute of Great Britain and Ireland: 445-478
- Richard C., Pennarun E., Kivisild T., Tambets K., Tolk H.V., Metspalu E., Reidla M., Chevalier S., Giraudet S., Lauc L.B., Pericic M., Rudan P., Claustres M., Journel H., Dorval I., Muller C., Villemans R., Chaventre A., Moisan J.P. 2007. An mtDNA perspective of French genetic variation. *Annals of Human Biology*, 34, 1: 68-79
- Richards M., Corte-Real H., Forster P., Macaulay V., Wilkinson-Herbots H., Demaine A., Papiha S., Hedges R., Bandelt H.J., Sykes B. 1996. Paleolithic and neolithic lineages in the European mitochondrial gene pool. *American Journal of Human Genetics*, 59, 1: 185-203
- Richards M., Macaulay V., Hickey E., Vega E., Sykes B., Guida V., Rengo C., Sellitto D., Cruciani F., Kivisild T., Villemans R., Thomas M., Rychkov S., Rychkov O., Rychkov Y., Golge M., Dimitrov D., Hill E., Bradley D., Romano V., Cali F., Vona G., Demaine A., Papiha S., Triantaphyllidis C., Stefanescu G., Hatina J., Belledi M., Di R.A., Novellotto A., Oppenheim A., Norby S., Al-Zaheri N., Santachiara-Benerecetti S., Scozari R., Torroni A., Bandelt H.J. 2000. Tracing European founder lineages in the Near Eastern mtDNA pool. *American Journal of Human Genetics*, 67, 5: 1251-1276

- Richards M., Macaulay V., Torroni A., Bandelt H.J. 2002. In search of geographical patterns in European mitochondrial DNA. *American Journal of Human Genetics*, 71, 5: 1168-1174
- Richards M.B., Macaulay V.A., Bandelt H.J., Sykes B.C. 1998. Phylogeography of mitochondrial DNA in western Europe. *Annals of Human Genetics*, 62, 3: 241-260
- Roewer L., Croucher P.J., Willuweit S., Lu T.T., Kayser M., Lessig R., de K.P., Jobling M.A., Tyler-Smith C., Krawczak M. 2005. Signature of recent historical events in the European Y-chromosomal STR haplotype distribution. *Human Genetics*, 116, 4: 279-291
- Roewer L., Willuweit S., Kruger C., Nagy M., Rychkov S., Morozowa I., Naumova O., Schneider Y., Zhukova O., Stoneking M., Nasidze I. 2008. Analysis of Y chromosome STR haplotypes in the European part of Russia reveals high diversities but non-significant genetic distances between populations. *International Journal of Legal Medicine*, 122, 3: 219-223
- Rootsi S., Magri C., Kivisild T., Benazzi G., Help H., Bermisheva M., Kutuev I., Barac L., Pericic M., Balanovsky O., Pshenichnov A., Dion D., Grobeij M., Zhivotovsky L.A., Battaglia V., Achilli A., Al-Zahery N., Parik J., King R., Cinnioglu C., Khusnutdinova E., Rudan P., Balanovska E., Scheffrahn W., Simonescu M., Brehm A., Goncalves R., Rosa A., Moisan J.P., Chaventre A., Ferak V., Furedi S., Oefner P.J., Shen P., Beckman L., Mikerezi I., Terzic R., Primorac D., Cambon-Thomsen A., Krumina A., Torroni A., Underhill P.A., Santachiara-Benerecetti A.S., Villems R., Semino O. 2004. Phylogeography of Y-chromosome haplogroup I reveals distinct domains of prehistoric gene flow in europe. *American Journal of Human Genetics*, 75, 1: 128-137
- Rosser Z.H., Zerjal T., Hurles M.E., Adojaan M., Alavantic D., Amorim A., Amos W., Armenteros M., Arroyo E., Barbujani G., Beckman G., Beckman L., Bertranpetti J., Bosch E., Bradley D.G., Brede G., Cooper G., Corte-Real H.B., de K.P., Decorte R., Dubrova Y.E., Evgrafov O., Gilissen A., Glisic S., Golge M., Hill E.W., Jeziorowska A., Kalaydjieva L., Kayser M., Kivisild T., Kravchenko S.A., Krumina A., Kucinskas V., Lavinha J., Livshits L.A., Malaspina P., Maria S., McElreavey K., Meitinger T.A., Mikelsaar A.V., Mitchell R.J., Nafa K., Nicholson J., Norby S., Pandya A., Parik J., Patsalis P.C., Pereira L., Peterlin B., Pielberg G., Prata M.J., Previdere C., Roewer L., Roots S., Rubinsztein D.C., Saillard J., Santos F.R., Stefanescu G., Sykes B.C., Tolun A., Villems R., Tyler-Smith C., Jobling M.A. 2000. Y-chromosomal diversity in Europe is clinal and influenced primarily by geography, rather than by language. *American Journal of Human Genetics*, 67, 6: 1526-1543
- Rousselet F., Mangin P. 1998. Mitochondrial DNA polymorphisms: a study of 50 French Caucasian individuals and application to forensic casework. *International Journal of Legal Medicine*, 111, 6: 292-298
- Saitou N., Nei M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 4: 406-425
- Schenker A. M. 1995. The dawn of Slavic: an introduction to Slavic philology. New Haven, Yale University Press: 346 str.
- Semino O., Magri C., Benazzi G., Lin A.A., Al-Zahery N., Battaglia V., Maccioni L., Triantaphyllidis C., Shen P., Oefner P.J., Zhivotovsky L.A., King R., Torroni A., Cavalli-Sforza L.L., Underhill P.A., Santachiara-Benerecetti A.S. 2004. Origin,

- diffusion, and differentiation of Y-chromosome haplogroups E and J: inferences on the neolithization of Europe and later migratory events in the Mediterranean area. *American Journal of Human Genetics*, 74, 5: 1023-1034
- Semino O., Passarino G., Oefner P.J., Lin A.A., Arbuzova S., Beckman L.E., De B.G., Francalacci P., Kouvatsi A., Limborska S., Marcikiae M., Mika A., Mika B., Primorac D., Santachiara-Benerecetti A.S., Cavalli-Sforza L.L., Underhill P.A. 2000. The genetic legacy of Paleolithic Homo sapiens sapiens in extant Europeans: a Y chromosome perspective. *Science* 290, 5494: 1155-1159
- Semino O., Santachiara-Benerecetti A.S., Falaschi F., Cavalli-Sforza L.L., Underhill P.A. 2002. Ethiopians and Khoisan share the deepest clades of the human Y-chromosome phylogeny. *American Journal of Human Genetics*, 70, 1: 265-268
- Sengupta S., Zhivotovsky L.A., King R., Mehdi S.Q., Edmonds C.A., Chow C.E., Lin A.A., Mitra M., Sil S.K., Ramesh A., Usha Rani M.V., Thakur C.M., Cavalli-Sforza L.L., Majumder P.P., Underhill P.A. 2006. Polarity and temporality of high-resolution y-chromosome distributions in India identify both indigenous and exogenous expansions and reveal minor genetic influence of Central Asian pastoralists. *American Journal of Human Genetics*, 78, 2: 202-221
- Simmler M.C., Rouyer F., Vergnaud G., Nystrom-Lahti M., Ngo K.Y., de la Chapelle A., Weissenbach J. 1985. Pseudoautosomal DNA sequences in the pairing region of the human sex chromosomes. *Nature*, 317, 6039: 692-697
- Skaletsky H., Kuroda-Kawaguchi T., Minx P.J., Cordum H.S., Hillier L., Brown L.G., Repping S., Pyntikova T., Ali J., Bieri T., Chinwalla A., Delehaunty A., Delehaunty K., Du H., Fewell G., Fulton L., Fulton R., Graves T., Hou S.F., Latrielle P., Leonard S., Mardis E., Maupin R., McPherson J., Miner T., Nash W., Nguyen C., Ozersky P., Pepin K., Rock S., Rohlfing T., Scott K., Schultz B., Strong C., Tin-Wollam A., Yang S.P., Waterston R.H., Wilson R.K., Rozen S., Page D.C. 2003. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*, 423, 6942: 825-837
- Slatkin M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139, 1: 457-462
- Soares P., Achilli A., Semino O., Davies W., Macaulay V., Bandelt H.J., Torroni A., Richards M.B. 2010. The archaeogenetics of Europe. *Current Biology*, 20, 4: R174-R183
- Soares P., Ermini L., Thomson N., Mormina M., Rito T., Rohl A., Salas A., Oppenheimer S., Macaulay V., Richards M.B. 2009. Correcting for purifying selection: an improved human mitochondrial molecular clock. *American Journal of Human Genetics*, 84, 6: 740-759
- Štih P., Simoniti V., Vodopivec P. 2008. Slovenska zgodovina. Ljubljana, Inštitut za novejšo zgodovino: 548 str.
- Su B., Xiao J., Underhill P., Deka R., Zhang W., Akey J., Huang W., Shen D., Lu D., Luo J., Chu J., Tan J., Shen P., Davis R., Cavalli-Sforza L., Chakraborty R., Xiong M., Du R., Oefner P., Chen Z., Jin L. 1999. Y-chromosome evidence for a northward migration of modern humans into Eastern Asia during the last ice age. *American Journal of Human Genetics*, 65, 6: 1718-1724
- Tagliabuoni A., Turchi C., Buscemi L., Sassaroli C. 2001. Polymorphism of the mitochondrial DNA control region in Italians. *International Journal of Legal Medicine*, 114, 4-5: 224-228

- Tajima A., Pan I.H., Fucharoen G., Fucharoen S., Matsuo M., Tokunaga K., Juji T., Hayami M., Omoto K., Horai S. 2002. Three major lineages of Asian Y chromosomes: implications for the peopling of east and southeast Asia. *Human Genetics*, 110, 1: 80-88
- Tanaka M., Cabrera V.M., Gonzalez A.M., Larruga J.M., Takeyasu T., Fuku N., Guo L.J., Hirose R., Fujita Y., Kurata M., Shinoda K., Umetsu K., Yamada Y., Oshida Y., Sato Y., Hattori N., Mizuno Y., Arai Y., Hirose N., Ohta S., Ogawa O., Tanaka Y., Kawamori R., Shamoto-Nagai M., Maruyama W., Shimokata H., Suzuki R., Shimodaira H. 2004. Mitochondrial genome variation in eastern Asia and the peopling of Japan. *Genome Research*, 14, 10A: 1832-1850
- Tetzlaff S., Brandstatter A., Wegener R., Parson W., Weirich V. 2007. Mitochondrial DNA population data of HVS-I and HVS-II sequences from a northeast German sample. *Forensic Science International*, 172, 2-3: 218-224
- Tilford C.A., Kuroda-Kawaguchi T., Skaletsky H., Rozen S., Brown L.G., Rosenberg M., McPherson J.D., Wylie K., Sekhon M., Kucaba T.A., Waterston R.H., Page D.C. 2001. A physical map of the human Y chromosome. *Nature*, 409, 6822: 943-945
- Torroni A., Bandelt H.J., D'Urbano L., Lahermo P., Moral P., Sellitto D., Rengo C., Forster P., Savontaus M.L., Bonne-Tamir B., Scozzari R. 1998. mtDNA analysis reveals a major late Paleolithic population expansion from southwestern to northeastern Europe. *American Journal of Human Genetics*, 62, 5: 1137-1152
- Torroni A., Richards M., Macaulay V., Forster P., Villemans R., Norby S., Savontaus M.L., Huoponen K., Scozzari R., Bandelt H.J. 2000. mtDNA haplogroups and frequency patterns in Europe. *American Journal of Human Genetics*, 66, 3: 1173-1177
- Torroni A., Schurr T.G., Yang C.C., Szathmary E.J., Williams R.C., Schanfield M.S., Troup G.A., Knowler W.C., Lawrence D.N., Weiss K.M. 1992. Native American mitochondrial DNA analysis indicates that the Amerind and the Nadene populations were founded by two independent migrations. *Genetics*, 130, 1: 153-162
- Trinkaus E., Moldovan O., Milota S., Bilgar A., Sarcina L., Athreya S., Bailey S.E., Rodrigo R., Mircea G., Higham T., Ramsey C.B., van der Plicht J. 2003. An early modern human from the Pestera cu Oase, Romania. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 100, 20: 11231-11236
- Turrina S., Atzei R., De L.D. 2006. Y-chromosomal STR haplotypes in a Northeast Italian population sample using 17plex loci PCR assay. *International Journal of Legal Medicine*, 120, 1: 56-59
- Underhill P.A., Jin L., Lin A.A., Mehdi S.Q., Jenkins T., Vollrath D., Davis R.W., Cavalli-Sforza L.L., Oefner P.J. 1997. Detection of numerous Y chromosome biallelic polymorphisms by denaturing high-performance liquid chromatography. *Genome Research*, 7, 10: 996-1005
- Underhill P.A., Kivisild T. 2007. Use of y chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations. *Annual Review of Genetics*, 41, 539-564
- Underhill P.A., Myres NM, Rootsi S. 2007. New phylogenetic relationships for Y-chromosome haplogroup I: reappraising its phylogeography and prehistory. V: Rethinking the human revolution. Mellars, P., Boyle, K., Bar-Yosef, O., Stringer, C. (eds.). Cambridge, McDonald Institute Monographs: 33-42
- Underhill P.A., Myres N.M., Rootsi S., Metspalu M., Zhivotovsky L.A., King R.J., Lin A.A., Chow C.E., Semino O., Battaglia V., Kutuev I., Jarve M., Chaubey G., Ayub

- Q., Mohyuddin A., Mehdi S.Q., Sengupta S., Rogaev E.I., Khusnutdinova E.K., Pshenichnov A., Balanovsky O., Balanovska E., Jeran N., Augustin D.H., Baldovic M., Herrera R.J., Thangaraj K., Singh V., Singh L., Majumder P., Rudan P., Primorac D., Villemans R., Kivisild T. 2010. Separating the post-Glacial coancestry of European and Asian Y chromosomes within haplogroup R1a. *European Journal of Human Genetics*, 18, 4: 479-484
- Underhill P.A., Passarino G., Lin A.A., Shen P., Mirazon L.M., Foley R.A., Oefner P.J., Cavalli-Sforza L.L. 2001. The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations. *Annals of Human Genetics*, 65, 1: 43-62
- Underhill P.A., Shen P., Lin A.A., Jin L., Passarino G., Yang W.H., Kauffman E., Bonne-Tamir B., Bertranpetti J., Francalacci P., Ibrahim M., Jenkins T., Kidd J.R., Mehdi S.Q., Seielstad M.T., Wells R.S., Piazza A., Davis R.W., Feldman M.W., Cavalli-Sforza L.L., Oefner P.J. 2000. Y chromosome sequence variation and the history of human populations. *Nature Genetics*, 26, 3: 358-361
- Vanecek T., Vorel F., Sip M. 2004. Mitochondrial DNA D-loop hypervariable regions: Czech population data. *International Journal of Legal Medicine*, 118, 1:14-18
- Volgyi A., Zalan A., Szvetnik E., Pamjav H. 2009. Hungarian population data for 11 Y-STR and 49 Y-SNP markers. *Forensic Science International, Genetics*, 3, 2: e27-e28 doi: 10.1016/j.fsigen.2008.04.006
- Wallace D.C., Torroni A. 1992. American Indian prehistory as written in the mitochondrial DNA: a review. *Human Biology*, 64, 3: 403-416
- Weber J.L., Wong C. 1993. Mutation of human short tandem repeats. *Human Molecular Genetics*, 2, 8: 1123-1128
- Weiner A.M., Deininger P.L., Efstratiadis A. 1986. Nonviral retroposons: genes, pseudogenes, and transposable elements generated by the reverse flow of genetic information. *Annual Review of Biochemistry*, 55: 631-661
- Wells R.S., Yuldasheva N., Ruzibakiev R., Underhill P.A., Evseeva I., Blue-Smith J., Jin L., Su B., Pitchappan R., Shanmugalakshmi S., Balakrishnan K., Read M., Pearson N.M., Zerjal T., Webster M.T., Zholoshvili I., Jamarjashvili E., Gambarov S., Nikbin B., Dostiev A., Aknazarov O., Zalloua P., Tsot I., Kitaev M., Mirrakhimov M., Chariev A., Bodmer W.F. 2001. The Eurasian heartland: a continental perspective on Y-chromosome diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 98, 18: 10244-10249
- Wilder J.A., Kingan S.B., Mobasher Z., Pilkington M.M., Hammer M.F. 2004. Global patterns of human mitochondrial DNA and Y-chromosome structure are not influenced by higher migration rates of females versus males. *Nature Genetics*, 36, 10: 1122-1125
- Wozniak M., Grzybowski T., Starzynski J., Marciniak T. 2007. Continuity of Y chromosome haplotypes in the population of Southern Poland before and after the Second World War. *Forensic Science International, Genetics*, 1, 2: 134-140
- Wozniak M., Malyarchuk B., Derenko M., Vanecek T., Lazur J., Gomolcak P., Grzybowski T. 2010. Similarities and distinctions in Y chromosome gene pool of Western Slavs. *American Journal of Physical Anthropology*, 142, 4: 540-548
- YCC. 2002. A nomenclature system for the tree of human Y-chromosomal binary haplogroups. *Genome Research*, 12, 2: 339-348

- Zaharova B., Andonova S., Gilissen A., Cassiman J.J., Decorte R., Kremensky I. 2001. Y-chromosomal STR haplotypes in three major population groups in Bulgaria. *Forensic Science International*, 124, 2-3: 182-186
- Zgonjanin D., Veselinovic I., Kubat M., Furac I., Antov M., Loncar E., Tasic M., Vukovic R., Omorjan R. 2010. Sequence polymorphism of the mitochondrial DNA control region in the population of Vojvodina Province, Serbia. *Legal Medicine*, 12, 2: 104-107
- Zhivotovsky L.A., Underhill P.A., Cinnioglu C., Kayser M., Morar B., Kivisild T., Scozzari R., Cruciani F., Destro-Bisol G., Spedini G., Chambers G.K., Herrera R.J., Yong K.K., Gresham D., Tournev I., Feldman M.W., Kalaydjieva L. 2004. The effective mutation rate at Y chromosome short tandem repeats, with application to human population-divergence time. *American Journal of Human Genetics*, 74, 1: 50-61
- Zietkiewicz E., Yotova V., Jarnik M., Korab-Laskowska M., Kidd K.K., Modiano D., Scozzari R., Stoneking M., Tishkoff S., Batzer M., Labuda D. 1998. Genetic structure of the ancestral population of modern humans. *Journal of Molecular Evolution*, 47, 2: 146-155
- Žužek A. 2007. Naselitev Slovanov v vzhodnoalpski prostor. *Zgodovinski časopis*, 61, 3-4: 261-287

**V okviru doktorske naloge smo pripravili naslednje publikacije:**

- Zupan A, Vrabec K, Glavač D. 2013. The paternal perspective of the Slovenian population and its relationship with other populations. *Annals of Human Biology*, 40, 6: 515-526  
doi:10.3109/03014460.2013.813584
- Zupan A, Hauptman N, Glavač D. 2014. The maternal perspective of the Slovenian population: importance of regional sampling. [poslano v objavo]
- Zupan A, Glavač D. 2013 Genetska struktura slovenske populacije, kot jo razkrivajo polimorfizmi kromosoma Y in mitohondrijske DNA. *Drevesa*, 20, 1: 4-15

## ZAHVALA

Mentorju prof. dr. Damjanu Glavaču se zahvaljujem za podporo in nasvete pri zasnovi in izdelavi doktorske disertacije.

Za pomoč in sodelovanje pri eksperimentalnem delu se zahvaljujem tudi doktorandki Katarini Vrabec in dr. Nini Hauptman. Vajina nesebična pomoč mi je olajšala izvedbo in dokončanje doktorske naloge.

Za prijetno sodelovanje in pomoč pri zbiranju vzorcev se zahvaljujem dr. Tadeji Dovč Drnovšek in prof. dr. Primožu Rožmanu, dr. med., iz Zavoda za transfuzijsko medicino Republike Slovenije.

Za prijetno delovno vzdušje in pomoč, se zahvaljujem tudi sodelavcem Emanueli, Alenki, Mojci, Sonji, Nejcu, Robertu, Vidu in Gašperju.

Najbolj pa sem hvaležen vsem domačim, ki so me vzpodbujali in mi stali ob strani. Mojca in Ajda, obljudim vama, da bom nadoknadel zamujene trenutke.

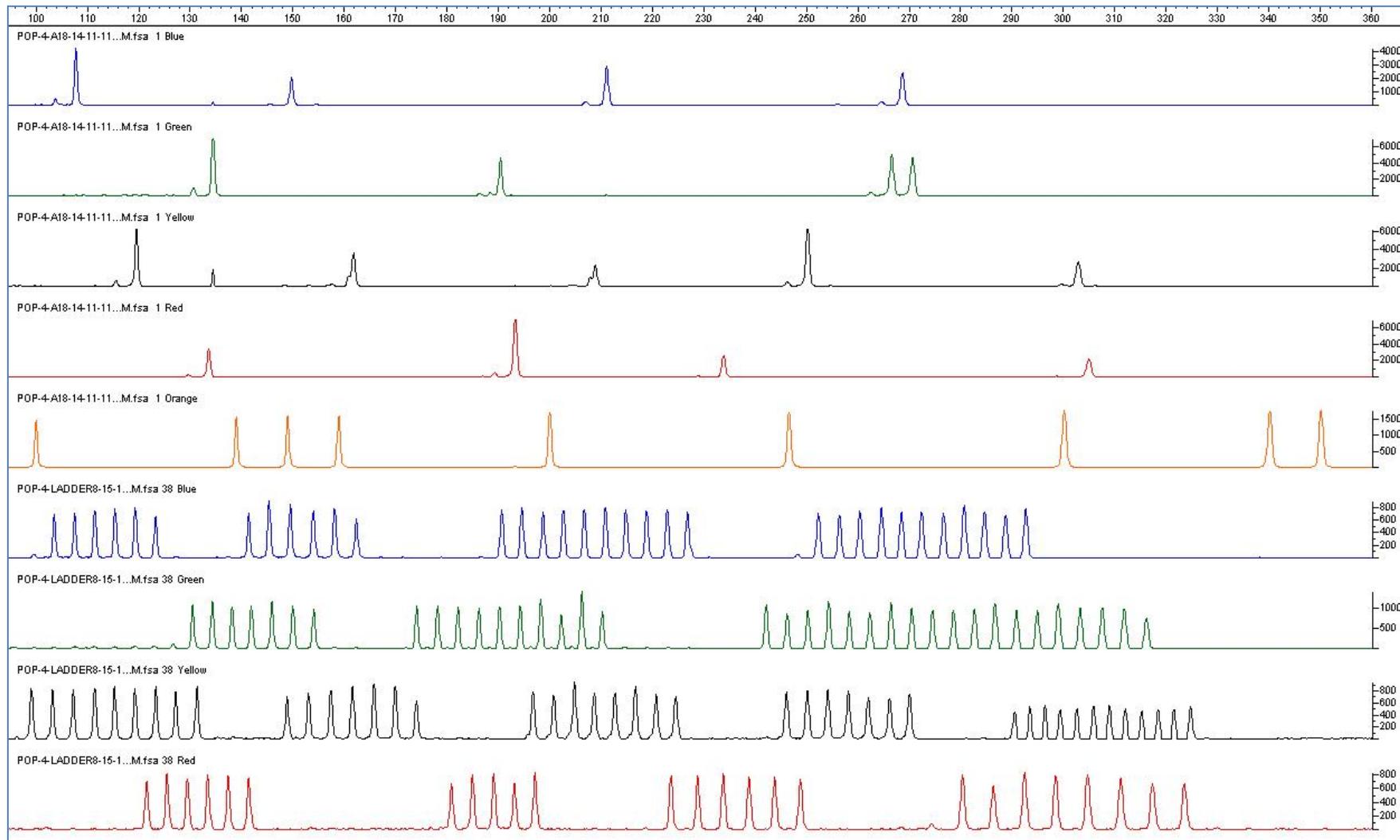
## PRILOGE

Priloga A: Najpogostejši haplotipi mtDNA pri slovenski populaciji

Haploskupina	Haplotype	N
H1	A263G, C315.1C	11
J1c	A73G, G185A, A188G, G228A, A263G, C295T, C315.1C, C16069T, T16126C	10
H5	G207A, A263G, C315.1C, T16304C, T16311C	6
J1c	A73G, G185A, A188G, C222T, G228A, A263G, C295T, C309.1C, C315.1C, C16069T, T16126C	5
H*	A263G, C309.1C, C315.1C	4
J1c	A73G, G185A, G228A, A263G, C295T, C309.1C, C315.1C, C16069T, T16126C	4
H6	T195C, T239C, A263G, C309.1C, C315.1C, T16362C	4
H*	A263G, C315.1C, T16311C	3
H1	A73G, A263G, C309.1C, C315.1C, A16162G	3
T2	A73G, A263G, C309.1C, C315.1C, T16126C, C16294T, C16296T, T16304C	3
U5a	A73G, A263G, C315.1C, C16192T, C16256T, C16270T, A16399G	3
K2	A73G, A93G, T146C, G207A, A263G, C315.1C, T16224C, T16311C	3
U3	A73G, C150T, A263G, C315.1C, A16343G	3
T2	A73G, C151T, A263G, C309.1C, C315.1C, T16126C, C16187T, C16294T, C16296T	3
J1	A73G, T146C, A263G, C295T, C315.1C, C16069T, T16126C, C16174T	3
K1	A73G, T152C, A263G, C309.1C, C315.1C, T16093C, T16224C, A16241G, T16311C	3
N1a	A73G, T152C, T199C, T204C, G207A, A263G, C315.1C, T16086C, C16147A, A16164G, T16172C, C16223T, C16248T, C16320T, C16355T	3
U2	A73G, T152C, T217C, A263G, C309.1C, C315.1C, C340T, A16051G, G16129C, A16183C, T16189C, G16319A, T16362C	3
H1	A93G, A263G, C309.1C, C309.2C, C315.1C	3
H1	C150T, A263G, C309.1C, C315.1C, T16362C	3
H*	C150T, T195C, A263G, C309.1C, C315.1C	3
H6	T152C, T239C, A263G, C315.1C, T16362C	3
HV0	T72C, T195C, A263G, C309.1C, C315.1C, C16291T, T16298C	3

Priloga B: Frekvence alelov na sedemnajstih lokusih Y-STR pri slovenski populaciji (N = 399)

Priloga C: Primer elektroferograma sedemnajstih označevalcev Y-STR



Priloga D: Primeri diferenčnih grafov analize talilne krivulje pri visoki ločljivosti (HRM)

