

12. GENEALOGIJA GENA

12.1. Koncept i nastanak filogeografije

Filogeografija je oblast koja opisuje principe i procese koji objašnjavaju geografsko rasprostranjenje genetičkih linija, te se tako može smatrati podoblašću biogeografije. Obično se prati istorija kretanja u prostoru genetičkih linija unutar vrsta, zatim unutar grupe blisko srodnih vrsta, ali ne retko i unutar većih taksonomskih kategorija. Na taj način, filogeografija kao relativno mlada disciplina (u: Avise, 2000) objedinjuje veštine i alatke razvijene u okviru tradicionalnih bioloških disciplina: molekularne genetike, populacione genetike, etologije, demografije, filogenetike, paleontologije, geologije i istorijske geografije.

Filogeografski obrasci ili obrasci prostorne distribucije genetičkih linija nastaju pod delovanjem prirodne selekcije, ali i drugih evolucionih faktora. Ako analiziramo evolucione linije vrsta koje su jedno vreme ili u jednom delu areala bile organizovane u vidu malih izolovanih populacija, tada je logično pretpostaviti da je na učestalost i zastupljenost genetičkih linija na tom prostoru pre uticao genetički drift nego prirodna selekcija.

Filogeografija je blisko povezana sa ekogeografijom, još jednom pod-oblašću biogeografije, koja razmatra savremene obrasce geografskog rasprostranjenja osobina organizama. Pošto se biogeografija tradicionalno deli na ekološku i istorijsku biogeografiju, ekološka biogeografija ili skraćeno ekogeografija objašnjava savremeno geografsko rasprostranjenje varijanti osobina razmatrajući uticaj evolucionih faktora, pre svega prirodne selekcije. Uticaj prirodne selekcije na određene osobine, posmatran kroz gradijent ekoloških faktora, proizveo je neke od opšte poznatih globalnih trendova, poznatih kao ekogeografska pravila:

Alenovo pravilo - pozitivna korelacija između dužine ekstremiteta i temperature spoljašnje sredine, karakteristična za homeoterme;

Bergmanovo pravilo – negativna korelacija između veličine tela i temperature spoljašnje sredine/ vlažnosti vazduha, karakteristična za homeoterme;

Glogerovo pravilo – pozitivna korelacija između količine tamnog pigmenta i vlažnosti vazduha;

Pravilo veličine legla – pozitivna korelacija između veličine legla i nadmorske visine staništa, karakteristična za ptice.

Nasuprot ekogeografiji, filogeografija prati istorijsku putanju dinamike genetičkih linija, koristeći metode molekularne genetike i odabirajući kao objekte istraživanja one genske sekvence koje nisu bile pod uticajem delovanja prirodne selekcije, da bi se tako najpreciznije, primenom kladističkih metoda, mogla rekonstruisati starost i migratorni obrasci varijanti tih genskih sekvenci. Takođe, filogeografija može da otkrije koji od mogućih istorijskih scenarija je zapravo oblikovao savremene obrasce rasprostranjenja taksona - disperzija ili izolacija (vikarijantnost). Hipoteza disperzije objašnjava sadašnji areal rasprostranjenja taksona rasprostiranjem jedinki iz predačkog areala, tj centra nastanka taksona ili taksonomske grupe. Vikarijantna hipoteza smatra da je savremeni areal nastao kao posledica podele predačkog areala putem specifičnih sredinskih događaja kao što su tektonski pokreti (uzdizanje planinskih venaca), podizanje/spuštanje nivoa mora, promene u okviru vodotokova, klimatske promene itd. Filogenetski obrazac dobijen filogeografskom analizom u slučaju oblikovanja savremenog areala, a putem fragmentacije predačkog areala, odražavaće istorijski sled fizičkog razdvajanja areala. U slučaju oblikovanja savremenog areala putem disperzije, savremeni areali i taksoni mogu odražavati mnogo raznovrsnije istorijske odnose. Naravno, na konačni izgled savremenog areala i filogenetsko stablo mogu uticati različiti dodatni faktori kao što je istorijska populaciona demografija, trenuci u evolucionom vremenu kada su se dešavali pojedini vikarijantni događaji ili događaji disperzije i, što se ne može prenebregnuti, mogućnost preciznog određivanja vremena dešavanja tih događaja na osnovu primene molekularnih ili drugih tehnika.

Prve filogeografske studije publikovane su osamdesetih godina dvadesetog veka. Do početka dvadeset prvog veka, oko 70% tih studija rađeno je primenom analize

animalne mitohondrijalne (mt) DNK. Pre toga, većina informacija o genetičkoj strukturi populacija i filogenetskim odnosima između taksona na molekularnom nivou zasnivala se na detekciji učestalosti izozima (proteina) pod određenim uslovima, a celokupna statistika je prevodila dobijenu enzimsku varijabilnost u gensku varijabilnost. Međutim, jedno od najvećih ograničenja ovog pristupa bilo je što detekcija varijanti enzima (izozima) na gelu u električnom polju može biti upotrebljiva za opisivanje parametara genetičke strukture i strukturiranosti populacija, ali za određivanje pleziomorfni i apomorfni genskih varijanti nije pouzdana.

Krajem 60-tih godina dvadesetog veka otkriveni su enzimi restrikcione endonukleaze (Linn i Arber, 1968; Meselson i Yuan, 1968), čija funkcija je isecanje DNK na specifičnim mestima (mesta prepoznavanja), pa su ubrzo razvijene tehnike za proučavanje polimorfizma dužine restrikcionih fragmenata (eng. „restriction-length-polymorphism” – RFLP) i konstruisane su prve mape rasporeda restrikcionih mesta specifičnih restrikcionih endonukleaza animalne mitohondrijalne DNK. Prva statistika za izračunavanje stepena različitosti između mt DNK sekvenci dobijenih primenom identične restrikcione endonukleaze razrađena je 1977 godine (Upholt 1977). Potvrđeno je da se mt DNK nasleđuje po majčinoj liniji kod kičmenjaka, tj da mt DNK potomstva oba pola sadrži samo ili većim delom samo majčinu mt DNK. Inače, svaki mt DNK genom sastoji se od 37 funkcionalno prepoznatljivih gena, koji kodiraju 22 različite transportne RNK, dve ribozomalne RNK i 13 informacionih RNK koje definišu polipeptidne subjednice proteina uključenih u transport elektrona i oksidativnu fosforilaciju koja se dešava na unutrašnjoj membrani mitohondrije. Sa filogenetskog stanovišta, ukupni mt DNK genom predstavlja jedan lokus, pošto su stanja karaktera genealoški povezana aseksualnom transmisijom molekula.

Visoka stopa evolucije utvrđena je za animalnu mt DNK i koncipiran je „molekularni sat”, odnosno kalibracija vremena divergencije taksona na osnovu nivoa razlika homologih sekvenci animalne mt DNK: u proseku, između parova evolutivnih linija mt genska sekvenca divergira oko 2 procenta tokom vremenskog perioda od milion godina, ili sekvenca evoluirala, tj promeni se, za 1 procenat za milion godina u okviru jedne evolutivne linije.

Analize su pokazale da ne postoji univerzalni molekularni sat, što je objašnjavano razlikama u stopi metabolizma između poikilotermnih i homeotermnih organizama. Stopa metabolizma generiše mutacione i selektivne pritiske koji doprinose usporavanju stopa supstitucije mt DNK kod ektoterma. Dodatni faktori su generaciono vreme, efikasnost popravke DNK i interval replikacije DNK ili generaciono vreme nukleotida. Svi ovi faktori mogu biti i korelisani. Problem je takođe što kalibracija stope evolucije mt DNK počiva na nesigurnim biogeografskim ili fosilnim dokazima o vremenu razdvajanja određenih taksona.

Nekoliko hipotezi pokušalo je da objasni brzu evoluciju animalne mt DNK: a) slabljenje funkcionalnih ograničenja (mt DNK ne kodira proteine koji su direktno uključeni u njenu sopstvenu replikaciju i transkripciju i molekul koji proizvodi samo 13 tipova polipeptida ne mora da ima veliku preciznost procesa translacije); b) visoka stopa mutacije (zbog izvesne neefikasnosti mehanizma popravljanja DNK, intenzivnog izlaganja mutagenim slobodnim radikalima u oksidativnom mitohondrijalnom okruženju ili zbog brzog replikativnog obrta unutar ćelijske linije) i c) činjenica da je mt DNK ogoljena (nije združena sa histonskim proteinima koji su evolutivno konzervativni i mogu ograničiti brzine evolucije jedarne DNK). Navedene hipoteze nisu međusobno isključive. Nezavisno od uzroka, brza evolucija sekvenci bila je preduslov za primenu mt DNK kao molekularnog filogenetskog markera upotrebljivog u odgonetanju mikroevolucionih procesa.

Prvu značajnu mt DNK analizu publikovali su Brown i Wright (1975) – varijabilnost mt DNK sekvenci kod partenogenetskih guštera (rod *Cnemidophorus*). Kompletne sekvence mt DNK prvo su urađene za genom miša (Bibb i sar., 1981), čoveka (Anderson i sar., 1981) i govečeta (Anderson i sar., 1982). Otkriveno je, takođe, da mt DNK biljaka ne podleže istim pravilima kao animalna. Naime, kod biljaka, mt DNK brzo evoluirala na nivou gena, a sporo na nivou genskih sekvenci (Palmer, 1985).

Prve populacione studije mt DNK bile su revolucionarne iz najmanje dva razloga: Prvo, jedinke, a ne populacije, tretirane su kao Operacione Taksonomske Jedinice (eng. „Operational Taxonomic Units” – OTU) u populaciono genetičkoj analizi. Objašnjenje za ovakav pristup bilo je da svaka jedinka ima specifičan mt DNK haplotip nasleđen netaknut, odnosno bez intermolekulske genetičke rekombinacije, od ženske linije

predaka. Ovakvim pristupom izgubila se i opasnost od uzoračke greške na populacionom nivou, koja je bila prisutna u analizama učestalosti alela i genotipova dobijenih iz uzoraka ograničene veličine. Drugo, po prvi put su uvedeni eksplicitni filogenetski koncepti intraspecijske evolucije. Zbog aseksualne prirode mtDNK transmisije, filogenetska mt DNK stabla su hijerarhijski organizovana, čak i kod organizama koji se polno razmnožavaju. Dakle, putem analize mt DNK ne dobija se informacija o evolucionoj istoriji vrste, već pre o genealogiji konkretnih gena koji su odabrani za analizu, a što nam daje neke polazne informacije za otkrivanje genealogije taksona.

Naročito podobnim za filogeografske analize pokazao se kontrolni region mt DNK (CR) i to za raspon od hiljadu do deset hiljada godina. Ovaj region pokazuje brzu stopu supstitucije nukleotida, tri do pet puta bržu od ostatka mt DNK genoma i visok nivo intraspecijskog polimorfizma.

12.2. Teorija slivanja

Pod teorijom slivanja ili srastanja ili sjedinjavanja (eng. „coalescent theory”) podrazumevamo formalne matematičke i statističke analize genealogija gena unutar i između srodnih vrsta (Felsenstein, 1971; Griffiths, 1980; Hudson, 1998) koje povezuju populacionu demografiju i filogeografske obrasce unutar populacija, između populacija unutar iste vrste i između populacija koje pripadaju srodnim vrstama. Paralela je povučena sa istorijatom prezimena u ljudskoj kulturi. Dakle, bez obzira na realna ukrštanja i isprepletane srodničke odnose, prezime predstavlja jedinstvenu strukturu koja se prenosi preko muške linije (ako izuzmemo izuzetke). Prateći određeno prezime kroz generacije u prošlost, često nailazimo na njegove modifikacije, ali one ostaju u okviru jedne – u ovom slučaju muške - linije. Tako i mutacije mt DNK menjaju unekoliko njenu strukturu, ali se jasno uočava koje od njih su se pojavile ranije tokom evolucionarne istorije, jer pratimo samo jednu – žensku - liniju.

Ako svaka ženka u svakoj generaciji rodi samo jednu kćer, neće biti sortiranja linija, hijerarhijskog grananja niti slivanja, tj srastanja, tj sjedinjavanja. Međutim, u prirodi se ženke razlikuju po broju ženskih potomaka koje produkuju. Zbog toga intraspecijsko matrilinearno gensko stablo kontinuirano raste, pri čemu se uspešne grane

nadalje granaju, a neuspešne izumiru. Za maternalne linije, srednje vrednosti i varijanse reproduktivnog uspeha mere se ženskim potomcima.

Po teoriji slivanja, tj srastanja, tj sjedinjavanja, najstariji ženski predak u okviru jedne matrilinearne linije je zapravo najmlađi poznati predak (tj. pretkinja). Koncept te najmlađe poznate zajedničke pretkinje ne znači da je u tom istorijskom trenutku živela samo jedna ženka, već da mnoge druge ženke, njene savremenice, jednostavno nisu proizvele ženske potomke, ali su deo svog nuklearnog genoma, naravno, „deponovale” u ostvarenim muškim potomcima. Opstanak i izumiranje različitih matrilinearnih linija su nezavisni događaji. Mada, sredinski faktori mogu delovati tako da simultano intenziviraju ili uspore grananje mnogih matrilinearnih linija (klimatske promene, na primer); zatim, faktori zavisni od gustine populacije koji utiču na njenu regulaciju putem menjanja veličine porodica, svakako će uticati i na dinamiku procesa grananja i slivanja genskih linija. Rast populacije inhibira izumiranje linija i značajno povećava verovatnoću njihovog preživljavanja; obrnuto, u populaciji čija se brojnost dramatično smanjuje, verovatnoća opstanka pojedinačnih genskih linija se veoma smanjuje. Čak i kada je veličina populacije stabilna, varijansa reproduktivnog uspeha između ženki značajno utiče na dinamiku genskih linija. Ako je varijansa broja potomaka velika, ubrzava se proces sortiranja genskih linija i ubrzava se slivanje, jer genske linije koje preživljavaju potiču od malog broja majki.

Jedan od načina sagledavanja opšte demografske istorije populacije na osnovu podataka o genskom stablu podrazumeva analizu dve različite mere variranja haplotipa. Diverzitet haplotipova ($h = 1 - \sum f_i^2$, gde f_i predstavlja učestalost i-tog haplotipa) sumira informaciju o broju i učestalostima različitih alela jednog lokusa, bez obzira na odnose njihovih sekvenci. Diverzitet nukleotida ($p = \sum_i \sum_j f_{ij} p_{ij}$, gde je p_{ij} divergencija sekvence između i-tog i j-tog haplotipa) predstavlja divergenciju sekvence između jedinki u populaciji, ponderisanu u odnosu na veličinu populacije, bez obzira na broj haplotipova. Ako u populaciji h i p imaju male vrednosti (mali diverzitet), to je verovatno odraz produženog ili snažnog demografskog uskog grla koji se desio u skorije vreme. Visoke vrednosti h i p ukazuju na stabilnu populaciju sa velikom efektivnom veličinom populacije duži niz generacija, ili je to populacija restaurirana sekundarnim kontaktom. Visoke vrednosti h , a male p sugerišu brz rast populacije i predačku populaciju male

efektivne veličine, gde je proteklo dovoljno vremena da h poraste, ali ne dovoljno i za obnavljanje p . Obrnuto, male vrednosti h i velike vrednosti p sugerišu veliku predačku populaciju koja je pretrpela kratak efekat uskog grla, gde su mnogi haplotipovi izumrli, ali diverzitet nukleotidnih sekvenci nije značajnije narušen.

12.3. Filogenetske kategorije odnosa

U odnosu na majčinsku genealogiju, moguća su tri filogenetska obrasca: 1) recipročna monofilija, gde su sve preživle majčinske linije unutar svake populacije kćerki genealoški srodnije jedna drugoj nego bilo kojoj drugoj majčinskoj liniji u drugoj populaciji; 2) polifilija, gde se neke, ali ne sve, majčinske linije jedne grupe ugnježđuju sa nekim, ali ne svim, majčinskim linijama druge grupe, i formiraju jednu kladu i 3) parafilija, gde sve majčinske linije jedne populacije formiraju monofiletsku grupu ugnježđenu unutar majčinskih linija u drugoj potomačkoj populaciji. Pretpostavlja se da filogenetski status kćerki populacija predstavlja funkciju načina njihovog nastajanja, vremena proteklog od razdvajanja i veličine populacije.

Ako su osnivači dveju izolovanih kćerki populacija A i B izabrani po principu slučajnosti iz jednog dobro izmešanog predačkog genskog fonda, uobičajena hronologija događaja je da te populacije, posmatrano na nivou genskih genealogija, sukcesivno prolaze kroz stupnjeve polifilije i parafilije pre nego što eventualno dostignu status recipročne monofilije. Pod pretpostavkom da su geni selektivno neutralni, vreme provedeno nakon događaja razdvajanja u ovim tranzitnim stanjima jeste funkcija prevashodno efektivne veličine populacije kćerki populacija. Verovatnoća genealoške polifilije je velika kada je $G < N_{F(e)}$, odnosno kada je broj generacija nakon događaja razdvajanja (G) manji od efektivne veličine populacije kćerki. Recipročna monofilija A i B je izvesna kada je $G > 4N_{F(e)}$. U međuvremenu, kćerke populacije mogu biti polifiletske, parafiletske ili recipročno monofiletske, gledano kroz matrilinearnu filogeniju.

Pretpostavljamo da je predački genski fond bio filogeografski strukturiran i ako su novonastale kćerke populacije međusobno izolovane po istom obrascu po kome je bila

strukturirana predačka populacija, tada će kćerke populacije A i B biti u recipročnoj monofiliji. Međutim, ako se savremene barijere između A i B ne poklapaju sa prostornim obrascem strukturiranosti predačke populacije, tj diskordantne su, tada će A i B prvobitno biti polifiletske u odnosu na matrilinearnu predačku populaciju, odnosno postojaće nesaglasje između strukture populacionog i genskog stabla, koje će se kasnije možda transformisati u parafiliju, i recipročnu monofiliju, zavisno od toga koje linije u A i B će preživeti.

12.4. Neigelov pristup

Kada pokušavamo da analiziramo molekule koji brzo evoluiraju, kao što je animalna mt DNK, mutacije koje razdvajaju određene genske linije ne rasprostiru se uvek brzinama koje su dovoljne za održanje ravnoteže između protoka gena i genetičkog drifta. Neigelov pristup razmatra neravnotežan raspored genskih linija u okviru scenarija „izolacija putem distance”. Po ovome, stare genske linije trebalo bi da budu šire rasprostranjene od mladih, ako je disperzija ograničena. Ako smo analizirali uzorak parova mt DNK sekvenci čija je prostorna udaljenost poznata, a na osnovu molekularnog sata smo odredili G, onda možemo proceniti standardno udaljevanje putem disperzije u okviru jedne generacije. Ovim metodom je za miša *Peromyscus maniculatus* procenjena standardna disperzivna udaljenost od 200 m po generaciji za linije svih starosti. Primena metode hvatanja, markiranja i ponovnog izlovljavanja pokazala je da se jedinke uobičajeno pomeraju oko 250 m između mesta rođenja i reproduktivnih centara. Ovaj metod podrazumeva da su nezavisne potomačke linije uzorkovane po principu slučajnosti u odnosu na geografsku lokaciju. Međutim, većina uzorkovanja za genetičke studije je neslučajna, tj vezana za dostupnost lokaliteta. Zatim, neophodno je imati podatke o molekularnom satu.

12.5. Templetonov pristup

Na osnovu podataka o stanjima karaktera mt DNK haplotipova i primenom procedura statističke parsimonije konstruiše se neugnježđeni kladogram i dobija niz

ugnježdjenih klada u okviru genskog stabla. Zatim se računaju dva tipa distanci: 1) distanca između klada, D_c , definisana kao srednja prostorna udaljenost članova klade od geografskog centra te klade; 2) ugnježdjena distanca između klada, D_n , definisana kao srednja prostorna udaljenost članova ugnježdjene klade od geografskog centra te klade. Ove distance sumiraju obrasce prostornog rasprostiranja (disperzije). U odnosu na biološke karakteristike vrste, prostorne distance mogu biti pravolinijske ili, u slučaju obalnih vrsta, oblika rečnog toka. Jedna od prednosti statističkog dizajna ovog pristupa je što polazi od nulte hipoteze nepostojanja asocijacije između geografije i pretpostavljene strukture genskog stabla. Ako je u konkretnom slučaju nulta hipoteza oborena, analiziraju se potencijalni biološki uzroci postojanja asocijacija između geografije i filogenije.

Na primer, ograničeni protok gena između geografskih populacija može proizvesti značajno male vrednosti D_c , naročito za vršne klade. Sadašnja velika ekspanzija areala može biti registrovana kao statistički značajno velike vrednosti D_c vršnih klada. Kolonizacija na velike razdaljine, putem samo nekoliko propagula, vrste koja se odlikuje malim protokom gena, proizvešće heterogene vrednosti D_c vršnih klada, gde će nekoliko vrednosti biti značajno veliko, a ostatak će imati značajno male vrednosti. Međutim, u slučaju vrste sa visokom stopom protoka gena, a koja je prošla kroz alopatričnu fragmentaciju u prošlosti, očekivane su značajno velike D_c vrednosti za klade na niskom nivou, a značajno male vrednosti D_c za klade na višim nivoima.

12.6. Kategorije filogeografskih hipoteza

Krajem osamdesetih godina XX veka, dostupni molekularni filogeografski obrasci ukazivali su da su i istorijsko-biogeografski faktori i savremene ekološke i karakteristike ponašanja organizama imale važne uloge u oblikovanju genetičkih arhitektura savremenih vrsta. Ova saznanja uticala su na formiranje nekoliko intraspecijskih filogeografskih hipoteza, analognih tradicionalnim ekogeografskim pravilima (Alenovo, Bergmanovo, Glogerovo pravilo i Pravilo veličine legla):

1) Razgranato gensko stablo, glavne linije alopatrične - prostorno ograničene haplogrupe razdvojene relativno velikim mutacionim distancama. Moguća je i prostorna substrukturiranost među blisko srodnim genskim linijama unutar regiona. Često se

uočava prilikom filogeografskih pregleda mt DNK. Pretpostavlja se da postoje dugotrajne eksterne barijere. Genetičke razlike mogu odražavati akumulaciju *de novo* mutacija nastalih nakon razdvajanja, i/ili efekte sortiranja genskih linija iz veoma polimorfnog predačkog genskog fonda. Kod vrsta koje nemaju velike disperzivne sposobnosti i nivo protoka gena je nizak, izumiranje intermedijernih haplotipova može takođe doprineti nastajanju primetnih filogenetskih rasepa.

2) Razgranato gensko stablo, glavne linije široko simpatrične – izraženi su filogenetski rasepi između određenih grana u genskom stablu, ali su glavne genske linije rasprostranjene na širem prostoru. Teoretski, ovaj obrazac se može pojaviti kod vrste sa velikom evolucionom efektivnom veličinom populacije i visokom stopom protoka gena. Tako neke davno razdvojene genske linije mogu opstati po principu slučajnosti, dok su mnogi intermedijerni genotipovi izgubljeni tokom vremena usled postepenog sortiranja linija. Balansna selekcija može favorizovati dugotrajno opstajanje nekih haplotipskih linija (kao što je HLA sistem kod ljudi). Većina ovakvih obrazaca obuhvata zone sekundarno nastale mešavine između alopatrički nastalih populacija ili vrsta.

3) Nerazgranato gensko stablo, linije alopatrične – skoro svi ili svi haplotipovi su blisko srodni, ali su geografski razdvojeni. Pretpostavlja se da je savremeni protok gena niskog intenziteta u odnosu na veličinu populacije, pa se nije desilo sortiranje linija, niti je genetički drift ili diverzifikujuća selekcija mogao da proizvede genetičku diferencijaciju između populacija. Kategorija 3. prelazi u kategoriju 4. i 5. u zavisnosti od istorijskih nivoa protoka gena između konspecijskih populacija koje nisu bile razdvojene snažnim biogeografskim barijerama. Kategorija 3. može se nalaziti u okviru određenih podgrupa populacija grupe koja se nalazi u kategoriji 1.

4) Nerazgranato gensko stablo, linije simpatrične – obrazac karakterističan za vrste sa snažnim protokom gena i populacijama male efektivne veličine, koje nisu bile razdvojene snažnim biogeografskim barijerama. Primer je američka jegulja, *Anguilla rostrata*.

5) Nerazgranato gensko stablo, distribucije linija raznovrsne – ovaj obrazac se nalazi po svojim karakteristikama između kategorija 3. i 4. Zajedničke linije su široko rasprostranjene, a postoje i blisko srodne linije koje su „unikatne”, tj nalaze se samo na jednom ili nekoliko lokaliteta. Ovaj obrazac ukazuje na nizak ili umeren nivo

savremenog protoka gena između populacija koje su bile čvrsto povezane u prošlosti. Zajednički haplotipovi često su i pleziomorfni (pređački) unutar vrste, dok su retki haplotipovi izvedeni (apomorfni) i predstavljaju markere za savremene klade.