

TARTU ÜLIKOOL
ÖKOLOOGIA JA MAATEADUSTE INSTITUUT
ZOOLOOGIA OSAKOND
LOOMAÖKOLOOGIA ÕPPETOOL

Mart Kiis

**Epigeneetilised muutused kujundavad seoseid lindude genotüüpide ja
käitumistunnuste vahel**

Bakalaureusetöö

Juhendaja: Killu Timm, MSc

TARTU 2017

Infoleht

Epigeneetika on teadus, mis uurib rakutuumast sõltuvat pärilikkust, mis ei ole tingitud muutustest DNA-järjestuses. Epigeneetilised muutused on abiks käitumisteadustes mitmete käitumistunnuste (uuriv käitumine, agressiivsus, seksuaalkäitumine jne) seletamisel. Näiteks on epigeneetikat rakendatud nii inimese, imetajate kui lindude käitumise uurimisel. Käesoleva töö eesmärk on luua ülevaade teadustöödest, mis on tehtud lindude käitumise ja epigeneetiliste mehhanismide vaheliste seoste kohta, ning hinnata, kas epigeneetilised muutused linnu arengus mõjutavad seoseid isendi genotüübi ja käitumistunnuste vahel.

Uurimistöö tulemusena leiti, et lindudel on seni tehtud uuringutes vaadeldud DNA-metülatiooni ning RNA interferentsi ja käitumise vahelisi seoseid ning on kindlaks tehtud, et vastavad mehhanismid tõepoolest kujundavad lindude käitumist. Samuti on põhjalikult vaadeldud teatud keskkonnatingimuste mõju isendite käitumisele, kuid seni veel puuduvad histoonide modifikatsioone ja lindude käitumist käsitlevad teadustööd. Kuna nii epigeneetilised mehhanismid kui keskkonnategurid kujundavad lindude käitumist, on selge, et ainult geenipõhised uuringud ei suuda kõiki tegureid käitumise seletamisel arvesse võtta ning epigeneetiliste mehhanismide ja käitumise seoste uurimine tulevikus on oluline.

Epigenetics is a part of heredity dependent on the cell nucleus but not on changes in the DNA sequence. Epigenetic mechanisms are used to explain several behavioural characteristics in behavioural sciences such as novelty-seeking, sexual, and aggressive behaviours. Epigenetic studies have been conducted in humans, mammals, and birds to study behaviour. The aim of this paper is to give an overview of studies looking at connections between behaviour in birds and epigenetic mechanisms and to show that epigenetic changes in bird development impact connections between the genotype and behavioural characteristics of an individual.

The studies in birds so far have looked at DNA methylation and RNA interference and their connection to behaviour and it has been found that these mechanisms have an impact on behaviour in birds. In addition, the environmental factors' impact on behaviour in birds has been thoroughly observed but there is a lack of research describing histone modifications and bird behaviour. Because both epigenetic mechanisms and environmental factors shape bird behaviour, studies solely looking at genetics might not factor in all the variables in describing behaviour and thus it is important in the future to take into account the connections between epigenetic mechanisms and behaviour.

Sisukord

Lühendid.....	4
1. Sissejuhatus	5
2. Epigeneetiliste mehhanismide olemus	8
2.1 DNA metülatsioon.....	8
2.2 Histonide modifikatsioon	8
2.3 RNA interferents	9
3. Ülevaade teaduse hetkeseisust.....	10
3.1 Epigeneetika ja käitumise uuringud laiemalt	10
3.1.1 Mesilased	10
3.1.2 Rotid	11
3.1.3 Inimene	11
3.2 Epigeneetika, linnud ja käitumine	12
3.2.1 Linnud mudelorganismidena	12
3.2.2 DNA metülatsioon ja lindude käitumine	14
3.2.3 Histonide modifikatsioonid ja lindude käitumine.....	15
3.2.4 RNA interferents ja lindude käitumine.....	17
3.2.5 Emamõju ja keskkonnamõju ning lindude käitumine	18
4. Arutelu	20
4.1 Epigeneetilised uuringud lindudel	20
4.2 Epigeneetilised tegurid ja lindude käitumine	20
4.3 Keskkonnategurid ja epigeneetika.....	21
4.4 Uuringud laboris ja looduslikus populatsioonis	23
4.5 Areng	24
4.6 Tulevikuperspektiiv	24
Kokkuvõte	25
Summary.....	26
Tänuavaldused	27
Kasutatud kirjandus	28

Lühendid

1. C5-metüülsütosiin – 5mC
2. Koht DNA järjestuses, kus on kõrvuti tsütosiin-fosfaat-guaaniin – CpG-saar
3. Informatsiooni-RNA – mRNA
4. RNA-ga seotud vaigistamine – RNA interferents ehk RNAi
5. Väike interfereeriv RNA – siRNA
6. Dopamiini retseptori D4 geen – DRD4 geen
7. Serotoniini transporteri geen – SERT geen
8. Tserebraalne neurotroofne faktor – BDNF

1. Sissejuhatus

Epigeneetilised muutused toimuvad, nagu ka eesliide „epi-“ näitab, geenide pinnal, mitte geenide sisemuses, ehk muutus ei toimu DNA-järjestuses. Epigeneetiliste mehhanismide alla kuuluvad DNA metülatsioon, histoonide modifitseerimine, RNA-ga seonduv vaigistamine (RNA interferents, RNAi) ja kaudselt ka ema- ning keskkonnamõjud. Üldjoontes on epigeneetika kõikide selliste mehhanismide kogum, mis on vajalik arengus olulise geneetilise programmi lahti pakkimiseks (Holliday, 2006). Nende mehhanismide tulem on sama genotüübiga isenditel esinev erinev fenotüüp (Haig, 2004). Epigeneetika on tänapäeval kiiresti arenev valdkond ning teadusmaailmas olulisel kohal. Eriti tähtis roll on epigeneetikal meditsiinis: selle kaudu püütakse leida lahendusi seni vastuseta küsimustele seoses näiteks vähi, vananemise ja tüvirakkudega. Tänapäeval on juba teada epigeneetiliste tegurite mõju hingamis-, südameveresoonkonna-, autoimmuun-, reproduktiiv- ning närvisüsteemi haigustele (Weinhold, 2006).

Epigeneetikal kui teadusel on valdkonniti erinevad tähendused. Ühest vaatenurgast on see teadus epigeneesist ehk kuidas arengu käigus kujuneb genotüübist välja fenotüüp. Teisest küljest, mis on käesolevas bakalaureusetöös vaatluse all, kirjeldab epigeneetika pärilikkust, kuid mitte nii, nagu teame seda klassikalises tähenduses (Bird, 2007). Käsitleva vaatenurga järgi on epigeneetika teadus muutustest geenide avaldumises, mis ilmnevad diferentseerunud rakkudega organismides, ja olemasolevate geenide avaldumise mustrite mitootilisest pärandumisest (Holliday, 2006). Järgmises peatükis on toodud detailsem kirjeldus olulisematest epigeneetilistest mehhanismidest.

Epigeneetika on tähtsal kohal ka käitumisteadustes erinevate käitumismustrite seletamisel. Näiteks stress võib erinevates eluetappides epigeneetiliste mehhanismide kaudu geenide avaldumist mõjutada ning see võib omakorda põhjustada käitumiserinevusi ning suurendada vastuvõtlikkust stressile (Jensen, 2014). Stress on loomade käitumise seisukohalt väga oluline mõjutegur ning on sageli abiks uute elutingimustega kohanemisel. Näiteks katsetes kanadega (*Gallus Gallus* ning *Gallus gallus domesticus*) leiti, et epigeneetilised muutused ajus võivad põhjustada käitumuslikke erinevusi (Lindqvist et al., 2007). Tõestusi, et keskkonnast tingitud epigeneetilised muutused põhjustavad erinevust käitumises, on leitud ka mitmetes katsetes rottidega (*Rattus norvegicus f. domesticus*) (Ledón-Rettig et al., 2013). Näiteks emased rotid, kes elasid kiiresti muutuv keskkonnas, õppisid kiiremini veelabürinti läbima kui rotid, kelle keskkond oli stabiilne. Ka nende

edukate rottide järglased olid sama ülesande täitmisel edukamad, kuigi nad ei olnud kunagi ise neid keskkonnamuutusi läbi elanud. On tõenäoline, et selliste tulemuste taga on päranduvad epigeneetilised mehhanismid (Arai & Feig, 2011). Lisaks on olemas veel mitmeid loomkatsetel põhinevaid süsteeme, mis on käitumise ja epigeneetika seoste uurimise seisukohalt väga lubavad (Ledón-Rettig et al., 2013). Üheks selliseks on meemesilased (*Apis mellifera*) (Kucharski et al., 2008). Lindudest on sobiv mudelorganism rasvatihane (*Parus major*), kellel on uuritud epigeneetika ja isikuomaduste vahelist seost (Carere et al., 2005). Põhjalikum ülevaade loomadel ja inimesel tehtud uuringutest on välja toodud peatükis 3.

Oluline on mõista keskkonnatingimuste rolli epigeneetiliste mehhanismide käsitlemisel. Teadmine, kuidas epigeneetiliselt reguleeritud geenide avaldumine on tingitud erinevatest keskkonnateguritest, võiks aidata paremini seletada loomade kohasust ja kohastumusi, kuna sama geneetiline materjal võib sõltuvalt keskkonnatingimustest avaldada erinevat mõju ning põhjustada fenotüüpide varieerumist (Frésard et al., 2013). Keskkonnaepigeneetika on suund, mis uurib, kuidas mõjutavad erinevad keskkonnategurid nagu stress, toksiinid ja toitumus varajases arengufaasis geenide avaldumist ning seeläbi tunnuste arenemist täiskasvanud organismil (Feil & Fraga, 2012). Keskkonnal võib olla täiskasvanud isendi fenotüübi kujunemisel väga oluline roll, eriti kui varajases eluetapis avaldavad mõju määrava tähtsusega keskkonnategurid (Frésard et al., 2013).

Vaatamata asjaolule, et epigeneetika võib inimese haiguste uurimisel ning loomade käitumise kujundamisel omada ulatuslikku mõju, on investeeringud sellesse valdkonda geneetikaga võrreldes veel väga väikesed (Weinhold, 2006). Seda kinnitab ka asjaolu, et epigeneetika uuringud on geneetikaga võrreldes teaduslikes andmebaasides alaesindatud. Näiteks andmebaasis *Web of Science* (www.webofknowledge.com) on päringul saadavate artiklite arv geneetikauuringute puhul kümme korda suurem epigeneetika päringul saadavast. Selline tööde mahu erinevus näitab, et epigeneetika uurimine ja põhjalikum käsitlemine on oluline. Kui kitsendada otsingut lindudele, on tulemuste erinevus veelgi suurem.

Antud töö eesmärk on luua ülevaade seni lindudel tehtud teadusuuringutest epigeneetika vallas. Varasemad uuringud annavad põhjust eeldada, et epigeneetilised muutused arengus võiksid mõjutada seoseid lindude genotüüpide ja käitumistunnuste vahel ning et

epigeneetilised tegurid kujundavad lindude käitumist. Lisaks vaadeldakse lindude arengu käigus olulisi keskkonnast tulenevaid tegureid, mille tagajärjel tekivad epigeneetilised muutused. Vaid geenipõhised uuringud ei pruugi kõiki mõjusid indiviidi käitumisele arvesse võtta ja seetõttu on oluline mõista erinevaid käitumist kujundavaid mehhanisme.

2. Epigeneetiliste mehhanismide olemus

Peamised ja enim uuritud epigeneetilised mehhanismid on DNA metülatsioon, histoonide modifitseerimine (mõlemad seotud kromatiini struktuuriga), RNA-ga seonduv vaigistamine ehk RNA interferents ja ema- ning keskkonnamõjud (Holliday, 2006). Viimased ei kuulu olemuselt otseselt epigeneetiliste mehhanismide hulka, kuid on nendega siiski üsna tugevalt seotud. Erinevus on see, et nende mõjude efekt väljendub eespool nimetatud mehhanismide kaudu, mis siis rakendudes isendite fenotüüpi kujundavad. Emamõju on ema geno- ja fenotüübi põhjuslik mõju tema järglase fenotüübile, mille eesmärk on kujundada järglasele parem kohasus tema potentsiaalsesse elukeskkonda (Wolf & Wade, 2009). Alljärgnevalt on kirjeldatud peamisi epigeneetilisi mehhanisme, mis võiksid käitumist mõjutada.

2.1 DNA metülatsioon

DNA metülatsioon on põhiline epigeneetiline mehhanism, mis reguleerib kõrgemates eukarüootides mitmeid bioloogilisi funktsioone (Elhamamsy, 2016). Mehhanismis on olulisim metüleeritud DNA alus C5-metüültsütosiin (5mC), kuid on leitud ka teisi metüleeritud aluseid nagu N6-metüüladeniin ning N4-5mC. DNA metülatsioon on kontrollitud protsess, mille käigus lisatakse tavaliselt 5. positsioonis olevale tsütosiinile metüülrühm. Protsessi katalüüsib ensüüm 5-metüültransferaas ning see esineb nii mitoootilises kui meiootilises päritavas metüleerimismustris (Elhamamsy, 2016).

Seega on enim metüleeritud DNA-alus eukarüootses rakus tsütosiin. 5mC on aga sagedasim tekkiv epigeneetiline DNA-teisend. Kuna metüleerimine on enamasti seotud tsütosiiniga, toimub protsess tsütosiinirikastes genoomi piirkondades, mida nimetatakse CpG-saarteks (Elhamamsy, 2016). Metülatsiooni tagajärjel toimub CpG-saartes geenide vaigistamine (Elhamamsy, 2016), mis tähendab, et geeni avaldumine on transkriptsiooni või translatsiooni tasandil takistatud (Turker, 2002).

2.2 Histoonide modifikatsioon

Histoonide modifitseerimine on DNA metülatsiooni kõrval teine kromatiini struktuuriga seotud epigeneetiline mehhanism. Eukarüootides on DNA pakitud rakutuumas kromatiinina. Kromatiin koosneb histoonvalkude oktameerist ja selle ümber keerdunud DNA-st, olles struktureeritud kahte eri vormi ning koosnedes (transkriptsiooni seisukohast) vaigistatud heterokromatiinist ning aktiivsest eukromatiinist. Heterokromatiin sisaldab palju korduvaid järjestusi ning vähe kodeerivaid järjestusi ehk gene. Vastupidiselt

heterokromatiinile sisaldab eukromatiin aga suuremat osa geene ning on transkriptsiooniliselt aktiivne. Histonvalkude modifitseerimine võib toimuda arginiini metüleerimise, lüsiini metüleerimise ja atsetüleerimise ning ka seriini ja treoniini fosforüleerimise kaudu. Neist olulisimad on lüsiini atsetüleerimine ning metüleerimine. Eukromatiini plastilisus hoiab DNA-d avatuna bioloogilisele aktiivsusele, võimaldades geene transkriptsiooni käigus sisse ja välja lülitada (Kim et al., 2009).

2.3 RNA interferents

Kolmas põhiline epigeneetiline mehhanism on RNA-ga seotud vaigistamine (RNA interferents), mida alles hiljuti tunti veel kosupressiooni ja posttranslatsioonilise vaigistamise nime all. RNAi meetod on väga noor, eriti just 21. sajandil on selle uurimises toimunud suur areng ning praegu on RNAi abil geenide funktsioonide uurimine juba tavaline laboratoorne meetod (Djupedal & Ekwall, 2009). RNAi on epigeneetiline protsess, kus toimub informatsiooni-RNA (mRNA) inhibeerimine, mis takistab sellelt valgu translatsiooni. RNA interferentsi olulisim toime on geeniekspresiooni mõjutamine mRNA vaigistamise kaudu, mistõttu muutub valkude transleerimise muster (Saurabh et al., 2014). Protsessi vahendavad kahte tüüpi väikesed RNA-molekulid: mikroRNA (miRNA) ning väike interfereeriv RNA (siRNA). Need kaks väikest mittekodeerivat RNA-d on tekkinud kaheaheelalise RNA lõikamise tulemusena (Saurabh et al., 2014) Seda lõikamist viib läbi üks RNA interferentsi mehhanismi olulisimaid komponente – ribonukleasne ensüüm nimega DICER, mis lõikab pika kaheaheelalise RNA umbes kahekümne nukleotiidi pikkusteks osadeks, millest moodustuvad siRNA-d (Colmenares et al., 2007). Iga väike siRNA molekul keeratakse lahti kaheks üheaheelaliseks RNA-ks. Nendest omakorda üks lagundatakse ning teine moodustab RNA-indutseeritud geenivaigistamiskompleksi (RISC-kompleks, inglise keeles *RNA-induced gene silencing complex*), mis vastutabki RNAi toimimise eest (Filipowicz et al., 2008).

3. Ülevaade teaduse hetkeseisust

3.1 Epigeneetika ja käitumise uuringud laiemalt

Käesolevas töös mõistetakse loomade käitumise all kõiki jälgitavaid protsesse, millega loom vastab oma keha stabiilse sisekeskkonna või mingite väliskeskkonna tegurite muutustele (Barnard, 2004). Oluline on see, et õppimisvõime, õppimise ajastamine ning selle järjepidevus on lisaks keskkonnale mõjutatud genotüübi ja varasemate kogemuste poolt (Pearce, 2013). Sellest lähtuvalt on põhjust arvata, et käitumise mitmekesisuse taga on vähemalt osaliselt ka geneetiline varieeruvus (Jensen, 2006) ning seega eeldada, et epigeneetilised mehhanismid võivad geeniekspressiooni reguleerimise ja muutmise kaudu käitumisele mõju avaldada (Jablonka & Raz, 2009).

Nagu ka sissejuhatuses toodud näidetest selgub, on epigeneetilisi mehhanisme ning nende seoseid käitumisega uuritud väga erinevatel organismidel. Peamiselt on tehtud katseid laboritingimustes ning närilistega (Verhulst et al., 2016). Väga vähe on aga üldisemalt teada epigeneetika ja käitumise varieeruvuse sõltuvusest looduslikes kooslustes (Ledón-Rettig et al., 2013). Alljärgnevalt on välja toodud olulisemaid mehhanisme käsitlevad teadustööd.

3.1.1 Mesilased

Selgrootutest on epigeneetilistes uuringutes üks mudelorganism meemesilased. Teadupärast on meemesilaste peres kuninganna, kes on tarus paikne ning toodab järelkasvu. Suure osa mesilasperest moodustavad töölistmesilased, kelle ülesanne on tarust väljas korjel käia ning mesilasperet üleval pidada. Nende rollide kujunemine ning rollidele omane käitumine on tingitud erinevast DNA-metüleerimismustrist mesilase ajus, mis viitab epigeneetikale (Kucharski et al., 2008). Mesilased teeb heaks mudelobjektiks asjaolu, et nende genoom on täielikult sekveneeritud, tänu millele on võimalik geeni või kogu genoomi piires kindlaks määrata epigeneetiliste mehhanismide rolli käitumise plastilisuse kujunemises (Ledón-Rettig et al., 2013). Näiteks on uuritud mesilasperes hooldajate rolli (vastsete ja mesilasema eest hoolitsemine ja söötmine) täitvate ning korjel käivate mesilaste CpG-saarte metülatsiooni taset ning leitud, et korjel käivate mesilastel on see palju kõrgem kui tarus paiksematel hooldajatel mesilastel (Lockett et al., 2012).

3.1.2 Rotid

Peamised käitumist ja epigeneetilisi muutusi seostavad uuringud on tehtud laborirottidel. Ühes suuremahulises töös uuriti erinevat tüüpi emahoole pikaajalisi mõjusid (Meaney, 2001). Katses kasutatud rottidest olid mõned sellised, kes näitasid järglaste suhtes üles suurt vanemhoolt, teised aga panustasid järglaste eest hoolitsemisse vähem. Leiti, et hoolitsevamate rottide järglased talusid hiljem stressirohkeid olukordi paremini kui väiksema vanemhoole all üles kasvanud rotid. Parema stressitaluvuse tagas muutunud ekspressioonimuster geenides, mis olid otseselt seotud stressivastuse tekkega ning mis reguleerisid hipokampuse sünaptilist arengut (Meaney, 2001). Sama katse edasiarenduses (Weaver et al., 2004) leiti mõlema tüübi rottide järglaste hipokampuste uurimisel suured DNA metülatsiooni erinevused, mis tulenesid muutustest histoonide atsetüleerimises ning ühe transkriptsioonifaktori (NGFI-A – inglise keeles *nerve growth factor-inducible protein A*) seondumisest glükokortikoidi retseptorgeenile (Weaver et al., 2004). Veel hiljem, kui need rotid olid täiskasvanuks saanud, uuriti taas kord nende hipokampuste translatsioonimustrit ning leiti, et enam kui üheksasaja geeni ekspressioon oli erinev tingituna erinevast emahoole hulgast varasemas elus ning käitumises avaldus see väiksemas ärevuses liikumisel avatud maastikes (Weaver et al., 2006).

3.1.3 Inimene

Inimuuringutes keskendutakse peamiselt epigeneetika ja käitumishäirete seostele ning erinevate haiguste uurimisele (Fass et al., 2014). Põhjalikult uuritakse võimalusi epigeneetika rakendamiseks psühhiaatrias, näiteks skisofreenia ravimisel. Lisaks skisofreeniale vaadeldakse veel ka astma, polüskleroosi ning diabeedi uuringuid just epigeneetilisest vaatenurgast (Weinhold, 2006).

Inimese käitumise ja epigeneetika vaheliste seoste uurimisel on leitud, et kui emal esineb raseduse viimasel kolmandikul depressiivsust või meeleolulangust, on järglasel kolme kuu vanusena tõenäoliselt kõrgem kortisooli vahendatud stressivastus (Oberlander et al., 2008). Kuigi selle taga võis olla ka lihtsalt geneetiline efekt, on tähelepanuväärne, et meeleolumuutused olid põhjuslikult seotud glükokortikoidi retseptorgeeni NR3C1 laiaulatusliku metülatsiooniga (Jensen, 2013). Märkimisväärne on ka teadustöö, kus uuriti lapsepõlves verbaalse vägivalla või kuritarvitamise all kannatanud ja hilisemas elus suitsiidi sooritanud inimeste hipokampuseid ning leiti, et nende ajus oli vähenenud glükokortikoidi retseptorit transleeriva mRNA hulk ning suurenenud NR3C1 geeni

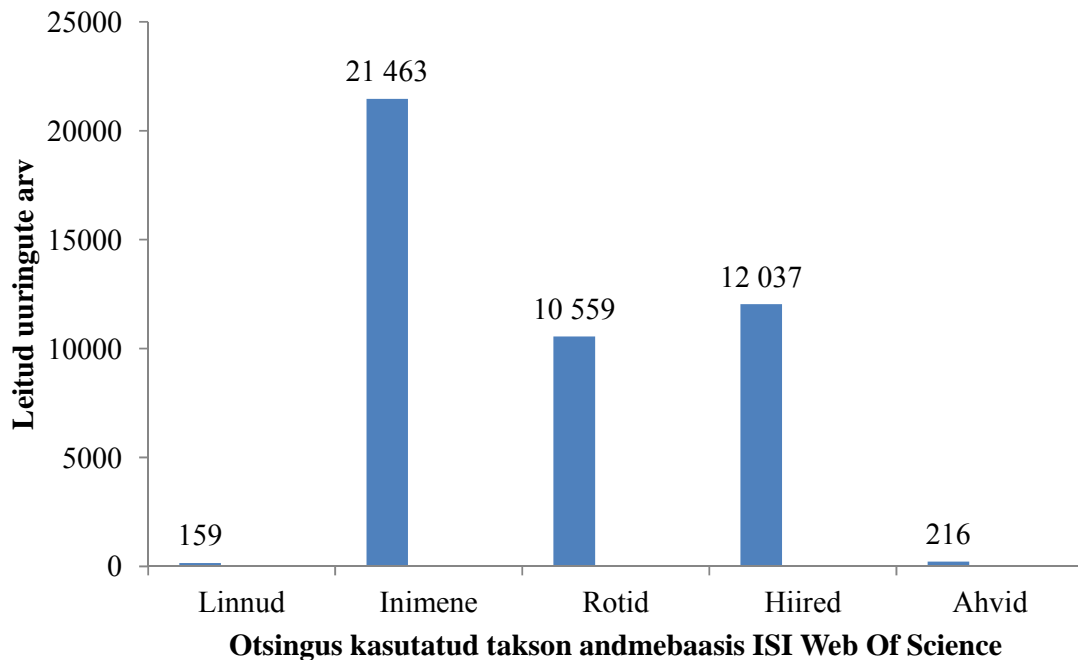
promootori metülatsioon (McGowan et al., 2009). Need näited illustreerivad keskkonna rolli epigeneetiliste mehhanismide toimimisel. Üldiselt võib öelda, et inimese käitumise ja epigeneetika seost on uuritud palju ning see on kasvav teadussuund. Inimesel ei ole sageli kõiki mehhanisme ja käitumuslikke aspekte nii lihtne uurida kui teistel liikidel, seetõttu on näiteks hirmu ja ärevusega seotud käitumist uuritud loomudelitel abil ning püütud selle kaudu hiljem inimese käitumist seletada (Delgado et al., 2006).

3.2 Epigeneetika, linnud ja käitumine

Selle bakalaureusetöö kitsamas fookuses on linnud ning nende käitumist mõjutavad epigeneetilised tegurid. Linde on võrreldes imetajate või konkreetsemalt inimesega vähem uuritud, kuid leidub tähelepanuväärseid uuringuid, mille pikem kirjeldamine on vajalik mõistmaks mehhanisme, mis kujundavad olulisel määral loomade käitumist. Järgnevalt on loodud ülevaade lindudest mudelorganismina ning seejärel on välja toodud lindudega tehtud epigeneetika ja käitumise teadustööd mehhanismide kaupa.

3.2.1 Linnud mudelorganismidena

Lähtudes erinevates andmebaasides tehtud otsingutest, võib öelda, et kuigi epigeneetika kui teadusvaldkond on veel pigem noor, on epigeneetilisi uuringuid tehtud juba üsna palju [andmebaas ISI Web Of Science annab otsingusõna *epigenetic** (epigeneetiline) päringule 68 221 vastet]. Sama andmebaasi otsingust nähtub ka tõsiasi, et lindudel on epigeneetikat uuritud, kuid võrreldes näiteks inimese, rottide, hiirte ja muude organismidega on neid uuringuid siiski silmatorkavalt vähe (Joonis 1). Seda vaatamata asjaolule, et linnud on laiemalt teaduses ning ka epigeneetiliste uuringute jaoks mitmel põhjusel hästi sobivad uurimisobjektid.



Joonis 1. Epigeneetikat käsitlevate uuringute arv andmebaasis ISI Web Of Science.

Lindude suur arvukus ja mitmekesisus loob head tingimused nende vaatlemiseks ning tänu professionaalsete- ja hobiornitoloogide panusele on looduslike linnupopulatsioonide ja lindude käitumise kohta kogunenud ulatuslikumalt andmeid kui ühegi teise selgroogsete taksoni kohta (Carere & Maestriperi, 2013). Paljud linnuliigid asustavad meelsasti ka inimese üles seatud pesakaste, tänu millele on võimalik linde uurida neile omases keskkonnas. Paljud linnuliigid on oma päevase eluviisi, silmatorkava välimuse ning suure vastupidavusega sobivad eksperimentide tegemiseks teaduses. Lindude edukas vangistuses pidamine võimaldab konkreetseid isendeid paljudest erinevatest vaatenurkadest uurida. Mitmekesised käitumismustrid ning sotsiaalsus teevad lindudest sobiva mudelorganismi uurimaks käitumiserinevusi ja -seoseid mitmesugustes kontekstides ning arvukad isiksuse- ja käitumisuuringuid erinevates ökoloogilistes süsteemides võimaldavad analüüsida isiksust nii ökoloogilisest kui evolutsioonilisest vaatenurgast (Carere & Maestriperi, 2013).

Lindudel põhinevad uuringud võimaldavad üsna lihtsate meetoditega keskenduda vajadusel konkreetsele isendile, jälgides käitumist ja mõttes nii kohasust, kohastumusi kui füsioloogilisi parameetreid nii vangistuses kui looduslikus keskkonnas kogu eluperioodi vältel (Carere & Maestriperi, 2013). Määravaks teguriks on ka asjaolu, et väikeste värvuliste [näiteks rasvatihane ja must-kärbsenäpp (*Ficedula hypoleuca*)], kes on sageli

mudelliikideks, paljunemistsüklid ning eluiga on lühiajalised, mis on eriti väärtuslik katsetes, kus vaadeldakse erinevaid tunnuseid läbi kõigi eluetappide (Noon & Sauer, 1992).

3.2.2 DNA metülatsioon ja lindude käitumine

DNA metülatsiooni ja lindude käitumist käsitlevates töodes on fookusesse võetud peamiselt 2 konkreetset geeni: dopamiini (oluline virgatsaine ehk neurotransmitter kesknärvisüsteemis, seotud mootorika, motivatsiooni ning õppimisega) retseptori D4 (DRD4) geen ja serotoniini (virgatsaine, mis on seotud meeleolu, isu jm funktsioonidega) transporter (SERT) geen. Vastavad geenid on uuringutesse kaasatud põhjusel, et varasemalt on mõlema geeni puhul tõestatud geeni-keskkonna seos. On näidatud, et just epigeneetilised mehhanismid on üks võimalus selle seose põhjalikumaks uurimiseks (Riyahi et al., 2015). DRD4 geeni on varem seostatud näiteks uuriva käitumisega (inglise keeles *novelty-seeking behaviour*) rasvatihastel (Fidler et al., 2007) ning SERT geeni puhul on varasemalt muusträstastega (*Turdus merula*) tehtud uuringutes leitud, et see võib osutada oluliseks geeniks kohanemisel uudsete tingimustega (näiteks linnastumisega toime tulekul) (Müller et al., 2013).

Verhulst jt (2016) uurisid oma töös seoseid rasvatihase isiksuseomaduste, täpsemalt avastamishuvi ja uuriva käitumise ning dopamiini retseptori D4 geeni metüleerimise astme vahel mitme generatsiooni jooksul (Verhulst et al., 2016). Vaatluse all olevas töös uuriti varieeruvust DRD4 geeni metüleerimise tasemes kahes rasvatihase liinis, millest üks näitas nelja põlvkonna jooksul üles kõrget ning teine madalat uuriva käitumise taset (Verhulst et al., 2016). Uuriv käitumine selle uuringu kontekstis oli kombinatsioon aeglasest või kiirest reaktsioonist võõra keskkonna ning uudse objekti suhtes. Seejuures on oluline märkida, et lindude valik, seejuures katseks sobivate lindude paljundamine ning katsed ise, toimusid tehistingimustes, mitte looduslikus populatsioonis. Uuringute tulemusena leiti märkimisväärsed erinevused kahe uuritava grupi (madala ja kõrge uurimishuviga) DNA CpG-saarte metülatsiooni tasemes. See annab alust oletada, et epigeneetilised varieeruvused DRD4 geenis on seotud funktsionaalse päritava mitmekesisuse tekkega rasvatihase uurivas käitumises (Verhulst et al., 2016), mida on näidatud ka ühes varasemas uuringus (Fidler et al., 2007).

DRD4 geen ja selle metülatsioon oli uurimise all veel ühes hilisemas töös (Riyahi et al., 2015). Lisaks DRD4 geenile vaadeldi ka serotoniini transporter SERTi geen ning uuriti

nende kahe kandidaatgeeni metülatsiooni ja selle seost isiksuse ja käitumise kujunemisega. Töös olid mudeliks samuti rasvatihased ning keskenduti sellele, kas ja kuidas isiksuseomadused ning käitumine erinevates elupaikades on kujunenud epigeneetiliste mehhanismide mõjul. Konkreetsemalt käsitleti lindude uurivat käitumist. Töö käigus mõõdeti CpG-saarte metülatsiooniastet DRD4 ja SERT geenide promootorites (Riyahi et al., 2015). Antud uuring viidi läbi Hispaanias ning uurimisobjektideks olid nii vangistuses, vabas looduses kui linnaparkides elavad linnud. Selle teadustöö tulemusena leiti, et DRD4 geeni promoopiirkonna ning 3. eksoni (ekson – geeni kodeeriv järjestus) metülatsioon ei olnud tihastel märkimisväärselt seotud uue objektini jõudmiseks kulunud ajaga või uuriva käitumisega. Kuid leiti, et SERT geeni teise CpG-saare metüleerimise protsent on uuriva käitumisega küll komplekselt, kuid väga otseselt seotud, mis näitab keskkonna ja metülatsiooni taseme vastastikust mõju. Kuigi metsapopulatsiooni isenditel ei leitud seost uuriva käitumise ja metülatsiooni vahel, oli see üsna märkimisväärne linnalindudel, mis annab alust arvata, et linnas elavatel rasvatihastel on SERT geeni promootori metüleerimine seotud isiksuseomaduste kujunemisega. Nimetatud geenide suurem metülatsiooni aste võib tuleneda keskkonnatingimustest, muu hulgas näiteks saastest (Riyahi et al., 2015).

Veel on püütud epigeneetika ja DNA metülatsiooni abil seletada võimalikke käitumuslikke erinevusi erinevatel sugupooltel (Nätt et al., 2014). Konkreetsemalt vaadeldi geenide avaldumise ning DNA metülatsiooni erinevusi 3-nädalaste kanade ja kukkede ajus ning iseloomustati isendite käitumist. Uuringutesse kaasati kahte tõugu kanu (kodukana eelkäija *Gallus Gallus* ning kodukana *Gallus gallus domesticus*), kellelt koguti DNA ja mRNA proove. Katsete põhitulemusena järeldati, et kanade sugude vahel on suured erinevused käitumise ning geenide avaldumise osas, ehkki erinevused DNA metülatsioonimustri osas ei ole nii märkimisväärsed. Küll aga esinevad mõned piirkonnad, mille promootoralad on sugudel väga erinevalt metüleerunud (Nätt et al., 2014).

3.2.3 Histonide modifikatsioonid ja lindude käitumine

Lindudel on seni käitumise ja epigeneetiliste mehhanismide vahelistest seostest enim uuritud DNA metülatsiooni mõju. Ülejäänud kahe mehhanismi, histoonide modifikatsiooni ning RNA interferentsi põhjalikumaid seoseid lindude käitumisega on veel vähe käsitletud. Küll on aga histoonide modifikatsioonide seoseid käitumisega uuritud näiteks imetajatel (Frésard et al., 2013). Kuna vaatluse all oleva mehhanismi ja käitumise seose uuringuid

lindudega veel pole, on siinkohal välja toodud teadustööd, milles laiemalt fookuses histoonide teisendid ja linnud, ning tööd, kus vaadeldud nimetatud mehhanismi ja käitumise seost imetajatel.

Üldisemalt on histoonide modifikatsioone uuritud kanadel. Näiteks on vaadeldud histoonivalgu H3 koostises oleva lüsiini di- ja trimetülatsiooni ning selle seost termoregulatsiooni ja -tolerantsuse kujunemisega ning leitud, et histooni dimetülatsioon tõepoolest mängib olulist rolli ajal, kui kana organism õpib kuumusega toime tulema (Kisliouk & Meiri, 2009). Termoregulatsiooni kujunemine ning histoonide modifikatsioon oli fookuses ka samade autorite hilisemas uuringus (Kisliouk et al., 2010), kus vaadeldi histooni koostises oleva lüsiini atsetüleerimist ja metüleerimist ning selle seost vastava mehhanismi tekkega. Leiti, et nimetatud modifikatsioonid omavad märkimisväärset rolli kolmandal kuni viiendal päeval pärast koorumist, mil termoregulatsioon välja kujuneb (Kisliouk et al., 2010). Pea sama vanade kanadega on tehtud ka töö (Xu et al., 2012), kus uuriti toidupuuduse ja histoonide modifikatsioonide vahelist seost. Kolme päeva vanustele kanadele tekitati toidupuudusega stress ning leiti, et selline kana arengus kriitilisel perioodil esinev toidupuudus põhjustab muutusi histoonide koostises oleva lüsiini metülatsioonimustris (Xu et al., 2012). On uuritud ka histoonide atsetüleerumist kanadel sugude võrdluses (Bisoni et al., 2005), kuid ühegi konkreetse tunnuse ja histoonide seose uurimiseni pole rohkem veel jõutud.

Kuna lindudel pole veel käitumist ja histoonide modifikatsiooni käsitlevaid uuringuid läbi viidud, siis siinkohal järgneb ülevaade selles vallas tehtud olulisematest töödest imetajatega. Hiirtega (*Mus musculus*) tehtud katses uuriti histoonide modifikatsioonide ja tingitud hirmust tekkinud hirmureaktsiooni taandarenemise vahelist seost (Bredy et al., 2007). Täpsemalt vaadeldi tserebraalse neurotroofse faktori (inglise keeles *brain-derived neurotrophic faktor*, lühendiga BDNF, närvisüsteemi kasvufaktor, mis on seotud õppimise ja pikaajalise mälu) geeni promootorite ümbruse histoonide atsetüleerumist eesajukoos ning sellest tingitud käitumise muutumist. Leiti, et tingitud hirmuga seotud käitumise omandamine ja taandareng toob endaga kaasa muutused kahe BDNF geeni promootorpiirkonnas, mis omakorda aga viib suurema hulga BDNF geeni ekspressioonini eesajukoos. Üldisemalt viitavad katse tulemused sellele, et modifikatsioonid histooni H4 BDNF geeni promootorites võiksid olla seotud pikaajalise mälu kujunemisega (Bredy et al., 2007). Sarnase fookusega oli ka üks hilisem töö (Fuchikami et al., 2009), kus uuriti stressi mõju BDNF geeni promootorpiirkondadele ning kaasnevaid histoonide

modifikatsioone rottidel. Tulemused näitavad, et stressijärgne BDNF geeni avaldumise muutus ja esialgse taseme taastumine tuleneb histooni H3 atsetüleerimisest. Sellest omakorda nähtub, et stress võib BDNF geeni transkriptsiooni histoonide atsetüleerimise kaudu mõjutada (Fuchikami et al., 2009).

3.2.4 RNA interferents ja lindude käitumine

Kui histoonide modifikatsioonide ja lindude käitumise seost pole veel üldse uuritud, siis RNA interferentsi ja lindude käitumisega on mõned üksikud teadustööd läbi viidud.

Valgekiird-sidriku (*Zonotrichia leucophrys*) ja ida-põldvutiga (*Coturnix japonica*) tehtud katsetes (Ubuka et al., 2013) uuriti RNA interferentsi abil (RNAi) gonadotropiini inhibiitori (gonadotropiin on suguhormoon) geeni vaigistamist ja selle seost lindude agressiivsuse ja seksuaalkäitumisega. Eksperimendis kasutatud linnud püüti loodusest ja toodi farmidest (ida-põldvutid) ning pandi elama laborisse tehistingimustesse. Analüüside tulemusena leiti, et gonadotropiini inhibiitori geeni ekspressiooni alandamine RNAi abil mõjutas mõlemal linnuliigil agressiivsust ja seksuaalkäitumist. Samal ajal ei avaldanud see mingit mõju toitumis- ega joomiskäitumisele või mõnele muule motivatsioonilise käitumisega seotud tunnusele (Ubuka et al., 2013). Valgekiird-sidrikul püüti seda sama geeni RNA interferentsiga mõjutada ka juba varem, kui uuriti siRNA abil vaigistatud geeni ekspressiooni languse mõju seksuaalkäitumisele ning leiti, et isastel lindudel RNAi abil tehtud muutus seksuaalkäitumist tõepoolest ka stimuleeris (Ubuka et al., 2012). Veel on uuritud RNA interferentsiga geenide vaigistamise abil neuronite mõju paarisuhte loomisega seotud sotsiaalsele käitumisele ning agressiivsusele sebra-amadiinidel (*Taeniopygia guttata*) (Kelly & Goodson, 2014). Lisaks on kasutatud RNAi meetodikat mitmesuguste lindudel levivate viirushaigustega võitlemisel, kuid seda eelkõige tööstusliku linnukasvatuse huvides (Chen et al., 2009; Yin et al., 2010). Kui käitumise ja RNAi vahelise seose uuringuid lindudel on ainult mõned üksikud, siis andmebaaside otsingu põhjal pole imetajatel selliseid konkreetset mõne käitumistunnuse uurimiseks tehtud teadustöid veel üldse. Laiendades mudelorganismide valikut veelgi, selgub, et vastavad uuringud puuduvad ka roomajate ja kahepaiksetega. Samuti pole käsitletud RNA interferentsi ja inimese käitumist. Mõneti on see üllatav tulemus, kuid samas mõistetav, kuna RNAi avastati alles üsna hiljuti (Mello, 2007).

3.2.5 Emamõju ja keskkonnamõju ning lindude käitumine

Keskkonnategurite mõju epigeneetilistele teguritele kujundab olulisel määral isiksust. Carere jt (2005) võtsid konkreetsemalt vaatluse alla toidu kättesaadavuse ning järglaste vahelise konkurentsi mõju lindude käitumisele. Uurimisobjektid olid rasvatihased ning käsitleti järglaste käitumise plastilisust kahte tüüpi rasvatihaste liinis, kellest üks avastas uusi asju kiiresti ning oli üldiselt agressiivsema käitumisega, teine aga aeglasema uuriva käitumisega ning väikse agressiivsusega. Katsete käigus oli rõhk kahel lindude kasvu mõjutaval tingimusel: toidu kättesaadavusel ning pesakondade suurusel. Uuringu tulemused kinnitasid, et linnupoegade toitumise mõjutamine avaldab pikaajalist mõju isiksuseomadustele ja see mõju on tingitud järglastevahelisest konkurentsist ning et oluline on selles geenide roll. Katsetest järeldus üldisemalt ka see, et erinevates keskkondades võib keskkonnateguritest tingituna kujuneda erinevatel isenditel välja sarnane fenotüüp (Carere et al., 2005).

Teadustöid on tehtud ka varajases eluetapis esineva stressi mõjust lindude käitumisele ning geeniekspressioonile. Elfwingi jt (2015) kanadega tehtud uuringus tekitati kanadele esimesel kolmel elunädalal perioodilise sotsiaalse isolatsiooni abil stressi ning vaadeldi selle pikemaajalisi mõjusid hilisemas elus. Fookuses olid samuti sugudevahelised erinevused. Katsete ja analüüside tulemustena leiti, et varases elufaasis esinenud stress põhjustas erinevusi geenide avaldumises, mis omakorda tingis nii lühi- kui pikaajalisi muutusi käitumises ning suguhormoonide tasemes. Neid erinevusi täheldati aga ainult ühel sugupoolel ehk kukkedel. Stressi kogenud kuked olid hiljem kartlikumad, neil esines rohkem ärevust ning neil saabus ka suguküpsus hiljem. Kanadel mõjutas stress ainult sotsiaalse domineerimisega seotud käitumist. Kuigi stressi ja tekkinud muutuste seos on ilmselt väga kompleksne, arvavad autorid (katsetes seda ei tõestatud), et stressi mõjul tekkinud geenide avaldumise muutus oli tingitud epigeneetilistest mehhanismidest (Elfwing et al., 2015). Samadest katsetest saadud andmete põhjal tehtud eelnevas uurimistöös leiti, et varases eluetapis kogetud stress mõjutab hilisemas elus kortikosteroidi (steroidhormoon, mida toodetakse ajukoores ja mis vastutab stressi- ning immuunvastuse tekke eest) vabanemist ja seeläbi akuutse stressi vastust organismis. See muutus pärandus edasi ka järglastele ning selle taga oli tõenäoliselt epigeneetiline mehhanism (Goerlich et al., 2012).

Stressi mõju lindude käitumisele on vaadeldud veel ühes uuringus, kus käsitleti seoseid kanade käitumise ja stressi vahel (Lindqvist et al., 2007). Töös hinnati stressi poolt põhjustatud käitumise muutust seoses ruumilise tajuga, selle muutuse ja geenide avaldumise mehhanismi edasikandumist järglastele ning leiti, et nende tingimuste koosinemise taga on tõenäoliselt epigeneetilised mehhanismid. Nii vanemate kui nende järglastega viidi läbi ruumilise õppimisvõimega seotud eksperiment, kust nähtus, et nii muutunud käitumine kui muutunud geeniekspressiooni muster esinesid stressi kogenud vanemate järglastel, kuid seda ainult ühel katses kasutatud tõul – kodukanal. Teisel tõul sellist mustrit ei täheldatud. Autorite arvates võis selle põhjuseks olla stressi tagajärjel mingite kindlate geenide epigeneetiline märkimine, mis kandus ka järglastele, või muutuse kandumine järglastele läbi muna näiteks mõne hormooni kaudu, mille ema stressi tulemusena munasse kandis (Lindqvist et al., 2007).

4. Arutelu

Epigeneetilised mehhanismid mängivad olulist rolli organismi arengu käigus toimivas geneetilise informatsiooni lahti pakkimises (Holliday, 2006) ning nende toimimise tulemusena kujuneb sama genotüübiga organismidel välja erinev fenotüüp (Haig, 2004). Käitumisteaduste ja ökoloogia seisukohalt on epigeneetiliste mehhanismide uurimine oluline mõistmaks ajas korduvat ja päritavat fenotüübist varieeruvust (Ledón-Rettig et al., 2013). Töös vaadeldakse järgnevate mehhanismide mõju lindude käitumisele: DNA metülatsioon, histoonide modifikatsioon, RNA interferents ning ema- ja keskkonnamõjud.

4.1 Epigeneetilised uuringud lindudel

Koondades kokku lindudel tehtud teadustöid, mis käsitlevad epigeneetiliste mehhanismide mõju käitumisele, selgus, et selliseid uuringuid on teiste loomarühmadega võrreldes väga vähe (joonis 1 lk 9). Enim on epigeneetilistest mehhanismidest käsitletud DNA metülatsiooni seost lindude käitumisega [näiteks (Verhulst et al., 2016)], leidub ka emamõju/keskkonnamõju ja RNAi ning lindude käitumise seoste uuringuid, kuid puuduvad sellekohased tööd, mis keskenduksid histoonide modifikatsioonidele.

Lindudel on käitumistunnustest enim vaadeldud uurivat käitumist (nt Riyahi et al., 2015), agressiivsust (Carere et al., 2005) ning seksuaalkäitumist (Ubuka et al., 2013). Kuna epigeneetika ja käitumise uuringuid iseenesest on juba nii vähe, on käsitletud tunnuste valik üsnagi kitsas, mistõttu võiks tulevikus teadustöodes võtta lisaks seni uuritud käitumistunnustele vaatluse alla ka muid tunnuseid, mis veel nii palju tähelepanu ei ole saanud (näiteks ärevus). Potentsiaalselt võiks laiendada ka erinevate keskkonnamõjude/emamõjude valikut vastavat teemat käsitlevates töödes. Keskkonnatingimustest on siiani enim vaadeldud epigeneetiliste mehhanismide mõju stressi tekitamise abil (toidupuudus, sotsiaalne isolatsioon, valgusperioodi pikkuse muutus) (Carere et al., 2005; Elfwing et al., 2015).

Olulisemad geenid, mida on seoses käitumise ja epigeneetiliste mehhanismidega lindudel uuritud, on dopamiini retseptori D4 (DRD4) geen (Verhulst et al., 2016) ja serotoniini transporteri (SERT) geen (Riyahi et al., 2015), mida vaadeldi DNA metülatsiooniga seotud uuringutes, ning gonadotropiini inhibiitori geen, mis oli vaatluse all RNA interferentsi töödes (Ubuka et al., 2013). Lisaks on uuritud histoonide modifikatsioone histooni H4 BDNF geeni promootorpiirkonnas, kuid seda esialgu vaid hiirtel (Bredy et al., 2007).

BDNF geeniga seotud teadustööd on andmebaaside otsingu põhjal väga palju tehtud ka inimesel, mis näitab, et selle geeni potentsiaal käitumisuuringutes ning mõju erinevatele tunnustele võiks olla laiem. Katsetest hiirte ja rottidega nähtub, et histoonide modifikatsioonide ja käitumise vahel on seos olemas (Bredy et al., 2007; Fuchikami et al., 2009). Kuna ka lindudel on sama närvisüsteemi kasvufaktor BDNF ja seda kodeeriv geen olemas (Brenowitz, 2013) ning selle seost käitumisega ei ole veel uuritud, võiks imetajatel läbiviidud sarnaseid katseid teha ka lindudel ning otsida võimalikku histoonide modifikatsioonide ja käitumise vahelist seost.

Üldiselt on teadustöodes käitumist ning genee mõjutavaid epigeneetilisi mehhanisme vähe uuritud ning need katsed on läbi viidud alles viimastel aastatel. Siinkohal on oluline epigeneetika valdkonna teadlaste ja geneetikute koostöö, et võimalike käitumisega seotud geenide mõju erinevates populatsioonides oleks selgemini ja ühesemalt mõistetav.

4.2 Epigeneetilised tegurid ja lindude käitumine

Vaatluse all olevatest lindude ja epigeneetika uuringutest selgus, et teatud epigeneetilised muutused mõjutavad seoseid lindude genotüüpide ja käitumistunnuste vahel. Konkreetselt on see kinnitust leidnud DNA metülatsiooni puhul, kus näiteks leiti, et erinev DNA metülatsiooni tase DRD4 geenis põhjustas varieeruvust rasvatihaste uurimiskäitumises (Verhulst et al., 2016). DNA metülatsiooni ja käitumise seose töid lindudel ei ole palju, kuid siiski enam kui kahe järgneva epigeneetilise mehhanismi omi. See tuleneb ilmselt asjaolust, et DNA metülatsioon kui protsess on juba kauem tuntud ning meetodi uurimiseks on teada sobilikud kandidaatgeenid.

RNA interferentsi puhul leiti, et gonadotropiini inhibiitori geeni ekspressiooni alandamine viis muutuste tekkeni valgekiird-sidriku agressiivsuses ja seksuaalkäitumises (Ubuka et al., 2013). Seost käitumisega aga ei ole veel leitud histoonide modifikatsioonide puhul. Kui analüüsida, miks ei ole sarnaseid histoonide modifikatsioonide ja käitumise katseid lindudel tehtud ning kas seda võiks lindude peal testida, saab käesoleva töö autori arvates suurimaks takistuseks andmete kogumise meetod. Käitumiskatsete tegemine ei osutuks probleemiks, kuid erinevalt teistest mehhanismidest, kus analüüse tehti peamiselt vereproovide põhjal (Riyahi et al., 2015; Verhulst et al., 2016; jne), on histoonide uurimiseks kasutatud loomade eesajukoort (Bredy et al., 2007). Seega eeldaks lindudel sama süsteemi kasutusele võtmise kõikide katselindude surmamist, mis looduslikus populatsioonis sageli ei ole praktiline. Samuti on tehtud mõlema varasema teadustöö

eksperimendid laboritingimustes, mis tähendab, et sarnaste meetodite kasutamine ja taolise efekti esile kutsumine nagu imetajatega tehtud katsetes (tingitud hirmureaktsiooni tekitamine, stress jne), ei oleks looduslikus populatsioonis sageli sellisel määral võimalik. Ka RNA interferentsi ja käitumise vahelise seose uuringute hulk on väga väike – tehtud on ainult kaks vastavat seost käsitlevat tööd lindudega, kusjuures teiste selgroogsetega sellised tööd puuduvad. Põhjuseks on tõenäoliselt meetodi uudsus, kuna RNAi on teadusele tuntud olnud ainult viimastel kümnenditel. Lindudel on selle meetodiga tehtud katsed läbi viidud laboritingimustes, kuid sarnaseid eksperimente võiks teha ka looduslike populatsioonide isenditega vabas looduses. SiRNA manustamine lindudele, mis on seniste RNAi katsete üks põhiline etapp, on küll keeruline meetod (Ubuka et al., 2013), kuid võiks olla siiski teostatav ka välitingimustes.

Epigeneetiliste uuringute jätkamine tulevikus on oluline, kuna seni tehtud geene ja käitumist ühendavates töödes on leitud vastukäivaid tulemusi erinevates populatsioonides. Näiteks leiti, et rasvatihasel on DRD4 geen ja uuriv käitumine seotud neljast looduslikust populatsioonist vaid ühes, kolmes ülejäänus oli selle konkreetse geeni ja uuriva käitumise seos väga nõrk ning mitte tähelepanu vääriv (Korsten et al., 2010). Olemasolevate uuringute põhjal võiks öelda, et epigeneetilistest mehhanismidest on olulisim lindude käitumise ja genotüübi vahelist seost mõjutav mehhanism DNA metülatsioon. DNA metülatsiooni olulisusele lisab kaalu asjaolu, et DRD4 ja SERT geenide metülatsiooniastet ja nende seost isiksusega on varasemalt ka inimesel uuritud. Nii on näiteks täheldatud, et mõlema geeni metülatsiooniaste on negatiivses sõltuvuses aktiivsus- ja tähelepanuhäire esinemisega (van Mil et al., 2014) ning leitud, et identsetel kaksikutel on DRD4 ja SERT geenid, tõenäoliselt tingituna keskkonnast, erinevalt metüleerunud (Wong et al., 2010). Sellest nähtub, et geenide metülatsioon on oluline mehhanism seletamaks isiksuste erinevusi just erinevates keskkondades. Senistes uuringutes on seos just DNA metülatsiooni puhul kõige selgemini esile kerkinud. Samas võib see tuleneda lihtsalt põhjusest, et vastavat mehhanismi on sellise fookusega seni selgelt enam uuritud kui teisi mehhanisme ja nende võimalik olulisus pole veel selgunud.

4.3 Keskkonnategurid ja epigeneetika

Seni tehtud keskkonna- ja emamõjude ning lindude käitumise uuringutest selgub, et lindude arengu käigus võivad olla olulised keskkonnast tulenevad tegurid, mille tagajärjel tekivad tõenäoliselt epigeneetilised muutused. Olemasolevates uuringutes ei ole küll

kindlalt väidetud, et keskkonnategurid just epigeneetika kaudu mingit käitumistunnust mõjutavad, kuid näiteks Elfwing jt (2015) arvasid, et stressi kogemisest tingitud geeniekspressiooni muutuse taga olid just epigeneetilised mehhanismid (Elfwing et al., 2015). Oletuslik on epigeneetika roll keskkonnast tuleneva käitumise muutumisel ka teistes samalaadsetes töödes, kui täheldati stressist tingitud geeniekspressiooni muutust ja selle pärandumist kanadel (Lindqvist et al., 2007) ning et varases eluetapis kogetud stress mõjutab kortikosteroidi vabanemist ja seeläbi akuutsele stressile vastamist (Goerlich et al., 2012). Kuna keskkonnategurite, epigeneetika ja käitumise vahelised seosed on senistes teadustöodes ainult oletuslikud, tuleks edaspidistes uuringutes neid veel põhjalikumalt käsitleda. Sageli võimaldavad epigeneetilised mehhanismid erinevaid seoseid paremini mõista. Näiteks linna- ja maapopulatsioonide uurimisel on näidatud epigeneetiliste mehhanismide olulist mõju käitumisele (Riyahi et al 2015).

4.4 Uuringud laboris ja looduslikus populatsioonis

Lisaks välikatsetele (katsetele looduskeskkonnas) on eksperimendi seisukohast olulised indiviidi arengut kujundav keskkond ning erinevad tehistingimused.

Suurem osa seni epigeneetika ja lindude käitumisega tehtud teadustöid on läbi viidud laboritingimustes vangistuses kasvanud lindudega. Siiski on ka üksikud erandid, kui DNA metülatiooni ja rasvatihase uuriva käitumise töös koguti proove ka vabas looduses elavatel lindudel (Riyahi et al., 2015). RNA interferentsi ja valgekiird-sidriku agressiivsuse ja seksuaalkäitumise uuringus püüti katseobjektid vabast loodusest, misjärel peeti neid tehistingimustes laboris (Ubuka et al., 2013). Laboritingimustes kasvatatud lindudega katsete tegemine on rohkem kontrollitud, kuna vabas looduses elavate katselindude või ka sealt püütud ning laborisse viidud lindude puhul ei ole teada nende indiviidide varasema elu jooksul läbi elatud sündmused ja kogemused, millest nii mõnigi võib lindudel käitumuslikke erinevusi põhjustada. Kontrollitud laboritingimustes elavate isendite puhul aga on selgelt teada nende keskkond ning katsetele eelnenud elulugu ja kogemused, samuti lindude vanemate elulugu, mistõttu on uuringutes vähem segavaid kõrvalmõjusid (Ledón-Rettig et al., 2013).

Kuigi laboris on katseid lihtsam läbi viia kui vabas looduses, võiks tulevikus rohkem keskenduda just vabas looduses elavate organismide käitumise ja epigeneetika uurimisele, seda enam, et praegu on selliseid töid vähe (nt Riyahi et al 2015). Kuna epigeneetilistes uuringutes on väga olulisel kohal just keskkond, siis vabas looduses tehtud katsete puhul

tuleb kindlasti arvestada küllaltki suure võimalusega, et uuritava organismi käitumisele avaldab mõju mõni väga oluline tegur, mis on laboritingimustes raskesti mudeldatav või millest ei olda teadlikud, mistõttu võib tehistingimustes tehtud eksperiment anda kallutatud tulemuse.

4.5 Areng

Epigeneetika ja lindude käitumise uurimisel on oluline teada ka seda, millisel isendi eluetapil võimalik mehhanism käitumisele kõige tõenäolisemalt mõju avaldab. Olemasolevatest uuringutes nähtub, et kuigi mitmetes teadustöodes ei ole katselindude vanust välja toodud ja seega tõenäoliselt teatud epigeneetiliste uuringute läbi viimine ei sõltu linnu arengujärgust, siis on mõju kõige tugevam organismi arengu alguses. Näiteks tehti DNA metülatsiooni katseid kanadega just nende lindude esimestel elunädalatel (Nätt et al., 2014) ning stressi seoseid keskkonnamõjudega vaadeldi samuti esimeste elunädalate jooksul (Elfwing et al., 2015). Ka rasvatihastel on tehtud eksperimente noorlindudega, kus uuriti rasvatihase käitumise plastilisust ja keskkonna mõju (Carere et al., 2005). Histoone modifikatsiooni uurimisel leiti, et termoregulatsiooni kujunemisel mängivad olulist rolli histoone teisendid juba 3.–5. elupäeval (Kisliouki et al., 2010). Varajases eluetapis on linnud tõenäoliselt muutustele kõige vastuvõtlikumad ning fenotüüp on siis kõige plastilisem, mistõttu on selles etapis katsete tegemine kõige sobilikum. Seetõttu võiks arenguetaappide eristamine katselindudel olla oluline aspekt eksperimentide läbiviimisel.

4.6 Tulevikuperspektiiv

Senise väikese hulga epigeneetiliste mehhanismide ja lindude käitumise uuringute põhjal võib öelda, et epigeneetika kasutamine lisab väärtust uuringutele, mis siiani on käsitletud ainult geenide ja käitumise vahelisi seoseid. Juba kinnitust leidnud DNA metülatsiooni, RNA interferentsi ja ema- ning keskkonnamõjude rolli käitumise kujunemisele tuleks põhjalikumalt edasi uurida, histoone modifikatsioonide ja lindude käitumise seos aga alles vajab avastamist. Samamoodi on põhjendatud keskkonna rolli uurimine ning selle mõju epigeneetilistele teguritele. Kui senised uuringud on tehtud peamiselt tehiskeskkonnas, siis üks tulevikusuund võiks kindlasti olla katsete tegemine looduslike populatsioonide isenditega. Samuti tuleks pöörata tähelepanu lindude arenguetaappide mõjule epigeneetika ja käitumise uuringute kontekstis.

Kokkuvõte

Käesolev bakalaureusetöö annab ülevaate epigeneetilistest mehhanismidest ning nende mõjust lindude käitumisele. Epigeneetika on rakutuumast sõltuv pärilikkus, mis ei ole tingitud muutustest DNA-järjestuses. See on teadus muutustest geenide avaldumises, mis ilmnevad diferentseerunud rakkudega organismides, ja olemasolevate geenide avaldumise muustrite mitootilisest pärandumisest. Oluline on, et muutused toimuvad, nagu ka eesliide „epi-“, viitab, geenide pinnal, mitte geenide sisemuses. Epigeneetilised mehhanismid on vajalikud geneetilise programmi lahti pakkimiseks. Tähtsamad selles töös käsitletavat epigeneetilised mehhanismid on DNA metülatsioon, histoonide modifikatsioon, RNA-ga seotud vaigistamine ehk RNA interferents ning lisaks emamõjud, mida võib laiendada ka keskkonnamõjudele. Kuna epigeneetika on teaduse kontekstis pigem noor valdkond, on ka sellekohaseid uuringuid, eriti lindude käitumisega seotud uuringuid, veel näiteks geneetikaga võrreldes väga vähe. Epigeneetika on olulisel kohal käitumisteadustes, kuna mitmete epigeneetiliste mehhanismide abil on võimalik seletada teatud käitumistunnuseid. Käesolevas töös vaadeldakse käitumist kui kõiki jälgitavaid protsesse, millega organism vastab oma keha stabiilse sisekeskkonna või mingite väliskeskkonna tegurite muutustele. Epigeneetika ja käitumise seost on seni enim uuritud rottidel, hiirtel ja ka inimesel. Samuti on kujunemas olulisteks mudelorganismideks linnud, kellel tehtud epigeneetika uuringute arv pidevalt kasvab. Lindudel on leitud seos DNA metülatsiooni ja käitumise vahel DRD4 ning SERT geenide uurimisel. Seos lindude käitumisega on leitud ka RNA-interferentsi puhul, kuid seni puuduvad tööd, mis käsitleksid lindude käitumist ja histoonide modifikatsioone. On uuritud ka keskkonnategurite, peamiselt stressi mõju lindude käitumisele ning täheldatud teatud seoseid, mille taga on tõenäoliselt epigeneetilised mehhanismid.

Nii DNA metülatsioon kui RNA interferents kujundavad lindude käitumist ja seega mõjutavad mingis eluetapis isendil toimuvad epigeneetilised muutused seost tema genotüübi ja käitumistunnuste vahel. Lisaks epigeneetilistele mehhanismidele on olulisel kohal keskkonnast tulenevad tegurid, mis tõenäoliselt just nimelt nende samade mehhanismide kaudu mõjutavad lindude käitumise väljakujunemist. Kuna on näidatud, et nii epigeneetika kui keskkond mängivad isendi käitumisel olulist rolli, on selge, et ainult geenipõhised uuringud ei pruugi arvesse võtta mõjusid, mis kujundavad indiviidi käitumist. Seega on oluline tulevikus epigeneetika ja lindude käitumise uuringutele rõhku panna ning sellesse ressursse suunata.

Summary

Epigenetic mechanisms shape the relationship between genotypes and behavioural variation in birds

This bachelor thesis gives an overview of epigenetic mechanisms and their impact on bird behaviour. Epigenetics is a part of heredity dependent on the cell nucleus but not on changes in the DNA sequence. It is a science of changes in gene expression which appears in differentiated cell organisms and the mitotic hereditary patterns of gene expression of existing genes. It is important that the changes take place - as indicated by the prefix 'epi-' - on the surface of genes, not inside the genes. Epigenetic mechanisms are necessary for unpacking genetic info. The most important epigenetic mechanisms that are also included in this paper are DNA methylation, histone modifications, RNA interference and maternal effects, which can be considered more broadly as environmental factors.

Epigenetics holds an important place in behavioural sciences because of providing the ability to explain behavioural characteristics through epigenetic mechanisms. Behaviour consists of all observable processes which an organism uses as a response to changes in the external or stable internal environment. Relationships between behaviour and epigenetics have been most thoroughly studied in humans, mice and rats. Recently birds have been considered as model organisms and the number of studies is increasing constantly. Significant relations have been found between bird behaviour and DNA methylation in two genes, DRD4 and SERT. Studies have also shown that bird behaviour is affected by RNA interference. However, studies looking at histone modifications and behaviour in birds are yet to be published. Environmental factors', especially stress have, possibly due to epigenetic mechanisms, an impact on bird behaviour.

It is clear that both DNA methylation and RNA interference shape bird behaviour and thus the epigenetic changes at some stage in life have an impact on the connection between the genotype and behaviour. In addition to epigenetic mechanisms the environmental factors which – probably through the same mechanisms – impact bird behavioural development. Because it has been shown that epigenetic mechanisms and environmental factors play an important role in the behaviour of an individual, it is clear that studies looking solely at genetics do not factor in all the influences affecting the behaviour. Considering all of this it is important going forward to include epigenetic mechanisms in the studies of bird behaviour and to provide more resources for epigenetic studies.

Tänuavaldused

Tänan oma juhendajat Killu Timmi, kelle toetav suhtumine, vastutulelikkus ja konstruktiivsus olid töö valmimise protsessis suureks abiks. Tänan ka Johanna Lehtmetsa töömotivatsiooni kõrgel hoidmise eest ning Enn Rusi, Johanna Nisu ja Valmar Kasukit sisuliste ja keeleliste kommentaaride eest.

Kasutatud kirjandus

- Arai, J. A., & Feig, L. A. (2011). Long-lasting and transgenerational effects of an environmental enrichment on memory formation. *Brain research bulletin*, *85*, 30–35.
- Barnard, C. J. (2004). *Animal behaviour: mechanism, development, function and evolution*. Pearson Education.
- Bird, A. (2007). Perceptions of epigenetics. *Nature*, *447*, 396–398.
- Bisoni, L., Battle-Morera, L., Bird, A. P., Suzuki, M., & McQueen, H. A. (2005). Female-specific hyperacetylation of histone H4 in the chicken Z chromosome. *Chromosome Research*, *13*, 205–214.
- Bredy, T. W., Wu, H., Crego, C., Zellhoefer, J., Sun, Y. E., & Barad, M. (2007). Histone modifications around individual BDNF gene promoters in prefrontal cortex are associated with extinction of conditioned fear. *Learning & Memory*, *14*, 268–276.
- Brenowitz, E. A. (2013). Testosterone and brain-derived neurotrophic factor interactions in the avian song control system. *Neuroscience*, *239*, 115–123.
- Carere, C., Drent, P. J., Koolhaas, J. M., & Groothuis, T. G. G. (2005). Epigenetic effects on personality traits: early food provisioning and sibling competition. *Behaviour*, *142*, 1329–1355.
- Carere, C., & Maestripieri, D. (2013). *Animal personalities behavior, physiology, and evolution*. University of Chicago Press.
- Chen, M., Payne, W. S., Dunn, J. R., Chang, S., Zhang, H. M., Hunt, H. D., & Dodgson, J. B. (2009). Retroviral delivery of RNA interference against Marek's disease virus in vivo. *Poultry Science*, *88*, 1373–1380.
- Colmenares, S. U., Buker, S. M., Buhler, M., Dlakić, M., & Moazed, D. (2007). Coupling of Double-Stranded RNA Synthesis and siRNA Generation in Fission Yeast RNAi. *Molecular Cell*, *27*, 449–461.
- Delgado, M. R., Olsson, A., & Phelps, E. A. (2006). Extending animal models of fear conditioning to humans. *Biological psychology*, *73*, 39–48.
- Djupedal, I., & Ekwall, K. (2009). Epigenetics: heterochromatin meets RNAi. *Cell Research*, *19*, 282–295.
- Elfving, M., Nätt, D., Goerlich-Jansson, V. C., Persson, M., Hjelm, J., & Jensen, P. (2015). Early stress causes sex-specific, life-long changes in behaviour, levels of gonadal hormones, and gene expression in chickens. *PLoS One*, *10*, e0125808.

- Elhamamsy, A. R. (2016). DNA methylation dynamics in plants and mammals: Overview of regulation and dysregulation. *Cell Biochemistry and Function*, *34*, 289-298.
- Fass, D. M., Schroeder, F. A., Perlis, R. H., & Haggarty, S. J. (2014). Epigenetic mechanisms in mood disorders: targeting neuroplasticity. *Neuroscience*, *264*, 112–130.
- Feil, R., & Fraga, M. F. (2012). Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. *Nature Reviews Genetics*, *13*, 97–109.
- Filipowicz, W., Bhattacharyya, S. N., & Sonenberg, N. (2008). Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nature Reviews Genetics*, *9*, 102-114.
- Fidler, A. E., van Oers, K., Drent, P. J., Kuhn, S., Mueller, J. C., & Kempenaers, B. (2007). Drd4 gene polymorphisms are associated with personality variation in a passerine bird. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, *274*, 1685-1691.
- Frésard, L., Morisson, M., Brun, J. M., Collin, A., Pain, B., Minvielle, F., & Pitel, F. (2013). Epigenetics and phenotypic variability: some interesting insights from birds. *Genetics Selection Evolution*, *45*, 16–16.
- Fuchikami, M., Morinobu, S., Kurata, A., Yamamoto, S., & Yamawaki, S. (2009). Single immobilization stress differentially alters the expression profile of transcripts of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene and histone acetylation at its promoters in the rat hippocampus. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *12*, 73–82.
- Goerlich, V. C., Nätt, D., Elfving, M., Macdonald, B., & Jensen, P. (2012). Transgenerational effects of early experience on behavioral, hormonal and gene expression responses to acute stress in the precocial chicken. *Hormones and Behavior*, *61*, 711–718.
- Haig, D. (2004). The (dual) origin of epigenetics. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, *69*, 67–70.
- Holliday, R. (2006). Epigenetics A Historical Overview. *Epigenetics*, *1*, 76–80.
- Jablonka, E., & Raz, G. (2009). Transgenerational Epigenetic Inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution. *The Quarterly Review of Biology*, *84*, 131–176.

- Jensen, P. (2006). Domestication—From behaviour to genes and back again. *Applied Animal Behaviour Science*, *97*, 3–15.
- Jensen, P. (2013). Transgenerational epigenetic effects on animal behaviour. *Progress in biophysics & molecular biology*, *113*, 447–454.
- Jensen, P. (2014). Behaviour epigenetics – The connection between environment, stress and welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, *157*, 1–7.
- Kelly, A. M., & Goodson, J. L. (2014). Hypothalamic oxytocin and vasopressin neurons exert sex-specific effects on pair bonding, gregariousness, and aggression in finches. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*, 6069–6074.
- Kim, J. K., Samaranyake, M., & Pradhan, S. (2009). Epigenetic mechanisms in mammals. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *66*, 596–612.
- Kisliouk, T., & Meiri, N. (2009). A critical role for dynamic changes in histone H3 methylation at the Bdnf promoter during postnatal thermotolerance acquisition. *European Journal of Neuroscience*, *30*, 1909–1922.
- Kisliouk, T., Ziv, M., & Meiri, N. (2010). Epigenetic control of translation regulation: alterations in histone H3 lysine 9 post-translation modifications are correlated with the expression of the translation initiation factor 2B (Eif2b5) during thermal control establishment. *Developmental Neurobiology*, *70*, 100–113.
- Korsten, P., Müller, J. C., Hermannstädter, C., Bouwman, K. M., Dingemanse, N. J., Drent, P. J., Liedvogel, M., Matthysen, E., van Oers, K., van Overveld, T., & Patrick, S. C., (2010). Association between DRD4 gene polymorphism and personality variation in great tits: a test across four wild populations. *Molecular ecology*, *19*, 832–843.
- Kucharski, R., Maleszka, J., Foret, S., & Maleszka, R. (2008). Nutritional Control of Reproductive Status in Honeybees via DNA Methylation. *Science*, *319*, 1827–1830.
- Ledón-Rettig, C. C., Richards, C. L., & Martin, L. B. (2013). Epigenetics for behavioral ecologists. *Behavioral Ecology*, *24*, 311–324.
- Lindqvist, C., Janczak, A. M., Nätt, D., Baranowska, I., Lindqvist, N., Wichman, A., Lundeberg, J., Lindberg, J., Torjesen, P. A., & Jensen, P., 2007. Transmission of stress-induced learning impairment and associated brain gene expression from parents to offspring in chickens. *PLoS One*, *2*, e364.

- Lockett, G. A., Kucharski, R., & Maleszka, R. (2012). DNA methylation changes elicited by social stimuli in the brains of worker honey bees. *Genes, Brain and Behavior*, *11*, 235–242.
- McGowan, P. O., Sasaki, A., D'alessio, A. C., Dymov, S., Labonté, B., Szyf, M., Turecki, G., & Meaney, M. J., (2009). Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nature neuroscience*, *12*, 342–348.
- Meaney, M. J. (2001). Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual review of neuroscience*, *24*, 1161-1192.
- Mello, C. C. (2007). Return to the RNAi world: rethinking gene expression and evolution. *Cell Death & Differentiation*, *14*, 2013–2020.
- Müller, J. C., Partecke, J., Hatchwell, B. J., Gaston, K. J., & Evans, K. L. (2013). Candidate gene polymorphisms for behavioural adaptations during urbanization in blackbirds. *Molecular Ecology*, *22*, 3629-3637.
- Noon, B. R., & Sauer, J. R. (1992). Population models for passerine birds: structure, parameterization, and analysis. In *Wildlife 2001: populations*, 441-464.
- Nätt, D., Agnvall, B., & Jensen, P. (2014). Large Sex Differences in Chicken Behavior and Brain Gene Expression Coincide with Few Differences in Promoter DNA-Methylation. *PLoS One*, *9*, e96376.
- Oberlander, T. F., Weinberg, J., Papsdorf, M., Grunau, R., Misri, S., & Devlin, A. (2008). Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses. *Epigenetics*, *3*, 97–106.
- Pearce, J. M. (2013). *Animal learning and cognition: an introduction*. Psychology Press.
- Riyahi, S., Senar, J. C., Sánchez-Delgado, M., Monk, D., & Calafell, F. (2015). Combined epigenetic and intraspecific variation of the DRD4 and SERT genes influence novelty seeking behavior in great tit *Parus major*. *Epigenetics*, *10*, 516–525.
- Saurabh, S., Vidyarthi, A. S., & Prasad, D. (2014). RNA interference: concept to reality in crop improvement. *Planta*, *239*, 543–564.
- Turker, M. S. (2002). Gene silencing in mammalian cells and the spread of DNA methylation. *Oncogene*, *21*, 5388-5393.

- Ubuka, T., Mukai, M., Wolfe, J., Beverly, R., Clegg, S., Wang, A., Hsia, S., Li, M., Krause, J. S., Mizuno, T., & Fukuda, Y., (2012). RNA Interference of Gonadotropin-Inhibitory Hormone Gene Induces Arousal in Songbirds. *PLoS One*, *7*, e30202.
- Ubuka, T., Mizuno, T., Fukuda, Y., Bentley, G. E., Wingfield, J. C., & Tsutsui, K. (2013). RNA interference of gonadotropin-inhibitory hormone gene induces aggressive and sexual behaviors in birds. *General & Comparative Endocrinology*, *181*, 179–186.
- van Mil, N. H., Steegers-Theunissen, R. P., Bouwland-Both, M. I., Verbiest, M. M., Rijlaarsdam, J., Hofman, A., Steegers, E. A., Heijmans, B. T., Jaddoe, V. W., Verhulst, F. C. , & Stolk, L., (2014). DNA methylation profiles at birth and child ADHD symptoms. *Journal of Psychiatric Research*, *49*, 51–59.
- Verhulst, E. C., Mateman, A. C., Zwier, M. V., Caro, S. P., Verhoeven, K. J. F., & Van Oers, K. (2016). Evidence from pyrosequencing indicates that natural variation in animal personality is associated with DRD4 DNA methylation. *Molecular Ecology*, *25*, 1801–1811.
- Weaver, I. C. G., Cervoni, N., Champagne, F. A., D'Alessio, A. C., Sharma, S., Seckl, J. R., Dymov, S., Szyf, M. and Meaney, M. J., (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature neuroscience*, *7*, 847-854.
- Weaver, I. C. G., Meaney, M. J., & Szyf, M. (2006). Maternal care effects on the hippocampal transcriptome and anxiety-mediated behaviors in the offspring that are reversible in adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*, 3480-3485.
- Weinhold, B. (2006). Epigenetics: The Science of Change. *Environmental Health Perspectives*, *114*, A160.
- Wolf, J. B., & Wade, M. J. (2009). What are maternal effects (and what are they not)? *Philosophical Transactions Of The Royal Society Of London B: Biological Sciences*, *364*, 1107–1115.
- Wong, C. C. Y., Caspi, A., Williams, B., Craig, I. W., Houts, R., Ambler, A., Moffitt, T. E., & Mill, J. (2010). A longitudinal study of epigenetic variation in twins. *Epigenetics*, *5*, 516–526.
- Xu, P., Denbow, C. J., Meiri, N., & Denbow, D. M. (2012). Fasting of 3-day-old chicks leads to changes in histone H3 methylation status. *Physiology & Behavior*, *105*, 276–282.

Yin, R., Ding, Z., Liu, X., Mu, L., Cong, Y., & Stoeger, T. (2010). Inhibition of Newcastle disease virus replication by RNA interference targeting the matrix protein gene in chicken embryo fibroblasts. *Journal of Virological Methods*, *167*, 107–111.

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Mart Kiis,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „Epigeneetilised muutused kujundavad seoseid lindude genotüüpide ja käitumistunnuste vahel”, mille juhendaja on Killu Timm,

1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, **21.05.2017**