



TALLINNA TEHNIKAÜLIKOOL  
TALLINN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

Loodusteaduskond  
Keemia ja Biotehnoloogia instituut

**Eesti võsa- ja laanepuugi liikidevaheliste looduslike hübriidide  
määramine Lõuna-Eesti sümpaatrilisel alal**

Bakalaureusetöö

Sigrid Kirss

Juhendaja: Maria Vikentjeva, Tervise Arengu Instituut

Nooremteadur

Kaasjuhendaja: Mari Palgi, Tallinna Tehnikaülikool

Peaspetsialist

## Kokkuvõte

Eestis esineb piirkond, kus elulevad koos kaks puugi liiki - *Ixodes ricinus* ja *Ixodes persulcatus*, mille tõttu on võimalus liikidevaheliste hübriidide tekkeks. Siiani leitud puugi liigispetsiifilised haigustekitajad on kandunud üle teisele puugi liigile, mille ülemineku sillaks võivad olla hübriidid. Tekkinud on ka oht, et hübriid vektorina võib soodustada haigustekitajate geograafilist levikut, mistõttu on oluline tuvastada ning uurida puukide hübriide.

Käesoleva töö tulemuseks sai valmis uus, efektiivne, usaldusväärne ning tööks kõlblik qPCR meetod, mis võimaldab mitte ainult kinnitada morfoloogilist puugiliigi määramise tulemust ja määrata puugiliiki, vaid ka tuvastada kahe puugiliigi vahelised hübriide.

Morfoloogiline analüüs võib anda valesid tulemusi, sest liikidevahelised välimikutunnuste erinevused on minimaalsed või kattuvad ühe või teise liigiga. Antud töö käigus arendati välja sobiv meetod nii puugi hübriidide kui ka puugiliigi geneetiliseks määramiseks. Töös kasutati 2009. aastal Valgamaalt taimestikult korjatud puuke, kellelt eraldatud DNAGA sai teostada qPCR reaktsiooni. qPCR-is kasutati puukide genoomi ITS2 piirkonda, millele disainiti vastavalt, kas *I. ricinus* või *I. persulcatus* liigispetsiifilised proovid ning praimerite paar. Proovid olid märgistatud fluorofooriga, tänu millele oli võimalik määrata puhta puugiliigi olemasolu vastavalt sellele, kumb proov seondus DNAGA. Mõlema liigispetsiifilise signaali esinemine viitas hübriidi tuvastamisele. Käesoleva töö raames tuvastati kaks vale morfoloogilist analüüsi ning määrati kaheksa puugihübriidi.

qPCR reaktsiooni teostamiseks kasutatakse valmis reaktsioonisegusid, mida toodavad paljud firmad. Tulemused näitavad, et erineva tootjafirma valmissegudel on kas parem või halvem efektiivsus või mõni ei pruugi üldse toimida. Selleks, et teostada rutiinselt qPCR reaktsiooni, tuleb valida kõige parema efektiivsusega valmissegu.