

University of Groningen

Genetische 'ongelukjes' verklaren het ontstaan van drie typen mannen bij Kemphanen

Verkuil, Yvonne I.; Piersma, Theunis

Published in:
 Limosa

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version
 Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:
 2017

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):
 Verkuil, Y. I., & Piersma, T. (2017). Genetische 'ongelukjes' verklaren het ontstaan van drie typen mannen bij Kemphanen. *Limosa*, 89, 154-162.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.



Genetische 'ongelukjes' verklaren het ontstaan van drie typen mannen bij Kemphanen

Kemphanen op een lek, met van links naar rechts een honkman, een satellietman en een vrouw (of toch een faar?), Liminka, Finland, 14 mei 2012. *Ruffs on a lek. From left to right an independent male, a satellite male and a female (or is it a faeder?).* (foto Jan-Michael Breider)

Recentelijk verschenen in *Nature Genetics* twee artikelen over Kemphanen. Internationale onderzoeksteams hadden zich verdiept in de genetische achtergrond van Kemphanen vanwege hun unieke en complexe voortplantingssysteem met drie typen mannen: honkmannen, satellietmannen en faren. Deze mannen verschillen in uiterlijk, gedrag en fysiologie. Maar waarom blijven deze specifieke kenmerken en het gedrag zo rigide gescheiden tussen deze drie types? In deze review beschrijven we hoe genetisch onderzoek, waar we zelf ook aan deelnamen, een verrassend antwoord vond.

Yvonne I. Verkuil & Theunis Piersma

Kemphanen *Phylomachus pugnax* verrassen ons telkens weer. Twintig jaar na de eerste publicatie in *Limosa* over de vangst van merkwaardig grote 'kemphennen' door Jukema (1984), werd de 'faar' beschreven, opnieuw in *Limosa* (Jukema & Piersma 2004). Het bleek dat de grote vrouwen eigenlijk mannen waren, in het voorjaar zelfs met relatief grote testikels. Jukema & Piersma veronderstelden dat deze mannen – die dus veel op vrouwtjes lijken, zoals in veel monogame vogelsoorten – het oorspronkelijke mantype van Kemphanen zouden vertegenwoordigen. De mannen met karakteristieke kragen en hoofdpluimen, ook wel honk- en satellietmannen genoemd, zouden later zijn ontstaan door seksuele selectie (van Rhijn 1991, van Rhijn *et al.* 2014). Dit was echter een beredeneerde gok. Hoe en wanneer deze drie mantypes precies waren ontstaan, bleef een open vraag.

In principe kunnen evolutieprocessen worden gereconstrueerd, omdat de 'voetafdrukken' van die processen worden vastgelegd in het genetische materiaal: het *DNA* (cursief gedrukte termen worden uitgelegd in bijlage 1). Dit maakt het totaal aan genetisch materiaal van een organisme, het

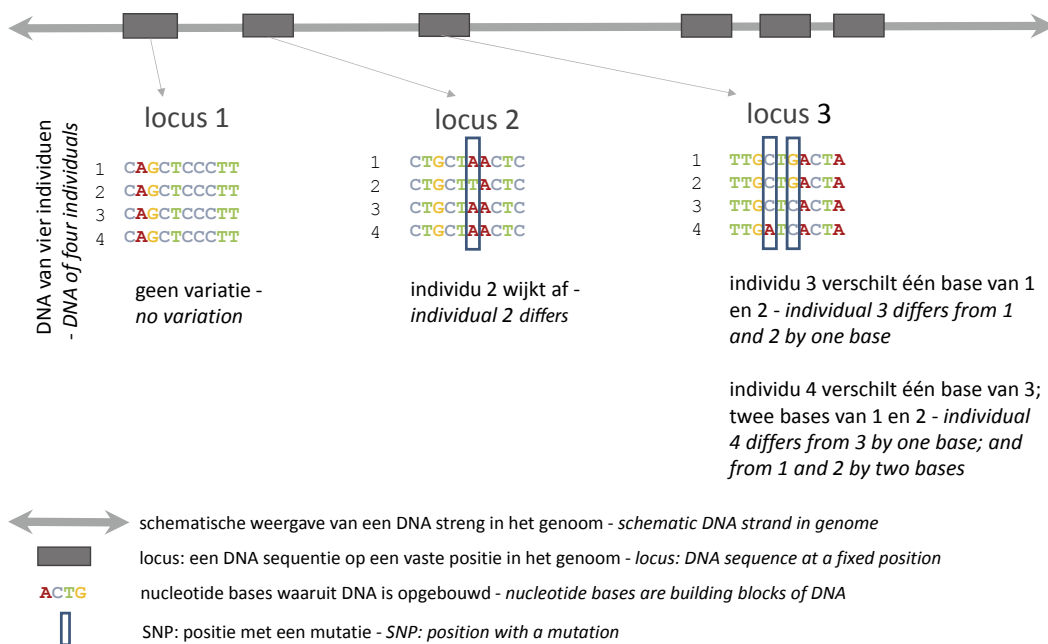
genoom, een krachtig instrument om terug te kijken in de tijd en bijvoorbeeld te onderzoeken hoe lang geleden (onder)soorten zijn ontstaan. Voor Kemphanen stelden we eerder vast dat de Europese en oostelijk Russische broedpopulaties genetisch heel dicht bij elkaar staan (Verkuil *et al.* 2012). De meest recente analyse van de verwantschappen tussen alle vogels van de wereld levert allerlei spannende inzichten op (Prum *et al.* 2015). Zo blijken alle watervogels, steltlopers, eenden maar ook pelikanen en pinguïns opvallend genoeg meer dan 60 miljoen jaar geleden één gemeenschappelijke voorouder te hebben. Daarna zijn er niet opnieuw watervogelachtigen ontstaan, wat suggereert dat het koloniseren van natte leefgebieden moeilijk is.

De eerste stap bij de reconstructie van de evolutiegeschiedenis van eigenschappen bestaat uit het zoeken naar specifieke stukjes DNA (*genen*) die een rol spelen bij de vorming van uiterlijke kenmerken en gedrag. Dit is een lastig karwei. Elke geneticus op zoek naar de bron van variatie van een bepaalde eigenschap (bijvoorbeeld ziektebeelden of de timing van trek) kan beamen hoe moeilijk het is om voor die eigenschap cruciale genen te ontdekken. Vaak spelen heel veel genen tegelijk een rol, met ingewikkelde interacties. Bovendien zijn genen meestal ook maar een (klein)

deel van het verhaal omdat ook de omstandigheden waarin dieren opgroeien en leven een belangrijke bron van variatie tussen individuen vormen (Piersma & van Gils 2011). Maar heel af en toe duikt er een voorbeeld van prachtige genetische eenvoud op, zoals de enkele *mutatie* die de vorm van de horens van Soay schapen en hun voortplantingssucces bepaalt (Johnston *et al.* 2013). Dat het complexe voortplantingsgedrag van Kemphanen het gevolg is van een vrij simpele verandering in het DNA kwam dan ook volslagen als een verrassing.




Wat gebeurde er na de ontdekking van de faar?

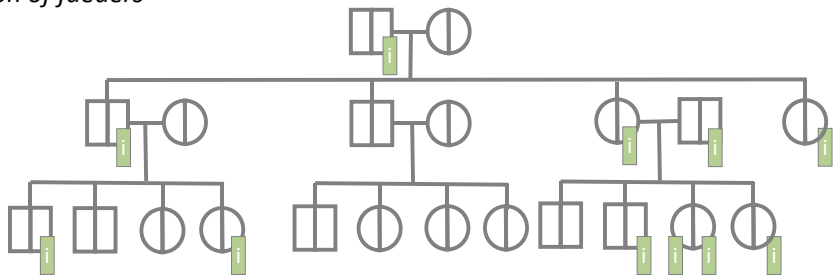
Nadat de faar was ontdekt en beschreven (Jukema & Piersma 2004, 2006), werden vanuit Nederland twee door Friese wilsterflappers gevangen faren overgevlogen naar Vancouver (Canada), waar David Lank al meer dan 30 jaar een broedkolonie van Kemphanen onderhoudt op het terrein van de Simon Fraser Universiteit. Deze broedpopulatie in gevangenschap is ontstaan uit eieren die in de jaren tachtig waren meegenomen uit Finland, maar in deze populatie kwamen geen faren voor (Lank *et al.* 1995). De Friese faren pasten zich gemakkelijk aan en produceerden ogenschijnlijk gezonde nakomelingen. Alhoewel, sommige dochters van



Figuur 1. Het ontdekken van variaties in het DNA waaruit het genetische materiaal (*genoom*) is opgebouwd. De hier gezochte varianten zijn *mutaties* in de afzonderlijke bouwstenen van DNA (*nucleotiden*), *Single Nucleotide Polymorphisms* – *SNPs*. Om SNPs te vinden wordt het DNA in stukjes geknipt van bijvoorbeeld 300 nucleotiden. Van deze korte stukjes wordt de volgorde van de nucleotiden (de sequenties) bepaald en daarnaast welke nucleotiden variëren tussen individuen (iedere SNP vertegenwoordigt een enkele mutatie). Afhankelijk van het doel van het 'sequencen', kan het aantal *loci* dat wordt bekeken variëren van een paar duizend tot een paar miljoen. Hier is het vereenvoudigd tot drie loci van slechts 10 nucleotiden lang. Voor verklaringen van cursief gedrukte termen zie bijlage 1. *Schematic explanation of detecting variation across the genome. DNA fragments of c. 300 nucleotides are sequenced to detect nucleotides that vary between individuals. The mutations at variable sites are called Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs). The number of fragments that are sequenced can vary from a few thousands to millions, but is simplified here to three loci of 10 nucleotides.*

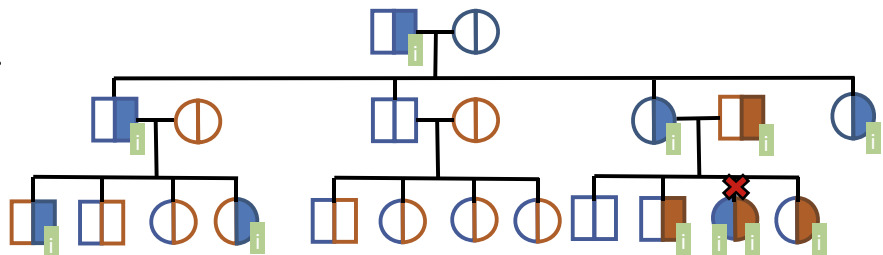
voortplanting faren - reproduction of faeders

-  supergen inversie i - *supergene inversion i*
-  man - *male*
-  vrouw - *female*



fenotype van nakomelingen van faren - phenotype of faeder offspring

-  kleine man, faar - *small male, faeder*
-  normale vrouw - *normal-sized female*
-  miniatuurvrouw - *miniature female*
-  honkman - *independent male*
-  niet waargenomen - *not observed*



Figuur 2. Vereenvoudigde stamboom van Kemphanen met de nakomelingen van twee faren ('blauw' en 'bruin') die dragers zijn van het *supergen* (*inversie*, *i*) en drie vrouwen die geen drager zijn van het supergen. In de bovenste stamboom staat aangegeven welke nakomelingen dragers zijn. In de onderste stamboom wordt het supergen gekoppeld aan fenotypische eigenschappen. Vrouwelijke dragers van de farenvariant van het supergen zijn opvallend klein; zij krijgen minder nakomelingen. Voor verklaringen van cursief gedrukte termen zie bijlage 1. *Simplified pedigree of Ruffs showing two faeders ('blue' and 'brown') carrying the supergene (inversion, i) mating with three regular females. In the upper pedigree the carriers of the supergene are shown, in the lower pedigree the phenotypes. Female carriers of the supergene are remarkably small and produce fewer offspring than regular females.*

faren bleven abnormaal klein en worden miniatuurvrouwtjes genoemd (Lank *et al.* 2013). Tien jaar later waren er genoeg nakomelingen verwekt om de overerving van het faartype te bestuderen. Clemens Küpper, een Duitse geneticus, werd ingeschakeld om, onder leiding van Terry Burke in Sheffield, genom analyses uit te voeren om genen te ontdekken die de verschillen bepalen tussen honkmannen, faren en satellieten. Een taak van epische proporties, en ook nog één die vanwege de moeilijkheid van de processen heel vaak niet veel oplevert.

Een zoektocht naar een gen of genen die in dit geval uiterlijke kenmerken en gedrag bepalen, begint altijd met het simpelweg bekijken van correlaties. Eerst werd het genoom van honkmannen, satellieten en faren uit de kolonie van Vancouver deels *gesequenced*, oftewel de volgorde van de bouwstenen van het DNA (nucleotiden) werd bepaald. Daarna werden de sequenties van *nucleotiden* van de verschillende individuen over elkaar heen gelegd om vast te stellen waar ze van elkaar verschilden. De variabele nucleotiden in een stuk DNA worden *SNPs* ('snips') genoemd (figuur 1). In 286 individuen leverde dit meer dan 1 miljoen *SNPs* op! Vervolgens werd gekeken of deze *SNPs* correleerden met het type man. Inderdaad werden veel *SNPs* vaker gezien in honkmannen dan in faren en satellieten, of juist vaker in faren en

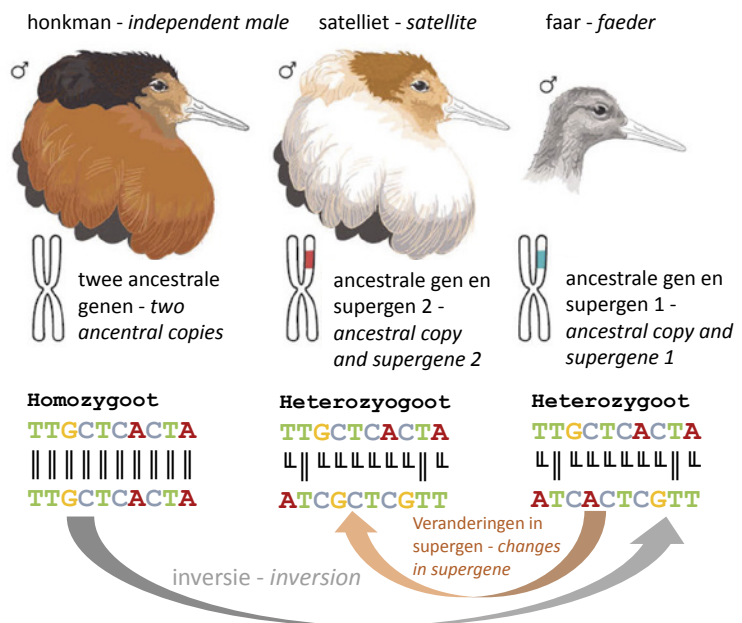
bijna niet in honkmannen en satellieten. Deze statistisch significante correlaties waren veelbelovend, al was nog niet bekend waar precies in het genoom deze *SNPs*, en uiteindelijk de genen waarin we geïnteresseerd waren, zich bevonden. Het was wel meteen duidelijk dat waarschijnlijk heel veel genen een rol spelen bij verschillen in uiterlijke kenmerken en gedrag van kemphaanmannen, wat meestal betekent dat het evolutionaire traject moeilijk te reconstrueren is.

Zoeken in een genoom van 1.17 miljard nucleotiden

Om uit te vinden waar in het genoom en in welke genen de veelbelovende *SNPs* zich bevonden die correleerden met het type man moest het team de volgorde van alle nucleotiden van de Kemphaan kennen, niet alleen een deel. Een megaklus die tot voor kort jaren duurde, maar met de huidige techniek door specialisten in een paar maanden kon worden geklaard. Van één honkman werd de volgorde bepaald van ongeveer 1.17 miljard nucleotiden. Daarmee werd de locatie van de *SNPs* (de variabele nucleotiden die verschilden tussen de typen mannetjes) en de specifieke genen in kaart gebracht. Het genoom van de Kip *Gallus gallus* werd als referentie gebruikt, omdat dit uitzonderlijk goed is beschreven vanwege de vraag naar commerciële rassen met bepaalde genetische eigenschappen.

Figuur 3. Drie typen mannelijke Kemphanen en hun *chromosoom 11*. Het chromosoom is weergegeven in de gepaarde vorm, met links en rechts een kopie afkomstig van elke ouder. De oorspronkelijke (*ancestrale*) vorm van het chromosoom is weergegeven in wit, de nieuwe variant van het chromosoom draagt een *inversie*, aangegeven in rood en blauw, ook wel *supergen* genoemd. Het gekleurde deel van het chromosoom (de *inversie*) kan niet meer *recombineren* met het ancestrale chromosoom (aangegeven met \perp). Voor verklaringen van cursief gedrukte termen zie bijlage 1. *Kemphaantekeningen door K. Sutliff/SCIENCE uit Taylor & Campagna, Science 351:446 (2016). Herdrukt met permissie van AAAS. Three male types in Ruffs and their chromosome 11. The ancestral copy of the chromosome is depicted in white, the new variants with the inversion in red and blue. The inversion cannot recombine with the ancestral copy and therefore forms a supergene. Ruff illustrations by K. Sutliff/SCIENCE from Taylor & Campagna, Science 351:446 (2016). Reprinted with permission from AAAS.*

veranderingen in chromosoom 11 in Kemphanen *changes in chromosome 11 of Ruffs*



Zo werd ontdekt dat de SNPs die verschilden tussen de mantypen allemaal op genen lagen die in het DNA bij elkaar in de buurt zitten. Na nog iets dieper graven bleek tot ieders verbazing dat al deze genen met SNPs zelfs op één *chromosoom* (een organisatorisch onderdeel van het hele DNA) lagen, namelijk *chromosoom 11*. Deze ontdekking was zo interessant dat werd besloten het genoom van nog één honkman, twee satellieten en twee faren te sequencen. Met deze informatie kon worden ingezoomd op *chromosoom 11*. Men vond maar liefst 125 genen die van invloed zijn op eigenschappen waarin de mantypes verschilden (gedrag, verenkleed, testikelgrootte en hormoonhuishouding). Daarnaast lagen al deze genen op slechts één vijfde deel van *chromosoom 11*.

Wat is nu de reden dat al die belangrijke genen samen op een kluitje liggen op één *chromosoom*? En werden de varianten van deze genen bij overerving niet iedere keer weer gemengd (*recombinatie*)? Genen die dicht bij elkaar liggen worden minder gemakkelijk en dus minder vaak gehusseld. Maar in Kemphanen lijken deze genen helemaal niét te worden gehusseld: het complex aan eigenschappen dat het uiterlijk en gedrag van elk mantype bepaalt, wordt juist als eenheid overgedragen aan de volgende generatie, anders zouden we wel faren met witte kragen zien, of adulte honkmannen met subdominant gedrag, of satellieten met grote testikels. De waarneming dat de genen die codeerden voor al deze kenmerken in één cluster lagen verklaarde echter nog steeds niet de gezamenlijke overerving van al die eigenschappen. Er was dus meer aan de hand.

Wat is er aan de hand met *chromosoom 11* van Kemphanen?

Na nog dieper graven in het genoom van de zes Kemphanen en het toepassen van ingewikkelde statistiek kon met behulp van de kemphanenstamboom uit Vancouver worden berekend hoe genen die een rol spelen bij het bepalen van de uiterlijke kenmerken en gedrag van de drie mantypen, overerven (figuur 2). En om het even heel technisch te maken: men wilde ook graag weten hoe lang de stukken DNA waren waarin deze genen gezamenlijk overerven, om te achterhalen of genen wellicht ook gekoppeld waren (*linkage disequilibrium*). Dit is belangrijk om te weten, omdat daarmee de mate van gezamenlijke genetische overerving van eigenschappen zou kunnen worden bepaald.

Het nauwkeurig 'lezen' van het DNA op de genen liggend op *chromosoom 11* bij honkmannen, faren en satellieten bracht de oplossing. Het bleek dat bij faren en satellieten de betreffende genen ten opzichte van die van honkmannen achterstevoren lagen: alsof het DNA-fragment van 4.5 miljoen nucleotiden er ooit uit was geknipt en omgekeerd weer was teruggezet (dit heet een *inversie*, figuur 3). Dit omgekeerde DNA-fragment is zo verschillend van het oorspronkelijke fragment dat husselen door recombinatie niet meer mogelijk is. Dit zorgt ervoor dat zulke groepen genen als een eenheid worden overgedragen aan de volgende generatie. Zo'n eenheid wordt een *supergen* genoemd. Faren en satellieten dragen dus chromosomen met een supergen, terwijl honkmannen de oorspronkelijke of *ancestrale* chromosomen hebben,



Honkman copulerend met een faer. Dit was de eerste foto van een faer in het wild, Varanger, Noorwegen, 17 juni 2004. *Independent copulating with a faeder. This was the first picture of a faeder in the wild.* (foto Jean Champion †)

wat betekent dat de structuren en recombinatieprocessen op deze chromosomen 'normaal' zijn. Supergenen lijken nuttige genetische toevalstreffers die maken dat ingewikkelde fenotypes, gevormd door het samengaan van specifieke uiterlijke kenmerken en bepaalde gedragingen, in stand kunnen blijven (Taylor & Campagna 2016).

En zo werd het tijd om naar alle Kemphanen uit de broedkolonie van Vancouver te kijken. De territoriale honkmannen bleken allemaal twee chromosomen 11 te hebben zonder supergen (figuur 3). Terwijl de faren en satellieten naast chromosoom 11 met het supergen ook altijd een kopie van het oorspronkelijke chromosoom 11 hebben. Ook de genomen van de vrouwtjes uit Vancouver werden onderzocht, en ook bij hen werd het supergen aangetroffen op chromosoom 11 (figuur 2).

Eerst de honkman, dan de faer en dan de satelliet

Hoe een stuk van chromosoom 11 omgedraaid kon raken in faren en satellieten is niet bekend, maar het komt wel vaker voor, bijvoorbeeld in vlinders (Le Poul *et al.* 2014) en bij de Witkeelgors *Zonotrichia albicollis* (Tuttle *et al.* 2016). In de evolutionaire geschiedenis van vinkensoorten uit de familie *Estrilidae* ontstond er gemiddeld elke 2.26 miljoen jaar een supergen door inversie (Hooper & Price 2016). Inversies worden het vaakst gevonden in soorten op continenten met grote verspreidingsgebieden, en in soorten die naast elkaar zijn ontstaan (zogenaamde *sympatrische soortvorming*). In

eilandsoorten komen inversies bijna niet voor. Hooper & Price (2016) concluderen daaruit dat genetische inversies gezien kunnen worden als aanpassingsvoordelen. Inversies komen het vaakst voor op de geslachtschromosomen (Hooper & Price 2016, Tuttle *et al.* 2016), en daarom zijn Kemphanen toch weer bijzonder, want chromosoom 11 is geen geslachtschromosoom maar een *autosoom*, een niet-geslachtsgebonden chromosoom.

In dit stadium leek het verhaal waar wij aan bijdroegen rond voor publicatie: "Supergen bepaalt mantypes in Kemphanen". Dit zou een klapper worden! Ons team stond op het punt het manuscript naar *Nature* te sturen, toen we erachter kwamen dat een Zweeds-Chinese onderzoeksgroep, geleid door Leif Andersson, ook het supergen had ontdekt en op het punt stond om *hun* ontdekking te publiceren. Wat nu?

In plaats van elkaar in de haren te vliegen, besloten de onderzoekers hun resultaten naast elkaar te leggen. Wat bleek? De Zweeds-Chinese groep had slechts één bloedmonster van een faer uit Gotland en ze hadden geen toegang tot een broedkolonie met stamboom zoals wij, op grond waarvan de overerving van eigenschappen kon worden vastgelegd. Ze konden daarom de locatie van het supergen op chromosoom 11 van het genoom niet vaststellen. Wat deze groep wel in huis had, was expertise op het gebied van de *fylogenie*. Zij hadden de evolutionaire geschiedenis van het supergen bestudeerd en maakten een schatting wanneer de faer was ontstaan. Het bleek dat faren ongeveer 3.8 miljoen jaar

geleden uit honkmannen zijn ontstaan (Lamichhaney *et al.* 2016). Ze berekenden ook dat ongeveer 500 000 jaar geleden de satelliet was ontstaan, door een eenmalige verandering in het supergen (Küpfer *et al.* 2016, Lamichhaney *et al.* 2016). De satelliet is dus de nieuwkomer!

‘Fouten’ in het genoom, zoals hier beschreven, leiden in de meeste gevallen niet tot een verandering in een organisme. In ons geval kon het supergen zich blijkbaar toch verspreiden in de populatie, mogelijk omdat de honkmannen niet bedacht waren op deze kempaanmannen in vrouwkleed (faren), en zich niet agressief gedroegen.

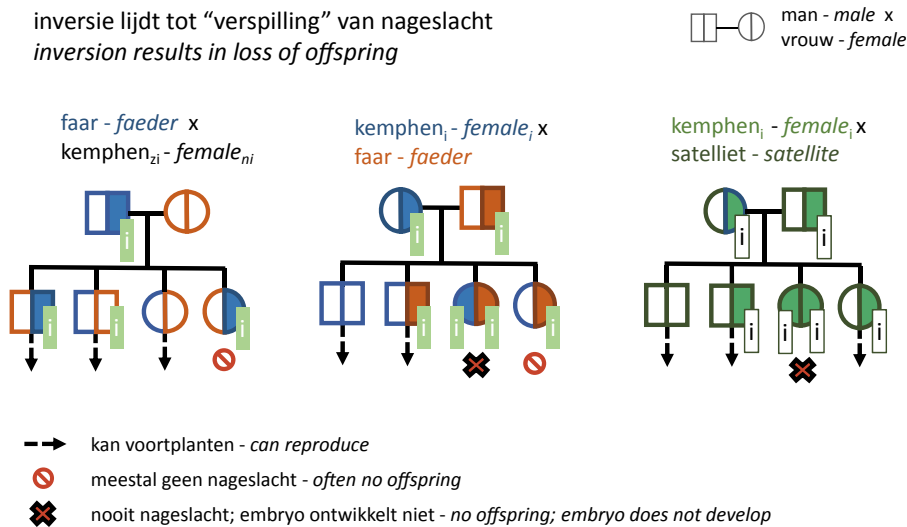
Het raadsel van de ontbrekende homozygoten

Opvallend is dat alle Kemphanen die zijn onderzocht door de twee onderzoeksteams altijd drager waren van het oorspronkelijk chromosoom 11. Dus in elke kempaan en kempen werd altijd een niet-omgedraaide set genen gevonden en daarmee een normaal functionerend chromosoom 11. Daarnaast waren faren en satellieten drager van het supergen op hun andere chromosoom 11. Bedenk daarbij dat het supergen twee varianten heeft: de ‘oude’ variant in faren en de ‘nieuwe’ variant in satellieten (figuur 3). Uitgedrukt in vaktermen zijn alle honkmannen *homozygoot* – zij dragen twee kopieën van het oorspronkelijke chromosoom 11. En alle satellieten en faren zijn *heterozygoot* – zij hebben een oorspronkelijk chromosoom 11 naast één met het supergen. Vrouwjes zijn zowel homozygoot als heterozygoot en zijn

drager van de faren- of satellietenvariant van het supergen. In de Vancouverse broedkolonie bleken vrouwtjes die drager zijn van de farenvariant opvallend klein, terwijl vrouwtjes met de satellietenvariant normale afmetingen hadden (Lank *et al.* 2013).

Nu rijst de vraag waarom er geen vogels zijn gevonden die drager waren van beide varianten van het supergen, oftewel die géén kopie hadden van het oorspronkelijke chromosoom 11? Om dit uit te zoeken, werd opnieuw het genoom van de zes mannen (twee honkmannen, twee satellieten en twee faren) bekeken. Daaruit werd duidelijk dat juist waar het supergen overgaat in het ‘normale’ deel van het chromosoom, een gen ligt dat essentieel is voor celdeling. Dit gen wordt door de inversie doorsneden. Dit betekent dat een embryo een kopie van het oorspronkelijke chromosoom nodig heeft om zich te kunnen ontwikkelen.

Vervolgens werden deze bevindingen getoetst met metingen aan Kemphanen buiten de broedkolonie in Vancouver. Bij 41 niet-verwante wilde Kemphanen, gevangen in Nederland, Wit-Rusland en Rusland, werd inderdaad ook altijd minstens één kopie van het oorspronkelijke chromosoom 11 gevonden, en opnieuw waren alle faren en satellieten heterozygoot en de honkmannen homozygoot. Homozygote faren en satellieten lijken dus te ontbreken omdat embryo's niet kunnen overleven zonder een oorspronkelijke kopie van chromosoom 11.



Figuur 4. Het nageslacht van drie paartjes Kemphanen als illustratie van de gevolgen van het *supergen* voor nakomelingen. Twee vrouwen in dit voorbeeld zijn dragers van het supergen (*inversie*, *i*); respectievelijk de farenvariant, *i* lichtgroen, en de satellietvariant, *i* wit. De eerste vrouw is geen drager, *zi*. Hun partners zijn ook dragers van het supergen, twee faren ('blauw' en 'bruin') en één satelliet. Voor verklaringen van cursief gedrukte termen zie bijlage 1. *The offspring of three pairs of Ruffs illustrating the consequences of the supergene. Two of the three females carry the supergene, respectively the faeder variant, i lime, and the satellite variant, i white. The first female is not a carrier, ni. All males in this example carry the supergene – two are faeders and one is a satellite male.*

Een genetische innovatie die leidt tot verspilling

Het supergen heeft grote gevolgen voor de ecologie van Kemphanen, al was het maar omdat een deel van het nageslacht op twee manieren wordt 'verspild'. Als een faar of een satelliet paart met een vrouwtje dat ook het supergen draagt, zullen alle embryo's die zowel van hun moeder als vader een supergen meekrijgen (en dus twee supergenen hebben) niet levensvatbaar zijn (figuur 4). Dat is een kwart van alle embryo's van deze paartjes!

We weten nog niet of een kwart van alle eieren van deze paartjes onvruchtbaar is of dat de eieren simpelweg niet tot ontwikkeling komen. Om dit te onderzoeken zullen niet uitgekomen eieren moeten worden verzameld en genetisch getypeerd. De uitdaging ligt nu in het veld. Omdat slechts 5-15% van mannen faar of satelliet is, zal het niet eenvoudig zijn om eieren te vinden met DNA met deze twee supergenen. Er is dus een grote veldinspanning nodig om uit te zoeken in welk stadium de ontwikkeling van de embryo's ophoudt. Finse onderzoekers aan de universiteit in Oulu hebben de handschoenen opgepakt en zijn begonnen met het verzamelen van niet uitgekomen eieren van Kemphanen, naast bloedmonsters van moeders en kuikens in noordelijk Finland.

De tweede vorm van 'verspilling' is dat de supergenvariant van een faar voornamelijk via zijn zonen wordt doorgegeven. Dochters van faren die het supergen hebben (miniatuurvrouwtjes), komen vaak niet tot voortplanting (Lank *et al.* 2013). Daardoor kan de helft van de dochters en dus een kwart van de nakomelingen van faren een doodlopende weg betekenen. Weliswaar wordt hiermee een deel van het probleem van niet levensvatbare embryo's vermeden, maar dochters van faren krijgen vaker en waarschijnlijk ook meer nageslacht als zij van hun vader géén supergen meekrijgen maar zijn oorspronkelijke chromosoom 11 (figuur 4).

Al met al is het supergen van Kemphanen een genetische innovatie die leidt tot een machtig interessant voortplantingssysteem, maar wel een systeem waarin veel mannen niet tot voortplanting komen (Verkuil *et al.* 2014) en die dus kan leiden tot 'verspilling' van nageslacht. Faren en satellieten zijn in staat hiervoor te compenseren, anders waren ze er natuurlijk al lang niet meer. Ze moeten dus een iets hoger voortplantingssucces hebben dan honkmannen. Hun grotere testikels en ongetwijfeld grotere spermaproductie (Jukema & Piersma 2006, Küpper *et al.* 2016) zijn daarbij een noodzakelijk voordeel, vooral omdat vrouwtjes vaak met meerdere mannen paren (zie ook het hoofdstuk over sperma in Van Rhijn 2013).

De vraag blijft of het faren in alle omstandigheden lukt om genoeg nakomelingen te krijgen. Dezelfde vraag geldt voor satellieten. Het voorkomen van faren en satellieten is met veel onzekerheid omgeven. Schattingen van het aandeel satellieten variëren van 3 tot 18% (Widemo & Owens 1995, Widemo 1998, Jukema & Piersma 2004). Het aandeel faren

daarentegen is geschat op ca. 1%, op basis van grote steekproeven uit verschillende doortrekkende en overwinterende kemmaanpopulaties, waarin faren zijn geïdentificeerd op grond van hun vleugellengte (Verkuil *et al.* 2008). Het is echter mogelijk dat sommige jonge mannen onterecht voor faren zijn aangezien, of dat sommige faren (die net zo klein zijn als vrouwtjes) als vrouw zijn aangemerkt. Daarnaast blijft het een uitdaging om in het vroege voorjaar alle satellieten te herkennen aan hun witte kled. Het is dus nog steeds onduidelijk of het aandeel faren en satellieten in populaties en tussen jaren fluctueert.

Door de ontdekking van het supergen kunnen we nu beginnen met het genetisch screenen van meerdere kemmaanpopulaties en kunnen de frequenties van de varianten van het supergen worden vastgesteld, nu ook bij vrouwtjes! Tien jaar geleden dachten we nog dat het een open vraag zou blijven hoeveel satellieten er precies zijn, waarom faren zo zeldzaam zijn en of dit in de loop van de evolutie anders is geweest. Wie weet ligt het antwoord op deze vragen nu ook om de hoek.

DANKWOORD

Wij danken David Lank, Clemens Küpper en Nelli Rönka voor nuttige discussies. Vanuit de Limosa-redactie hielpen Romke Kleefstra en Jacintha van Dijk bij het vorm geven aan deze 'review'.

LITERATUUR

- Hooper D.M. & T.D. Price. 2016. Rates of karyotypic evolution in Estrildid finches differ between island and continental clades. *Evolution* 69: 1558-5646, DOI: 10.1111/evo.12633.
- Johnston S.E., J. Gratten, C. Berenos, J.G. Pilkington, T.H. Clutton-Brock, J.M. Pemberton & J. Slate. 2013. Life history trade-offs at a single locus maintain sexually selected genetic variation. *Nature* 502: 93-95, DOI: 10.1038/nature12489.
- Jukema J. 1984. Vrouwtje Kemphaan *Philomachus pugnax* met lange vleugels. *Limosa* 57: 153-154.
- Jukema J. & T. Piersma. 2004. Kleine mannelijke Kemphanen met vrouwelijk broedkleed: bestaat er een derde voortplantingsstrategie, de faar? *Limosa* 77: 1-10.
- Jukema J. & T. Piersma. 2006. Permanent female mimics in a lekking shorebird. *Biology Letters* 2: 161-164, DOI: 10.1046/j.1365-2435.1999.00323.x.
- Karell P., K. Ahola, T. Karstinen, J. Valkama, & J.E. Brommer. 2011. Climate change drives microevolution in a wild bird. *Nature Communications* 2: 208, DOI: 10.1038/ncomms1213
- Küpper C., M. Stocks, J.E. Risse, N. dos Remedios, L.L. Farrell, S.B. McRae, T.C. Morgan, N. Karlionova, P. Pinchuk, Y.I. Verkuil, A.S. Kitaysky, J.C. Wingfield, T. Piersma, K. Zeng, J. Slate, M. Blaxter, D.B. Lank & T. Burke. 2016. A supergene determines highly divergent male reproductive morphs in the ruff. *Nature Genetics* 48: 79-83, DOI: 10.1038/ng.3443.
- Lamichaney S., G. Fan, F. Widemo, U. Gunnarsson, D. Schwochow Thalmann, M.P. Hoepfner, S. Kerje, U. Gustafson, C. Shi, H. Zhang, W. Chen, X. Liang, L. Huang, J. Wang, E. Liang, Q. Wu, S.M.-Y. Lee, X. Xu, J. Höglund, X. Liu & L. Andersson. 2016. Structural genomic chan-

- ges underlie alternative reproductive strategies in the ruff (*Philomachus pugnax*). *Nature Genetics* 48: 85–88, DOI: 10.1038/ng.3430.
- Lank D.B., L.L. Farrell, T. Burke, T. Piersma & S.B. McRae 2013. A dominant allele controls development into female mimic male and diminutive female ruffs. *Biology Letters* 9: 20130653, DOI: 10.1111/j.1469-7998.1937.tbo8501.x.
- Lank D.B., C.M. Smith, O. Hanotte, T. Burke, T. & F. Cooke 1995. Genetic polymorphism for alternative mating behaviour in lekking male ruff *Philomachus pugnax*. *Nature* 378: 59–62, DOI: 10.1038/378059a0.
- Le Poul Y., A. Whibley, M. Chouteau, F. Prunier, V. Llaurens & M. Joron 2014. Evolution of dominance mechanisms at a butterfly mimicry supergene. *Nature Communications* 5: 5644, DOI: 10.1038/ncomms6644.
- Piersma T. & J.A. van Gils 2011. The flexible phenotype. A body-centred integration of ecology, physiology, and behaviour. Oxford University Press, Oxford.
- Prum R.O., J.S. Berv, A. Dornburg, D.J. Field, J.P. Townsend, E. M. Lemmon & A.R. Lemmon 2015. A comprehensive phylogeny of birds (Aves) using targeted next-generation DNA sequencing. *Nature* 526: 569–573, DOI: 10.1038/nature15697.
- Taylor S. & L. Campagna 2016. Avian supergenes. Genetic data reveal how two complex bird mating systems evolved. *Science* 351: 446–447, DOI: 10.1126/science.aae0389.
- Tuttle E.M., A.O. Bergland, M.L. Korody, M.S. Brewer, D.J. Newhouse, P. Minx, M. Stager, A. Betuel, Z.A. Cheviron, W.C. Warren, R.A. Gonser & C.N. Balakrishnan 2016. Divergence and functional degradation of a sex chromosome-like supergene. *Current Biology* 26: 344–350, DOI: 10.1016/j.cub.2015.11.069.
- van Rhijn J.G. 1991. The Ruff. Individuality in a gregarious wading bird. Poyser, London.
- van Rhijn J. 2013. Darwins dating show. Veen Media, Diemen.
- van Rhijn J., J. Jukema & T. Piersma 2014. Diversity of nuptial plumages in male Ruffs *Philomachus pugnax*. *Ardea* 102: 5–20. DOI: 10.5253/078.102.0103.
- Verkuil Y.I., J. Jukema, J.A. Gill, N. Karlionova, J. Melter, J.C.E.W. Hooijmeijer & T. Piersma 2008. Non-breeding faeder ruffs *Philomachus pugnax* associate according to sex, not morphology. *Bird Study* 55: 241–246. DOI: 10.1080/00063650809461529.
- Verkuil Y.I., T. Piersma, J. Jukema, J.C.E.W. Hooijmeijer, L. Zwart & A.J. Baker 2012. The interplay between habitat availability and population differentiation: a case study on genetic and morphological structure in an inland wader (Charadriiformes). *Biological Journal of the Linnean Society* 106: 641–656. DOI: 10.1111/j.1095-312.2012.01878.x
- Verkuil Y.I., C. Juillet, D.B. Lank, F. Widemo & T. Piersma 2014. Genetic variation in nuclear and mitochondrial markers supports a large sex difference in lifetime reproductive skew in a lekking species. *Ecology & Evolution* 4: 3626–3632. DOI: 10.1002/ece3.1188.
- Widemo F. 1998. Alternative reproductive strategies in the ruff, *Philomachus pugnax*: a mixed ESS? *Animal Behaviour* 56: 329–336.
- Widemo F. & I.P.F. Owens 1995. Lek size, male mating skew and the evolution of lekking. *Nature* 373: 148–151. DOI: 10.1038/373148a0.

Yvonne I. Verkuil & Theunis Piersma, Conservation Ecology Group, Groningen Institute for Evolutionary Life Sciences (GELIFES), Rijksuniversiteit Groningen, Postbus 11103, 9700 CC Groningen, y.i.verkuil@rug.nl

Theunis Piersma, NIOZ Koninklijk Nederlands Instituut voor Onderzoek der Zee, Afdeling Kustsystemen en Utrecht University, Postbus 59, 1790 AB Den Burg, Texel

Genetic ‘accidents’ explain the origin of three male types in Ruffs *Philomachus pugnax*

Recently two articles about Ruffs were published in *Nature Genetics* (Küpper *et al.* 2016, Lamichhaney *et al.* 2016). International teams mapped the genomes of Ruffs aiming to find an explanation for their peculiar and complex mating system with three types of males: independents, satellites and faeders. Ruffs show remarkable trait variation with each ornamented male sporting a unique plumage (van Rhijn

2014). However, within male types, plumage, behaviour, size and even physiology are strongly correlated. Why are these combinations of traits so rigidly fixed into just three male types? In the article we review the *Nature Genetics* studies, of which we were part of, and reveal surprising answers, opening new avenues for genetic and ecological studies.

BIJLAGE 1. Verklarende woordenlijst van vaktermen die in dit artikel worden gebruikt. De vetgedrukte termen worden elders in de woordenlijst uitgelegd. Engelse termen waarvoor geen goede vertaling bestaat zijn cursief gedrukt.

Ancestrale gen – De evolutionaire voorouder van een groep verwante **genen**, aangetoond door **fylogenetische** berekeningen.

Autosoom – Een niet geslachtsgebonden **chromosoom**. Naast 22 paren autosomen hebben mensen één paar geslachtschromosomen waarbij mannen de X en Y variant dragen (XY) en vrouwen twee kopieën van de X variant

(XX). De geslachtschromosomen van vogels zijn Z en W; bij vogels zijn juist de vrouwtjes **heterozygoot** (ZW) en de mannetjes **homozygoot** (ZZ).

Chromosoom – Compact pakketje van gewikkelde **DNA**-moleculen. Mensen hebben 23 gepaarde chromosomen, één set van elke ouder. Als geslachtscellen worden gevormd wisselen gepaarde chromosomen stukjes **DNA** uit,

waardoor **genen** en dus eigenschappen voortdurend worden herverdeeld. Vogels hebben meer chromosomen dan mensen, meestal *ca.* 40 paren.

DNA – Desoxyribonucleïnezuur (*deoxyribonucleic acid*), de stof waaruit het **genoom** bestaat. Een DNA-molecuul bestaat uit een dubbele streng van **nucleotiden**, verbonden door de **nucleobasen** of basen. Het geheel heeft de structuur van een dubbele helix: een wenteltrap waarin de gepaarde nucleobasen traptreden vormen.

Erfelijk materiaal – Alle informatie die kan worden doorgegeven aan het nageslacht. **DNA** vormt een belangrijk deel van het erfelijk materiaal, maar daarnaast worden ook eiwitten, hormonen en bijvoorbeeld specifieke zangstrofes doorgegeven aan het nageslacht.

Fylogenie – De studie naar de verwantschap en de tijdlijnen van afstamming van **genen**. Daarmee kan de evolutionaire geschiedenis van eigenschappen, populaties en soorten worden gereconstrueerd.

Genoom – Het totaal aan genetisch materiaal van een organisme: alle **DNA** van alle **chromosomen**, plus het DNA dat zich buiten de celkern in de celorganellen bevindt, bijvoorbeeld in de energiefabriekjes van cellen, de mitochondriën.

Gen – Een specifiek stuk **DNA**. Een gen kan coderen voor een eiwit of de functie van andere genen reguleren.

Homozygoot – Drager van twee identieke kopieën van een **gen**. Bijvoorbeeld: de helft van de Finse Bosuilen *Strix aluco* is homozygoot voor het gen dat de kleur van het verenkleed bepaalt: uilen met twee keer variant B zijn bruin, uilen met GG zijn grijs (Karell *et al.* 2011).

Heterozygoot – Drager van twee verschillende kopieën van een **gen**. De andere helft van de Finse bosuilen draagt zowel de B en G variant, dit zijn heterozygoten (BG). Deze uilen zijn bruin of grijs, maar vaker bruin omdat bruin dominant is (Karell *et al.* 2011).

Inversie – De omdraaiing van een gedeelte van een **chromosoom**. De **DNA**-code ligt dan achterstevoren vergeleken met het oorspronkelijke chromosoom (zie figuur 3).

Locus – Een willekeurig stuk **DNA**. Een locus kan één of meer **genen** omvatten, maar kan ook een stukje niet-code-rend DNA zijn.

Linkage disequilibrium – Koppeling van twee of meer **genen**. Als de varianten van twee genen altijd samen voorkomen erven deze genen dus gezamenlijk over. Een mogelijke verklaring is dat **recombinatie** de link tussen deze genen niet kan verbreken en dat de genen dus dicht bij elkaar liggen op een **chromosoom**. (Andere verklaringen zijn voor dit artikel niet van belang en blijven hier buiten beschouwing.)

Mutatie – Een toevallige wijziging in het **DNA**. Voorbeelden zijn (1) puntmutaties van **basen** in **nucleotiden** (b.v. A wordt C), (2) deletie (wegvallen) van één of enkele

nucleotiden en (3) verplaatsing van een stukje **DNA** (bijvoorbeeld een **inversie**). Mutaties hebben interne en externe oorzaken, variërend van kopieerfouten tijdens celdelingen tot blootstelling aan straling.

Nucleotide – Bouwsteen van **DNA**. Een nucleotidemolecuul bestaat uit organische verbindingen tussen suikers, fosfaat en één **nucleobase**.

Nucleobase / base – De base die is ingebouwd in een **nucleotide**. Er zijn vier basen: adenine, thymine, guanine en cytosine (A, C, G en T). A en T kunnen paren vormen, en C en G ook. De gepaarde basen vormen de verbindingen in de structuur van **DNA**-moleculen. Basen vormen de genetische code, waarmee bijvoorbeeld eiwitten worden gebouwd.

Recombinatie – Tijdens het vormen van geslachtscellen wisselen de gepaarde **chromosomen** stukjes **DNA** uit door kruislings over elkaar te gaan liggen (*crossing-over*). Hierdoor krijgen nakomelingen een nieuw, uniek **genoom**. Dit betekent dat **genen** die op hetzelfde **chromosoom** liggen toch onafhankelijk kunnen overerven.

Sequencen – Het bepalen van de volgorde van **nucleotiden** in **DNA**. In een klassieke Sanger-sequencer schuiven korte strengen **DNA** (tot ongeveer 700 basen lang) één voor één door een microcapillair waardoor de **basen** kunnen worden gelezen. Met de nieuwste technieken, die worden aangeduid als *next generation sequencing* (NGS), worden duizenden stukjes tegelijk gelezen (b.v. door DNA-fragmenten over duizenden pinnetjes op een plaat te draperen) en daarmee kan een compleet **genoom** van miljoenen basen in één dag worden gesequencet. Tegenwoordig is het proces om uit alle puzzelstukjes het genoom te reconstrueren het meest tijdrovend.

SNP – Enkel-nucleotide polymorfie (*single nucleotide polymorphism*). Binnen soorten is de volgorde van **basen** in het **DNA** grotendeels identiek, maar hier en daar zie je **mutaties**. Als een mutatie één **nucleotide** beslaat en in meerdere individuen is gevonden noemen we het een **SNP**. SNPs worden gebruikt voor **DNA-fingerprints** maar ook om **genen** op te sporen die voor een bepaalde eigenschap coderen.

Supergen – Een statistisch berekende regio in het **genoom** waarin de **genen** gezamenlijk overerven. Dit betekent vaak dat geen **recombinatie** plaatsvindt, bijvoorbeeld door een **inversie**.

Sympatrische soortvorming – Soortvorming zonder geografische barrière. Isolatie vindt plaats terwijl organismen in hetzelfde gebied leven, bijvoorbeeld doordat verschillen ontstaan in gedrag (zang) of habitatkeuze.