

Een evolutionair raadsel: het dodelijke chromosoom 1 syndroom in *Triturus*-salamanders

Manon de Visser, James France, Willem Meilink & Ben Wielstra

Kam- en marmersalamanders zitten opgescheept met het dodelijke “chromosoom 1 syndroom”. Door deze afwijking heeft slechts de helft van de eieren een kans om uit te komen. De andere helft van alle eieren die gelegd worden, gaat hoe dan ook verloren tijdens de embryonale ontwikkeling. Dit fenomeen lijkt in strijd te zijn met de evolutietheorie, omdat natuurlijke selectie een afwijking die tot zo'n verspilling leidt juist tegen zou moeten gaan. Door het verrichten van genetisch onderzoek hopen we te achterhalen hoe een dergelijk funest syndroom tóch heeft kunnen ontstaan binnen de wetten van de evolutie.

Inleiding

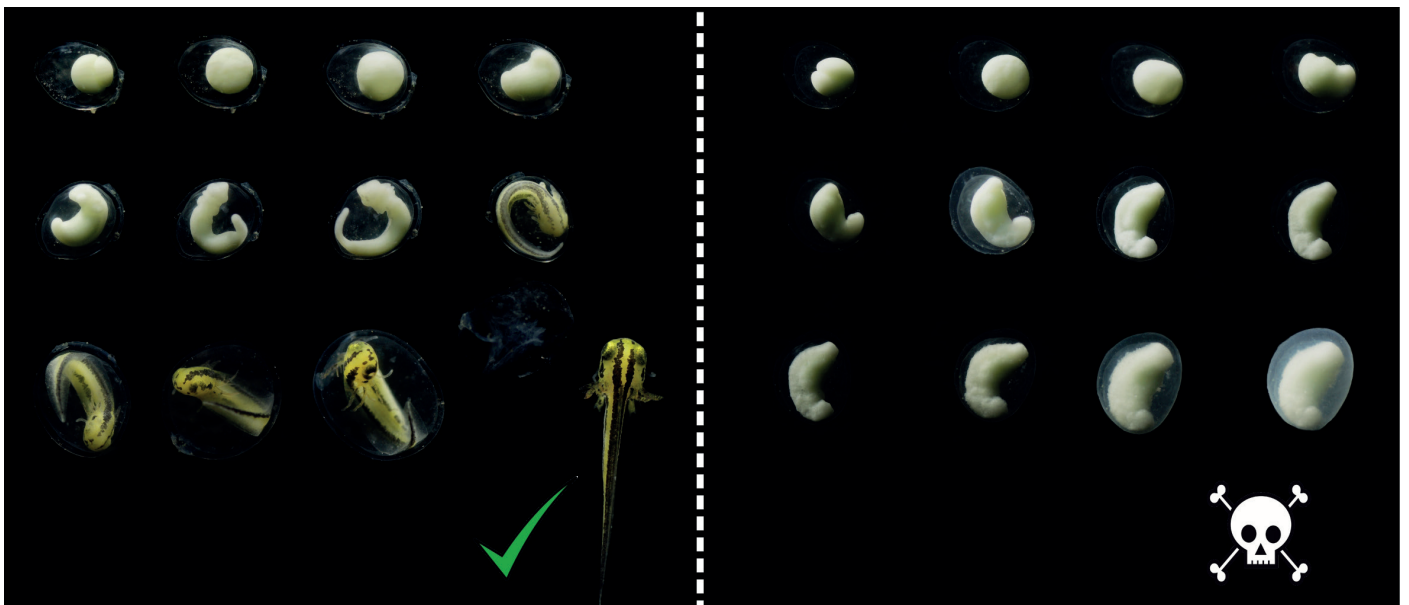
Volgens de evolutietheorie verkleint natuurlijke selectie de kans dat een dodelijke mutatie, die een cruciaal gen verstoort, aan de volgende generatie wordt doorgegeven (Darwin, 1859). Genetisch bepaalde ziektes worden op deze manier onderdrukt in natuurlijke populaties. De watersalamanders van het geslacht *Triturus* hebben echter te kampen met het zogenaamde ‘chromosoom 1 syndroom’ (Macgregor & Horner, 1980) waarbij 50% van de eieren niet uitkomt (figuur 1). Alle *Triturus*-soorten, dus zeven kamsalamander- en twee marmer-salamandersoorten, lijden aan het chromosoom 1 syndroom (Fahrbach & Gerlach, 2018).

Dit verschijnsel is een evolutionair mysterie dat wetenschappers al twee eeuwen bezighoudt. Mauro Rusconi was de eerste die inzag dat bij kamsalamanders de helft van de eieren halverwege de ontwikkeling stopt met groeien. Hij schreef in zijn nu tweehonderd jaar oude boek ‘Amours des Salamandres Aquatiques’ [het liefdesleven van watersalamanders] het volgende met betrekking tot de

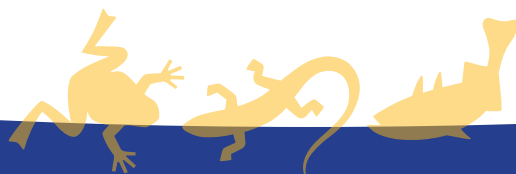
desbetreffende stadia van de embryonale ontwikkeling (vrij vertaald naar het Nederlands): “Hoewel deze periode het meest vermakelijk is voor een natuuronderzoeker om te bestuderen, lijkt het erop dat dit stadium gevaarlijk is voor de kleine embryo's zelf, aangezien vrijwel de helft op dit moment - of kort erna - sterft.” (Rusconi, 1821).

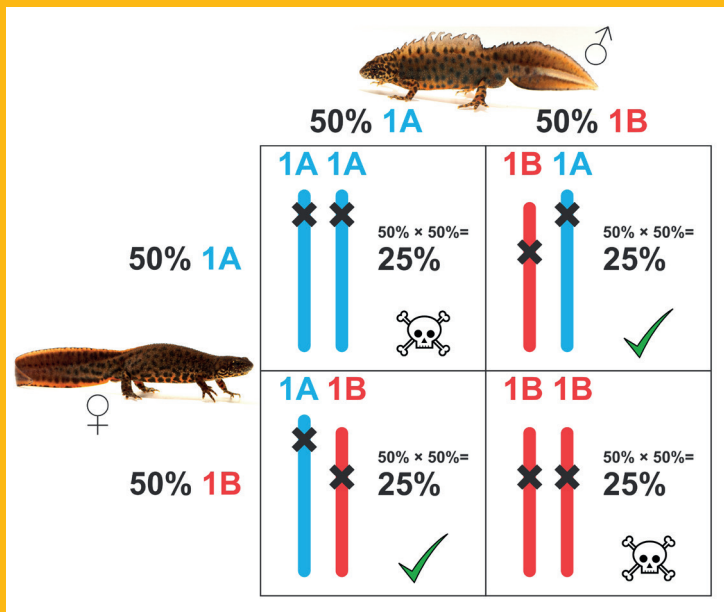
Balanced lethal system

Aan het chromosoom 1 syndroom ligt een zogenaamd ‘balanced lethal system’ ten grondslag (Wielstra, 2020). Chromosoom 1 is het langste paar chromosomen van de 12 paren die *Triturus*-soorten bezitten. Terwijl een normaal chromosomenpaar bestaat uit twee sterk gelijkende versies van een chromosoom, blijken er twee zeer verschillende versies van chromosoom 1 te bestaan in *Triturus*-salamanders (Callan & Lloyd, 1960). Een embryo heeft beide versies van chromosoom 1, ook wel chromosoom 1A en 1B genaamd, nodig om te overleven. Ze moeten dus heterozygoot zijn voor chromosoom 1. Homozygoten, die twee 1A- of juist twee 1B-versies bezitten, sterven (Macgregor & Horner, 1980).



Figuur 1. De helft van de eieren die gelegd worden door kam- en marmersalamanders (geslacht *Triturus*) komt niet uit. Van alle gelegde eieren vertoont 50% een succesvolle embryonale ontwikkeling (links), terwijl de andere 50% van de eieren halverwege de embryonale ontwikkeling stopt met groeien en uiteindelijk sterft (rechts). (Foto's: Michael Fahrbach)





Figuur 2. In een balanced lethal system overleven alleen heterozygoten. De twee verschillende chromosoom 1-versies bevatten unieke, dodelijke mutaties (kruisjes). Volwassen individuen bezitten altijd een 1A en 1B versie en geven één van de twee met een kans van 50% door aan een geslachtscel. Na de bevruchting zijn er vier combinaties mogelijk, elk met een kans van $50\% \times 50\% = 25\%$. De heterozygoten, waarin compensatie van de dodelijke mutaties plaatsvindt, overleven, terwijl beide typen homozygoten ten dode zijn opgeschreven. (Foto's: Michael Fahrbach)



Vanaf het paringsritueel (weergegeven op de foto) tot en met de ei-afzet: chromosoom 1 syndroom bij *Triturus*-salamanders vormt een evolutionair raadsel, aangezien veel energie gestopt wordt in het voortplantingsproces. (Foto: Michael Fahrbach)

Het genetische mechanisme werkt waarschijnlijk als volgt: beide versies van chromosoom 1 bezitten unieke, schadelijke mutaties in cruciale genen die niet op de andere versie aanwezig zijn. Er zijn dus twee zogenaamde 'allelen' (genvarianten) van deze cruciale genen: een dodelijk, niet functionerend allel en een gewoon, onaangestast allel. De dodelijke mutaties die aanwezig zijn op de 1A-versie van chromosoom 1 kunnen gecompenseerd worden door niet-gemuteerde, nog functionerende genen op de 1B-versie, en omgekeerd. De defecte en nog functionerende genen balanceren elkaar dan als het ware uit. Vandaar ook de Engelse term 'balanced lethal system'. Kortom: zolang een embryo beide versies van chromosoom 1 bezit, dus één 1A en één 1B heeft (ofwel, heterozygoot is), dan worden de dodelijke allelen onderdrukt. Echter, als een embryo twee keer dezelfde versie bezit en dus twee keer 1A, óf twee keer 1B heeft (ofwel, homozygoot is), dan gaat het mis.

Omdat alleen heterozygoten overleven, vindt een consistent verlies van 50% van de eieren plaats. Dat volgt uit de overervingswetten van Mendel. Het kruisen van twee heterozygote individuen, met het genotype '1A1B' of '1B1A', levert namelijk 50% heterozygote nakomelingen op. De overige 50% van de individuen zijn homozygoot: 25% eindigt met het genotype '1A1A' en 25% met '1B1B' (figuur 2). De heterozygoten hebben geluk en krijgen een kans op te groeien tot adult en zich voort te planten, terwijl beide typen homozygoten gedoemd zijn om te sterven in hun eitje (Macgregor & Horner, 1980). En elke generatie start deze macabere cyclus weer opnieuw. Wat een verspilling!

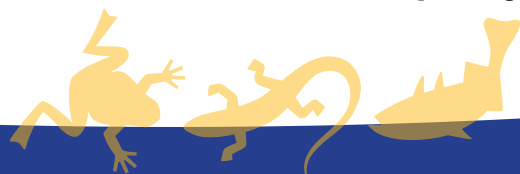
Miljoenen jaren geleden ontstaan

Alle *Triturus*-soorten worden getroffen door het chromosoom 1 syndroom, terwijl watersalamanders van het meest verwante geslacht *Lissotriton* er geen last van hebben (bijvoorbeeld de kleine watersalamander: *L. vulgaris* of de vinpoetsalamander *L. helveticus*, die beide in Nederland voorkomen). Daarom is het aannemelijk dat deze afwijking ontstaan is in een gemeenschappelijke voorouder van *Triturus*. Het systeem zit dus "vastgeroest" binnen *Triturus* en is al minstens 24 miljoen jaar oud (Steinfartz *et al.*, 2007; Rancilhac *et al.*, 2020).

Het chromosoom 1 syndroom is binnen de wetenschap hét klassieke voorbeeld van een balanced lethal system (Wielstra, 2020). Echter, naast watersalamanders zijn er ook andere organismen waarbij een soortgelijk fenomeen is waargenomen. Zo zijn er ook voorbeelden bekend bij insecten en planten (Grossen *et al.*, 2012). Ook hier speelt de aanwezigheid van twee versies van hetzelfde chromosoom een hoofdrol. Het feit dat balanced lethal systems dus voorkomen in zeer uiteenlopende taxonomische groepen, maakt het plausibel dat: 1) het telkens weer ontstaan ervan te verklaren moet zijn aan de hand van evolutionaire basisprincipes, en 2) het voorkomen ervan wellicht niet zo zeldzaam is als momenteel nog wordt gedacht. Maar hoe zou zo'n balanced lethal system dan kunnen ontstaan?

Onderdrukte recombinatie

Bij reguliere chromosomenparen vindt tijdens de productie van de geslachtscellen (ei- en spermacellen) 'recombinatie' plaats. Hierbij kan binnen één chromosomenpaar een gedeelte van het ene chromosoom



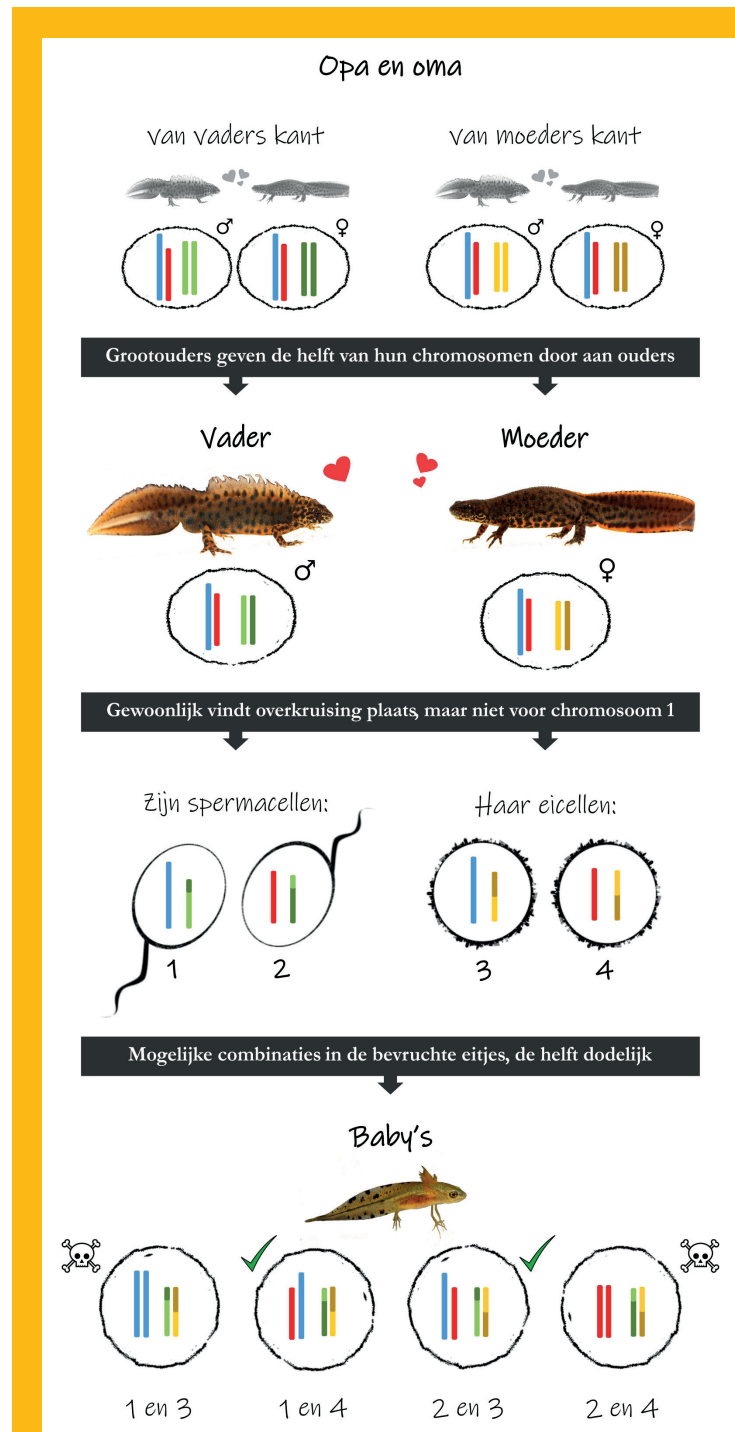
worden verwisseld met het equivalente gedeelte van het andere chromosoom, en vice versa. Deze uitwisseling wordt ook wel overkruising genoemd ('crossing-over' in het Engels) en dit gebeurt bij watersalamanders gemiddeld twee keer op één chromosoom per celdeling. Overkruising is van essentieel belang binnen de evolutie, omdat het ervoor zorgt dat er keer op keer chromosomen ontstaan met een unieke DNA-code. Vervolgens worden de chromosomenparen gesplitst ('segregation' in het Engels) en wordt er per paar één chromosoom doorgegeven aan elke geslachtscel. Recombinatie zorgt er dus uiteindelijk voor dat er bij de bevruchting unieke combinaties van chromosomen samenkomen in het nageslacht (figuur 3). Overkruising zou er in theorie voor kunnen zorgen dat niet-functionerende allelen op één van de twee versies van chromosoom 1 worden ingeruild voor functionerende allelen van de andere versie. Op die manier zou chromosoom 1 syndroom in één keer kunnen verdwijnen, want individuen met een gecorrigeerd chromosoom 1 zouden ineens twee keer zoveel nageslacht kunnen krijgen: een enorm selectief voordeel! Echter, overkruising vindt in *Triturus* niet plaats over een groot deel van chromosoom 1 (Wickbom, 1945; White, 1946). Dit wijst erop dat het verschil tussen chromosoom 1A versus 1B waarschijnlijk zó groot is dat ze elkaar niet meer als equivalent herkennen, waardoor overkruising onmogelijk is. Het gevolg is dat elke geslachtscel of chromosoom 1A of 1B bezit en nooit een mix van beide. En als een ei- en een spermacel die dezelfde versie van chromosoom 1 bezitten samenkomen, dan levert dit dus een niet levensvatbaar individu op (figuur 3).

Van 'supergen' tot 'bloopergen'

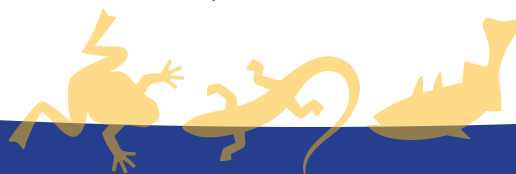
Onderdrukte overkruising wordt in de praktijk vaak gesignaleerd in zogenaamde 'supergenen'. Supergenen bestaan eigenlijk uit een groepje van genen die op een stuk chromosoom liggen en waarvan de allelen gezamenlijk, dus als één onopgebroken geheel, worden overgeërfd. Dat wil zeggen: ze zijn aan elkaar 'gelinkt'. Er bestaan altijd ten minste twee versies van een supergen, ieder met een eigen set allelen voor de betrokken genen. Dat zorgt ervoor dat de allelen op elk supergen tezamen kunnen evolueren en dit kan daarom leiden tot complexe adaptaties, vandaar ook de naam: 'super'gen. De individuen die heterozygoot zijn voor een bepaald supergen kunnen een selectief voordeel hebben ten opzichte van individuen die homozygoot zijn. In dat geval is er sprake van een zogenaamde 'balancerende selectie', met als resultaat dat de twee supergenversies over de generaties heen behouden kunnen blijven (Schwander *et al.*, 2014).

Supergenen zijn super, maar ze brengen ook een nadeel met zich mee. Omdat overkruising tussen verschillende supergenvarianten niet plaats kan vinden binnen heterozygoten, kunnen nieuwe, schadelijke mutaties die de kop opsteken maar moeilijk verwijderd worden. Wat volgt is een langzame opeenhoping van schadelijke mutaties. In de evolutionaire genetica wordt dit verschijnsel 'Muller's Ratchet' genoemd. In heterozygoten kan een nog functionerend allel op de andere supergenvariant de schadelijke mutatie natuurlijk nog compenseren. Maar als beide supergenen unieke dodelijke allelen accumuleren, dan is geen enkele homozygoot meer levensvatbaar. Ofwel: een balanced lethal system, waarbij alle homozygoten gedoemd zijn te sneuvelen, is geboren.

De supergenen leverden dus waarschijnlijk aanvankelijk een evolutionair voordeel op, maar omdat de opeenhoping van nadelige mutaties zo uit de hand liep, was een onomkeerbaar, dodelijk



Figuur 3. Chromosomenparen wisselen gewoonlijk DNA uit, maar chromosoom 1 in het geslacht *Triturus* is hierop een uitzondering. Wanneer vaders en moeders sperma en eicellen produceren, vindt er normaal gesproken overkruising plaats van de chromosomen van opa's en oma's (getoond voor één chromosomenpaar, weergegeven met twee tinten groen of geel voor de grootouders van de kant van de vader en moeder). Tussen de twee versies van chromosoom 1, 1A (rood) en 1B (blauw), vindt echter geen overkruising plaats: een ei- of spermacel kan of 1A of 1B ontvangen, maar nooit een mix van beide. (Foto's: Michael Fahrback)



syndroom het eindresultaat. En zodra een balanced lethal system gefixeerd is binnen een soort, is er geen ontkomen aan. In dit geval is er dus een omslagpunt geweest waarbij ‘supergenen’ als het ware veranderd zijn in ‘blooprogenen’. Het doet op een bepaalde manier denken aan de perikelen van Koning Midas uit de Griekse mythologie, die koos om alles wat hij aanraakte te laten veranderen in goud: op de korte termijn leek dit een goed idee, maar op de lange termijn bleek het een drama.

DNA-onderzoek zal de puzzel oplossen

Wetenschappers hebben alleen nog kunnen kijken naar de globale ontwikkeling van *Triturus*-embryo's in het ei en naar het 'karyotype' (oftewel de algehele vorm van de chromosomen) van deze watersalamanders. Dieper gaan dan dat door middel van DNA-onderzoek was tot voorheen vrijwel onmogelijk. Met moderne DNA-sequencingstechnieken moet het echter mogelijk zijn om te achterhalen welke genen verantwoordelijk zijn voor de catastrofe die zich afspeelt in de helft van de *Triturus*-eieren.

Door het genoom van *Triturus*-soorten te vergelijken met dat van andere salamandersoorten die niet te lijden hebben onder het chromosoom 1 syndroom, zoals *Lissotriton*-soorten, kan ontdekt worden welke dodelijke mutaties precies verborgen liggen in het *Triturus*-DNA. Aan de hand van de evolutionaire afstammingsgeschiedenis kan vervolgens ook worden “teruggerekend” hoe chromosoom 1 eruit moet hebben gezien in de voorouder van alle kam- en marmersalamanders, voordat het syndroom ontstond.

Door te achterhalen hoe het chromosoom 1 syndroom is geëvolueerd, wordt hopelijk duidelijk hoe een balanced lethal system – terwijl het evolutionair onmogelijk lijkt – toch gevormd kan worden door standaard evolutionaire processen.

Summary

An evolutionary mystery: the deadly chromosome 1 syndrome in *Triturus* newts

Crested and marbled newts (genus: *Triturus*) are stuck with a the deadly 'chromosome 1 syndrome', which is caused by lethal, genetic mutations. The syndrome is a result of a so-called balanced lethal system. Normally, natural selection will suppress lethal mutations. However, in a balanced lethal system unique, recessive lethal mutations exist on two different versions of a chromosome. These two versions compensate for one another: a functional gene copy on one chromosome type masks the damaged gene present on the other chromosome type, and vice versa. This way, the two different types of chromosome are both required to survive. Because all homozygotes die, this leads to a reproductive output that is cut in half, each generation. The *Triturus* newts are not the only organisms that suffer from such a wasteful system, as similar syndromes have been described in insects and plants. This is an evolutionary paradox: why would something so disadvantageous evolve time and again? Modern DNA-sequencing techniques allow us to



Levensvatbaar *Triturus*-embryo in ei.
(Foto: Michael Fahrbach)

compare *Triturus* DNA with that from newt species that do not suffer from chromosome 1 syndrome, to try and decipher the genetic basis of the syndrome. This will help us understand how balanced lethal systems repeatedly evolve in nature by the 'hijacking' of standard evolutionary processes.

Literatuur

- Callan, H.G., & L. Lloyd, 1960. Lampbrush chromosomes of crested newts *Triturus cristatus* (Laurenti). Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences 243(707): 135-219.
- Darwin, C. On the origin of species. (John Murray, 1859)
- Fahrbach, M., & U. Gerlach, 2018. The genus *Triturus*: History, biology, systematics, captive breeding. Frankfurt am Main, Germany: Edition Chimaira.
- Grossen, C., S. Neuenschwander & N. Perrin, 2012. The balanced lethal system of crested newts: A ghost of sex chromosomes past? American Naturalist 180(6): E174-E183.
- Macgregor, H.C. & H. Horner, 1980. Heteromorphism for chromosome 1, a requirement for normal development in crested newts. Chromosoma 76(2): 111-122.
- Rancilnac, L., Irisarri, I., Angelini, C., Arntzen, J.W., Babik, W., Bossuyt, F., M., Künzel, S., Lüddecke, T., Pasmans, F., Sanchez, E., Weisrock, D., Veith, M., Wielstra, B., Steinfartz, S., Hofreiter, M., Philippe, H., Vences, M., 2021. Phylotranscriptomic evidence for pervasive ancient hybridization among Old World salamanders. Molecular Phylogenetics and Evolution 155: 106967.
- Rusconi, M., 1821. Amours des salamandres aquatiques: et developpement du tetard de ces salamandres depuis l'oeuf jusqu'a l'animal parfait. Milan: Paolo Emilio Giusti.
- Schwander, T., R. Libbrecht & L. Keller, 2014. Supergenes and complex phenotypes. Current Biology 24(7): R288-R294.
- Steinfartz, S., S. Vicario, J.W. Arntzen & A. Caccione, 2007. A Bayesian approach on molecules and behavior: Reconsidering phylogenetic and evolutionary patterns of the Salamandridae with emphasis on *Triturus* newts. Journal of Experimental Zoology. Part B, Molecular and Developmental Evolution 308B: 139-162.
- White, M.J.D., 1946. The spermatogenesis of hybrids between *Triturus cristatus* and *T. marmoratus* (Urodela). The Journal of Experimental Zoology 102(2): 179-207.
- Wickbom, T., 1945. Cytological studies on Dipnoi, Urodela, Anura and Emys. Hereditas, 31(3-4): 241-346.
- Wielstra, B., 2020. Balanced lethal systems. Current Biology 30(13): R742-R743.

Manon de Visser

Institute of Biology Leiden, Leiden University
Naturalis Biodiversity Center, manon.devisser@naturalis.nl

James France

Institute of Biology Leiden, Leiden University
Naturalis Biodiversity Center, james.france@naturalis.nl

Willem Meilink

Institute of Biology Leiden, Leiden University
Naturalis Biodiversity Center, w.r.m.meilink@biology.leidenuniv.nl

Ben Wielstra

Institute of Biology Leiden, Leiden University
Naturalis Biodiversity Center, ben.wielstra@naturalis.nl

