

Evolucija spolnih kromosoma kralježnjaka

Kaloper, Marta

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:926714>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Marta Kaloper

Evolucija spolnih kromosoma kralježnjaka

Završni rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Marta Kaloper

Evolution of vertebrate sex chromosomes

Bachelor thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu preddiplomskog studija biologije na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Damjana Franjevića.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Evolucija spolnih kromosoma kralježnjaka

Marta Kaloper

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Spolni kromosomi jedan su od glavnih sustava determinacije spola višestaničnih organizama, a od autosoma se razlikuju u nizu specifičnih karakteristika koje mogu biti uzrok ili posljedica njihove jedinstvene funkcije. Od njihova otkrića 1905. godine istraživane su njihove posebne karakteristike i postavljani teorijski statistički modeli njihova postanka. Nakon razvoja molekularno bioloških metoda istraživanja su se posvetila definiranju njihovih gena i puteva kojima utječu na diferencijaciju spola. Pokazalo se kako su spolni kromosomi kralježnjaka iznimno raznolike i dinamične strukture čime je otvoren put analizi njihove evolucijske prošlosti. Dakako, time su prethodna teorijska razmatranja stavljena na kušnju i postavljena su vrlo važna pitanja koja ni danas nemaju direktan odgovor. U sklopu ovoga rada pokušat ću odgovoriti na pitanja: koje su osnovne karakteristike spolnih kromosoma; koje su paradigme ustanovljene za njihov nastanak te podudaraju li se one sa stvarnim stanjem u većine kralježnjaka; jesu li istraživanja spolnih kromosoma kralježnjaka dosegla svoj vrhunac te što nas još očekuje?

Ključne riječi: GDS, MSD geni, evolucijski modeli,
(36 stranica, jedna slika, jedna tablica, 165 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor:

prof. dr. sc. Damjan Franjević

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Evolution of vertebrate sex chromosomes

Marta Kaloper

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Sex chromosomes are one of the main determinants of sex in multicellular organisms, and they differ from autosomes in a number of specific characteristics that may be the cause or consequence of their unique function. Since their discovery in 1905, their special characteristics have been investigated through theoretical and statistical models. After the development of molecular research methods in biology, research was mainly targeted at defining their genes and the pathways that influence sex differentiation. Through this research it has been shown that the chromosomes of vertebrates have an extremely diverse and dynamic structure. Because of that their evolution has become a great puzzle. Of course, this put the previous theoretical considerations to the test and raised very important questions that still do not have a direct answer. As part of this work, I will try to answer the following questions: what are the basic characteristics of sex chromosomes; what paradigms have been established for their origin and do experimental evidence in vertebrates match what was previously thought; has the research of sex chromosomes of vertebrates reached its peak and what else awaits us?

Keywords: GDS, MSD genes, models of evolution

(36 pages, one figure, one table, 165 references, original in: croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor:

prof. dr. sc. Damjan Franjević

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. ODREĐIVANJE ILI DETERMINACIJA SPOLA	2
2.1. SPOL UVJETOVAN OKOLIŠNIM UVJETIMA	2
2.2. SPOL UVJETOVAN GENETIČKIM ELEMENTIMA.....	2
2.2.1. HETEROMORFNI SPOLNI KROMOSOMI.....	3
2.2.2. HOMOMORFNI SPOLNI KROMOSOMI.....	3
2.3. PRELASCI IZMEĐU DVAJU TIPOVA ODREĐIVANJA SPOLA..	4
3. SPOLNI KROMOSOMI.....	5
3.1. POSEBNE KARAKTERISTIKE SPOLNIH KROMOSOMA.....	5
3.1.1. GENI UKLJUČENI U RAZVOJ SPOLA.....	5
3.1.2. OGRANIČENA IZMJENA KROMATIDA.....	6
3.1.3. DEGENERACIJA Y (W) KROMOSOMA.....	7
3.1.4. KOMPENZACIJA DOZE.....	8
3.2. EVOLUCIJA SPOLNIH KROMOSOMA	8
3.2.1. KAKO NASTAJE SPOLNI KROMOSOM?.....	9
3.2.2. OBRTANJE KROMOSOMA.....	10
4. SPOLNI KROMOSOMI KRALJEŽNJAKA	13
4.1. SPOLNI KROMOSOMI U RIBA	13
4.2. SPOLNI KROMOSOMI U VODOZEMACA	15
4.3. SPOLNI KROMOSOMI U GMAZOVA	16
4.4. SPOLNI KROMOSOMI U PTICA	18
4.5. SPOLNI KROMOSOMI U SISAVACA.....	19
4.6. RAZLIKE U VIŠIH I NIŽIH KRALJEŽNJAKA	20
5. ZAKLJUČAK	24
6. ŽIVOTOPIS	24

7. LITERATURA	25
---------------------	----

1. UVOD

Kralježnjaci pripadaju koljenu Chordata i potkoljenu Vertebrata. U ovu kategoriju s preko 70 tisuća vrsta (IUCN 2021) spadaju dobro poznate skupine poput riba, vodozemaca, gmazova, ptica i sisavaca. Dakako, te skupine ne predstavljaju nužno i holofiletske taksonomske skupine, primjerice ribe predstavljaju parafiletsku skupinu (vidjeti sliku 1.), ali se zbog jednostavnosti i opsega ovoga rada koristi ovakva razdioba.

Većina kralježnjaka je odvojena spola, stoga u razvoju prolaze spolnu determinaciju i diferencijaciju, pri čemu formiranje spola može biti okolišno ili genetički uvjetovano. U posljednje vrijeme pokazalo se kako ova dva sustava determinacije spola nisu isključiva (Ruiz-García i sur. 2021) te su stoga oba potrebna za potpuno razumijevanje determinacije spola. Dakako, u ovom završnom radu primarni cilj je opisati i karakterizirati spolne kromosome kralježnjaka, kao jedan od glavnih sustava genetički vođene determinacije spola.

Spolni se kromosomi od autosoma razlikuju u nizu specifičnih karakteristika koje je potrebno poznavati za potpuno razumijevanje njihove evolucije. Glavna značajka svakog para spolnih kromosoma je posjedovanje bar jednog gena ključnog za razvoj spola, a nakon nastanka takvog gena u raznim evolucijskim koracima dolazi do razvoja konačnog izgleda spolnih kromosoma. O tim evolucijskim koracima prvotno se raspravljalo na teorijskoj razini čime je detaljno razrađen pretpostavljen slijed događaja u evoluciji spolnih kromosoma (vidjeti poglavlje 3.2.1.).

Ipak, empirijski podatci dobiveni proučavanjem kralježnjaka ne slijede u potpunosti kanonski model. Dapače, otkrivene su mnoge iznimke koje uvelike pridonose novom pogledu na evoluciju spolnih kromosoma.

Dakako, i danas su mnoga važna pitanja ostala neodgovorena pa se u zaključnom dijelu rada pitam je li naša percepcija spolnih kromosoma vođena statističkim istraživanjima pogrešna i što nas još očekuje?

2. ODREĐIVANJE ILI DETERMINACIJA SPOLA

U kralježnjaka postoje rijetke iznimke pojavi dvospolnih organizama poput vrste *Rivulus marmoratus*. Upravo ta vrsta predstavlja jedini poznati primjer s učestalom pojavom samooplodnje (Harrington 1961). S druge strane, u većine kralježnjaka pojavljuju se jedinke odvojena spola, mužjaci i ženke. Juvenilne jedinke takvih organizama tijekom svog razvoja u odrasle stadije moraju spolno sazreti. Pritom prvotno pojedini faktor, koji može biti okolišni ili genetički, određuje, odnosno determinira spol te zatim dolazi do diferencijacije spola.

2.1. SPOL UVJETOVAN OKOLIŠNIM UVJETIMA

Vrijednosti okolišne temperature (Lang i Andrews 1994), duljina fotoperioda (Brown i sur. 2014), socijalna okolina (Sunobe i Nakazono 1993; Iwata i sur. 2008) pa čak i promjene u koncentraciji kisika (Shang i sur. 2006) ili drugih nutrijenata u okolnoj vodi mogu utjecati na razvoj spola pojedinih organizama. Kada razvoj spola ovisi o vrijednosti pojedinog vanjskog faktora govorimo o okolišno uvjetovanom razvoju spola (engl. *environmental sex determination*, ESD). Izvan domene kralježnjaka mogućnosti su i šarenije, poput specifične determinacije u kolutićavca zelenog zvjezdana (*Bonellia viridis*) u kojeg ličinke razvijaju muški spol samo u prisutnosti odrasle ženke, a u protivnoj razvijaju ženski spol (Leutert 1974).

U ektotermnih kralježnjaka, najčešća je pojavnost determinacije spola pod utjecajem promjene vanjske temperature. Značajna je posebice za krokodile (Lang i Andrews 1994), kornjače (Bull i Vogt 1979) i ribe (Ospina-Álvarez i Piferrer 2008), a moguće i za vodozemce (Ruiz-García i sur. 2021) iako se donedavno smatralo kako oni imaju spol uvjetovan isključivo genetičkim elementima.

2.2. SPOL UVJETOVAN GENETIČKIM ELEMENTIMA

Genotipsko određivanje spola (engl. *genotypic sex determination*, GDS) temelji se na postojanju gena odgovornih za razvoj spola. Ti geni najčešće se nalaze na spolnim kromosomima koji se od autosoma razlikuju u nizu specifičnih karakteristika koje mogu biti uzrok ili posljedica njihove jedinstvene funkcije. Naravno, postoje i iznimke u kojih spolni kromosomi izostaju, a ulogu determinacije spola preuzima veći broj autosomalnih gena čija alelna kombinacija određuje spol (Luzio i sur. 2015).

Otkriće posebnosti spolnih kromosoma u odnosu na autosome uslijedilo je već dvadesetak godina nakon opažanja kromosoma. U stanicama muškog spola larvi kornjaša roda *Tenebrio* uočena je razlika u

veličini dvaju homolognih kromosoma, dok je takva razlika u stanicama ženskog spola izostajala (Stevens 1905). Razlika u veličini jedna je od glavnih obilježja heteromorfni spolnih kromosoma, ali u prirodi je zastupljen i homomorfni tip, u kojem spolni kromosomi imaju jednaku veličinu. Čak je i unutar navedenih dviju podskupina spolnih kromosoma zabilježena velika raznolikost. Varijabilnost tipa spolnih kromosoma uočljiva je kako među evolucijski nesrodnim organizmima tako i unutar vrlo blisko srodnih skupina poput vrsta roda *Oryzias* u kojih su zabilježeni nehomologni parovi XY kromosoma, ali i primjeri ZW sustava (Takehana i sur. 2007). U kralježnjaka su pronađeni i dodatni B kromosomi djelomice uključeni u determinaciju spola (Camacho i sur. 2011), ali oni, s obzirom na to da ne prate Mendelove zakone nasljeđivanja (Martis i sur. 2012), neće biti obrađeni u sklopu ovoga rada.

2.2.1. HETEROMORFNI SPOLNI KROMOSOMI

Heteromorfni spolni kromosomi razlikuju se oblikom, veličinom i genskim sadržajem. Do razlika između njih dolazi tijekom opsežne evolucije koja uključuje sprječavanje rekombinacije, akumulaciju seksualno antagonističkih gena i delecija. U kralježnjaka su zabilježeni XY i ZW heteromorfni kromosomi. XY sustav najzastupljeniji je u sisavaca, a zbog pojavnosti i u modelnih organizama poput vinske mušice (*Drosophila melanogaster*) i oblića *Caenorhabditis elegans* široko je poznat. Spomenuti sustav karakterističan je zbog činjenice da ženke nose par jednolikih spolnih kromosoma (XX) te zbog toga kažemo kako su homogametne dok mužjaci predstavljaju heterogametni spol (XY). Ipak, u kralježnjaka je zabilježen i dodatni ZW sustav, najzastupljeniji u ptica, kod kojeg dolazi do homogametnosti u mužjaka (ZZ) i heterogametnosti kod ženki (ZW). Detaljniji pregled spolnih kromosoma prisutnih u kralježnjaka prikazan je u sklopu poglavlja 4. ili sažeto u Tablici 1. i na Slici 1.

2.2.2. HOMOMORFNI SPOLNI KROMOSOMI

Homomorfni spolni kromosomi jednaki su oblikom i veličinom te kao takvi predstavljaju prepreku jednostavnoj identifikaciji morfologijom. Unatoč otežanom uočavanju znamo da prevladavaju u riba, vodozemac i gmazova. Iako se prethodno smatralo kako su homomorfni kromosomi evolucijski mlađi i predstavljaju svojevrsnu preteču heteromorfni kromosoma, danas je evidentno kako pojava homomorfnosti nije u korelaciji s evolucijskom starošću kromosoma (Yazdi i Ellegren 2014).

2.3. PRELASCI IZMEĐU DVAJU TIPOVA ODREĐIVANJA SPOLA

Iako predstavljena situacija može djelovati jednostavno, zabilježeni su prelasci između dvaju glavnih tipova determinacije spola (Holleley i sur. 2015). Prelasci iz genotipske u okolišnu determinaciju favorizirani su kada vrijednost pojedinog okolišnog faktora ima suprotan učinak na preživljavanje i *fitness* dvaju spolova (Charnov i Bull 1977). Sam prelazak može se dogoditi u slučaju da geni uključeni u determinaciju spola poprime temperaturno osjetljive karakteristike (Bull 1981). U pojedinim slučajevima mogu se pronaći fertilne, spolno reverzne jedinke koje unatoč prisutnosti spolnih kromosoma pokazuju fenotipske karakteristike spola suprotnog od onog na koji bi upućivao njihov genotip (primjerice jedinke ženskog spola s XY kromosomima) što je posebno uočljivo u riba na čiji spol mogu utjecati i promjene od nekoliko stupnjeva Celzijevih (Ospina-Álvarez i Piferrer 2008).

Ovakvi trendovi mogu ozbiljno narušiti omjer spolova u populaciji što pokazuje i primjer lubina (*Dicentrarchus labrax*) kod kojeg na nižim temperaturama djeluje genotipska determinacija s omjerima spolova koji prate Mendelove zakone nasljeđivanja, a pri povišenim temperaturama (većim od 17 °C) dolazi do pojave spolno reverznih jedinki pomičući jednakost u korist muškog spola (Navarro-Martín i sur. 2009). Također, može doći i do potpunog gubitka spolnog kromosoma karakterističnog za heterogametni spol (u ovom slučaju W kromosom u ženki) već u prvoj generaciji parenja spolno reverznih ženki (ZZ) i mužjaka divljeg tipa (ZZ) (Holleley i sur. 2015). Promjene fenotipskog spola, naizgled ne djeluju direktno na promjene u spolnim kromosomima (izuzev primjera gubitka spolnih kromosoma), ali se pokazalo kako dugoročno mogu utjecati na usporenje procesa nakupljanja mutacija i delecija u spolnim kromosomima karakterističnih za heterogametni spol (Y, W) time održavajući homomorfne spolne kromosome i direktno utječući na njihovu evoluciju.

3. SPOLNI KROMOSOMI

Spol je oduvijek izazivao interes i poticao formiranje distinktnih mišljenja. Čak su i veliki filozofi, poput Aristotela i Platona, uočili razlike između muškaraca i žena i o njima žustro raspravljali (Smith 1983). Dakako, biološka struka umiješala se u istraživanja uzroka i porijekla uočenih razlika. Nakon otkrića spolnih kromosoma početkom 20. stoljeća (Stevens 1905) nastavljena su istraživanja s ciljem njihove klasifikacije, karakterizacije i utvrđivanja njihova nastanka i evolucije. Napori su polučili fantastične rezultate zbog kojih spolni kromosomi danas predstavljaju znatno manju enigmu, iako još postoje mnoge rupe u znanju koje valja popuniti (Abbott i sur. 2017). O evoluciji se često raspravljalo na teorijskoj i statističkoj razini (Rice 1984; Rice 1987b), a mnogi od tada iznesenih zaključaka razvojem novih molekularnih metoda i brojnim istraživanjima danas poprimaju empirijske dokaze.

3.1. POSEBNE KARAKTERISTIKE SPOLNIH KROMOSOMA

Spolni kromosomi odlikuju se osobitom ulogom u razvoju, a stoga posjeduju i specifične karakteristike te na njih djeluju posebne restrikcije i mehanizmi koji izostaju u autosoma. Poznavanje ovih karakteristika nužno je za daljnje razumijevanje evolucije i raznolikosti spolnih kromosoma kralježnjaka.

3.1.1. GENI UKLJUČENI U RAZVOJ SPOLA

Pojedini geni kodiraju transkripcijske faktore, kinazne proteine i slične produkte koji nizvodno utječu na specifične grupe promotora gena ili druge proteine uzrokujući kaskadu reakcija u stanici. Može se reći kako ti geni zapravo reguliraju transkripciju drugih gena ili aktivaciju njihovih produkata te tako predstavljaju prvu kariku u lancu promjena koje započinju njihovom aktivacijom. Ako su ovdje hipotetski opisani 'krovni geni' uključeni u aktivaciju puteva koji u konačnici vode diferencijaciji gonada, govorimo o genima ključnim za razvoj spola (engl. *master sex-determining genes*, MSD). Takvi geni smješteni su na spolnim kromosomima, ponekad mogu djelovati u jednoj kopiji, a ponekad je determinacija spola ovisna o broju kopija u organizmu kao u slučaju *DMRT1* gena u ptica. Poznati MSD geni često se koriste u identifikaciji homomorfni spolnih kromosoma (Palmer i sur. 2019).

Česta je zabluda kako u svih organizama postoji samo jedan MSD gen (Bachtrog i sur. 2014), možda upravo zbog činjenice da takva situacija postoji u sisavaca. U njih prisutnost samo jedne kopije gena *SRY* (engl. *sex-determining region Y*) pokreće razvoj muškog spola (Koopman i sur. 1991). *SRY* gen smješten je na Y kromosomu, a njegov protein djeluje kao transkripcijski aktivator nizvodnog gena *SOX9* (Otake i Kuroiwa 2016). Oba ova gena pripadaju porodici prikladnog imena SOX (engl. *Sry-related high mobility*

group (HMG) box genes) koji su definirani upravo sličnošću u aminokiselinskom sastavu HMG regije sa prvo otkrivenim *SRY* genom (Prior i Walter 1996). Budući da je HMG regija prepoznata kao DNA-vezujuća domena (Štros i sur. 2007), što je bitna komponenta svakog transkripcijskog faktora, mnogi geni porodice SOX uključeni su u determinaciju spola kao MSD geni, ali i kao nizvodni geni u kaskadi aktivacije.

Naravno, postoje i druge skupine gena koje mogu igrati ulogu u razvoju spola, a time mogu predstavljati kandidate MSD gena. Primjerice, DMRT porodica gena (engl. *Doublesex and Mab-3-related transcription factor gene family*) također kodira proteine s DNA-vezujućim domenama (Zafar i sur. 2019), a pokazano je kako sudjeluje u razvoju spola svitkoglavaca (Wang i sur. 2012), vodozemaca (Matsushita i sur. 2007), gmazova (Ge i sur. 2017), ptica (Smith i sur. 2009), sisavaca (Pask i sur. 2003) pa čak i beskralježnjaka (Camara i sur. 2019). U ptica je glavni MSD gen *Z* vezani *DMRT1* (Smith i sur. 2009), koji okida razvoj muškog spola u dvostrukoj dozi. Pokazano je kako upravlja razvojem spola i u crvenouhe kornjače (*Trachemys scripta*) koja prolazi temperaturno ovisnu determinaciju spola (Ge i sur. 2017) što upućuje kako isti geni mogu sudjelovati u GSD i TSD određivanju spola. Za razvoj spola kralježnjaka često su odgovorni i proteini signalnog puta transformirajućeg faktora rasta β (engl. transforming growth factor β , TGF- β) (Hattori i sur. 2012; Kaneko i sur. 2015; Zhou i sur. 2019).

Osim gena koji služe kao pokretači kaskade bez kojih ne dolazi do razvoja spola postoje i takozvani spolno-suprotstavljeni geni (engl. *sex-antagonistic genes*) koji u jednog spola povećavaju stopu preživljavanja dok je u drugog smanjuju. Rice (1987b) predlaže ulogu pleiotropnosti u formiranju suprotnog utjecaja na dva spola. Naravno, prirodnom selekcijom preferirat će se nakupljanje takvih gena u genskom bazenu onoga spola kojem pogoduju navedene karakteristike dok će u jedinki suprotna spola pojavnost takvih gena biti znatno smanjena (Rice 1984; Rice 1987b). Stoga spolno-suprotstavljene gene najčešće pronalazimo vezane uz spolne kromosome obično u blizini MSD gena (Aida 1921; Rice 1987b; Houde 1992). Velika učestalost spolno-suprotstavljenih gena dokazana je u modelnog organizma vinske mušice (*D. melanogaster*) (Rice 1992) što upućuje u njihovu moguću sveprisutnost i drugih skupina organizama.

3.1.2. OGRANIČENA IZMJENA KROMATIDA

„Izmjena kromatida (engl. *crossing-over*) je izmjena dijelova nesestrinskih kromatida homolognih kromosoma u profazi I mejoze.“ (Pavlica 2022). Zbog postupka ponovnog povezivanja dijelova kromosoma u cjelovite kromosome proces se često naziva i rekombinacijom. Fenomen je iznimno značajan za stvaranje potomaka s alelnim kombinacijama gena drugačijim od roditeljskih čime doprinosi bioraznolikosti. Ipak, kada u obzir uzmemo postojanje prethodno spomenutih spolno-suprotstavljenih gena možemo zaključiti kako je poželjno njihovo zadržavanje u blizini MSD gena na spolnim kromosomima. To podrazumijeva

izostanak rekombinacije u heterogametnog spola kako bi se spriječilo njihovo premještanje drugi spolni kromosom (Rice 1987b) (primjerice premještanje gena pogodnih za muški spol s Y kromosoma na X kromosom). Uslijed takvih selekcijskih pritisaka evoluirala je ograničena izmjena kromatida između spolnih kromosoma. Opseg ograničenja može biti različit. Poznati su primjeri izostajanja rekombinacije između svih kromosoma heterogametnog spola poput onog u *D. melanogaster*, ali i potpuno suprotni primjeri u kojih se rekombinacija odvija nesmetano (Kamiya i sur. 2012), doduše u takozvanih proto-spolnih kromosoma.

Naravno, iako ograničena izmjena kromatida može u potpunosti izostati, svejedno dolazi do eliminacije rekombinantnog fenotipa iz sveukupne populacije uslijed smanjene stope preživljenja pa čak i uspješnosti u razmnožavanju (Kingston i sur. 2003). Fantastičan primjer može se pronaći u pravih koštunjača (Teleostei) s prisutnošću spolnog dimorfizma u obojenju pri čemu su ženke kriптиčne, a mužjaci uočljive intenzivne boje. Naime, kada bi ženke, umjesto mužjaka, nosile jarko obojenje njihova stopa preživljavanja bila bi smanjena zbog lake uočljivosti njihovim prirodnim predatorima. S druge strane, 'neugledno' obojeni mužjaci imali bi smanjeni potencijal privlačenja ženki, a time i značajno smanjenu mogućnost ostvarivanja potomstva (Kingston i sur. 2003). Iz toga proizlazi kako, bez obzira na prisutnost ili odsutnost molekularnog mehanizma sprječavanja rekombinacije između spolnih kromosoma, na populacijskoj razini izostaje prisutnost jedinki u kojih se rekombinacija dogodila pa svejedno možemo govoriti o nekom vidu ograničavanja svojstvenog za spolne kromosome. Nakon uspostave takvog sustava može uslijediti nakupljanje inverzija, transpozona, epigenetičkih promjena ili drugih promjena koje u konačnici vode potpunom izostajanju rekombinacije (Furman i sur. 2020).

Nadalje, postoje i primjeri koji govore u prilog suprotnog slijeda događaja, odnosno o prvotnoj pojavi ograničene rekombinacije u svih homolognih parova kromosoma i naknadnoj akumulaciji spolno-suprotstavljenih gena u regijama gdje je rekombinacija bila ograničena (Charlesworth i sur. 2020).

3.1.3. DEGENERACIJA Y (W) KROMOSOMA

S obzirom na to da je Y kromosom čovjeka oko tri puta manji od X kromosoma prvotno se smatralo kako on postoji kao reliktna DNA bez ikakve očite uloge, a spol sisavaca određuje broj X kromosoma (Abbott i sur. 2017). Ipak, nakon otkrića ključne uloge Y kromosoma i njegova *SRY* gena postavilo se pitanje što je uzrok takvom očitom raskoraku u veličini dvaju spolnih kromosoma. Pretpostavlja se kako zbog obustave rekombinacije dolazi do olakšane akumulacije mutacija i transpozona za kojima slijedi utišavanje, a u konačnici i gubitak gena Y (W) kromosoma delecijom (Steinemann i Steinemann 2005). Fiksacija delecija

u populaciji može se dogoditi prema dva predložena modela: takozvanim stopiranjem (engl. *hitchhiking*) (Rice 1987a) u kojem se delecija pojavljuje i prenosi na kromosomu u sklopu kojeg već postoji iznimno pozitivna mutacija koja donosi veću dobit od štete koju nanosi delecija ili procesom Mullerovog sita (engl. *Muller's ratchet*) (Charlesworth i Charlesworth 1997) u kojem zbog učestalih delecija dolazi do pojave bar jedne na svakom Y kromosomu u populaciji pa nužno dolazi do selekcije one koja ima najmanje negativan utjecaj na fenotip. Naravno, proces se može ponavljati i time dolazi do neminovnog nakupljanja delecija u odsutnosti rekombinacije, bez obzira na njihovu štetnost.

U skladu s rečenim, homomorfni kromosomi preteča su heteromorfni kromosoma koji tek imaju nastati daljnjom evolucijom i diferencijacijom. U konačnici bi svaki Y (W) kromosom trebao degenerirati pa čak i trajno nestati kao što se, između ostalog, već i dogodilo u pojedinim vrstama s XX/XO sustavom determinacije (Ma i sur. 1980). Ipak, otkrića dugoživućih homomorfni kromosoma pričaju potpuno drugačiju evolucijsku priču, zbog čega se postavlja pitanje je li degeneracija doista univerzalna odlika spolnih kromosoma. Više o uzrocima takvih razlika bit će rečeno u narednim poglavljima.

3.1.4. KOMPENZACIJA DOZE

Kompenzacija doze podrazumijeva nastajanje jednake količine produkata X (Z)-vezanih gena u XY (ZZ) mužjaka i XX (ZW) ženki bez obzira na brojnost prisutnih kopija gena u stanici. Zapravo, potreba za kompenzacijom javlja se upravo zbog prethodno spomenute degeneracije Y (W) kromosoma. Prvi mehanizam kompenzacije doze otkriven je u sisavaca u kojih se jedan čitavi X kromosom ženki (izuzev nekoliko gena) pretvara u inaktivno Barrovo tjelešće (Barr i Bertram 1949). Mehanizam same kompenzacije, unatoč jednolikom krajnjem produktu, nije jednolik u svih organizama (Shevchenko i sur. 2019), a također postoje i drugačiji principi kompenzacije doze poput onog pronađenog u ptica u kojeg ne dolazi do potpune inaktivacije cijelog kromosoma već do inaktivacije pojedinih gena takozvanom *gene-by-gene* kompenzacijom (Melame i Arnold 2007).

3.2. EVOLUCIJA SPOLNIH KROMOSOMA

S obzirom na prethodno navedenu raznolikost postavlja se pitanje stabilnosti i trajnosti spolnih kromosoma i njihovog jedinstvenog porijekla. Danas je široko prihvaćena nezavisna evolucija spolnih kromosoma u različitim skupinama, a provedene su mnoga teorijska, ali i empirijska istraživanja, posebno nakon razvoja molekularnih metoda u biologiji.

3.2.1. KAKO NASTAJE SPOLNI KROMOSOM?

Jedinstveni put evolucije spolnog kromosoma započinje pojavom MSD gena na autosomu čime on preuzima kontrolu nad određivanjem spola (Charlesworth 1991) te ga zovemo proto-spolnim kromosomom. Pojava MSD gena može se desiti pomoću nekoliko procesa koji uključuju točkaste mutacije (Kamiya i sur. 2012), duplikacije (Hattori i sur. 2012) gena ili njegovih dijelova te promjene u ekspresiji (Lambeth i sur. 2014) ili funkciji (Yano i sur. 2012) gena. Naravno, na ovaj način mogli bi se razviti i poligenetički sustavi determinacije spola za koje Rice (1986) napominje kako mogu predstavljati prijelazno stanje prema nastanku spolnih kromosoma. Iako većinski spolni kromosomi nastaju iz homolognih autosoma (Charlesworth 1991) postoje i primjeri u kojih je bar jedan kromosom drugog porijekla, primjerice nastao od prethodno spomenutih B kromosoma (Clark i Kocher 2019). Takvi su slučajevi prema današnjim podatcima rijetki te se stoga neće razmatrati njihov postanak.

Proto-spolni kromosomi zatim, u najjednostavnijem slučaju bez prethodne poligenetičke determinacije, prolaze diferencijaciju u spolne kromosome prvenstveno vođenu akumulacijom spolno-suprotstavljenih gena u blizini MSD gena. U dijelu kromosoma gdje su ovi geni prisutni, a djelomično i u njihovoj blizini dolazi do ograničavanja rekombinacije. Nakon uspostave ograničene kromatidne izmjene u blizini spolno-suprotstavljenih gena dolazi do nakupljanja novih gena s istim svojstvom što ponovno pokreće restrikciju rekombinacije. Ponavljanjem procesa dolazi do širenja zone spolno-suprotstavljenih gena sve dok u konačnici restrikcija ne zahvati cijeli kromosom (Rice 1987b). Dokaz ovakve sukcesivne progresije ograničavanja rekombinacije leži u otkriću takozvanih slojeva (engl. *evolutionary strata*) genskog materijala još uvijek prisutnog na oba spolna kromosoma. U tim slojevima uočena je različita količina divergencije između X i Y kromosoma što sugerira kako je prestanak rekombinacije u svakom od tih slojeva otpočeo u različitom trenutku. Na X kromosomu čovjeka zabilježene su četiri sloja od kojih onaj s najmanje nakupljenih mutacija, dakle onaj najmlađi pokazuje smještaj u blizini još uvijek rekombinirajuće pseudoautosomalne regije, dok onaj najdalje od te regije pokazuje najveći broj nakupljenih razlika (Lahn i Page 1999).

Gubitak rekombinacije također može biti vođen i nakupljanjem gena koji uzrokuju modificiranje stope rekombinacije (eng. *modifier genes*) (Ji i sur. 1999) ili nakupljanjem inverzija (Charlesworth i Hartl 1978) i translokacija koje uzrokuju promjenu rasporeda dijelova DNA na jednom od kromosoma i time smanjuju povezivanje X i Y kromosoma. Naravno, postoje i oni koji smatraju kako su inverzije posljedica prije nego uzrok prestanka rekombinacije što potvrđuju i slučajevi u kojih se prestanak rekombinacije javlja prethodno bilo kakvim inverzijama ili dapače bez nakupljanja spolno suprotstavljenih gena (vidjeti poglavlje 4.2.).

U slučaju heteromorfnih kromosoma dolazi i do dodatnog koraka degeneracije Y odnosno W kromosoma nakupljanjem delecija stopiranjem ili Mullerovim sitom, kako je prethodno napomenuto. U eksperimentu s vinskim mušicama (*D. melanogaster*) Rice (1994) je uspio detektirati statistički značajno smanjenje vijabilnost u jedinki s ograničenom rekombinacijom time dokazujući propadanje kromosoma. Smanjenje vijabilnosti povezano je s gubitkom jedne kopije gena u odnosu na divlji tip jer dolazi do nejednolike proizvodnje produkata gena. Iz toga se može zaključiti kako je i nakon degeneracije Y (W) kromosoma potreban neki mehanizam ujednačavanja količine produkata u stanicama mužjaka i ženki koji pomaže jednoliko preživljavanje oba spola u populaciji. Mehanizam je nazvan kompenzacijom doze, a ne pokazuje jednoznačni i jedinstveni postanak u svih organizama, kao između ostalog ni spolni kromosomi. Stoga je za proces formirano nekoliko teorijskih modela (Hamilton 1967; Charlesworth 1978). Primjerice, Charlesworth (1978) predlaže zasebne modele za vinske mušice, biljke i sisavce. Uz pretpostavku da je prvotno evoluirao sustav utišavanja očinskih X kromosoma tobočara u odnosu na nasumičnu inaktivaciju X kromosoma neovisno o porijeklu u viših sisavaca (Eutheria) Charlesworth (1978) predlaže sljedeći model: u stanica hemizigota dolazi do pojave mehanizama koji potiču pojačanu ekspresiju deletiranih gena na X kromosomu čime se povisuje njihova stopa preživljavanja. S obzirom na to da takvi mehanizmi ne moraju biti direktno vezani uz Y kromosom mogu biti aktivni i u stanicama homogametnog spola time uzrokujući hiperekspresiju koja može utjecati na vijabilnost jedinki. Stoga, u njih selekcija preferira jedinke s mehanizmima za utišavanje jednog od kromosoma zbog čega prednost imaju jedinke u kojih se javila kompenzacija doze.

3.2.2. OBRTANJE KROMOSOMA

Iako prethodni opis nastanka spolnih kromosoma može djelovati jednostavno i linearno, radi se o grubom opisu temeljenom većinski na teorijskim modelima o evoluciji kromosoma. Kromosomi nekih skupina organizama, poput sisavaca i ptica, slijede taj opći plan evolucije dok u drugih skupina, pretežno gmazova, vodozemaca i riba, kromosomi prolaze mnogo turbulentnije sljedove događaja. Turbulencije su nazvane obrtanjem kromosoma (engl. *turnover of chromosomes*) i podrazumijevaju nastanak novog spolnog kromosoma koji zamjenjuje već postojeće spolne kromosome. Dakako, nastanak novog spolnog kromosoma također započinje na autosomu translokacijom starog MSD gena ili nastankom novog sa snažnijim utjecajem na determinaciju spola.

„Turnover“ možemo podijeliti s obzirom na tipove prelazaka: i) prelazak iz jednog XY (ZW) sustava u novi XY (ZW) sustav, ii) nastanak novog Y (W) kromosoma na ancestralnom Y (W) kromosomu bez promjene ancestralnog X (Z) kromosoma iii) prelazak iz ZW (XY) u XY (ZW) sustav pri čemu novi par spolnih kromosoma nastaje iz autosoma, iv) prelazak iz ZW (XY) u XY (ZW) sustav pri čemu novi par spolnih kromosoma nastaje iz ancestralnih spolnih kromosoma (Meisel 2020). Drugi slučaj (ii) predstavlja

novopredloženu mogućnost značajnu za proučavanje stope „turnovera“ s obzirom da je u istraživanjima takva mogućnost mogla biti izostavljena (Meisel 2020). Posljednja dva slučaja (iii, iv) predstavljaju prijelaze koji uključuju promjene heterogametnog spola (u XY sustavu je muški, dok je u ZW sustavu ženski) koje su kao takve zahtjevnije.

Premještanje, odnosno translokacija starog MSD gena najjednostavniji je način nastanka novog spolnog kromosoma. Učestala pojava tog tipa „turnovera“ zabilježena je u atlantskog lososa (*Salmo salar*), a uzrokovana je akumulacijom transpozona oko glavnog MSD gena (Lubieniecki i sur. 2015). Transpozoni, s obzirom na njihovo svojstvo pokretljivosti u genomu, služe kao svojevrsni prenositelji MSD gena. Budući da su degenerirani Y, odnosno W kromosomi često velikim dijelom sastavljeni od utišane ponavljajuće DNA, odnosno heterokromatina za koji je poznato povećano nakupljanje transpozona u odnosno na eukromatinska područja (Dimitri i Junakovic 1999) postoji značajna mogućnost pojave takvih „turnovera“ i u drugih skupina organizama. Osim premještanja samo dijela kromosoma koji sadrži MSD gen postoji i pojava povezivanja cijelog spolnog kromosoma s nekim od autosoma čime nastaje takozvani neo-spolni kromosom (eng. *neo-sex chromosome*). Pojava je zabilježena u riba (Almeida-Toledo i sur. 2000), reptila (Rovatsos i sur. 2019), ptica (Pala i sur. 2012) i sisavaca (Zhou i sur. 2008). Nadalje, geneza novog spolnog kromosoma može se postići i nastankom nove varijante gena prethodno uključenog u kaskadu determinacije spola koji preuzima krovnu ulogu u determinaciji. Pan i suradnici (2021) navode kako od 20 dotad pronađenih MSD gena svi pripadaju ili proteinima signalnog puta transformirajućeg faktora rasta β ili porodicama Sox i DMRT (prethodno obrađenim u poglavlju 3.1.1.) zbog čega možemo zaključiti kako je nastanak nove varijante doista relevantan način pojave novog spolnog kromosoma. Ipak, treba imati na umu kako MSD geni u mnogih organizama još nisu utvrđeni, a potrage se najčešće koncentriraju upravo na gene za koje postoji prethodno potvrđena mogućnost da u tom procesu doista i sudjeluju. Stoga ne treba odbaciti ni mogućnost pojave potpuno novog MSD gena čiji srodni geni nemaju nikakve poveznice s determinacijom spola kako je uostalom pokazano u kalifornijske pastrve (*Oncorhynchus mykiss*) (Yano i sur. 2012). Kada nova varijanta gena na neki način sudjeluje u inhibiciji svoga prethodnika i time uzrokuje pojavu suprotnog spola možemo govoriti o dominantnom negativu MSD gena (Yoshimoto i sur. 2010). Prethodno navedene pojave detaljnije je i uz primjere obradila Beatriz Viscoso (2019).

Sama pojava novog MSD gena ne mora nužno garantirati i pojavu „turnovera“. Jedinke u kojih se pojave proto-spolni kromosomi moraju imati neku selekcijsku prednost kako bi opstale i njihov se sustav spolne determinacije proširio na populaciju kroz njihovo potomstvo. Ako jedinke s ancestralnim spolnim kromosomima imaju višu stopu preživljavanja i veću uspješnost u razmnožavanju doći će do postupnog gubitka proto-spolnog kromosoma i konačnog nestanka iz populacije. Genetički drift predložen je kao jedan od mogućih pokretača fiksacije novih spolnih kromosoma, a Saunders i suradnici (2018) kroz simulacijsko

istraživanje dokazali su njegovu uključenost u sam proces. Također su zaključili i kako uspješnost fiksacije driftom značajno varira s obzirom na prethodno navedene prednosti pojedinog spolnog sustava za jedinku. Dodatnu prednost spolnom sustavu, osim ekspresije i utjecaja samog MSD gena, mogu pružiti geni prisutni na spolnom kromosomu, a prikladno je ako se radi o spolno-suprotstavljenim genima pogodnim za spol čiji razvoj pokreće spolni kromosom na kojem se nalaze. Van Doorn i Kirkpatrick (2007) predložili su jednadžbu širenja proto-spolnog kromosoma u populacije s prethodno homomorfnim kromosomima koja u obzir uzima umnožak jačine pozitivnog utjecaja spolno-suprotstavljenog gena na fenotip i njegove varijabilnost u populaciji te udaljenosti MSD i spolno-suprotstavljenog gena na kromosomu (zbog mogućnosti rekombinacije s homolognim kromosomom koji je zaslužan za razvoj suprotnog spola). Dakako, dobiveni umnožak za proto-spolni kromosom treba biti veći od ancestralnog kako bi se on uspješno proširio u populaciji.

Nadalje, spolno-suprotstavljeni geni mogu predstavljati i barijeru širenju novih spolnih kromosoma (Van Doorn i Kirkpatrick 2007). Naime, u XY (ZW) sustavu determinacije X (W) kromosom nosit će gene pogodne za ženski, a Y (Z) za muški spol. U heterogametnog spola (XY/ZW), unatoč prisutnosti jedne kopije gena X, odnosno Z kromosoma, doza produkata gena značajnih za suprotni spol neće negativno utjecati na preživljavanje jedinke. Ipak, ako dođe do nastanka proto-spolnih kromosoma i pretvorbe X (Z) kromosoma u autosom na njemu će i dalje ostati prisutni geni pogodni za ženke (mužjake), a s obzirom da se sada nalaze u ulozi autosoma moguća je prisutnost dvaju takvih kromosoma u stanicama heterogametnog spola s proto-spolnim kromosomima. Tada bi dvostruka količina gena pogodnih za suprotni spol mogla imati negativan utjecaj na preživljavanje ili razmnožavanje jedinki s novim spolnim kromosomima (Van Doorn i Kirkpatrick 2007).

S obzirom na prethodno rečeno može se činiti kako je fiksacija novog spolnog kromosoma inherentno negativna pojava s malom mogućnošću uspješnosti. Ipak, u heteromorfnih kromosoma s jako izraženom delecijom na Y (W) kromosomu, a bez već razvijene kompenzacije doze pojava novog spolnog sustava može biti preferirana. Naime, uslijed nakupljanja nepovoljnih delecija Mullerovim sitom može doći do smanjivanja vijabilnosti heterogametnog spola što se može umanjiti pojavom novog para spolnih kromosoma. Ovakvo poticanje „turnovera“ opisano je modelom nakupljanja mutacija (engl. *mutation load model*) (Blaser i sur. 2013), a postoje i mnogi druge teorije o uzrocima uspješnosti „turnovera“ poput modela vrućeg krumpira (engl. *hot potato model*) (Blaser i sur. 2014), selekcije s obzirom na spolni omjer (engl. *sex-ratio selection*) (Kozielska i sur. 2006) i mnogih drugih koje prelaze opseg ovog seminara.

4. SPOLNI KROMOSOMI KRALJEŽNJAKA

Spolni kromosomi kralježnjaka pokazuju veliku raznolikost značajnu za proučavanje evolucije spolnih kromosoma. Razvoj molekularnih metoda u biologiji omogućio je definiranje vrste spolnih kromosoma i njihovog „turnovera“ u mnogim organizmima (pregled metoda prikazuju Palmer i ostali 2019), a sastavljena je i velika baza podataka koja sadrži poznate spolne sustave biljaka, beskralježnjaka i kralježnjaka nazvana Tree of Sex (Ashman i sur. 2014). Naravno, potpuno mapiranje spolnih sustava nije u potpunosti završeno, ali već i sadašnji podatci pružaju osnovu za empirijska istraživanja i dokaze prethodno formiranih teorijskih modela.

4.1. SPOLNI KROMOSOMI U RIBA

Zbog velikog prehrambenog i gospodarskog značaja uzgoj riba u akvakulturi postao je široko raširen (Tidwell i Allan 2001). S ciljem uzgoja većinski ženskih populacija i postizanja većeg prinosa u akvakulturi, istraživanja spolne determinacije ove skupine iznimno su opsežna, posebno za konzumne vrste. Budući da ova parafiletska skupina naseljava sve tipove vodenih okoliša i bilježi veliku raznolikost s čak 34 900 vrsta (Froese i Pauly 2022), ne začuđuje činjenica kako upravo ribe predstavljaju kategoriju s najrazličitijim načinima determinacije spola u kralježnjaka. U njih postoje i pojave različitih sustava determinacije spola čak i u podvrsta iste vrste (Black i Howell 1979).

U vrsta s razdvojenim spolom determinacija može biti poligena (Ser i sur. 2010; Luzio i sur. 2015), određena okolišnim faktorima ili spolnim kromosomima, a često dolazi i do ispreplitanja GSD i ESD sustava determinacije spola (Baroiller i sur. 2009; Navarro-Martín i sur. 2009). I kod određivanja spola spolnim kromosomima prisutna je velika raznolikost sa zabilježenim XX/XY i ZZ/ZW sustavom, ali i njihovim varijantama poput XX/XO, XX/XY₁Y₂, X₁X₂X₁X₂/X₁X₂Y₁Y₂, X₁X₂X₁X₂/X₁X₂X₁, ZZ/ZO, ZZ/ZW₁W₂, Z₁Z₂Z₁Z₂/Z₁Z₂W₁W₂ (Moreira-Filho i sur. 1993; Ross i sur. 2009; de Souza Valentim i sur. 2013; Sember i sur. 2021). Pritom je zamjetna prinost više spolnih kromosoma (engl. *multiple sex chromosomes*) obično nastalih nakon formiranja neo-spolnog kromosoma (Ross i sur. 2009). Primjerice, kod XX/XY₁Y₂ došlo je do nastanka neo-X spolnog kromosoma povezivanjem ancestralnog X kromosoma i jednog autosoma. Od homolognog para povezanog autosoma nastao je neo-Y kromosom (Y₂) dok se ancestralni Y (Y₁) također zadržao u populaciji. Analogno ovom postanku može se objasniti postanak i drugih sustava s više spolnih kromosoma. Unatoč tolikoj raznolikosti i ranoj pojavi riba kao skupine organizama spolni kromosomi pokazuju visoku pojavnost homomorfije (Schartl i sur. 2016) uz rijetke heteromorfne iznimke (Artoni i sur. 1998) najvjerojatnije kao posljedica učestalih „turnovera“.

Od MSD gena u riba su zabilježeni *DMRT1* (Cui i sur. 2017), *DMY*, odnosno *Dmrt1bY* (Matsuda i sur. 2007), *SOX3* (Takehana i sur. 2014), *AMH* (Kocher i sur. 2022) i *AMHR2* (Wu i sur. 2010), *AMHY* (Li i sur. 2015), *GDSF* (Myosho i sur. 2012) i *sdY* (Yano i sur. 2012) koji većinski predstavljaju varijante *DMRT1* gena. Iznimka je *GDSF* gen koji pripada proteinima signalnog puta TGF- β i posebno zanimljiv *sdY* koji je nastao od autosomalnog *irf9* gena (eng. *interferon regulatory factor 9*) (Yano i sur. 2012) što sugerira kako u riba treba tražiti moguće MSD gene među genima inače nepovezanih sa spolnom determinacijom. Bitno je naglasiti kako je većina ovih gena otkrivena u vrsta sa XY sustavnom, dok su MSD geni jedinki sa ZW spolnim kromosomima mnogo slabije istraženi. Dakako popisivanje MSD gena u riba nastavlja se i u recentnim istraživanjima (Song i sur. 2021). Kiyoshi i Hamaguchi (2013) detaljnije su obradili ovu temu.

Nadalje, spolna determinacija i diferencijacija u riba često ovisi o nekoliko faktora, a ne izričito o spolnim kromosomima (Piferrer i sur. 2012). Vrste koje mogu tijekom života mijenjati spol nazivamo hermafroditima, a u riba je zabilježeno čak 27 porodica s takvom pojavom (De Mitcheson i Liu 2008). Čak i u prisutnosti spolnih kromosoma, socijalni faktori (Iwata i sur. 2008), temperatura ili drugi okolišni uvjeti (Brown i sur. 2014) mogu utjecati na razvoj fenotipskog spola drugačijeg od onog za koji kodira genotipski. Primjerice, promjena temperature u lubina odgovorna je za nastanak spolno reverznih jedinki (Navarro-Martín i sur. 2009) u kojih jedinke posjeduju set spolnih kromosoma jednog spola, ali fiziološke mehanizme drugog spola što može utjecati i na evoluciju spolnih kromosoma, a moglo bi biti djelomično povezano i s velikim udjelom homomorfni kromosoma u riba.

Ribe predstavljaju važnu kariku u istraživanju mehanizma evolucije spolnih kromosoma. Prisutnost različitih spolnih kromosoma u bliskosrodnih jedinki, a pogotovo pojava više spolnih kromosoma u jedne jedinke može omogućiti proučavanja ranih koraka evolucije spolnih kromosoma nakon fiksacije (Sember i sur. 2021). Malobrojni primjeri vrsta s heteromorfni kromosomima mogu poslužiti za analizu degeneracije X, odnosno Y kromosoma pogotovo zbog činjenice kako je stupanj degeneracije u riba iznimno varijabilan, od primjera rane diferencijacije (Thorgaard 1977), do iznimno diferenciranih kromosoma (Charlesworth i sur. 2021). S obzirom na učestalu pojavu „turnovera“ što fuzijom spolnih kromosoma i autosoma (Ross i sur. 2009), premještanjem postojećeg MSD gena na autosom (Lubieniecki i sur. 2015) ili nastankom potpuno novog MSD gena (Bertho i sur. 2018) ribe predstavljaju i kandidate za analizu pojave „turnovera“. Ipak, upravo zbog velikog broja vrsta riba, homomorfni njihovih kromosoma i mogućnosti postojanja dosad nepoznatih porodica MSD gena popisivanje novih sustava, a time i analiza šire slike, u ove skupine je otežana.

4.2. SPOLNI KROMOSOMI U VODOZEMACA

Istraživanja diferencijacije spolnih organa i spolnih kromosoma u vodozemaca otpočela su vrlo rano pa su prve zabilješke o morfološkim abnormalnostima njihovog reproduktivnog sustava krenule već krajem 19. stoljeća (Kent 1885). Također, osim promjenjive morfologije spolnih organa, vodozemci i na druge načine odudaraju od klasičnih poimanja spolne determinacije i diferencijacije prkoseći uobičajenom mišljenju o putu evolucije spolnih kromosoma opisanom u poglavlju 3.2.1.

Već je nedugo nakon otkrića spolnih kromosoma otpočela spekulacija o vrsti spolnih kromosoma u vodozemaca te su u tu svrhu provedena istraživanja većinski temeljena na testovima križanja. Crew (1921) je takva nastojanja objedinio i sistematizirao, a do 1990. određeni su spolni kromosomi preko 60 vrsta žaba i daždevnjaka s utvrđenim ZZ/ZW, OO/OW i XX/XY sustavima (Hillis i Green 1990). Upravo Hillis i Green analizom prikupljenih podataka i konstrukcijom filogenetičkog stabla određuju ZZ/ZW sustav ancestralnim u vodozemaca uz naknadnu nezavisnu pojavu XX/XY sustava. Ovdje su, kao i u riba, većinski zastupljeni homomorfni spolni kromosomi, sa samo 4-5% heteromorfni kromosoma (Miura 2018; Ruiz-García i ostali 2021). Stadij heteromorfности je iznimno varijabilan s obzirom na vrstu pa vodozemci predstavljaju dobar model za analizu degeneracije kromosoma.

U vodozemaca je dokazan samo jedan MSD gen i to dominantni negativ *DMRT1* gena koji je odgovoran za nastanak ženskog spola negativnom regulacijom (Yoshimoto i sur. 2010), gen je nazvan *dm-w* (eng. *DM domain-containing W-link*) (Yoshimoto i sur. 2008). Iako su u vodozemaca detektirani i drugi geni obično povezani sa spolnom determinacijom, njihove uloge još nisu u potpunosti definirane. Skraćeni pregled daje Eggert (2004). Interesantan je i nedostatak spolno-suprotstavljenih gena povezanih uz spolne kromosome (pregled nudi (Perrin 2021)). U uobičajenom modelu evolucije kromosoma (poglavlje 3.2.1.), njihova akumulacija igra ključnu ulogu u zaustavljanju rekombinacije spolnih kromosoma heterogametnog spola, a stoga indirektno i u konačnoj uspostavi heteromorfnog sustava. Takva opservacija mogla bi predstavljati objašnjenje prevladavajuće homomorfности. Ipak, usprkos nedostatku spolno-suprotstavljenih gena, u heterogametnog spola je dokazan izostanak rekombinacije (pregled dokaza daje Perrin 2021), što sugerira kako se radi o intrinzičnoj pojavi i time propitkuje uobičajeni model evolucije spolnih kromosoma.

Unatoč činjenici kako je u svih dosad analiziranih vodozemaca dokazano postojanje GSD sustava (Hillis i Green 1990), zabilježena je i pojavnost spolno reverznih jedinki nastalih najvjerojatnije pod utjecajem okolišnih uvjeta na spol (Ruiz-García i sur. 2021). U nizu eksperimentalnih istraživanja analiziran je utjecaj promjene okolišne temperature na spol jedinki te je utvrđena pojava promjene spola pri temperaturama znatno višim od okolišnih u vrijeme razvoja jaja (Wallace i Wallace 2000). Ipak, zbog

postavki ovakvih istraživanja, tek su pronalasci spolno reverzних životinja u divljim populacijama (Lambert i sur. 2019) ukazali na prisutnost takvih promjena i u prirodnim uvjetima. Značaj spolno reverzних jedinki za evoluciju spolnih kromosoma očituje se u omogućavanju rekombinacije X i Y (Z i W) kromosoma u spolno reverzних ženki (mužjaka) zbog čega dolazi do obnove deletiranih i mutiranih dijelova Y (W) kromosoma (Perrin 2009) čime se održava homomorfnost. Ipak, u poglavlju 3.1.2. naglašeno je kako čak i u prisutnosti rekombinacije dolazi do eliminacije rekombinantnog fenotipa u prirodnim populacijama. Takva tvrdnja točna je u slučaju nakupljanja spolno-suprotstavljenih gena na spolnim kromosomima koji tijekom rekombinacije prelaze na kromosom suprotnog spola time mu smanjujući vijabilnost. Međutim, s obzirom da u vodozemaca izostaje akumulacija spolno-suprotstavljenih gena rekombinantne jedinice su u potpunosti vijabilne. Nadalje, u slučaju nastanka XX reverzних mužjaka (ZZ reverzних ženki) i njihovog parenja s normalnim XX ženkama (ZZ mužjacima) dolazi do nastanka potpuno ženske F1 generacije koja nije pogodna u prirodnim uvjetima zbog promjene omjera spolova. Stoga se, u populacijama zahvaćenim takvim promjenama, može favorizirati pojava „turnovera“ (Wedekind 2010). Dakle, pojava spolno reverzних jedinki može objasniti empirijske tvrdnje o toku evolucije spolnih kromosoma vodozemaca. Upravo zbog ovakvih utjecaja na spol, a najvjerojatnije i na evoluciju spolnih kromosoma sve više se uvažavaju okolišni faktori kao dio kanonskih modela evolucije spolnih kromosoma (Ruiz-García i sur. 2021).

Bitno je naglasiti kako o jednom redu vodozemaca, beznošcima (Gymnophiona), postoji znatno manji broj radova pretežno vezanih uz kariotipizaciju. Mnogi radovi negiraju opažanje heteromorfnih spolnih kromosoma (Barrio i sur. 1971; Seto i Nussbaum 1976), a neki uočavaju značajne morfološke razlike koje bi mogle sugerirati postojanje para spolnih kromosoma (Govindappa i Venkatachalaiah 2005) tako da i u ovoga reda možemo očekivati mnoge kuriozitet.

4.3. SPOLNI KROMOSOMI U GMAZOVA

Gmazovi su skupina koja, za razliku od vodozemaca, ima zabilježen i potpuni ESD i GSD te, unatoč prvotnim mišljenjima, i sustave determinacije spola u kojih, u raznim omjerima, ulogu imaju i okoliš i genetika (Sarre i sur. 2004). Od okolišno izazvane determinacije spola zastupljena je temperaturna i to u guštera (Shine i sur. 2007), premosnika (Huey i Janzen 2008), kornjača (Bull i Vogt 1979) te posebno u krokodila (Woodward i Murray 1993). Ipak, ona izostaje u zmija iako temperatura može utjecati na smrtnost embrija, a time i na omjer spolova u prirodi (Press i Society 2016). Za razliku od vodozemaca ovdje se ne radi o ekstremnim okolišnim uvjetima već o temperaturama prirodno prisutnim u okolišu tijekom embrionalnog razvitka (Yntema i Mrosovsky 1982). Interesantno je i postojanje takozvane ključne

temperature pri kojoj je omjer spolova 1:1 (Yntema i Mrosovsky 1982). Iako nisam pronašla objašnjenje na temelju čega je determiniran spol pri ključnoj temperaturi, ovakav omjer sugerira pravilno nasljeđivanje spola kakvo uočavamo u GSD-a pa bi se potražnjom uzroka divergencije pri ovim temperaturama moglo doznati više o genetičkoj podlozi TSD-a, a možebitno i o prisutnosti homomorfnih spolnih kromosoma sa slabijim utjecajem na spol.

U gmazova je GDS također široko raširen s XX/XY sustavom u kornjača (Mazzoleni i sur. 2020) i guštera (Matsubara i sur. 2013) te ZZ/ZW sustavom u zmija (Augstenová i sur. 2018) te drugih kornjača (Badenhorst i sur. 2013) i guštera (Nielsen i sur. 2020). Interesantna su nova otkrića „turnovera“ prisutnog u zmija, s obzirom da se prvotno smatralo kako cijela skupina dijeli zajedničke i očuvane spolne kromosome (Augstenová i sur. 2018) zbog čega možemo zaključiti kako su potrebna daljnja istraživanja i sekvencioniranja kako bismo sa sigurnošću mogli odrediti tok evolucije spolnih kromosoma, kako u nižih taksonomskih grupa tako svakako i na višim razinama. Istraživanja spolnih kromosoma gmazova otežana su dominacijom homomorfnosti (iako ne izostaju ni heteromorfni kromosomi (Matsubara i sur. 2013)), ali i činjenicom kako još nisu identificirani MSD geni (Thépot 2021) koji se obično koriste za pronalazak homomorfnih spolnih kromosoma. Interesantno je kako su istraživanja za determinaciju MSD gena ove skupine započeta potragom za formama već poznatih gena ptica i sisavaca koji sudjeluju u njihovoj spolnoj determinaciji. Tako su u gmazova s TDS-om pronađeni geni *SFI* (Crews i sur. 2001), *DMRT1* (Kettlewell i sur. 2000), *WT1* (Spotila i sur. 1998), *SOX9* (Spotila i sur. 1998) i drugi čiji pregled daju Rhen i Schroeder (2010) te Thépot (2021). Ovakvi pronalasci dokaz su homologije procesa determinacije spola, ali ne jamče kako bilo koji od identificiranih gena djeluje u svojstvu MSD gena (Rhen i Schroeder 2010). Također, mnogi autori ovom pristupu zamjeraju i činjenicu kako se na taj način zanemaruje mogućnost postojanja posebnog MSD gena karakterističnog za gmazove ili pojedinu skupinu gmazova.

Iako je prvotno smatrano kako su okolišni i genetički sustavi determinacije spola potpuno odvojeni i fundamentalno različiti procesi danas postoji sve više dokaza kako dijele mnoge korake na molekularnoj razini što ukazuje na mogućnost jednostavnog prelaska s jednog na drugi tip. Primjerice, u kornjača se najvjerojatnije dogodio prelazak s ancestralnog TDS-a u GDS (Organ i Janes 2008). Osim toga, prisutnost spolno reverznih jedinki dokazana je, a najvjerojatnije i učestala pojava u gmazova (Holleley i sur. 2016), a njeni utjecaji na tok evolucije spolnih kromosoma trebali bi biti analogni onima navedenim u vodozemaca. Osim omogućavanja rekombinacije u spolno reverznih jedinki, temperatura može utjecati i na kompenzaciju doze u jedinki sa prisutnim spolnim kromosomima što također može služiti za detekciju redosljeda događaja u evoluciji spolnih kromosoma (Bista i sur. 2021). Kako je općenito mišljenje brze evolucije determinacije spola u ovoj skupini (Organ i Janes 2008) nadalje se treba postaviti pitanje o uzroku takve

stope obrtanja i prelazaka s jednog tipa spolne determinacije na drugi te, posljedično, o uzroku izostanka takvih trendova u drugih skupina.

4.4. SPOLNI KROMOSOMI U PTICA

U svih dosad analiziranih ptica prisutan je isključivi GSD. Prema dosad dostupnim podacima sve one dijele isti ancestralni par spolnih kromosoma ZZ/ZW sustava (Nanda i sur. 2008) s jednim MSD genom-*DMRT1*. On se nalazi na Z kromosomu i u dvostrukoj dozi okida razvoj muškog spola, dok nedostatak druge kopije omogućava razvoj ženskog spola (Raymond i sur. 1999; Lambeth i sur. 2014). Iz toga proizlazi kako je u ove skupine prisutna izuzetna očuvanost spolnih kromosoma, uz vrlo rijetke „turnovere“ prisutne samo u vidu nastanka neo-spolnih kromosoma (Sigeman i sur. 2021). Ovi kromosomi uvelike su pripomogli opisivanju napredovanja restrikcije rekombinacije u ptica za koju su Sigeman i suradnici (2021) dokazali nasumično pojavljivanje na manjim segmentima, što se uvelike razlikuje od linearnog napredovanja predstavljenog u kanonskim modelima.

U ptica su spolni kromosomi većinski heteromorfni (Nanda i sur. 2008) s različitim stupnjem degeneracije u pojedine vrste, odnosno skupine, što govori u prilog klasičnog shvaćanja evolucije spolnih kromosoma. Ipak, Rutkowska i suradnici (2012), usporedbom spolnih kromosoma 200 vrsta ptica dolaze do zaključka kako duljina W kromosoma nije korelirana s njihovom starošću već je sam proces degeneracije skokovit, a može uključivati i produljenje W kromosoma u nekodirajućim regijama. Unatoč činjenici kako prisutnost većinski heteromorfni spolnih kromosoma govori u prilog klasičnoj teoriji evolucije i u ove skupine postoje fenomeni koji joj u potpunosti ne odgovaraju. Primjerice, red Palaeognathae koji obuhvaća skupinu ptica neletačica predstavlja iznimku ptičjeg svijeta s zabilježenom homomorfnošću spolnih kromosoma (Yazdi i Ellegren 2014) i dugom pseudoautosomalnom regijom (Wang i sur. 2022) unatoč starosti skupine. Takva pojava značajna je za istraživanje uzroka degeneracije i mehanizama koji mu nužno moraju prethoditi. Predloženo je kako veliku ulogu u tome ima ekspresija ovisna o spolu (Vicoso i sur. 2013) koja minimizira potrebe za zaustavljanjem rekombinacije i uspostavljanjem kompenzacije doze, procesima potrebnim za omogućavanje degeneracije, a predložene su i druge teorije novijeg datuma (Xu i sur. 2019; Wang i sur. 2022) od kojih ni jedna još nije sa sigurnošću potvrđena (Xu i sur. 2019).

Upravo heteromorfnost predstavlja temelj uspoređivanja evolucije spolnih kromosoma ptica i sisavaca (Graves 2014), ipak kako je u ovih dviju skupina heterogametni spol različit postoje temeljne razlike u prostoru razvoja gameta. Naime, Z kromosom je u jednoj kopiji prisutan u ženki, a u dvije u mužjaka, dok za X kromosom sisavaca vrijedi obrnuta tvrdnja. Značajnost ove razlike leži u činjenici da je u obje skupine stopa mutacija u gametama veća u mužjaka nego u ženki (Ellegren i Fridolfsson 1997) te bi

se sukladno tome mutacije Z kromosoma ptica trebale biti češće nego one u X kromosoma sisavca. To i dokazuje pojava ubrzane evolucije gena Z kromosoma (Mank i sur. 2007) što svakako treba uzeti u obzir pri usporedbi ovih dviju skupina

Interesantno je kako ni kompenzacija doze u ove skupine nije potpuna što pokazuje kako su geni na Z kromosomu većinski podređeni razvoju muškoga spola pa njihova jednolika ekspresija nije ni potrebna u stanicama ženki (Graves 2014). Moguće je kako je to u skladu s prethodno spomenutom ubrzanom evolucijom Z kromosoma u mužjaka. U svakom slučaju, ptičji spolni kromosomi, iako naizgled jednostavni u odnosu na veliku raznolikost prethodno obrađenih skupina, uvelike doprinose proučavanju evolucije spolnih kromosoma.

4.5. SPOLNI KROMOSOMI U SISAVACA

Graves i Watson (1991) u svome su radu izrekli rečenicu „Čini se da su spolni kromosomi vrlo očuvani.“. Iako je za mnoge dosad obrađene skupine kralježnjaka ova rečenica u potpunosti lažna, Graves i Watson nisu napravili pogrešku s obzirom da pišu o sisavcima. U sisavaca je zabilježen samo XY sustav determinacije spola te se za X kromosom, dapače, dokazalo kako je visoko očuvan u tobočara i viših sisavaca (Graves 2006). Jednootvori, a posebno čudnovati kljunaš s pet X i pet Y spolnih kromosoma (Grützner i sur. 2004), predstavljaju posebnu kariku koja je osvijetlila postanak X kromosoma sisavca. Naime, njihov X kromosom ne pokazuje sličnost sa spolnim kromosomima ostalih sisavaca, ali je homologan Z kromosomu ptica (Veyrunes i sur. 2008). Zbog ovog prijelaznog oblika danas znamo kako je predak ptica i sisavaca imao ZZ/ZW sustav determinacije spola (Veyrunes i sur. 2008).

Y je, s druge strane, nešto varijabilniji, što nije vidljivo kariotipskim analizama, već analizom pojedinih aktivnih gena i njihovih produkata (Graves 2006). Svi Y kromosomi dijele glavni i jedini do sad otkriveni MSD gen sisavca- *SRY* gen koji rukovodi razvojem muškog spola (Koopman i sur. 1991) kako je opisano u ranijim poglavljima.

Zbog iznimne heteromorfije spolne kromosome sisavca često nazivamo evolucijskom zamkom (engl. *evolutionary trap*) jer se čini kako je daljnjom evolucijom moguća samo još jača diferencijacija Y kromosoma. „Turnover“ s nastankom novog para spolnih kromosoma u ovom je slučaju isključen jer je Y već toliko diferenciran i kompenzacija doze efektivna da YY jedinke, koje bi mogle nastati, ne bi bile vijabilne. Jedini put obrtanja spolnih kromosoma je, dakle, nastanak neo-spolnih kromosoma fuzijom s autosomima što se i dogodilo u nekih skupina sisavaca. Regije bivših autosoma istraživane su tijekom mezoze i pokazuju početne stadije diferencijacije spolnih kromosoma zbog čega autori predlažu iste analize

drugih neo-spolnih kromosoma kako u sisavaca tako i u drugih organizama, ali i homomorfni spolni kromosoma kako bi se utvrdio jedinstveni obrazac početka razvoja spolnih kromosoma (Gil-Fernández i sur. 2020).

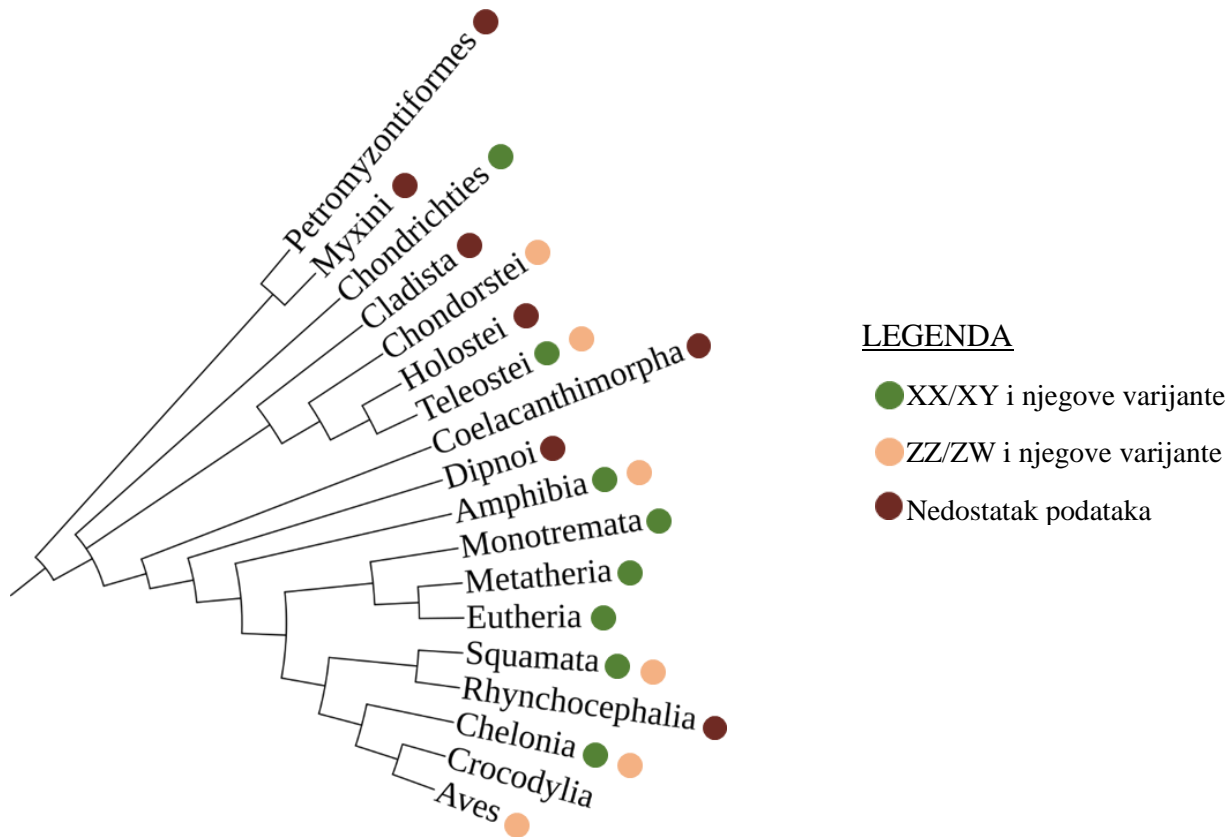
Osim neo-spolnih kromosoma, u sisavca su kurioziteti pronađeni i u glodavaca u obliku takozvanih neobičnih spolnih kromosoma (engl. *unusual sex chromosomes*). Naime, u nekih je došlo do potpunog gubitka Y kromosoma kojim je evolucijska zamka dovršena. Čini se kako je to logični završni korak i kako u tome ne postoji ništa sporno. Ipak, već je rečeno kako je *SRY* glavni pokretač diferencijacije muškog spola, a njegova odsutnost ženskog. Tako da začuđuje postojanje muškog spola u vrsta koje su *SRY* izgubile zajedno sa Y kromosomom. Iz toga proizlazi kako je neki drugi gen morao preuzeti krovnu ulogu, a to može značiti i kako je u povojima novi par homomorfni spolni kromosoma te su svakako potrebna daljnja istraživanja ovih jedinki. Nadalje, također u glodavaca, otkrivene su i XY ženke, što samo po sebi ne predstavlja čudo s obzirom da su takve pojave i ranije zabilježene u čovjeka te su, dapače, pridonijele definiranju *SRY* gena kao okidača razvoja muškog spola. Ipak, glavna razlika ovdje je to što je u ljudi obično posrijedi nedostatak ili disfunkcija *SRY* gena, a ženke nisu fertile. S druge strane, u ovih organizama, ženke su u potpunosti fertile, a *SRY* je u potpunosti funkcionalan, ali je na X kromosomu evoluirao njegov inhibitor koji za posljedicu ima razvoj ženskog spola. Ovakva pojava je jedinstvena i pruža priliku istraživanja „turnovera“ i promjene spola. Detaljan pregled otkrića i zaključaka dobivenih proučavanjem ovih neobičnih kromosoma s osvrtom na sve prethodno spomenuto daje Saunders (2021).

Iako se na prvi pogled može činiti kako sisavci nisu idealni model za istraživanje ranih koraka evolucije spolnih kromosoma, prvenstveno jer je većina organizama već odavno završila tu fazu evolucije čini se kako i u ove skupine postoje vrste vrijedne daljnjeg istraživanja.

4.6. RAZLIKE U VIŠIH I NIŽIH KRALJEŽNJAKA

Spolni su kromosomi, kako smo do sada mogli vidjeti, iznimno dinamični i raznoliki što uvelike otežava stvaranje generalne slike o njima, ako ona uopće i postoji. Njihovo istraživanje u kralježnjaka imaju dugu tradiciju proučavanja, što pokazuje i preko dvije tisuće unosa u bazi podataka *Three of sex*. Ipak, s obzirom na to da je danas poznato preko 70 tisuća vrsta kralježnjaka možemo zaključiti kako imamo još puno vrsta za analizirati (Haussler i sur. 2009) i mnogo zaključaka za donijeti prije nego sa sigurnošću možemo ispričati priču o evoluciji spolnih kromosoma. Na Slici 1. lako je uočljivo kako su glavni sustavi spolnih kromosoma raštrkani na stablu života, a posebno su interesantne skupine u kojih adekvatnih podataka još uvijek nema. Ove su skupine pretežno opskurne i nalaze se na prijelazu između dviju dobro definiranih skupina i smatram kako bi analiza spolnih kromosoma u ovih skupina mogla biti ključna za

analizu evolucije spolnih kromosoma (kako se, između ostalog i pokazalo u čudnovatog kljunaša na prijelazu između ptica i sisavaca). Zbog preglednosti i jednostavnosti uspoređivanja konstruirana je Tablica 1. sa sažetim prikazom karakteristika spolnih kromosoma prethodno obrađenih skupina, a i filogenetsko stablo kralježnjaka s označenim tipovima spolnih kromosoma (Slika 1.).



Slika 1. Prikaz filogenetskog stabla kralježnjaka s naznačenim tipovima spolnih kromosoma. Stablo je sastavljeno korištenjem radova (Haussler i sur. 2009) i (Stöck i sur. 2021), pomoću programa Interactive Tree Of Life (iTOL) (Letunic i Bork 2021).

Spolni kromosomi nižih kralježnjaka (riba, vodozemaca i gmazova) odskakuju od klasičnog pogleda na evoluciju kromosoma. Naime, ova teorijska paradigma (kako je objašnjeno u poglavlju 3.2.1.) predviđa nužnu degeneraciju i nastanak heteromorfnih spolnih kromosoma, a u ovih su skupina oni većinski homomorfnii. S druge strane, u viših kralježnjaka (ptica i sisavaca) potvrđeno je nastupanje posljednjeg koraka evolucije spolnih kromosoma, odnosno ekstenzivne degeneracije i pojave heteromorfnosti. Ipak, ovi pronalasci nisu dokaz čitave paradigme i ne potvrđuju točne korake nastanka spolnih kromosoma od pojave MSD gena. Dakako, postoje tragovi slijeda evolucijske prošlosti u vidu evolucijskih slojeva (Lahn i Page 1999), ali ovi visoko diferencirani kromosomi svakako ne predstavljaju najpogodniji model. Najvjerniju analizu rane evolucije spolnih kromosoma pružaju upravo oni modeli u kojih evolucija i prolazi najranije

korake diferencijacije, a to su svakako homorfni kromosomi nižih kralježnjaka, ali i primjeri neo- i protospolnih kromosoma. Tako je, kako je prethodno objašnjeno, u homomorfnih spolnih kromosoma vodozemaca pokazano da nakupljanje spolno-suprotstavljenih gena ne mora nužno prethoditi ograničavanju rekombinacije. Intrigantno je pitanje zašto se u nižih kralježnjaka održala homomorfija spolnih kromosoma, a mnogi autori odgovor na njega traže u drugim očitim razlikama viših i nižih kralježnjaka, koje možete usporedno vidjeti u Tablici 1. Primjerice, u nižih kralježnjaka obrtanje kromosoma je učestalije, dok su spolni kromosomi viših kralježnjaka proglašeni evolucijskom zamkom zahvaljujući njihovoj statičnosti (iako se i ta tvrdnja u posljednje vrijeme odbacuje (Pennell i sur. 2018)). Također, u nižih kralježnjaka, za razliku od viših, zabilježen je utjecaj okolišnih faktora na determinaciju spola unatoč prisutnosti spolnih kromosoma što uzrokuje pojavu spolno reverznih jedinki. Neki autori ne negiraju mogućnost kako i u viših kralježnjaka još uvijek postoje mehanizmi potrebni za utjecaj temperature na spol, ali ih prikriva briga za mlade koja uvjetuje jednoliku okolišnu temperaturu pri razvoju te sposobnost održavanja vlastite tjelesne temperature u starijih jedinki. Sve ove razlike povezane su u zajedničku teoriju kojom upravo spolno reverzne jedinke održavaju homomorfnost spolnih kromosoma nižih kralježnjaka na način da omogućavaju rekombinaciju u heterogametnog spola (kako je opisano u poglavlju 4.2.). Ovu teoriju izvora mladosti (engl. *fountain of youth*) za spolne kromosome opisao je Perrin (2009).

Tablica 1. Usporedni prikaz glavnih karakteristika spolnih kromosoma u pojedinim skupina kralježnjaka. Znakom '+' označena je prisutnost, a znakom '-' odsutnost svojstva. Znak '?' označava kako za pojedinu skupinu, ne postoji podatak o tom svojstvu. Popis je konstruiran korištenjem literaturnih podataka prikazanih u poglavljima 4.1.- 4.5.

Skupina	Ribe	Vodozemci	Gmazovi	Ptice	Sisavci
<i>XX/XY i njegove varijante</i>	+	+	+	-	+
<i>ZZ/ZW i njegove varijante</i>	+	+	+	+	-
<i>Ancestralni tip</i>	?	<i>ZZ/ZW</i>	?	?	<i>ZZ/ZW</i>
<i>Homomorfni</i>	+	+	+	rijetko	rijetko
<i>Heteromorfni</i>	rijetko	rijetko	rijetko	+	+
<i>MSD geni</i>	<i>DMRT1, DMY (Dmrt1bY), SOX3, AMH, AMHR2, AMHY, sdY</i> i drugi	<i>dm-w</i>	nije utvrđen	<i>DMRT1</i>	<i>SRY</i>
<i>ESD</i>	prisutan zasebno, a ponekad uz GSD	+/-	prisutan u svih skupina osim zmija, ponekad uz GSD	-	-
<i>Spolno reverzne jedinke</i>	+	+	?	-	-

Možda najočitije pitanje koje proizlazi iz ovolike raznolikosti je „Jesu li svi spolni kromosomi evoluirali na isti način?“ (Bachtrog i sur. 2011). Odgovor je kako još uvijek nismo u potpunosti sigurni, jer unatoč ekstenzivnom teorijskom radu, a i novim dosegima molekularno bioloških istraživanja ostaju još mnoge skupine u kojih nedostaju opisi spolnih kromosoma ili njihovih MSD gena. Je li nužno ili izgledno postojanje jedinstvenog mehanizma za sve spolne kromosome? Slijede li i XY i ZW sustavi različitih organizama iste evolucijske korake jednakim redom ili je njihova sličnost posljedica konvergentne evolucije i njihove posebne funkcije? Postoji li neki intrinzični faktor koji održava homomorfiju u nižih kralježnjaka i koji je uzrok njegova izostanka u viših? Te kako objasniti iznimke u obje ove skupine ili prelaske iz heteromorfni u homomorfne kromosome (Pennell i sur. 2018)? Kao što smo vidjeli na nekoliko primjera (poput izostanka spolno-suprotstavljenih gena u vodozemaca ili posebne kompenzacije doze u ptica) nisu svi koraci uvijek isti ili u istom slijedu. Više ovakvih primjera navodi (Kratochvíl i sur. 2021).

Ovako postavljeno, čini se kako su spolni kromosomi nedvojbeno nastali iz različitih autosoma različitim procesima, stoga začuđuje iznimna homologija uočena između mnogih skupina kralježnjaka. Primjerice Chen i suradnici otkrili su značajnu sličnost ZZ/ZW sustava ptica i riba (2014), Pokorná i suradnici ptica i gmazova (2011), a prethodno je napomenuto kako je ancestralni sustav sisavaca ZZ/ZW sustav i kako se homologija s ptičjim održala još u čudnovatog kljunaša. Ovakvi pronalasci mogli bi sugerirati kako je ZZ/ZW sustav ancestralni svim kralježnjacima. Možda će, kada podatci postanu potpuniji, analiza evolucije spolnih kromosoma moći služiti i potvrđivanju srodnosti organizama, primjerice analizom ortolognih gena sa spolnih kromosoma kako je već i prethodno rađeno (Nanda i sur. 1999). U najmanju ruku takvi podatci značajno će pridonijeti definiranju „turnovera“.

5. ZAKLJUČAK

Spolni su kromosomi kralježnjaka iznimno raznoliki i varijabilni, ali pokazuju velik broj zajedničkih karakteristika koje su prvotno objašnjene teorijskim modelima. Iako neki eksperimentalni podatci potvrđuju takve modele, postoje i drugi koji im uopće ne odgovaraju pa je potrebna opsežna revizija kanonskih evolucijskih modela. Također, za potpuno razumijevanje evolucije spolnih kromosoma kralježnjaka potrebna je daljnja kariotipizacija i analiza spolnih kromosoma dosad zanemarenih skupina kralježnjaka, a posebno među opskurnim skupinama kako bi se mogao konstruirati slijed evolucije s obzirom na filogenetiku kralježnjaka.

6. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 04. 04. 2000. godine u Rijeci. Osnovnoškolsko obrazovanje stekla sam u Osnovnoj školi Ivana Gorana Kovačića u Delnicama. Pohađala sam prirodoslovno-matematičku gimnaziju u Srednjoj školi Delnice i maturirala 2019. godine. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja sudjelovala sam na mnogim radionicama i natjecanjima od kojih je najznačajnije bilo natjecanje AZOO-a Opisujemo sustave na kojem sam 2017./2018. s radom Pčele osvojila prvu državnu nagradu te posljedično i Oskara znanja Agencije za odgoj i obrazovanje, Ministarstva znanosti i obrazovanja te Hrvatske zajednice županija. 2019. godine upisala sam preddiplomski studij Biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu. Od 2020. godine članica sam Udruge studenata biologije BIUS u kojoj aktivnom sudjelujem kako na terenima, predavanjima i radionicama tako i u ulozi glavne urednice časopisa studenata biologije In Vivo (od početka 2021. godine) te voditeljice Sekcije za leptire (od početka 2022. godine). U akademskoj godini 2020./2021. sudjelovala sam u provođenju praktikumske nastave na Zavodu za mikrobiologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, a u akademskoj godini 2021./2022. obavljala sam stručnu praksu u sklopu udruge Hyla.

7. LITERATURA

- Abbott, J.K., Nordén, A.K. and Hansson, B. 2017. Sex chromosome evolution: Historical insights and future perspectives. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284, pp. 1–9. doi: 10.1098/rspb.2016.2806.
- Aida, T. 1921. On the Inheritance of Color in a Fresh-Water Fish, *Aplocheilus Latipes* Temmick and Schlegel, With Special Reference To Sex-Linked Inheritance. *Genetics* 6(6), pp. 554–573. doi: 10.1093/genetics/6.6.554.
- Almeida-Toledo, L.F., Foresti, F., Daniel, M.F.Z. and Toledo-Filho, S.A. 2000. Sex chromosome evolution in fish: The formation of the neo-Y chromosome in *Eigenmannia* (Gymnotiformes). *Chromosoma* 109(3), pp. 197–200. doi: 10.1007/s004120050428.
- Artoni, R.F., Venere, P.C. and Bertollo, L.A.C. 1998. A heteromorphic ZZ/ZW sex chromosome system in fish, genus *Hypostomus* (Loricariidae). *Cytologia* 63(4), pp. 421–425. doi: 10.1508/cytologia.63.421.
- Ashman, T.L. et al. 2014. Tree of Sex: A database of sexual systems. *Scientific Data* 1, pp. 1–8. doi: 10.1038/sdata.2014.15.
- Augstenová, B., Pokorná, M.J., Altmanová, M., Frynta, D., Rovatsos, M. and Kratochvíl, L. 2018. ZW, XY, and yet ZW: Sex chromosome evolution in snakes even more complicated. *Evolution* 72(8), pp. 1701–1707. doi: 10.1111/evo.13543.
- Bachtrog, D. et al. 2014. Sex Determination: Why So Many Ways of Doing It? *PLoS Biology* 12(7), pp. 1–13. doi: 10.1371/journal.pbio.1001899.
- Bachtrog, D., Kirkpatrick, M., Mank, J.E., McDaniel, S.F., Pires, J.C., Rice, W.R. and Valenzuela, N. 2011. Are all sex chromosomes created equal? *Trends in Genetics* 27(9), pp. 350–357. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tig.2011.05.005>.
- Badenhorst, D., Stanyon, R., Engstrom, T. and Valenzuela, N. 2013. A ZZ/ZW microchromosome system in the spiny softshell turtle, *Apalone spinifera*, reveals an intriguing sex chromosome conservation in Trionychidae. *Chromosome Research* 21(2), pp. 137–147. doi: 10.1007/s10577-013-9343-2.
- Baroiller, J.F., D’Cotta, H. and Saillant, E. 2009. Environmental effects on fish sex determination and differentiation. *Sexual Development* 3(2–3), pp. 118–135. doi: 10.1159/000223077.
- Barr, M.L. and Bertram, E.G. 1949. A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis [2]. *Nature* 163(4148), pp. 676–677. doi: 10.1038/163676a0.
- Barrio, A., Saez, F.A. and Rinaldi-Chieri, P. 1971. The cytogenetics of *chthonerpeton indistinctum* (Amphibia: Gymnophiona). *Caryologia* 24(4), pp. 435–445. doi: 10.1080/00087114.1971.10796451.
- Bertho, S. et al. 2018. The unusual rainbow trout sex determination gene hijacked the canonical vertebrate gonadal differentiation pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115(50), pp. 12781–12786. doi: 10.1073/pnas.1803826115.
- Bista, B., Wu, Z., Literman, R. and Valenzuela, N. 2021. Thermosensitive sex chromosome dosage compensation in ZZ/ZW softshell turtles, *Apalone spinifera*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 376(1833). doi: 10.1098/rstb.2020.0101.
- Black, D.A. and Howell, W.M. 1979. The North American Mosquitofish, *Gambusia affinis*: A Unique Case in Sex Chromosome Evolution. *Copeia* 1979(3), p. 509. doi: 10.2307/1443231.

- Blaser, O., Grossen, C., Neuenschwander, S. and Perrin, N. 2013. Sex-chromosome turnovers induced by deleterious mutation load. *Evolution* 67(3), pp. 635–645. doi: 10.1111/j.1558-5646.2012.01810.x.
- Blaser, O., Neuenschwander, S. and Perrin, N. 2014. Sex-chromosome turnovers: The hot-potato model. *American Naturalist* 183(1), pp. 140–146. doi: 10.1086/674026.
- Brown, E.E., Baumann, H. and Conover, D.O. 2014. Temperature and photoperiod effects on sex determination in a fish. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 461, pp. 39–43. doi: 10.1016/j.jembe.2014.07.009.
- Bull, J.J. 1981. Evolution of environmental sex determination from genotypic sex determination. *Heredity* 47, pp. 173–184. doi: <https://doi.org/10.1038/hdy.1981.74>.
- Bull, J.J. and Vogt, R.C. 1979. Temperature-dependent sex determination in turtles. *Science* 206(4423), pp. 1186–1188. doi: 10.1126/science.505003.
- Camacho, J.P.M., Schmid, M. and Cabrero, J. 2011. B chromosomes and sex in animals. *Sexual Development* 5(3), pp. 155–166. doi: 10.1159/000324930.
- Camara, N., Whitworth, C., Dove, A. and van Doren, M. 2019. Doublesex controls specification and maintenance of the gonad stem cell niches in *Drosophila*. *Development (Cambridge)* 146(11). doi: 10.1242/DEV.170001.
- Charlesworth, B. 1978. Model for evolution of Y chromosomes and dosage compensation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 75(11), pp. 5618–5622. doi: 10.1073/pnas.75.11.5618.
- Charlesworth, B. 1991. The evolution of sex chromosomes. *Science* 251(4997), pp. 1030–1033. doi: 10.1126/science.1998119.
- Charlesworth, B. and Charlesworth, D. 1997. Rapid fixation of deleterious alleles can be caused by Muller’s ratchet. *Genetical Research* 70(1), pp. 63–73. doi: 10.1017/S0016672397002899.
- Charlesworth, B. and Hartl, D.I. 1978. Population dynamics of the segregation distorter polymorphism of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 89(1), pp. 171–192. doi: 10.1093/genetics/89.1.171.
- Charlesworth, D., Graham, C., Trivedi, U., Gardner, J. and Bergero, R. 2021. PromethION Sequencing and Assembly of the Genome of *Micropoecilia picta*, a Fish with a Highly Degenerated Y Chromosome. *Genome Biology and Evolution* 13(9). doi: 10.1093/gbe/evab171.
- Charlesworth, D., Zhang, Y., Bergero, R., Graham, C., Gardner, J. and Yong, L. 2020. Using GC content to compare recombination patterns on the sex chromosomes and autosomes of the guppy, *poecilia reticulata*, and its close outgroup species. *Molecular Biology and Evolution* 37(12), pp. 3550–3562. doi: 10.1093/molbev/msaa187.
- Charnov, E. and Bull, J. 1977. When is sex environmentally determined? *Nature* 266, pp. 828–830.
- Chen, S. et al. 2014. Whole-genome sequence of a flatfish provides insights into ZW sex chromosome evolution and adaptation to a benthic lifestyle. *Nature Genetics* 46(3), pp. 253–260. doi: 10.1038/ng.2890.
- Clark, F.E. and Kocher, T.D. 2019. Changing sex for selfish gain: B chromosomes of Lake Malawi cichlid fish. *Scientific Reports* 9(1). doi: 10.1038/s41598-019-55774-8.
- Crew, F.A.E. 1921. Sex-reversal in frogs and toads. A review of the recorded cases of abnormality of the reproductive system and an account of a breeding experiment. *Journal of Genetics* 11(2), pp. 141–181. doi: 10.1007/BF02983047.

- Crews, D., Fleming, A., Willingham, E., Baldwin, R. and Skipper, J.K. 2001. Role of steroidogenic factor 1 and aromatase in temperature-dependent sex determination in the red-eared slider turtle. *Journal of Experimental Zoology* 290(6), pp. 597–606. doi: 10.1002/jez.1110.
- Cui, Z. et al. 2017. Genome editing reveals dmrt1 as an essential male sex-determining gene in Chinese tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Scientific Reports* 7. doi: 10.1038/srep42213.
- De Mitcheson, Y.S. and Liu, M. 2008. Functional hermaphroditism in teleosts. *Fish and Fisheries* 9(1), pp. 1–43. doi: 10.1111/j.1467-2979.2007.00266.x.
- de Souza Valentim, F.C., Porto, J.I.R., Bertollo, L.A.C., Gross, M.C. and Feldberg, E. 2013. XX/XO, a rare sex chromosome system in Potamotrygon freshwater stingray from the Amazon Basin, Brazil. *Genetica* 141(7–9), pp. 381–387. doi: 10.1007/s10709-013-9737-2.
- Dimitri, P. and Junakovic, N. 1999. Revising the selfish DNA hypothesis: New evidence on accumulation of transposable elements in heterochromatin. *Trends in Genetics* 15(4), pp. 123–124. doi: 10.1016/S0168-9525(99)01711-4.
- Eggert, C. 2004. Sex determination: The amphibian models. *Reproduction Nutrition Development* 44(6), pp. 539–549. doi: 10.1051/rnd:2004062.
- Ellegren, H. and Fridolfsson, A.K. 1997. Male-driven evolution of DNA sequences in birds. *Nature Genetics* 17(2), pp. 182–184. doi: 10.1038/ng1097-182.
- Froese, R. and Pauly, D. 2022. *FishBase*. Available at: www.fishbase.org. Version (06/2022). (pristupljeno 02. 09. 2022.)
- Furman, B.L.S. et al. 2020. Sex Chromosome Evolution: So Many Exceptions to the Rules. *Genome Biology and Evolution* 12(6), pp. 750–763. doi: 10.1093/gbe/evaa081.
- Ge, C. et al. 2017. Dmrt1 induces the male pathway in a turtle species with temperature-dependent sex determination. *Development (Cambridge)* 144(12), pp. 2222–2233. doi: 10.1242/dev.152033.
- Gil-Fernández, A. et al. 2020. Meiosis reveals the early steps in the evolution of a neo-XY sex chromosome pair in the African pygmy mouse *Mus minutoides*. *PLoS Genetics* 16(11), pp. 1–27. doi: 10.1371/JOURNAL.PGEN.1008959.
- Govindappa, V. and Venkatachalaiah, G. 2005. Karyology of two species of Caecilians (Caeciliidae: Gymnophiona): Evolution through tandem fusion and sex chromosome dimorphism. *Caryologia* 58(2), pp. 140–151. doi: 10.1080/00087114.2005.10589444.
- Graves, J.A.M. 2006. Sex Chromosome Specialization and Degeneration in Mammals. *Cell* 124(5), pp. 901–914. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.024.
- Graves, J.A.M. 2014. Avian sex, sex chromosomes, and dosage compensation in the age of genomics. *Chromosome Research* 22(1), pp. 45–57. doi: 10.1007/s10577-014-9409-9.
- Graves, J.A.M. and Watson, J.M. 1991. Mammalian sex chromosomes: Evolution of organization and function. *Chromosoma* 101(2), pp. 63–68. doi: 10.1007/BF00357055.
- Grützner, F. et al. 2004. In the platypus a meiotic chain of ten sex chromosomes shares genes with the bird Z and mammal X chromosomes. *Nature* 432(7019), pp. 913–917. doi: 10.1038/nature03021.
- Hamilton, W.D. 1967. Extraordinary sex ratios. *Science* 156(3774), pp. 477–488. doi: 10.1126/science.156.3774.477.
- Harrington, R.W. 1961. Oviparous hermaphroditic fish with internal self-fertilization. *Science* 134(3492),

pp. 1749–1750. doi: 10.1126/science.134.3492.1749.

Hattori, R.S. et al. 2012. A Y-linked anti-Müllerian hormone duplication takes over a critical role in sex determination. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109(8), pp. 2955–2959. doi: 10.1073/pnas.1018392109.

Haussler, D. et al. 2009. Genome 10K: A proposal to obtain whole-genome sequence for 10000 vertebrate species. *Journal of Heredity* 100(6), pp. 659–674. doi: 10.1093/jhered/esp086.

Hillis, D.M. and Green, D.M. 1990. Evolutionary changes of heterogametic sex in the phylogenetic history of amphibians. *Journal of Evolutionary Biology* 3(1–2), pp. 49–64. doi: 10.1046/j.1420-9101.1990.3010049.x.

Holleley, C.E. et al. 2015. Sex reversal triggers the rapid transition from genetic to temperature-dependent sex. *Nature* 523(7558), pp. 79–82. doi: 10.1038/nature14574.

Holleley, C.E., Sarre, S.D., O’Meally, D. and Georges, A. 2016. Sex Reversal in Reptiles: Reproductive Oddity or Powerful Driver of Evolutionary Change? *Sexual Development* 10(5–6), pp. 279–287. doi: 10.1159/000450972.

Houde, A.E. 1992. Sex-linked heritability of a sexually selected character in a natural population of poecilia reticulata (Pisces: Poeciliidae) (guppies). *Heredity* 69(3), pp. 229–235. doi: 10.1038/hdy.1992.120.

Huey, R.B. and Janzen, F.J. 2008. Climate warming and environmental sex determination in tuatara: The last of the Sphenodontians? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 275(1648), pp. 2181–2183. doi: 10.1098/rspb.2008.0555.

IUCN 2021. Table 1a: Number of species evaluated in relation to the overall number of described species, and number of threatened species by major groups of organisms. *IUCN Red List Summary Statistics* (September), p. 1. Available at: <https://www.iucnredlist.org/resources/summary-statistics#SummaryTables>. (pristupljeno 02. 09. 2022.)

Iwata, E., Nagai, Y., Hyoudou, M. and Sasaki, H. 2008. Social environment and sex differentiation in the false clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris*. *Zoological Science* 25(2), pp. 123–128. doi: 10.2108/zsj.25.123.

Ji, Y., Stelly, D.M., De Donato, M., Goodman, M.M. and Williams, C.G. 1999. A candidate recombination modifier gene for *Zea mays* L. *Genetics* 151(2), pp. 821–830. doi: 10.1093/genetics/151.2.821.

Kamiya, T. et al. 2012. A trans-species missense SNP in *Amhr2* is associated with sex determination in the tiger Pufferfish, *Takifugu rubripes* (Fugu). *PLoS Genetics* 8(7). doi: 10.1371/journal.pgen.1002798.

Kaneko, H. et al. 2015. Gonadal soma-derived factor (*gsdf*), a TGF-beta superfamily gene, induces testis differentiation in the teleost fish *Oreochromis niloticus*. *Molecular and Cellular Endocrinology* 415, pp. 87–99. doi: 10.1016/j.mce.2015.08.008.

Kent, A.F. 1885. A Case of Abnormal Development of the Reproductive Organs of the Frog. *Journal of anatomy and physiology* 19(Pt 4), pp. 346.2-350. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17231594> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC1288491>.

Kettlewell, J.R., Raymond, C.S. and Zarkower, D. 2000. Temperature-dependent expression of turtle *Dmrt1* prior to sexual differentiation. *Genesis* 26(3), pp. 174–178. doi: 10.1002/(SICI)1526-968X(200003)26:3<174::AID-GENE2>3.0.CO;2-J.

- Kikuchi, K. and Hamaguchi, S. 2013. Novel sex-determining genes in fish and sex chromosome evolution. *Developmental Dynamics* 242(4), pp. 339–353. doi: 10.1002/dvdy.23927.
- Kingston, J.I., Rosenthal, G.G. and Ryan, M.J. 2003. The role of sexual selection in maintaining a colour polymorphism in the pygmy swordtail, *Xiphophorus pygmaeus*. *Animal Behaviour* 65(4), pp. 735–743. doi: 10.1006/anbe.2003.2110.
- Kocher, T.D. et al. 2022. New Sex Chromosomes in Lake Victoria Cichlid Fishes (Cichlidae: Haplochromini). *Genes* 13(5), p. 804. doi: 10.3390/genes13050804.
- Koopman, P., Gubbay, J., Vivian, N., Goodfellow, P. and Lovell-Badge, R. 1991. Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. *Nature* 351(6322), pp. 117–121. doi: 10.1038/351117a0.
- Kozielska, M., Pen, I., Beukeboom, L.W. and Weissing, F.J. 2006. Sex ratio selection and multi-factorial sex determination in the housefly: A dynamic model. *Journal of Evolutionary Biology* 19(3), pp. 879–888. doi: 10.1111/j.1420-9101.2005.01040.x.
- Kratochvíl, L. et al. 2021. Expanding the classical paradigm: What we have learnt from vertebrates about sex chromosome evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 376(1833). doi: 10.1098/rstb.2020.0097.
- Lahn, B.T. and Page, D.C. 1999. *Four Evolutionary Strata on the Human X Chromosome*. doi: 10.1126/science.286.5441.964.
- Lambert, M.R., Tran, T., Kilian, A., Ezaz, T. and Skelly, D.K. 2019. Molecular evidence for sex reversal in wild populations of green frogs (*Rana clamitans*). *PeerJ* 2019(2). doi: 10.7717/peerj.6449.
- Lambeth, L.S., Raymond, C.S., Roeszler, K.N., Kuroiwa, A., Nakata, T., Zarkower, D. and Smith, C.A. 2014. Over-expression of DMRT1 induces the male pathway in embryonic chicken gonads. *Developmental Biology* 389(2), pp. 160–172. doi: 10.1016/j.ydbio.2014.02.012.
- Lang, J.W. and Andrews, H. V. 1994. Temperature-dependent sex determination in crocodylians. *Journal of Experimental Zoology* 270(1), pp. 28–44. doi: 10.1002/jez.1402700105.
- Letunic, I. and Bork, P. 2021. Interactive tree of life (iTOL) v5: An online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research* 49(W1), pp. W293–W296. doi: 10.1093/nar/gkab301.
- Leutert, R. 1974. Zur Geschlechtsbestimmung Und Gametogenese Von *Bonellia Viridis* Rolando. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 32(1), pp. 169–193. doi: 10.1242/dev.32.1.169.
- Li, M. et al. 2015. A Tandem Duplicate of Anti-Müllerian Hormone with a Missense SNP on the Y Chromosome Is Essential for Male Sex Determination in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *PLoS Genetics* 11(11). doi: 10.1371/journal.pgen.1005678.
- Lubieniecki, K.P., Lin, S., Cabana, E.I., Li, J., Lai, Y.Y.Y. and Davidson, W.S. 2015. Genomic instability of the sex-determining locus in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *G3: Genes, Genomes, Genetics* 5(11), pp. 2513–2522. doi: 10.1534/g3.115.020115.
- Luzio, A., Coimbra, A.M., Benito, C., Fontainhas-Fernandes, A.A. and Matos, M. 2015. Screening and identification of potential sex-associated sequences in *Danio rerio*. *Molecular Reproduction and Development* 82(10), pp. 756–764. doi: 10.1002/mrd.22508.
- Ma, N.S.F., Renquist, D.M., Hall, R., Sehgal, P.K., Simeone, T. and Jones, T.C. 1980. XX/"XO" sex determination system in a population of peruvian owl monkey, *Aotus*. *Journal of Heredity* 71(5), pp. 336–342. doi: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a109382.
- Mank, J.E., Axelsson, E. and Ellegren, H. 2007. Fast-X on the Z: Rapid evolution of sex-linked genes in

- birds. *Genome Research* 17(5), pp. 618–624. doi: 10.1101/gr.6031907.
- Martis, M.M. et al. 2012. Selfish supernumerary chromosome reveals its origin as a mosaic of host genome and organellar sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109(33), pp. 13343–13346. doi: 10.1073/pnas.1204237109.
- Matsubara, K., Knopp, T., Sarre, S.D., Georges, A. and Ezaz, T. 2013. Karyotypic analysis and FISH mapping of microsatellite motifs reveal highly differentiated XX/XY sex chromosomes in the pink-tailed worm-lizard (*Aprasia parapulchella*, Pygopodidae, Squamata). *Molecular Cytogenetics* 6(1). doi: 10.1186/1755-8166-6-60.
- Matsuda, M. et al. 2007. DMY gene induces male development in genetically female (XX) medaka fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(10), pp. 3865–3870. doi: 10.1073/pnas.0611707104.
- Matsushita, Y., Oshima, Y. and Nakamura, M. 2007. Expression of DMRT genes in the gonads of *Rana rugosa* during sex determination. *Zoological Science* 24(1), pp. 95–99. doi: 10.2108/zsj.24.95.
- Mazzoleni, S. et al. 2020. Sex is determined by XX/XY sex chromosomes in Australasian side-necked turtles (Testudines: Chelidae). *Scientific Reports* 10(1). doi: 10.1038/s41598-020-61116-w.
- Meisel, R.P. 2020. Evolution of Sex Determination and Sex Chromosomes: A Novel Alternative Paradigm. *BioEssays* 42(9), pp. 1–11. doi: 10.1002/bies.201900212.
- Melamed, E. and Arnold, A.P. 2007. Regional differences in dosage compensation on the chicken Z chromosome. *Genome Biology* 8(9). doi: 10.1186/gb-2007-8-9-r202.
- Miura, I. 2018. Sex determination and sex chromosomes in Amphibia. *Sexual Development* 11(5–6), pp. 298–306. doi: 10.1159/000485270.
- Moreira-Filho, O., Bertollo, L.A.C. and Galetti, P.M. 1993. Distribution of sex chromosome mechanisms in neotropical fish and description of a zz/zw system in *parodon hilarii* (parodontidae). *Caryologia* 46(2–3), pp. 115–125. doi: 10.1080/00087114.1993.10797253.
- Myosho, T. et al. 2012. Tracing the emergence of a novel sex-determining gene in medaka, *Oryzias luzonensis*. *Genetics* 191(1), pp. 163–170. doi: 10.1534/genetics.111.137497.
- Nanda, I. et al. 1999. 300 million years of conserved synteny between chicken Z and human chromosome 9 [2]. *Nature Genetics* 21(3), pp. 258–259. doi: 10.1038/6769.
- Nanda, I., Schlegelmilch, K., Haaf, T., Schartl, M. and Schmid, M. 2008. Synteny conservation of the Z chromosome in 14 avian species (11 families) supports a role for Z dosage in avian sex determination. *Cytogenetic and Genome Research* 122(2), pp. 150–156. doi: 10.1159/000163092.
- Navarro-Martín, L., Blázquez, M., Viñas, J., Joly, S. and Piferrer, F. 2009. Balancing the effects of rearing at low temperature during early development on sex ratios, growth and maturation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): limitations and opportunities for the production of highly female-biased stocks. *Aquaculture* 296(3–4), pp. 347–358. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.07.022>.
- Nielsen, S. V., Pinto, B.J., Guzmán-Méndez, I.A. and Gamble, T. 2020. First report of sex chromosomes in night lizards (Scincoidea: Xantusiidae). *Journal of Heredity* 111(3), pp. 307–313. doi: 10.1093/JHERED/ESAA007.
- Organ, C.L. and Janes, D.E. 2008. Evolution of sex chromosomes in Sauropsida. *Integrative and Comparative Biology* 48(4), pp. 512–519. doi: 10.1093/icb/icn041.

- Ospina-Álvarez, N. and Piferrer, F. 2008. Temperature-dependent sex determination in fish revisited: Prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. *PLoS ONE* 3(7). doi: 10.1371/journal.pone.0002837.
- Otake, T. and Kuroiwa, A. 2016. Molecular mechanism of male differentiation is conserved in the SRY-absent mammal, *Tokudaia osimensis*. *Scientific Reports* 6. doi: 10.1038/srep32874.
- Pala, I., Naurin, S., Stervander, M., Hasselquist, D., Bensch, S. and Hansson, B. 2012. Evidence of a neo-sex chromosome in birds. *Heredity* 108(3), pp. 264–272. doi: 10.1038/hdy.2011.70.
- Palmer, D.H., Rogers, T.F., Dean, R. and Wright, A.E. 2019. How to identify sex chromosomes and their turnover. *Molecular Ecology* 28(21), pp. 4709–4724. doi: 10.1111/mec.15245.
- Pan, Q., Kay, T., Depincé, A., Adolphi, M., Scharf, M., Guiguen, Y. and Herpin, A. 2021. Evolution of master sex determiners: TGF- β signalling pathways at regulatory crossroads. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 376(1832). doi: 10.1098/rstb.2020.0091.
- Pask, A.J., Behringer, R.R. and Renfree, M.B. 2003. Expression of DMRT1 in the mammalian ovary and testis - From marsupials to mice. *Cytogenetic and Genome Research* 101(3–4), pp. 229–236. doi: 10.1159/000074342.
- Pavlica, M. 2022. *Mrežni udžbenik iz genetike*. Available at: <https://www.genetika.biol.pmf.hr/rjecnik/>. (pristupljeno 25. 07. 2022.)
- Pennell, M.W., Mank, J.E. and Peichel, C.L. 2018. Transitions in sex determination and sex chromosomes across vertebrate species. *Molecular Ecology* 27(19), pp. 3950–3963. doi: 10.1111/mec.14540.
- Perrin, N. 2009. Sex reversal: A fountain of youth for sex chromosomes? *Evolution* 63(12), pp. 3043–3049. doi: 10.1111/j.1558-5646.2009.00837.x.
- Perrin, N. 2021. Sex-chromosome evolution in frogs: What role for sex-antagonistic genes? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 376(1832). doi: 10.1098/rstb.2020.0094.
- Piferrer, F., Ribas, L. and Díaz, N. 2012. Genomic Approaches to Study Genetic and Environmental Influences on Fish Sex Determination and Differentiation. *Marine Biotechnology* 14(5), pp. 591–604. doi: 10.1007/s10126-012-9445-4.
- Pokorná, M. et al. 2011. Strong conservation of the bird Z chromosome in reptilian genomes is revealed by comparative painting despite 275 million years divergence. *Chromosoma* 120(5), pp. 455–468. doi: 10.1007/s00412-011-0322-0.
- Press, C. and Society, T.A. 2016. Effects of Incubation Temperature on Sex Ratios in Pine Snakes : Differential Vulnerability of Males and Females Author (s): Joanna Burger and R . T . Zappalorti Source : The American Naturalist , Vol . 132 , No . 4 (Oct . , 1988), pp . 492-505 Publish. 132(4), pp. 492–505.
- Prior, H.M. and Walter, M.A. 1996. Sox genes: Architects of development. *Molecular Medicine* 2(4), pp. 405–412. doi: 10.1007/bf03401900.
- Raymond, C.S., Kettlewell, J.R., Hirsch, B., Bardwell, V.J. and Zarkower, D. 1999. Expression of *Dmrt1* in the genital ridge of mouse and chicken embryos suggests a role in vertebrate sexual development. *Developmental Biology* 215(2), pp. 208–220. doi: 10.1006/dbio.1999.9461.
- Rhen, T. and Schroeder, A. 2010. Molecular mechanisms of sex determination in reptiles. *Sexual Development* 4(1–2), pp. 16–28. doi: 10.1159/000282495.

- Rice, W.R. 1984. SEX CHROMOSOMES AND THE EVOLUTION OF SEXUAL DIMORPHISM. *Evolution* 38(4), pp. 735–742.
- Rice, W.R. 1986. On the Instability of Polygenic Sex Determination: The Effect of Sex- Specific Selection. *Evolution* 40(3), p. 633. doi: 10.2307/2408584.
- Rice, W.R. 1987a. Genetic hitchhiking and the evolution of reduced genetic activity of the Y sex chromosome. *Genetics* 116(1), pp. 161–167. doi: 10.1093/genetics/116.1.161.
- Rice, W.R. 1987b. The Accumulation of Sexually Antagonistic Genes as a Selective Agent Promoting the Evolution of Reduced Recombination between Primitive Sex Chromosomes. *Evolution* 41(4), p. 911. doi: 10.2307/2408899.
- Rice, W.R. 1992. Sexually antagonistic genes: Experimental evidence. *Science* 256(5062), pp. 1436–1439. doi: 10.1126/science.1604317.
- Rice, W.R. 1994. Degeneration of a nonrecombining chromosome. *Science* 263(5144), pp. 230–232. doi: 10.1126/science.8284674.
- Ross, J.A., Urton, J.R., Boland, J., Shapiro, M.D. and Peichel, C.L. 2009. Turnover of sex chromosomes in the stickleback fishes (Gasterosteidae). *PLoS Genetics* 5(2). doi: 10.1371/journal.pgen.1000391.
- Rovatsos, M., Altmanová, M., Augstenová, B., Mazzoleni, S., Velenský, P. and Kratochvíl, L. 2019. ZZ/ZW sex determination with multiple neo-sex chromosomes is common in madagascan chameleons of the genus *Furcifer* (Reptilia: Chamaeleonidae). *Genes* 10(12). doi: 10.3390/genes10121020.
- Ruiz-García, A., Roco, Á.S. and Bullejos, M. 2021. Sex Differentiation in Amphibians: Effect of Temperature and Its Influence on Sex Reversal. *Sexual Development* 15(1), pp. 157–167. doi: 10.1159/000515220.
- Rutkowska, J., Lagisz, M. and Nakagawa, S. 2012. The long and the short of avian W chromosomes: No evidence for gradual W shortening. *Biology Letters* 8(4), pp. 636–638. doi: 10.1098/rsbl.2012.0083.
- Sarre, S.D., Georges, A. and Quinn, A. 2004. The ends of a continuum: Genetic and temperature-dependent sex determination in reptiles. *BioEssays* 26(6), pp. 639–645. doi: 10.1002/bies.20050.
- Saunders, P.A., Neuenschwander, S. and Perrin, N. 2018. Sex chromosome turnovers and genetic drift: a simulation study. *Journal of Evolutionary Biology* 31(9), pp. 1413–1419. doi: 10.1111/jeb.13336.
- Saunders, P.A. and Veyrunes, F. 2021. Unusual mammalian sex determination systems: A cabinet of curiosities. *Genes* 12(11). doi: 10.3390/genes12111770.
- Schartl, M., Schmid, M. and Nanda, I. 2016. Dynamics of vertebrate sex chromosome evolution: from equal size to giants and dwarfs. *Chromosoma* 125(3), pp. 553–571. Available at: <http://dx.doi.org/10.1007/s00412-015-0569-y>.
- Sember, A., Nguyen, P., Perez, M.F., Altmanová, M., Ráb, P. and Cioffi, M.D.B. 2021. Multiple sex chromosomes in teleost fishes from a cytogenetic perspective: State of the art and future challenges. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 376(1833). doi: 10.1098/rstb.2020.0098.
- Ser, J.R., Roberts, R.B. and Kocher, T.D. 2010. Multiple interacting loci control sex determination in Lake Malawi cichlid fish. *Evolution* 64(2), pp. 486–501. doi: 10.1111/j.1558-5646.2009.00871.x.
- Seto, T. and Nussbaum, R.A. 1976. Mitotic and meiotic chromosomes of *ichthyophis orthoplicatus taylor* (Amphibia: Gymnophiona). *Caryologia* 29(3), pp. 317–331. doi: 10.1080/00087114.1976.10796671.

- Shang, E.H.H., Yu, R.M.K. and Wu, R.S.S. 2006. Hypoxia affects sex differentiation and development leading to a male-dominated population in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Science and Technology* 40(9), pp. 3118–3122. doi: 10.1021/es0522579.
- Shevchenko, A.I., Dementyeva, E. V., Zakharova, I.S. and Zakian, S.M. 2019. Diverse developmental strategies of x chromosome dosage compensation in eutherian mammals. *International Journal of Developmental Biology* 63(3–5), pp. 223–233. doi: 10.1387/ijdb.180376as.
- Shine, R., Warner, D.A. and Radder, R. 2007. WINDOWS OF EMBRYONIC SEXUAL LABILITY IN TWO LIZARD SPECIES WITH ENVIRONMENTAL SEX DETERMINATION. *Ecology* 88(7), pp. 1781–1788. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1890/06-2024.1>.
- Sigeman, H. et al. 2021. Avian Neo-Sex Chromosomes Reveal Dynamics of Recombination Suppression and W Degeneration. *Molecular Biology and Evolution* 38(12), pp. 5275–5291. doi: 10.1093/molbev/msab277.
- Smith, C.A., Roeszler, K.N., Ohnesorg, T., Cummins, D.M., Farlie, P.G., Doran, T.J. and Sinclair, A.H. 2009. The avian Z-linked gene DMRT1 is required for male sex determination in the chicken. *Nature* 461(7261), pp. 267–271. doi: 10.1038/nature08298.
- Smith, N.D. 1983. Plato and Aristotle on the Nature of Women. *Journal of the History of Philosophy* 21(4), pp. 467–478. doi: doi:10.1353/hph.1983.0090.
- Song, W. et al. 2021. A duplicated amh is the master sex-determining gene for *Sebastes* rockfish in the Northwest Pacific. *Open Biology* 11(7). doi: 10.1098/rsob.210063.
- Spotila, L.D., Spotila, J.R. and Hall, S.E. 1998. Sequence and expression analysis of WT1 and Sox9 in the red-eared slider turtle, *Trachemys scripta*. *Journal of Experimental Zoology* 281(5), pp. 417–427. doi: 10.1002/(SICI)1097-010X(19980801)281:5<417::AID-JEZ7>3.0.CO;2-R.
- Steinemann, S. and Steinemann, M. 2005. Y chromosomes: Born to be destroyed. *BioEssays* 27(10), pp. 1076–1083. doi: 10.1002/bies.20288.
- Stevens, N.M. 1905. Studies in Spermatogenesis...: With especial reference to the " accessory chromosome". *Carnegie Institution of Washington* 36
- Stöck, M. et al. 2021. A brief review of vertebrate sex evolution with a pledge for integrative research: Towards “sexomics.” *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 376(1832). doi: 10.1098/rstb.2020.0426.
- Štros, M., Launholt, D. and Grasser, K.D. 2007. The HMG-box: A versatile protein domain occurring in a wide variety of DNA-binding proteins. *Cellular and Molecular Life Sciences* 64(19–20), pp. 2590–2606. doi: 10.1007/s00018-007-7162-3.
- Sunobe, T. and Nakazono, A. 1993. Sex Change in Both Directions by Alteration of Social Dominance in *Trimma okinawae* (Pisces: Gobiidae). *Ethology* 94(4), pp. 339–345. doi: 10.1111/j.1439-0310.1993.tb00450.x.
- Takehana, Y. et al. 2014. Co-option of Sox3 as the male-determining factor on the y chromosome in the fish *Oryzias dancena*. *Nature Communications* 5. doi: 10.1038/ncomms5157.
- Takehana, Y., Naruse, K., Hamaguchi, S. and Sakaizumi, M. 2007. Evolution of ZZ/ZW and XX/XY sex-determination systems in the closely related medaka species, *Oryzias hubbsi* and *O. dancena*. *Chromosoma* 116(5), pp. 463–470. doi: 10.1007/s00412-007-0110-z.
- Thépot, D. 2021. Sex chromosomes and master sex-determining genes in turtles and other reptiles. *Genes*

12(11). doi: 10.3390/genes12111822.

Thorgaard, G.H. 1977. Heteromorphic sex chromosomes in male rainbow trout. *Science* 196(4292), pp. 900–902. doi: 10.1126/science.860122.

Tidwell, J.H. and Allan, G.L. 2001. Fish as food: Aquaculture's contribution. Ecological and economic impacts and contributions of fish farming and capture fisheries. *EMBO Reports* 2(11), pp. 958–963. doi: 10.1093/embo-reports/kve236.

Van Doorn, G.S. and Kirkpatrick, M. 2007. Turnover of sex chromosomes induced by sexual conflict. *Nature* 449(7164), pp. 909–912. doi: 10.1038/nature06178.

Veyrunes, F. et al. 2008. Bird-like sex chromosomes of platypus imply recent origin of mammal sex chromosomes. *Genome Research* 18(6), pp. 965–973. doi: 10.1101/gr.7101908.

Vicoso, B. 2019. Molecular and evolutionary dynamics of animal sex-chromosome turnover. *Nature Ecology and Evolution* 3(12), pp. 1632–1641. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/s41559-019-1050-8>.

Vicoso, B., Kaiser, V.B. and Bachtrog, D. 2013. Sex-biased gene expression at homomorphic sex chromosomes in emus and its implication for sex chromosome evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(16), pp. 6453–6458. doi: 10.1073/pnas.1217027110.

Wallace, H. and Wallace, B.M.N. 2000. Sex reversal of the newt *Triturus cristatus* reared at extreme temperatures. *International Journal of Developmental Biology* 44(7), pp. 807–810.

Wang, F., Yu, Y., Ji, D. and Li, H. 2012. The DMRT gene family in amphioxus. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 30(2), pp. 191–200. doi: 10.1080/07391102.2012.677770.

Wang, Z. et al. 2022. Phylogeny and sex chromosome evolution of Palaeognathae. *Journal of Genetics and Genomics* 49(2), pp. 109–119. doi: 10.1016/j.jgg.2021.06.013.

Wedekind, C. 2010. Searching for sex-reversals to explain population demography and the evolution of sex chromosomes. *Molecular Ecology* 19(9), pp. 1760–1762. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04608.x.

Woodward, D.E. and Murray, J.D. 1993. On the effect of temperature-dependent sex determination on sex ratio and survivorship in crocodylians. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 252(1334), pp. 149–155. doi: 10.1098/rspb.1993.0059.

Wu, G.C., Chiu, P.C., Lyu, Y.S. and Chang, C.F. 2010. The expression of *amh* and *amhr2* is associated with the development of gonadal tissue and sex change in the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*. *Biology of Reproduction* 83(3), pp. 443–453. doi: 10.1095/biolreprod.110.084681.

Xu, L., Wa Sin, S.Y., Grayson, P., Edwards, S. V., Sackton, T.B. and Mank, J. 2019. Evolutionary Dynamics of Sex Chromosomes of Paleognathous Birds. *Genome Biology and Evolution* 11(8), pp. 2376–2390. doi: 10.1093/gbe/evz154.

Yano, A. et al. 2012. An immune-related gene evolved into the master sex-determining gene in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Current Biology* 22(15), pp. 1423–1428. doi: 10.1016/j.cub.2012.05.045.

Yazdi, H.P. and Ellegren, H. 2014. Old but Not (So) degenerated-slow evolution of largely homomorphic sex chromosomes in ratites. *Molecular Biology and Evolution* 31(6), pp. 1444–1453. doi: 10.1093/molbev/msu101.

Yntema, C.L. and Mrosovsky, N. 1982. Critical periods and pivotal temperatures for sexual differentiation in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Canadian Journal of Zoology* 60(5), pp. 1012–1016. doi: 10.1139/z82-141.

Yoshimoto, S. et al. 2008. A W-linked DM-domain gene, DM-W, participates in primary ovary development in *Xenopus laevis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(7), pp. 2469–2474. doi: 10.1073/pnas.0712244105.

Yoshimoto, S., Ikeda, N., Izutsu, Y., Shiba, T., Takamatsu, N. and Ito, M. 2010. Opposite roles of DMRT1 and its W-linked paralogue, DM-W, in sexual dimorphism of *Xenopus laevis*: Implications of a ZZ/ZW-type sex-determining system. *Development* 137(15), pp. 2519–2526. doi: 10.1242/dev.048751.

Zafar, I., Rather, M.A. and Dhandare, B.C. 2019. Genome-Wide identification of doublesex and Mab-3-Related transcription factor (DMRT) genes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Biotechnology Reports* 24. doi: 10.1016/j.btre.2019.e00398.

Zhou, Q. et al. 2008. Neo-sex chromosomes in the black muntjac recapitulate incipient evolution of mammalian sex chromosomes. *Genome Biology* 9(6). doi: 10.1186/gb-2008-9-6-r98.

Zhou, Y., Sun, W., Cai, H., Bao, H., Zhang, Y., Qian, G. and Ge, C. 2019. The role of anti-Müllerian hormone in testis differentiation reveals the significance of the TGF- β pathway in reptilian sex determination. *Genetics* 213(4), pp. 1317–1327. doi: 10.1534/genetics.119.302527.