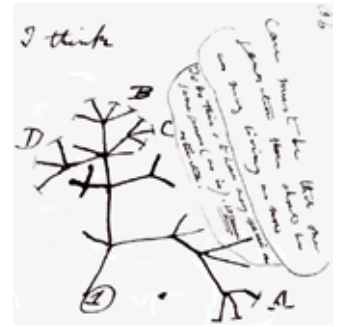


Evolutie gevat in bomen

Recente ontwikkelingen in de evolutiebiologie

door Nico M. van Straalen
Hoogleraar Dierecologie, Vrije Universiteit Amsterdam
n.m.van.straalen@vu.nl



De eerste die het concept van de evolutionaire ontwikkeling als de takstructuur van een boom introduceerde, was Charles Darwin. Dankzij DNA-onderzoek wordt deze 'stamboom van het leven' nu verder geperfectioneerd, maar het concept is hetzelfde gebleven.

In het jaar 2000 riep de Canadese paleontoloog Robert Carroll op tot een "nieuwe evolutionaire synthese", waarin de studie van fossielen gecombineerd wordt met de studie van de genetica (Carroll 2000). Hij was ervan overtuigd dat grootschalige evolutionaire gebeurtenissen zoals de Cambriëse explosie, waarbij een enorme diversiteit aan bouwplannen ontstond, niet alleen verklaard kunnen worden door het klassieke mechanisme van Darwin: natuurlijke selectie op kleine genetische verschillen. Als alternatief wees hij op veranderingen in de ontwikkelingsgenetica, zoals duplicaties van Hoxgenen, die een grote invloed hebben op de uiterlijke verschijningsvorm van een dier. Daarom was het nodig om meer te begrijpen van de biologische processen die veranderingen in het bouwplan bewerkstelligen. Sindsdien zijn er vele pogingen gedaan om de evolutionaire geschiedenis van het leven op aarde te reconstrueren vanuit het DNA van nu levende soorten. Zo is bijvoorbeeld de moderne hoofdindeling van de Bilateria (tweezijdig symmetrische dieren) in Lophotrochozoa (wormen, weekdieren, e.d.), Ecdysozoa (geleedpotigen, nematoden, e.d.) en Deuterostomia (stekelhuidigen, gewervelde dieren, e.d.) volledig gebaseerd op genetische gegevens (Knoll & Carroll 1999). Nu, in de tijd van de genoombiologie, waarin het uitlezen van DNA een enorme vlucht genomen heeft, is de genetische benadering de allerbelangrijkste geworden bij het reconstrueren van evolutionaire relaties. Moleculaire evolutiebiologie heeft zich ontwikkeld tot een aparte wetenschappelijke discipline met gespecialiseerde tijdschriften. Wat is eigenlijk het principe van fylogenetische reconstructie, wat zijn de beperkingen en hoe is deze benadering te rijmen met de studie van fossielen?

Principe van fylogenetische reconstructie

Fylogenie is de studie naar de ontstaansgeschiedenis van groepen organismen. Bij *fylogenetische reconstructie* wordt de fylogenie afgeleid uit kenmerken van nu levende organismen. Dat kunnen morfologische kenmerken zijn, maar steeds vaker kijkt men naar het DNA omdat daarin heel veel historische informatie opgeslagen ligt. Het uitgangspunt van een moleculaire fylogenetische reconstructie is een *alignment*, een serie 'uitgelijnde' DNA-sequenties van verschillende soorten die zodanig ten opzichte van elkaar heen en weer zijn geschoven dat hun basenpaarvolgorde maximaal

Mens	AAGCTTCACCGGCGCAGTCATTCTCATAAT
Chimp	AAGCTTCACCGGCGCAATTATCCTCATAAT
Gorilla	AAGCTTCACCGGCGCAGTTGTTCTTATAAT
Orang	AAGCTTCACCGGCGCAACCACCCTCATGAT
Gibbon	AAGCTTTACAGGTGCAACCGTCCTCATAAT

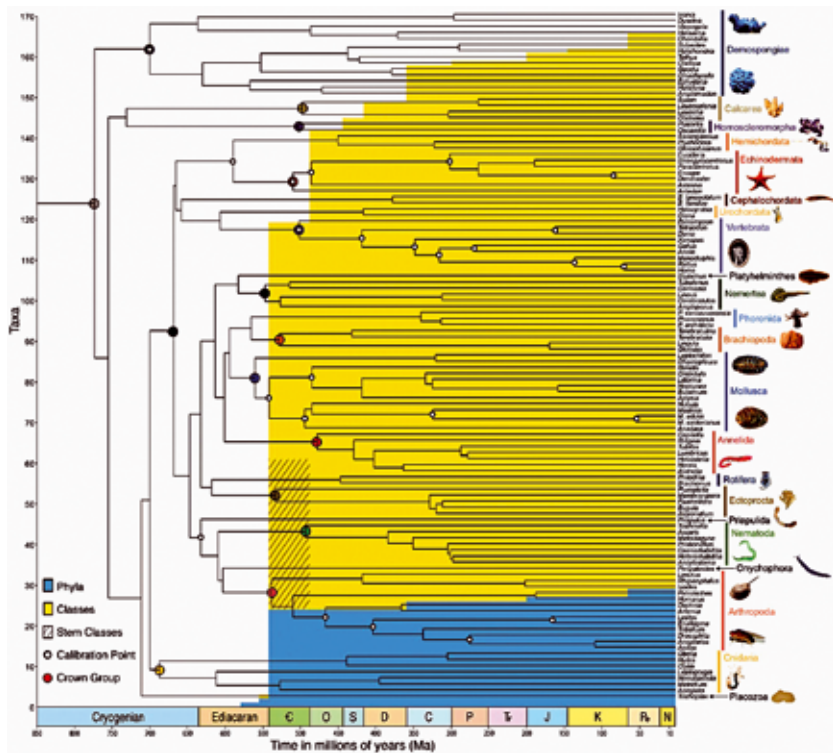
Afb. 1. Voorbeeld van een alignment van een DNA-sequentie van 30 posities in het mitochondriaal DNA van mens, chimpansee, gorilla, orang-oetan en gibbon. DNA is een polymeer, opgebouwd uit een zeer lange opeenvolging van vier verschillende nucleïnezuren die men aanduidt met de letters A, T, C en G (in chemische zin stikstofhoudende basen). Stukken DNA waarvan de sequentie grotendeels overeenkomt tussen soorten zijn homologe. Op basis van de verschillen in zulke homologe gebieden kan een fylogenetische boom gereconstrueerd worden. De posities bij mensapen die verschillen van de mens zijn aangegeven in rood. Sequenties van GenBank.

overeenkomt (afb. 1). Zo'n alignment vertegenwoordigt een stuk DNA dat *homoloog* is over de soorten. Met homologie wordt bedoeld dat de overeenkomsten tussen de sequenties veroorzaakt worden door het feit dat ze een gemeenschappelijke voorouder hebben.

In een alignment zijn er behalve veel overeenkomsten ook verschillen. Met die verschillen tussen soorten is een fylogenetische boom te maken. Namelijk, verschillen ontstaan via lukrake mutaties die met een vaste frequentie optreden. Naarmate er meer tijd overheen gaat accumuleren de verschillen. Twee sequenties die erg van elkaar verschillen maar toch homoloog zijn moeten een voorouder gehad hebben die ver in het verleden ligt. Twee soorten die op weinig posities van elkaar verschillen komen in de fylogenie dicht bij elkaar te staan. De reconstructie is er steeds op gericht van twee soorten een gemeenschappelijke voorouder te definiëren die afstamt van een voorouder voor een grotere groep van soorten. Hierbij wordt vaak het principe van *parsimonie* gebruikt: maak de boom zodanig dat het totaal aantal evolutionaire veranderingen zo klein mogelijk is. Een andere aanpak is de boom te zoeken die het beste aansluit bij een te toetsen hypothese, volgens het principe van *maximum likelihood*. Het maken van een fylogenetische reconstructie is een behoorlijke technische uitdaging. Het aantal mogelijke bomen loopt namelijk al gauw uit de hand met de lengte van de DNA-sequentie en het aantal soorten. Het is onmogelijk om alle mogelijke bomen te maken en dan te besluiten welke daarvan het beste met het optimalisatiecriterium overeenkomt. Tegenwoordig worden geavanceerde computerprogramma's gebruikt en supersnelle geclusterde systemen, die bovendien een schatting kunnen maken van de statistische betrouwbaarheid van de diverse splitsingen in de boom. Uiteraard zijn er ook vele beperkingen van de moleculaire aanpak. Zo blijkt het bijvoorbeeld niet correct te zijn te veronderstellen dat elke base naar elke andere met gelijke frequentie muteert, de snelheid van mutatie kan verschillend zijn in verschillende evolutionaire lijnen, en het blijkt nogal uit te maken welke DNA-sequenties en welke soorten men precies opneemt in de alignment. Door deze onzekerheden is er altijd discussie over de juistheid van fylogenetische reconstructies. Een bepaalde nieuwe reconstructie wordt meestal pas geaccepteerd als verschillende methodes op hetzelfde resultaat uitkomen. Ondanks deze beperkingen is de moleculaire fylogenie nu de dominante aanpak in de evolutiebiologie.

Match tussen moleculaire fylogenie en paleontologie

De vraag is nu: is de moleculaire-fylogenetische aanpak te rijmen met de paleontologie? Moleculaire fylogenie baseert zich geheel en al op DNA-sequenties van nu levende organismen. Is het terugredeneren vanuit het huidige DNA naar hypothetische voorouders van miljoenen jaren geleden wel



Afb. 2. Weergave van een fylogenie van het dierenrijk op basis van DNA-gegevens. Op de X-as zijn de geologische periodes aangegeven. De fylogenie laat zien dat de hoofdsplitsingen in het dierenrijk al optraden tijdens het Cryogeen. De toename van het aantal fyla (blauwe achtergrond) en klassen (gele achtergrond) is ook aangegeven. Uit Erwin et al. (2011) *Science* 334, 1091-1097. Overgenomen met toestemming van AAAS.

in overeenstemming met de vondst van fossielen? Hieronder bespreek ik twee casussen die laten zien dat die overeenstemming inderdaad bestaat.

Neem als eerste voorbeeld de evolutie van de mens zelf. Uit DNA-onderzoek blijkt dat de chimpansee de mensaapsoort is die het meest verwant is aan de mens. De verschillen tussen mens en chimpansee zijn trouwens maar weinig kleiner dan die tussen mens en gorilla. Kennelijk leefde de gemeenschappelijke voorouder van mens en chimpansee niet veel later dan de gemeenschappelijke voorouder van mens, chimpansee en gorilla. Vroeger, toen de moleculaire gegevens nog niet zo goed waren als nu, had men moeite om de splitsing tussen de mens en zijn twee naaste verwanten goed uit elkaar te houden, omdat ze vlak op elkaar volgen. Uit de genetische verschillen tussen de mensapen en de mens valt af te leiden dat de splitsing tussen de lijn die leidde naar de chimpansee en de lijn die leidde naar de mens 4-8 miljoen jaar oud is. Overduidelijk is dit in overeenstemming met fossiele vondsten: alle hominine fossielen, waaronder men nu niet minder dan 24 soorten schaaft, vallen in dit tijdvenster. Het oudste hominine fossiel is dat van de Tsaad-mens, *Sahelanthropus tchadensis*, en de leeftijd hiervan werd geschat op 6-7 miljoen jaar. Er zijn geen fossiele homininen gevonden ouder dan 8 miljoen jaar. Als dat wel het geval was geweest was er een serieus probleem ontstaan voor de fylogenetica.

Model van de 'lange lont'

Als tweede voorbeeld kunnen we de Cambrische explosie nemen. Moleculaire fylogenieën die het hele dierenrijk omvatten zijn gepubliceerd door verschillende auteurs; een recent voorbeeld is Erwin et al. (2011) (afb. 2). Hoewel er veel onzekerheid en discussie is over details – zo is bijvoorbeeld de positie van een groep als de Acoela nog steeds onduidelijk – is er wel consensus over de vroege evolutie van de dieren: de hoofdlijnen van het dierenrijk zijn in een relatief korte periode vóór het Cambrium ontstaan. Hoewel dit beeld consistent is met het feit dat er tijdens het Cambrium al een enorme diversiteit aan dierlijke levensvormen bestond, stelt het toch de Cambrische diversiteit in een iets ander licht: het Cambrium

zelf was niet de periode waarin die diversiteit ontstond. De DNA-gegevens wijzen erop dat omstreeks 700 miljoen jaar geleden, tijdens het Cryogeen, nog vóór het Ediacarium, de hoofdsplitsingen van het dierenrijk al optraden; vervolgens zijn deze lijnen uitgewaaid tot de enorme rijkdom aan fyla en klassen die we in de fossielen zien, vlak voor het Cambrium (afb. 2). Deze recente studies brengen dus een nuancering aan in de interactie tussen biologische en geologische processen bij het ontstaan van nieuwe evolutionaire lijnen. Het lijkt erop dat er vóór het Cambrium een lange periode verstrekken is waarin allerlei moleculaire reorganisaties optraden zonder dat er sprake was van grote divergenties in lichaamsvorm; daarna kwam er een periode van ecologisch succes waarin relatief plotseling een grote diversiteit aan lichaamsvormen kon ontstaan. Dit model van de "lange lont" lijkt ook van toepassing op de evolutie van de zoogdieren (Bininda-Emonds et al. 2007; Meredith et al. 2011).

De schok van het neanderthaler-genoom

In een enkel geval is men in staat geweest om DNA-monsters uit fossielen te isoleren, maar dit gaat niet verder dan het Pleistoceen. Het record staat op 100.000 jaar, een korte DNA-sequentie uit een neanderthalerkiek, gevonden in de Scladina-grot in België (afb. 3 en 4;

Orlando et al. 2006). Ook het uitlezen van het genoom van de wolharige mammoet, op basis van DNA-monsters van 20.000 en 60.000 jaar oud (Millar et al. 2008), heeft sterk de aandacht getrokken. Maar de grootste prestatie was toch wel het genoom van de neanderthaler (Green et al. 2010). Uit die analyse kwam de schokkende conclusie dat een klein deel van het genoom van *Homo sapiens* (2,5%) afkomstig is van de neanderthaler. Dit neanderthaler-signaal wordt alleen aangetroffen in Europeanen en Aziaten, niet in Afrikanen. Men dateerde de kruising tussen mensen en neanderthalers (hybridisatie) op 60.000 jaar geleden, wat klopt met de veronderstelde migratie van *Homo sapiens* uit Afrika: de hybridisatie is opgetreden nadat een deel van de *Homo sapiens*-populatie het Midden-Oosten koloniseerde, een gebied waar neanderthalers al eerder leefden. Alsof dat nog niet genoeg was volgde in hetzelfde jaar nog



Afb. 3. De foto geeft een articulerende boven- en onderkaak plus kiezen van het neanderthaler-fossiel uit de grot van Scladina, het zogenaamde 'kind van Sclyan'. Uit dit fossiel heeft men een DNA-monster verkregen van ongeveer 100.000 jaar oud. De (vrij korte) sequentie wijkt nogal af van de meer bekende DNA-sequenties van 30.000-40.000 jaar oud, wat suggereert dat de oudere neanderthalers genetisch meer divers waren dan de latere populaties vlak voor het uitsterven van de soort (Orlando et al. 2006). Foto: Centre archéologique de la grotte Scladina.



Afb. 4. Paleontologen aan het werk in de grot van Scladina, in Wallonië. Foto: Centre archéologique de la grotte Scladina.

een schokkende ontdekking: in de Denisova-grot van het Altai-gebergte in Siberië had men een DNA-monster weten te extraheren uit een humaan vingerkootje; dit DNA was zo verschillend van zowel mensen als neanderthalers dat men moest concluderen dat het alwéér een

nieuwe soort betrof (Reich et al. 2010). De fossiele kies, die op dezelfde plaats gevonden is, geeft de indruk van een zeer robuust uitgevoerde neanderthaler. Verder bleek dat DNA van deze Denisova-mens te vinden is in het genoom van de huidige Melanesiërs (4,8%). Dit wordt verklaard door een tweede hybridisatie, waarbij Denisova-mensen, die een verspreiding gehad moeten hebben buiten Siberië, wellicht tot in het huidige China, gekruist zijn met een groep *Homo sapiens* die later Nieuw-Guinea en de eilanden van de Stille Oceaan is gaan bewonen. In de huidige Chinezen wordt geen Denisova-signaal aangetroffen (afb. 5).

De conclusies over hybridisaties tussen neanderthalers en mensen zijn gebaseerd op het feit dat de variabele posities in het humane genoom van niet-Afrikanen meer overeenkomen met neanderthalers dan met Afrikanen. Er is echter



Afb. 5. Gereconstrueerde migratiepatronen van *Homo sapiens* en de mogelijke kruisingen (hybridisaties) met oudere mensensoorten, aangegeven met sterren: (1) de neanderthaler (60.000 jaar geleden) en (2) de Denisova-mens (40.000 jaar geleden). De groene cirkels geven de locaties van onderzochte *Homo sapiens*-monsters aan, de groene driehoekjes die van neanderthalers. Het gele vierkantje is de plaats van de Denisova-grot. Overgenomen met toestemming van Macmillan Publishers: *Nature* 468, 1044-1045 (C.D. Bustamante & B.M. Henn), copyright 2010.

ook een andere verklaring denkbaar, namelijk dat in de oude populatie van mensen in Afrika een onderverdeling bestond waarbij uit één groep de neanderthalers ontstonden en later de niet-Afrikaanse mensen, en uit de andere groep de huidige Afrikanen. Met fijnzinnige statistische methodes is deze laatste verklaring echter minder aannemelijk te maken (Yang et al. 2012).

Dat neanderthalers en Denisova-mensen kruisbaar waren

met *Homo sapiens* en vruchtbare nakomelingen hebben gekregen impliceert dat ze in biologische zin tot dezelfde soort gerekend moeten worden. Deze conclusie staat haaks op datgene wat jarenlang de heersende mening was, namelijk dat neanderthalers en mensen op basis van hun onderscheiden morfologie en culturele uitingen als twee verschillende soorten beschouwd moesten worden.

Conclusie

Fylogenetische reconstructie op basis van het DNA biedt een uitermate krachtig instrument voor de analyse van evolutionaire relaties. Omdat de moleculaire gegevens nog nooit een divergentie voorspeld hebben die valt ná een divergentie in de fossielen, is er overeenstemming tussen fylogenetica en paleontologie. Dit is tegelijkertijd een van de allersterkste argumenten voor de evolutietheorie als geheel: als twee zulke verschillende benaderingen als paleontologie en DNA-analyse tot vergelijkbare resultaten komen, kan er geen enkele twijfel zijn aan de theorie dat al het leven op aarde uit elkaar is ontstaan. Wel dateert de moleculaire benadering de divergenties soms behoorlijk vóór de radiaties in de fossielen, wat erop kan duiden dat voorafgaand aan de evolutie van nieuwe bouwplannen een lange periode van moleculaire reorganisatie nodig is, voordat een verandering in ecologische condities de gelegenheid geeft tot radiatie. Ten slotte heeft de moleculaire fylogenie een radicaal nieuw beeld geschetst van onze relaties met andere mensensoorten zoals de neanderthaler. Verdere samenwerking tussen paleontologen en genombiologen is nodig om antwoorden te vinden op de grote vragen in de evolutie van het leven op aarde.

Literatuur

- Bininda-Emonds, O.R.P., Cardillo, M., Jones, K.E., MacPhee, R.D.E., Beck, R.M.D., Grenyer, R., Price, S.A., Vos, R.A., Gittleman, J.L., & Purvis, A. (2007) The delayed rise of present-day mammals. *Nature* 446: 507-512.
- Bustamante, C.D. & Henn, B.M. (2010) Shadows of early migrations. *Nature* 468: 1044-1045.
- Carroll, R.L. (2000) Towards a new evolutionary synthesis. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 27-32.
- Erwin, D.H., Laflamme, M., Tweedt, S.M., Sperling, E.A., Pisani, D., & Peterson, K.J. (2011) The Cambrian conundrum: early divergence and later ecological success in the early history of animals. *Science* 334: 1091-1097.
- Green, R.E., Krause, J., Briggs, A.W., Maricic, T., Stenzel, U., Kircher, M., Patterson, N., Li, H., Zhai, W., Hsi-Yang Fritz, M., et al. (2010) A draft sequence of the neanderthal genome. *Science* 328: 710-722.
- Knoll, A.H. & Carroll, S.B. (1999) Early animal evolution: emerging view from comparative biology and geology. *Science* 284: 2129-2137.
- Meredith, R.W., Janecka, J.E., Gatesy, J., Ryder, O.A., Fisher, C.A., Teeling, E.C., Goodbla, A., Eizirik, E., Simão, T., Stadler, T., et al. (2011) Impacts of the Cretaceous terrestrial revolution and KPg extinction on mammal diversification. *Science* 334: 521-524.
- Millar, C.D., Huynen, L., Subramanian, S., Mohandesan, E., & Lambert, D.M. (2008) New developments in ancient genomics. *Trends in Ecology and Evolution* 23: 386-393.
- Orlando, L., Darlu, P., Toussaint, M., Bonjean, D., Otte, M., & Hänni, C. (2006) Revisiting Neanderthal diversity with a 100,000 year old mtDNA sequence. *Current Biology* 16: R400-R402.
- Reich, D., Green, R.E., Kircher, M., Krause, M., Patterson, N., Durand, E.Y., Viola, B., Briggs, A.W., Stenzel, U., Johnson, P.L.F., et al. (2010) Genetic history of an archaic hominin group from Denisova cave in Siberia. *Nature* 468: 1053-1060.
- Yang, M.A., Malaspina, A.-S., Durand, E.Y., & Slatkin, M. (2012) Ancient structure in Africa unlikely to explain neanderthal and non-African genetic similarity. *Molecular Biology and Evolution*, advance access, May 10, 2012.