

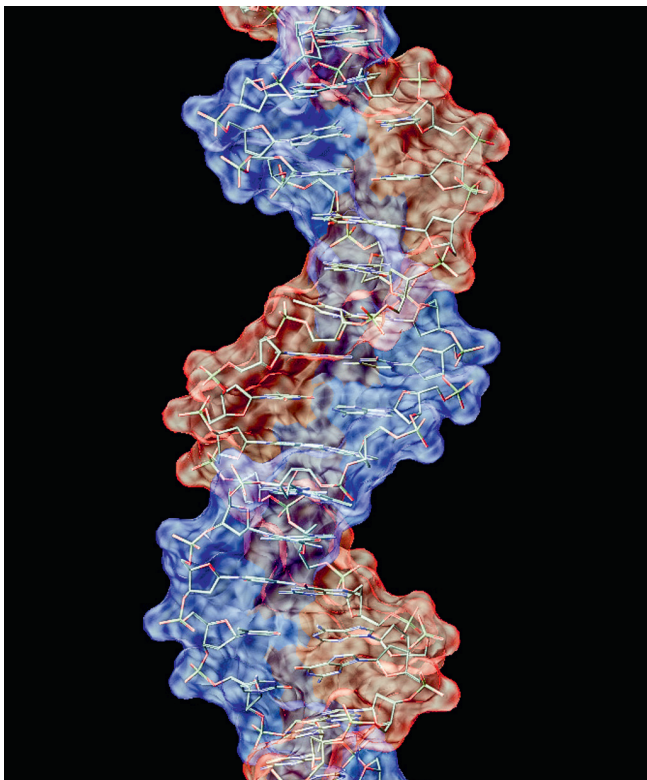
Wroeten in het DNA

Eilandevolutie van zwijnen

door Mirte Bosse

mirte.bosse@wur.nl

Het ontrafelen van genetisch materiaal van dieren en mensen leidt steeds vaker tot spectaculaire inzichten. Zo zijn evolutiebiologen tegenwoordig in staat te berekenen hoe lang geleden twee soorten van een gemeenschappelijke voorouder zijn afgesplitst. En uit het DNA van een enkel individu kunnen zij zelfs aflezen hoe groot de populatie in een ver verleden is geweest. Onderzoekers van het genoom kunnen zo zien of het goed of juist slecht ging met een populatie en dit bijvoorbeeld in verband brengen met een ijstijd of met andere geologische aspecten zoals eilandisolatie, in een periode wanneer de zeespiegel hoog was.



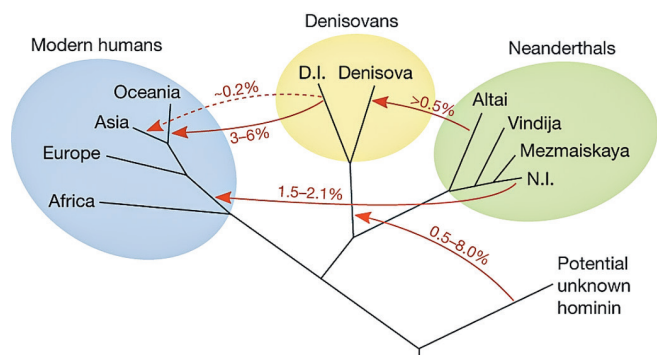
▲ Afb. 1. Weergave van DNA. Bron: Ynse via Wikimedia Commons CC BY-SA 2.0.

Graven in het genoom

Als geoloog bent u waarschijnlijk gewend aan het (soms letterlijk) doorspitten van de aarde, om meer inzicht te krijgen in zijn geschiedenis. Ikzelf ben evolutionair geneticus. Dit klinkt als een totaal andere discipline, maar er zijn opmerkelijke overeenkomsten. Zo graaf ik mij dagelijks een weg door een gigantische hoeveelheid DNA, om vragen te kunnen beantwoorden over de geschiedenis van de eigenaar.

DNA, ons erfelijk materiaal, is een lange sliert nucleotiden (afb. 1) – in principe allemaal A,C,G of T. Elke cel in ons lichaam heeft deze genetische code, en al die informatie samen noemen we ‘het genoom’, een sliert van ongeveer drie miljard letters. Dat klinkt eigenlijk heel makkelijk – en dat is het ook! Het duurt alleen lang om die specifieke reeks van letters achter elkaar in kaart te brengen. Voor de mens is dat in het jaar 2000 gelukt, en sindsdien zijn honderden planten en dieren gevolgd. Maar wat kunnen we nou eigenlijk met die code?

De volgorde van die nucleotiden bevat informatie. De bekendste informatie is een gen – dit is een specifieke volgorde van nucleotiden die afgelezen kan worden door een daarvoor bestemde machine in een cel, die de code van het gen omzet in een eiwit. En eiwitten fungeren als de werkpaarden in een cel, die kunnen allerlei verschillende functies uitoefenen. Dit omzetten van de DNA-code naar een werkend eiwit noemen we genexpressie. Een menselijk genoom bevat ongeveer 20.000 genen. Maar buiten de daadwerkelijke genen in ons DNA, dus de stukken die de vertaalslag maken van code tot eiwit, zit er nog veel méér informatie in. Naar schatting is maar ongeveer 2% van ons DNA coderend voor een gen – wat betekent dat er 98% overblijft. Vroeger werd er gedacht dat dit stuk DNA geen functie had, het werd junk-DNA genoemd. Maar inmiddels weten we wel beter! Het niet-coderende deel DNA zit vol met regulatoire elementen, die er bijvoorbeeld voor kunnen zorgen dat het machientje dat een gen wil aflezen wel of niet bij de startpositie van het gen kan komen. Het DNA is dus één lange sliert van codes met daarin erg belangrijke stukken – de genen – maar ook minder belangrijke stukken. Maar wat precies de functie van de afzonderlijke stukken is, weten we nog steeds niet.



▲ Afb. 2. Door het genoom van *Homo sapiens* te vergelijken met het genoom van de Neanderthaler en Denisovan-mens kwam men tot de conclusie dat *Homo sapiens* 400.000 jaar geleden is afgesplitst van de gemeenschappelijke voorouder van beide andere soorten. In het schema is ook de uitwisseling van genen weergegeven. Bron: UC Berkeley.

Erfelijkheid en variatie van DNA

Het genoom, of ons DNA, bevat dus waardevolle erfelijke informatie (afb. 2). U kunt het vergelijken met een kookboek; elk organisme heeft eigenlijk een soort kookboek op microschaal in zijn lichaam zitten in de vorm van zijn DNA. In principe staat er in het DNA precies beschreven hoe het organisme eruit komt te zien.

Mensen en bijna alle dieren zijn diploïd: van het volledige

genoom hebben we twee kopieën in onze cellen: één afkomstig van de vader en één afkomstig van de moeder. Dit lijkt misschien een beetje dubbelop, maar juist het hebben van die twee kopieën is essentieel voor de diversiteit van het leven zoals wij het kennen. De nucleotiden in de twee kopieën (van de vader én de moeder) komen voor 99,9% overeen, maar ongeveer één op de duizend basenparen zijn anders. Dit noemen we puntmutaties, of SNPs (single nucleotide polymorphisms). Bij het krijgen van nakomelingen wordt het recept voor dit uiterlijk zo precies mogelijk overgeschreven om het door te geven aan de volgende generatie, dat is erfelijkheid. Dat doorgeven moet heel secuur gebeuren, want te veel foutjes vergroten de kans dat belangrijke genen niet meer goed werken. Er is dan ook een prachtig ingewikkeld systeem bij betrokken dat ervoor zorgt dat het doorgeven aan de volgende generatie zo foutloos mogelijk gebeurt. Zoals u wellicht weet, komt DNA in de cel voor als een dubbele helix - deze structuur maakt het DNA stabiel en voorkomt dat er zomaar een nucleotide tussenuit floept. In elke cel in ons lichaam is het erfelijk materiaal (DNA) vrijwel gelijk, maar er zijn wat subtiele verschillen. Zoals hierboven al aangegeven, gaat er bij het kopiëren soms iets fout (puntmutaties). Die kleine verschillen zorgen voor de noodzakelijke variatie. Variatie kan neutraal zijn, maar soms ook leiden tot selectie. Variatie kan er in dat geval voor zorgen dat individuen verschillen in hun reproductiesucces. Dit succes begint met verschillen in het DNA!

DNA lezen als geschiedenisboek

Sommige mutaties zijn nadelig, heel soms zijn ze voordelig; in beide gevallen is dit de basis voor natuurlijke selectie. De meeste mutaties zijn niet per se positief of negatief is - ze zijn aanwezig, that's it.

Deze 'neutrale' mutaties bevatten echter wél relevante informatie voor ons, evolutiebiologen. Ze kunnen gelezen worden als een geschiedenisboek, zoals rotstekeningen die achtergebleven zijn uit een ver verleden.

Ik vergelijk het genoom graag met een geschiedenisboek, omdat het enorm veel informatie bevat over de geschiedenis van een soort. Zo kunnen we DNA-onderzoek gebruiken om meer te weten te komen over verwantschappen tussen soorten. Oké, je hebt geen DNA nodig om te zien dat olifanten en neushoorns verschillende soorten zijn, maar dat wordt al gauw anders wanneer je je op een specifieke tak in de evolutionaire boom begeeft.

Zo weten we dankzij DNA-studies inmiddels veel over de verwantschap tussen verschillende typen Aziatische olifanten. Afb. 3. Al miljoenen jaren bewonen deze iconische dieren Zuidelijk Azië, maar over de verschillen tussen olifanten uit bijv. India en Maleisië is nog veel onduidelijk, en voor natuurbeschermingsorganisaties is dit soort kennis belangrijk. De verwantschap tussen olifanten uit Sri Lanka, India, Borneo en Sumatra kunnen we op basis van DNA heel makkelijk kwantificeren, door de reeksen van A,T,C en G'tjes van alle soorten met elkaar te vergelijken.

De 'soorten' die genetisch het meest op elkaar lijken, hebben een meer recente gemeenschappelijke voorouder gedeeld dan de soorten die heel veel verschillen hebben tussen hun genomesequentie. De tijd die is verstreken sinds

die gemeenschappelijke voorouder bepaalt namelijk hoeveel van de puntmutaties er zijn opgetreden. Zo kunnen we zowel de verwantschappen schatten en ook terugrekenen hoe lang geleden die gemeenschappelijke voorouder geleefd heeft. Of om in biologische termen te spreken: hoe diep de splitsing tussen verschillende soorten ongeveer is. De frequentie waarmee een random mutatie in een genoom optreedt, is namelijk vrij constant. Als we deze frequentie kennen, kunnen we aan de hand van het aantal verschillen precies terugrekenen hoeveel generaties terug de gemeenschappelijke voorouder leefde!



▲ Afb. 3. Genetisch onderzoek heeft uitgewezen dat de (bedreigde) Borneo-olifant (ofwel de Borneo pygmy elephant) een ondersoort is van de Aziatische olifant. Bron: Manojiritty via Wikimedia Commons CC BY-SA 4.0.

Deze techniek van de 'moleculaire klok' wordt veel gebruikt door genetici en heeft ook overeenkomsten met bijv. dateringsmethodes om de ouderdom van gesteente of gebruiksvoorwerpen te schatten (bijv. de halfwaardetijd van radioactieve materialen, red.). De moleculaire klok laat ons zien dat olifanten van het Aziatische vasteland honderdduizenden jaren geïsoleerd moeten zijn geweest van olifanten op de eilanden; dit kan gevolgen hebben voor het beheer en zelfs voor het vaststellen van (nieuwe) soorten.

Populatiegrootte berekenen

Zoals we de genomesequentie van verschillende soorten met elkaar kunnen vergelijken, zo kunnen we ook kijken naar variatie binnen een soort, of zelfs naar variatie binnen een individu. Eén van de mooiste ontwikkelingen binnen de moderne genomica vind ik dat we op basis van

de genomesequentie van één individu de populatiegrootte tot ongeveer één miljoen jaar geleden kunnen berekenen! Dat klinkt fantastisch toch? Maar hoe werkt dat dan?

In principe kunnen de twee kopieën van het genoom van één individu (afkomstig van de vader en de moeder) gezien worden als twee random samples (willekeurige combinaties) uit een populatie als de ouders niet verwant zijn aan elkaar. De verschillen in het DNA tussen de kopieën van beide ouders zijn representatief voor de verschillen tussen individuen binnen de gehele populatie (ervan uitgaande dat de partnerkeuze willekeurig is).

Het aantal verschillen tussen twee soorten is een indicatie voor de tijd sinds dat beide soorten zijn afgesplitst van de gemeenschappelijke voorouder. Maar er is nog een andere factor die de genetische variatie bepaalt: de grootte van een populatie.

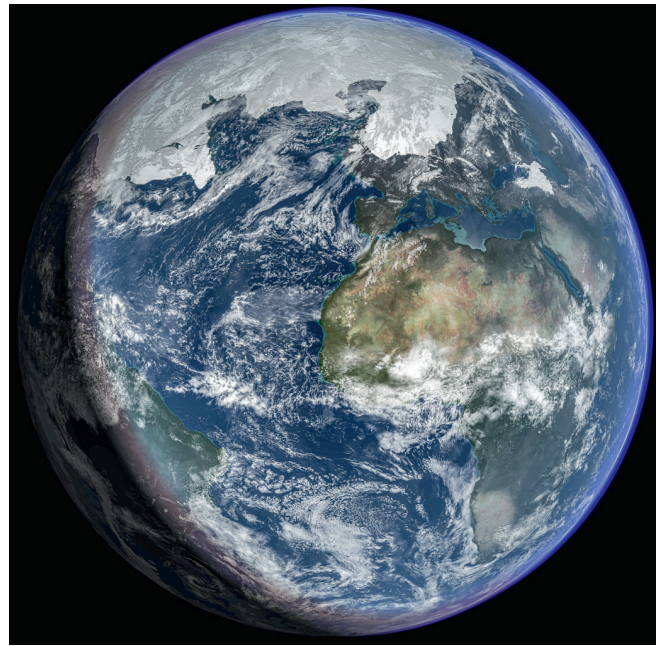
U kunt zich voorstellen dat er in een zeer kleine populatie van slechts enkele dieren minder genetische variatie is dan in een grote populatie van vele duizenden dieren. In een grote populatie komen simpelweg omdat er meer individuen zijn, veel meer mutaties voor. Bovendien worden er door recombinatie (de herschikking van de genetische code) veel unieke combinaties van die verschillende aanwezige mutaties gevormd. U kunt het vergelijken met een bepaald gerecht dat wereldwijd geserveerd wordt, waardoor er gigantisch veel verschillende varianten van dat gerecht te vinden zijn. Als een gerecht alleen in één bepaalde streek voorkomt, zullen ze daarentegen niet erg veel van elkaar verschillen.

Samengevat: de genetische variatie hangt zowel af van de tijd sinds de gemeenschappelijke voorouder, de mutatiesnelheid en de populatiegrootte. Als we de mutatiesnelheid én de genetische variatie kennen, kunnen we dus terugrekenen hoe groot de populatie was op basis van de hoeveelheid mutaties die we zien tussen de twee kopieën (erfelijk materiaal van moeder en vader) van het genoom in één individu.

De voetafdruk van de laatste ijstijd

Sinds de uitvinding van deze methode (in 2011) is de berekening van de populatiegrootte op veel diersoorten toegepast, met als resultaat dat er in meerdere soorten een vergelijkbaar patroon te zien is! Zo zien we in panda's, tijgers, wilde zwijnen én *Homo sapiens* dat er rond 40.000 jaar geleden een sterke afname is geweest in de populatiegrootte. Wat onze soort betreft, is deze afname groter in Aziatische en Europese populaties dan in Afrika. Als we naar de beschikbare habitat kijken in die tijd, is dit niet zo verwonderlijk. Want 40.000 jaar geleden valt precies samen met het hoogtepunt van de laatste ijstijd, waarbij grote delen van Europa en Azië volledig bedekt waren met ijs. Afb. 4.

We zien een wonderlijk patroon als we naar de populatiegrootte van de beroemde Galapagos-vinken kijken. Daar is namelijk sprake van een flinke toename van de vinkenpopulaties. Tijdens de ijstijden daalde de zeespiegel flink, zodat het oppervlak van deze eilanden in die tijd vee; groter is geweest. Meer beschikbaar land voor deze vinken heeft tot een grotere populatie geleid!

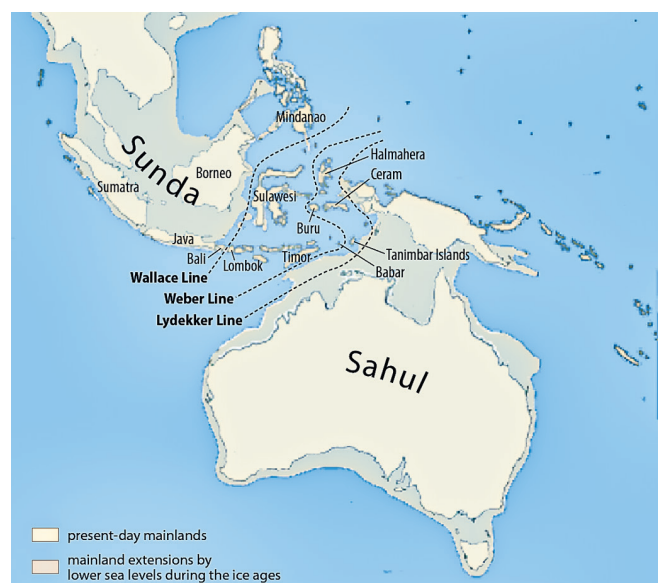


▲ Afb. 4. Tijdens de ijstijden nam de leefruimte voor dieren af, maar tegelijkertijd door de lagere zeespiegel ook toe in kustgebieden en op eilanden. Bron: Ittiz via Wikimedia Commons CC BY-SA 3.0.

DNA-onderzoek kan ook bijdragen tot het beter definiëren van soortgrenzen. Vroeger spraken we over verschillende soorten indien er geen vruchtbare nakomelingen geproduceerd konden worden. De wetenschappelijke 'revolutie' in genomonderzoek heeft ons doen inzien dat een dergelijke definitie van soortgrenzen niet meer voldoet. Voordat ik hier verder op in ga, wil ik u eerst wat achtergrondinformatie geven over één van mijn favoriete studieobjecten: varkens en wilde zwijnen.

Opportunistische zwijntjes

Veruit de grootste diversiteit in soorten van varkensachtigen is te vinden in het eilandengebied in Zuidoost-Azië, m.n. de Soenda-eilanden. Deze eilandrijke regio wordt



▲ Afb. 5. Het Soendaplat (of Sundaplat) is het zuidoostelijk gedeelte van het continentaal plat van Zuidoost-Azië. De zee is er zelden dieper dan 50 m. Bij een lage zeespiegelstand valt het plat droog. Credits: Maximilian Dörrbecker via Wikimedia Commons CC BY-SA 3.0.



Afb 6. Onderzoek heeft uitgewezen dat er wel degelijk vruchtbare nakomelingen kunnen voorkomen uit paringen tussen de verschillende zwijnsorten in Zuidoost-Azië. Hier een jong biggetje en volwassen vader met karakteristieke kuif van het kritiek bedreigde Visaya wratenzwijn. Credits: dvdwphotography.

vanwege de speciale structuur van het schiereiland ook wel een evolutionair laboratorium genoemd. De zee boven het ‘verdronken’ continentaal plaat Soendaland (afb. 5) is relatief ondiep, waardoor de verschillende eilanden gedurende het Pleistoceen (vanaf ongeveer 2,5 miljoen jaar geleden) via landbruggen met elkaar verbonden waren. Biologen hebben vastgesteld dat elk eiland in deze regio zijn ‘eigen’ zwijnsort blijkt te hebben. Rekenmodellen met onze eerdergenoemde moleculaire klok laten zien dat de splitsing tussen de zwijnsorten twee tot vijf miljoen jaar geleden heeft plaatsgevonden. Als we de gegevens over de zeespiegel van vroeger naast onze berekeningen van de soortensplitsing leggen, zien we dat dat steeds in een periode van een hoge zeespiegel is gebeurd! De natuurlijke barrière van water heeft er dus voor gezorgd dat er verschillende soorten ontstaan zijn, omdat ze lang genoeg van elkaar gescheiden werden. Echter, als dit proces van toegankelijkheid gevolgd door isolatie eens is voorgekomen, kan het natuurlijk nóg een keer gebeuren. De zeespiegel heeft tijdens het Pleistoceen immers gefluctueerd.

Als we naar de genomsequenties van die zwijnsorten kijken, zien we iets vreemds. Hoewel de soorten over het algemeen behoorlijk van elkaar verschillen, en we een splitsing van miljoenen jaren berekenen, zien we dat op sommige stukjes de genomen van beide soorten wel erg op elkaar lijken en er bijna geen mutaties voorkomen. Dit toont aan dat de (laatste) gemeenschappelijke voorouder veel korter geleden leefde. En hoewel dit niet strookt met het grootste deel van het genoom, vertelt dit ons een speciaal verhaal: namelijk dat er recent nog uitwisseling geweest is van genetisch materiaal tussen de soorten. Op het moment dat de zeespiegel weer laag was op Soendaland, hebben dus enkele opportunistische zwijntjes via landbruggen de andere eilanden bereikt en zich voortgeplant met de daar levende zwijnsort. Dit betekent dus dat er – anders dan men vroeger dacht – wel degelijk vruchtbare nakomelingen kunnen komen uit kruisingen tussen soorten die miljoenen jaren geleden van elkaar gesplitst zijn. Afb. 6. Inmiddels weten we dat dit veel vaker voorkomt dan we hadden gedacht.

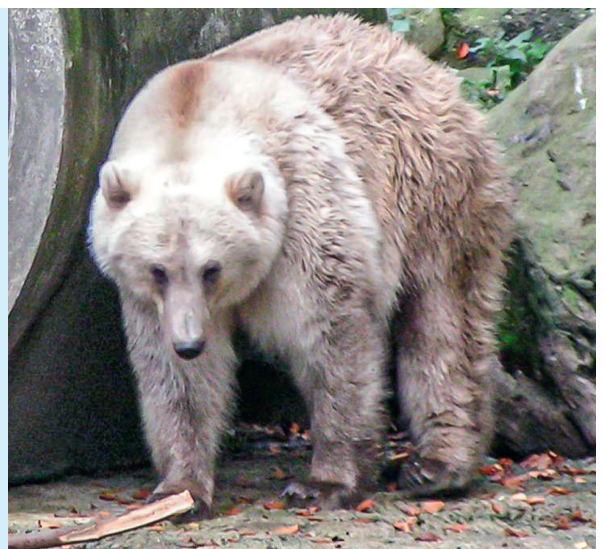
Expansie wilde zwijnen over Eurazië

Het wilde zwijn dat wij kennen uit de Europese (oer-) bossen, vindt zijn oorsprong in Zuidoost-Azië. Tussen ca. vijf en drie miljoen jaar geleden heeft deze soort zich ontwikkeld op het vasteland van Zuidelijk Azië en heeft zich vandaaruit verspreid over een groot deel van Eurazië gedurende het Midden-Pleistoceen. Op basis van reconstructie uit het DNA zien we dat zwijnenpopulaties op het vasteland in Noord- en Zuid-China ongeveer 600.000 jaar geleden gesplitst zijn. Dit ‘moment’ komt overeen met een sterke daling van de wereldwijde temperatuur in het Midden-Pleistoceen, waarin lange glaciale en korte interglaciale periodes elkaar afwisselden. In deze periode werden bosgebieden sterk gereduceerd tot kleine refugia, waarin de zwijnenpopulaties zich terugtrokken. Dit proces van isolatie zorgde dus ook op het vasteland voor de nodige effecten voor wilde zwijnen. We zien bijvoorbeeld ook dat Europese en Aziatische wilde zwijnen al meer dan een miljoen jaar lang gescheiden zijn. Interessant genoeg noemen we alle wilde zwijnen in Europa en Azië wel dezelfde soort, ondanks dat er dus een diepe splitsing

Evolutie van beren

Als we naar de evolutionaire geschiedenis van beren kijken, zien we dat ijsberen en bruine beren ongeveer een half miljoen jaar geleden in een verschillende leefomgeving van elkaar gesplitst zijn. Recente vondsten van in Ierland gevonden fossielen van bruine beren uit de laatste ijstijd, ongeveer 15.000 jaar geleden, laten zien dat er destijds een substantiële uitwisseling is geweest tussen ijsberen en bruine beren. Ook de huidige bruine beren bezitten nog steeds sporen van ijsbeer-DNA, al is dit minder dan tijdens de laatste ijstijd. Recente ontwikkelingen laten zien dat bij de populatie van bruine beren in Alaska deze zogeheten hybridisatie tussen bruine beren en ijsberen wederom lijkt voor te komen. Dit is te verklaren doordat hun leefgebieden elkaar steeds meer overlappen als gevolg van de huidige klimaatverandering. Afb. 7.

► Afb. 7. Kruising van ijsbeer en bruine beer in de Osnabrück Zoo. Foto: Corradox via Wikimedia Commons CC BY-SA 3.0.





▲ Afb. 8: Het kritiek bedreigde dwergzwijntje (*Porcula salvania*). Er is momenteel een Pygmy Hog Conservation Program in Assam waar er via een fokprogramma en herintroductie van zwijntjes in het wild geprobeerd wordt de uitsterving tegen te gaan. A. J. T. Johnsingh, WWF-India/NCF, CC BY-SA 3.0.

zit tussen de verschillende populaties. Hier wordt dus wel weer duidelijk dat soortgrenzen niet altijd hetzelfde zijn bij verschillende taxonomische groepen, en de visie op de definitie van soorten is momenteel onderdeel van een groot debat in de biologie.

Als we naar het DNA van Europese wilde zwijnen kijken, zien we bovendien iets opmerkelijks. We zien dat er stukken sterk afwijkend DNA te vinden zijn in de genomen van wilde zwijnen, als een soort 'genoomfossielen' die een voetafdruk hebben achtergelaten. Dit impliceert dat er mogelijk interactie en dus ook paringen geweest zijn met de andere destijds levende zwijnsorten, waarvan het bestaan tegenwoordig slechts nog via fossielen te achterhalen is. Tot voor kort was de visie van evolutiebiologen dat het wilde zwijn zo invasief en succesvol was, dat het alle andere vroeger aanwezige zwijnsorten in Eurazië volledig heeft vervangen. Echter, deze voetafdruk van een historische zwijnsort kan weleens een ander licht op de zaak werpen - namelijk dat er ook op het vasteland uitwisseling is geweest van genen tussen verschillende zwijnsorten die nog veel langer geleden gesplitst moeten zijn.

Dwergzwijntje

Hiervoor wil ik u graag meenemen naar de natte graslanden van India aan de voet van de Himalaya. Dit is het

leefgebied van de illustere pygmy hog, een dwergzwijntje (afb. 8) dat in deze graslanden leeft. Deze soort was decennia geleden als uitgestorven bestempeld, maar recentelijk is vastgesteld dat er nog enkele individuen leven in Manas National Park. Bij zijn herontdekking leek dit dwergzwijn de enige varkensachtige soort op het vasteland van Eurazië die de uitbreiding van wilde zwijnen had weerstaan. Afb. 9. Onder biologen gingen echter ook stemmen op dat dit mogelijk een miniatuurversie van het bekende wilde zwijn kon zijn, die door selectie door de mens klein gemaakt is (zoals we bij landbouwhuisdieren veelvuldig zien). Door vergelijkend DNA-onderzoek hebben we echter kunnen vaststellen dat het dwergzwijntje al meer dan vijf miljoen jaar lang geïsoleerd van andere zwijnsorten heeft geleefd, en dus als een zeldzame en aparte zwijnsort gezien moet worden. We vinden echter ook terug dat moderne wilde zwijnen inderdaad DNA in zich dragen dat erg lijkt op dat van het dwergzwijntje, en bovendien nog een aantal andere uitgestorven zwijnsorten. Het lijkt er dus op dat het succes van de expansie van wilde zwijnen niet alleen komt door het wegconcurreren van andere soorten, maar ook mogelijk doordat ze waardevolle aangepaste genen overnamen door met ze te kruisen.

Het is opmerkelijk dat deze geschiedenis met kruising tot op zekere hoogte parallel loopt met de menselijke expansie vanuit Afrika, waar 'moderne' mensen ook uitwisseling hadden met Neanderthalers en Denisovans.



Afb. 9. Diversiteit aan zwijnsorten in Zuidoost-Azië. De rest van Eurazië wordt gedomineerd door het wilde zwijn (*Sus scrofa*). De enige andere zwijnsort op het vasteland is het kritiek bedreigde dwergzwijntje (*Porcula salvania*), die alleen nog voorkomt in Manas National Park, in India (zie pijl).

Over de auteur: Mirte Bosse is moleculair geneticus aan de Wageningen Universiteit. Ze doet onderzoek naar inteelt en selectie bij landbouwhuisdieren en bedreigde diersoorten.