



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Targeting environmental and genetic aspects affecting life history traits

Baldal, E.A.

### Citation

Baldal, E. A. (2006, November 23). *Targeting environmental and genetic aspects affecting life history traits*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4987>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4987>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

## **Nederlandstalige Samenvatting – Summary in Dutch**



## Nederlandstalige Samenvatting – Summary in Dutch

### Voorwoord over promoveren, het belang van de brede promotie

Promoveren komt van het Latijnse werkwoord *promovere* wat een aanzienlijk aantal betekenissen heeft, waaronder; 1. bevorderen, 2. verder komen, 3. verzetten, en 4. uitbreiden. Niet toevallig zijn de definities die ik hier geef ook degenen die dicht bij de academische bedoeling van promoveren liggen. Door te promoveren word je bevorderd tot de graad van Doctor in de wetenschap, in mijn geval in de Wiskunde en Natuurwetenschappen. Een promotie heeft ook tot doel om verder te komen, qua begrip van een bepaald wetenschapsgebied, maar ook in termen van het verrichten van onderzoek dat leidt tot nieuwe inzichten. De derde definitie, verzetten, geldt voor de hoeveelheid werk die gedaan wordt. Fysiek in sommige wetenschappen, maar met nadruk ook geestelijk worden er behoorlijke bergen werk verzet tijdens een promotie.

In tegenstelling tot wat velen denken is een promovendus in Nederland niet alleen bezig met het doen van onderzoek en het schrijven van artikelen en een proefschrift. Vandaar ook dat de vierde definitie er expliciet bij is gezet, het uitbreiden. Een promovendus breidt gedurende zijn werk een heleboel dingen uit, niet alleen de wetenschap door vondsten of de eigen expertise door het opzuigen van kennis. Een promovendus dient zich bewust te zijn van de omgeving en niet louter naar binnen gericht te zijn. Het uitbreiden dat een promovendus doet houdt ook in dat hij anderen kennis laat nemen van de zaken waar de promovendus mee bezig is, variërend van jong tot oud, van arm tot rijk, van groen tot paars. Promovendi, in de klassieke zin van het woord, zijn ook een goed deel van hun tijd bezig met een vaak onderschatte bezigheid, het geven van onderwijs. Dit komt onder andere tot uiting in het geven van colleges en practica, en het begeleiden van onderzoeksprojecten, maar zeker ook door het voorlichten van het publiek over wat wetenschappers doen, en hoe de wereld nu eigenlijk volgens hen in elkaar zit. Naast deze didactische ervaring bouwt een promovendus een behoorlijke ervaring op in projectmanagement. Het binnen de tijd afronden van een project met een gelimiteerd budget en tal van verleidingen om zijpaden in te springen vereist discipline en het vermogen om te prioriteren.

Resumerend houdt een promotie in de klassieke zin in dat iemand zich bekwaamt op een groot aantal gebieden. De term promovendus heeft in sommige maatschappelijke kringen een negatieve bijklank gekregen; oubollig, vakidoot, naar binnen gericht en communicatief gestoord. Gezien de potentieel brede en diepe ontwikkeling van een promovendus is dit dus compleet afhankelijk van de persoon en niet van de bereikte mijlpaal.

Voorwaarde voor deze brede opleiding is wel dat de verbreding wordt gewaardeerd en er tijd voor wordt vrijgemaakt. Door het stimuleren van een brede ontwikkeling en dus het breed inzetbaar laten zijn van promovendi zou de Doctor titel afgestoft en opgepoetst kunnen worden. Het korte termijn belang van zoveel mogelijk publicaties behalen zal op de lange termijn ruimschoots terugbetaald worden door vergrote efficiëntie, het integreren van meerdere vakgebieden en goed onderwezen studenten. Een betere aansluiting van de promotie op de behoeften van de

maatschappij zal een betere verbintenis tussen de academische wereld en de onderwijskundige, industriële en beleidstechnische wereld opleveren.

### **De wetenschappelijke samenvatting**

In deze Nederlandstalige samenvatting ben ik vrijer in mijn taalgebruik en vermijd ik vakjargon waar mogelijk. Het is niet de bedoeling om dit als een zwaar wetenschappelijk stuk aan te zetten. De opzet is dat een leek die niets van dit vakgebied weet, uitgelegd krijgt wat er globaal in deze dissertatie staat. Ik wens u veel plezier met het wetenschappelijke gedeelte.

Het IOP-Genomics programma, onderdeel van SenterNovem, in opdracht van het Ministerie van Economische Zaken heeft subsidie toegekend aan het project "De genetica van veroudering en ziekte op hoge leeftijd". Binnen dit grote project waren er deelprojecten op het gebied van de Gerontologie (de medische wetenschap van het verouderen), de Moleculaire Epidemiologie (het wetenschapsgebied dat zich bezighoudt met de verspreiding van ziekten) en de evolutionair/kwantitatieve genetica (de wetenschap die zich bezighoudt met hoe genetische eigenschappen gedurende de evolutie ontwikkelen). Binnen deze laatste categorie vonden drie onderzoeken plaats; een aan het tropische zandoogje (*Bicyclus anynana*) en twee aan fruitvliegen (*Drosophila melanogaster* en andere soorten). Er werd gekeken naar de evolutie van levensloop eigenschappen zoals hongerresistentie, levensduur en voortplanting.

### **Wat je eerst moet weten**

#### Levenscyclus *Drosophila*

In hoofdstuk 2 is in figuur 1 de levenscyclus schematisch weergegeven. Fruitvliegen zijn holometabool, wat wil zeggen dat ze een complete gedaanteverwisseling of metamorfose ondergaan. Ze hebben een ontwikkelingstijd van ongeveer 10 dagen. De ontwikkelingstijd is afhankelijk van de soort, de voedselkwaliteit en -kwantiteit, en de temperatuur. Bij 25°C en voldoende voedsel is de levenscyclus van *D. melanogaster* als volgt. De eerste dag nadat het ei is gelegd door het fruitvliegenvrouwtje ontwikkelt het ei zich tot een larve die na een dag uit het eihuidje kruipt. De volgende 5 dagen vervelt de larve twee keer (ecdysis). Dat gaat als volgt: de larve eet zoveel dat hij helemaal vol zit en gooit dan zijn oude omhulsel af. Dan probeert hij zich zo groot mogelijk te maken en maakt een nieuw omhulsel aan. Als dit nog een keer gebeurd is, komt de larve op dag 5/6 in het zogenaamde 'crawler' stadium. In deze fase zoekt de volgegeten larve een goede plek om te verpoppen. *D. willistoni* (een andere soort fruitvlieg) doet dit bijvoorbeeld op het voedsel, terwijl *D. melanogaster* het liever wat hogerop zoekt. Tijdens de verpopping vindt de metamorfose plaats. De metamorfose is een van de meest complexe processen die in de natuur bekend zijn. De oude larve, made of rups wordt in de pop grotendeels opgelost en omgezet in een nieuw beest, de volwassen vorm (imago) die nageslacht produceert en bij de meeste insecten kan vliegen. In het geval van de fruitvliegen is

dit de overgang van larve via pop naar vlieg. Tot zover de levenscyclus van de fruitvlieg.

#### Mannetjes en vrouwtjes

Fruitvliegen hebben net als mensen twee sekses, mannetjes en vrouwtjes. De sekseverhouding lijkt zelfs op die van mensen, 50-50%. Als de vliegen uit de pop gekropen zijn kunnen ze binnen 8 uur paren. In dit onderzoek werden in de meeste gevallen de volwassen beestjes kort nadat ze uit de pop kwamen van elkaar gescheiden zodat de mannetjes en vrouwtjes niet konden paren. Voortplanting heeft namelijk een nadelig effect op de levensduur. Alleen in hoofdstuk 6 hebben we proeven gedaan met vliegen die gepaard hadden.

#### Wat eten ze?

Fruitvliegen leven, zoals hun naam al doet vermoeden, in de natuur van fruit. In het laboratorium is fruit als een medium slecht te gebruiken omdat de ene banaan wel eens meer suikers en andere stoffen kan bevatten dan de andere. Daarom gebruiken we hier het agar medium. De proeven zijn altijd gedaan op een agar medium, waar suiker en gist in opgelost is. Soms werd de concentratie van suiker en gist verhoogd of verlaagd om rijk of arm medium te krijgen. De toevoeging van levende gist aan fruitvliegenvoer zet de fruitvlieg aan tot voortplanting. In de natuur geeft levende gist op een rottend vruchtje aan dat de larve er gemakkelijk aan zijn voedsel kan komen; suikers uit de vrucht en eiwitten uit de gist. Gist is dus een signaal voor een fruitvlieg om zich te gaan voortplanten.

$$P = G + E + G \cdot E$$

We beginnen met een formule. Deze formule beschrijft de uiterlijke eigenschappen van een organisme. De P staat voor het fenotype (phenotype in het Engels, vandaar de P), de uiterlijke verschijningsvorm of eigenschappen van een organisme. De eigenschappen van een organisme betreffen alles van het organisme; het gedrag, de haarkleur, littekens, kleding, maar ook hoe hard hij kan rennen, hoeveel kinderen hij krijgt en hoe oud hij wordt. Het fenotype is opgebouwd uit drie componenten die bepalen wat de eigenschappen worden. De eerste is de G van genetica. De genetica bepaalt voor een deel je eigenschappen, een aanleg voor obesitas is een goed voorbeeld daarvan. De tweede component is de E, die staat voor de omgeving. Een gedeelte van je eigenschappen wordt bepaald door je omgeving, een voorbeeld is een makkelijke toegang tot veel voedsel of niet. De lastigste is de G\*E interactie factor die bekend staat als het genotype bij omgeving effect. Een goede manier om dit uit te leggen is je voor te stellen dat het effect van een bepaalde genetische eigenschap in de ene omgeving wel en in de andere niet slecht voor je is. Je kunt je voorstellen dat het hebben van de genetische aanleg voor obesitas in een ontwikkelingsland een minder groot probleem vormt dan in een welvarend land met een hamburgertent op iedere hoek van de straat. Sterker nog, het zou wel eens voordelig kunnen zijn in een ontwikkelingsland, maar daar kom ik in hoofdstuk 2 op terug.

Het fenotype bestaat dus uit een genetische, een omgevings- en een genotype-maal-omgeving interactie. Het fenotype 'dik zijn' kan dus het resultaat zijn van genen (zoals het *leptine*-gen), van de omgeving (we eten nu eenmaal veel te veel in dit land), maar zeker ook van het feit dat tot obesitas leidende genotypen in deze maatschappij (omgeving!) te veel voedsel binnenkrijgen; de genotype bij omgeving interactie.

#### Genetica voor beginners

"Het zit in de genen" hoor je mensen die er niet toe gekwalificeerd zijn vaak zeggen. Iedereen weet tegenwoordig wel dat ieder levend wezen genetisch materiaal heeft (DNA of RNA, maar dat is een ander verhaal) waar genen op liggen. Een gen is dus niets meer dan een groot molecuul dat informatie bevat. Doordat af en toe foutjes worden gemaakt in de natuur zijn niet alle genen van alle organismen hetzelfde. De verschillende vormen van een gen worden de allelen genoemd. Zo krijg je verschillen waar de evolutie op aangrijpt. De genen evolueren onder de invloed van de natuurlijke selectie en zo ontstaan er nieuwe organismen die beter aangepast zijn aan de omgeving. Het is dus (in vrijwel alle gevallen) zo dat je niet zozeer de goede genen hebt: die heeft namelijk iedereen. Je hebt de goede allelen. Een gen is functioneel want het vormt in de meeste gevallen een overlevend fenotype. Dit doet het gen door zijn expressie, wat zoveel betekent als de activiteit van het gen. De expressie van een gen is eigenlijk vergelijkbaar met een thermostaat. Die kun je op 20 zetten, maar ook op 15. Als je de thermostaat op 20 zet gebeurt er meer (verbranding van gas) dan wanneer je hem op 15 zet. De hoogte van de genexpressie is een maat voor de activiteit van een gen en dus voor de belangrijkheid van het gen voor het fenotype van dat moment. We kunnen de expressie van alle genen van een organisme bestuderen met een zogenaamde micro-array of chip. In het geval van de *Drosophila* 2.0 chip die we hebben gebruikt gaat het om meer dan 18.000 verschillende expressievormen van genen. Fruitvliegen hebben ongeveer 13.500 genen. Sommige van die genen hebben meer dan één expressievorm. Om deze expressievarianten te bestuderen heb je meer dan de 13.500 genen nodig, vandaar dat er 18.000 varianten bekeken worden. De mens heeft ca. 20.000 genen, waarvan een groot deel vrijwel hetzelfde is in de fruitvlieg. Bedenk dit voor de volgende keer dat u met een vliegenmepper rondloopt; u vermoordt een genetische verwant.

#### Evolutie

Malthus was een 18<sup>e</sup> eeuwse wetenschapper die zag dat er altijd meer beesten worden geboren dan waar voedsel voor is. Dit zorgt ervoor dat er dus altijd een paar beesten voedsel tekort komen en sterven. Hij snapte niet waarom er niet wat minder werd voortgeplant, zodat iedereen genoeg had. Hij observeerde echter dat dit verschijnsel overal en altijd optrad. Hij noemde dit proces 'The struggle for existence', de worsteling om het bestaan. De evolutietheorie van Darwin en Wallace bouwt hierop voort. De evolutietheorie houdt in dat ieder levend wezen probeert zich voort te planten. Om dat te kunnen moet het organisme beter aangepast zijn aan zijn omgeving dan de andere wezens die zich ook willen voortplanten. Als het organisme slechter is aangepast dan zijn concurrenten dan vergaart hij te weinig energie of bouwstoffen en kan hij zich minder succesvol voortplanten en sterft uit. Daarom stelden Darwin en Wallace dat er zoiets bestaat als 'the survival of the fittest', de best aangepaste wezens overleven.

Evolutie werkt als volgt. Er zijn alleen maar 'slecht' aangepaste wezens en door toeval ontstaat er een 'goed' aangepast wezen. De 'goed' aangepaste wezens doen het beter dan de 'slecht' aangepaste wezens. De 'slecht' aangepaste wezens planten zich daarom minder goed voort en sterven langzaam uit. Nu bestaan er alleen nog maar 'goed' aangepaste wezens. Op een gegeven dag komt er een 'beter' aangepast wezen. Dit 'beter' aangepaste wezen plant zich weer meer voort dan de 'goed' aangepaste wezens. Binnen een paar generaties heb je dus een hele grote groep 'beter' aangepaste wezens. De 'goed' aangepaste wezens sterven daarom op een gegeven moment uit. Zo kan het zijn dat er uit 'slecht' aangepaste wezens uiteindelijk 'beter' aangepaste wezens ontstaan. Dit proces van geleidelijke verandering van een soort over de generaties noemen we evolutie.

#### Trade offs

Een euro kun je maar een keer uitgeven. Het onderwerp trade offs, of wisselwerkingen, gaat daar precies over. Je kunt de energie die je vergaard hebt als organisme maar één keer gebruiken. In de natuur is het niet zo gemakkelijk als in onze maatschappij om voedsel, en dus energie, te krijgen. Dieren moeten dus zuinig doen met hun energie en goede beslissingen nemen hoe ze de energie verdelen over verschillende processen. Daarom is er in de evolutie sterk geselecteerd op genetische eigenschappen die er voor zorgt dat het genetische materiaal van het organisme doorgegeven wordt naar de volgende generatie. Als een beest zich goed kan voortplanten in een bepaalde omgeving, dan heeft dat de hoogste prioriteit. Een goed voorbeeld is de voortplanting van de fruitvlieg in de aanwezigheid van gist. Ineens draait het voortplantingsproces op volle toeren en gaat er veel energie naartoe. Dat betekent dat deze energie niet meer uitgegeven kan worden aan het bijhouden van je lichaamsonderhoud of aan de opslag van reservestoffen. Levensduur en voortplanting vormen een belangrijke trade off. Als je heel lang kunt leven, kun je minder aan voortplanting doen en *vice versa*. Dit vormt de basis voor de theorie van het wegwerplichaam, die behandeld wordt in hoofdstukken 4, 5 en 6.

#### Wetenschappelijke experimenten

De kracht van de experimentele wetenschap zit in het feit dat observaties altijd gerelateerd dienen te worden aan bepaalde zekerheden. We nemen bijvoorbeeld een bol als uitgangspunt. De bol is naar alle kanten toe symmetrisch en bezit de eigenschappen die bij een bol horen. Nu observeren we een totaal ander voorwerp (een kubus) en testen of dit hetzelfde is als de bol. De kubus heeft net zoals de bol een inhoud, heeft misschien dezelfde kleur en er past ook iets in. Als dat de criteria zijn waarop getest wordt, dan is een kubus hetzelfde als een bol. Als de criteria nog strenger zijn, namelijk dat er geen hoeken in een bol mogen zitten, dan valt de kubus in de categorie "niet bol". Het mag duidelijk zijn dat de criteria waarop getoetst wordt erg belangrijk zijn om te bepalen of zaken afwijken van het uitgangspunt. Dit uitgangspunt wordt ook wel de controle genoemd. In alle wetenschappelijke experimenten die we hier presenteren is er gebruik gemaakt van een controle. Een andere belangrijke eigenschap van de wetenschap is dat alles wat wetenschappers doen falsifieerbaar moet zijn. Karl Popper heeft het begrip falsifieerbaarheid geïntroduceerd in de wetenschap. Het klassieke voorbeeld gaat over de kleur van zwanen. Een hypothese is: alle zwanen zijn wit. Dit is falsifieerbaar; ofwel alle zwanen ter wereld worden bekeken en ze blijken allemaal wit te zijn, wat de hypothese bewijst of er komt iemand aan met een zwarte, waarmee de hypothese



verworpen is. Nu is het onmogelijk om alle zwanen ter wereld te bekijken en er ook zeker van te zijn dat we ze allemaal hebben gezien<sup>12</sup>. Daarom gebruiken we in de biologie vaak een steekproef van de totale populatie. We moeten op basis van de gegevens van die populatie dan met behulp van statistiek berekenen hoe waarschijnlijk het is dat de hypothese wordt verworpen of aangenomen.

**Hoofdstuk één:** Het effect van larvale omstandigheden op de levensloop van drie soorten *Drosophila*.

In dit project heb ik me bezig gehouden met drie soorten fruitvliegen; *D. ananassae*, *D. melanogaster* en *D. willistoni*. Deze drie soorten werden onderworpen aan drie verschillende bevolkingsdichtheden als larve; laag; ~15, gemiddeld; ~80 en hoog; ~150 eieren in een buisje met standaard medium. De vliegen die uit deze larven kwamen zijn getest op hun levensduur, hongerresistentie, lichaamsgewicht en hoeveelheid vet (relatief tot het lichaamsgewicht).

We vonden dat met een verhoogde larvale dichtheid de levensduur van de fruitvliegen minder lang werd. Ook werden de beestjes dan kleiner, maar het relatieve vetpercentage ging omhoog. Kortom, door een hoge dichtheid in het larvenstadium krijg je dus kleine vette vliegjes die kort leven. We vonden ook dat in *D. willistoni* de levensduur in de aanwezigheid van voedsel sterker reageerde dan de hongerresistentie, terwijl dat in *D. ananassae* en *D. melanogaster* net andersom was.

We leren hieruit dat de levensduur en de hongerresistentie niet exact dezelfde eigenschap zijn. Dat lijkt misschien logisch, maar heel vaak vertonen deze eigenschappen dezelfde reacties op fysiologische en omgevingsveranderingen. Daarom was het feit dat we zagen dat ze niet precies hetzelfde reageren in verschillende soorten een belangrijke vondst. Wat we ook vonden was dat de relatieve hoeveelheid vet omhoog ging met een hogere larvendichtheid. Dat wil dus zeggen dat er per cel meer vet beschikbaar is. Je zou zeggen dat dit belangrijk is voor de hongerresistentie. Het lijkt logisch, hoe meer je te verbranden hebt, hoe langer je het vol kunt houden. Dat blijkt dus niet zo te zijn. Ook al hadden de beesten meer te verbranden, toch konden ze niet voor een langere tijd tegen honger. Sterker nog, ze waren zelfs minder hongerresistent. Hier concluderen we uit dat het hebben van veel reserves dus niet noodzakelijkerwijs leidt tot een grotere hongerresistentie. We weten echter wel uit ander onderzoek dat die reserves nodig zijn om hongerresistent te zijn. Dit is wat lastig: als je vet hebt ben je niet *per se* resistent, maar als je geen vet hebt ben je sowieso niet resistent. Dit betekent dat vet een voorwaarde is, maar geen oorzaak van hongerresistentie.

---

<sup>12</sup> Hoewel, soms doen we onze uiterste best en missen we er niet één. De trieste voorbeelden zijn de Moa en de Dodo die beiden zijn uitgestorven doordat de mens zo effectief te werk ging, daarbij geholpen door ratten.

## **Hoofdstuk twee:** Het testen van de Barker hypothese.

Mijn medische collega's spraken bij het vorige stuk het vermoeden uit dat dit een goede test van de "thrifty phenotype hypothesis", ofwel de hypothese van het zuinige fenotype, zou zijn. Kortweg wordt deze theorie ook wel de Barker hypothese genoemd. Barker formuleerde zijn hypothese op basis van gegevens uit de medische wereld. Mensen die slechte omstandigheden hadden gehad in de baarmoeder bleken als volwassene een verhoogd risico te hebben op metabole ziekten. Metabole ziekten hebben te maken met het metabolisme, de stofwisseling. Voorbeelden zijn obesitas (vetzucht) en diabetes type II (ouderdomsuikerziekte). Deze ziekten verkorten het leven en resulteren dus in een gemiddeld kortere levensduur van de populatie waarin ze voorkomen. De slechte omstandigheden waar de Barker hypothese aan refereert gaan met name over een gebrek aan voedsel. In het eerste hoofdstuk waren er echter meer factoren die de levensduur konden beïnvloeden. Bij 'crowding', zoals je een hoge populatiedichtheid ook wel noemt, zijn bijvoorbeeld bij de larven van fruitvliegen competitie voor voedsel, verminderde voedselbeschikbaarheid, onderlinge agressie en vergiftiging door een verhoogde concentratie stikstofrijke excrementen (de vliegenequivalenten van ontlasting en urine) belangrijk. Omdat we voor de Barker hypothese eigenlijk alleen de voedselconcentratie wilden veranderen hebben we voor een gecontroleerde dichtheid en verminderde voedselconcentraties gekozen. Op die manier hebben we geen last van verschillen in de competitie of de excrementen, maar kijken we alleen naar de effecten van voedselverschillen. Verder liepen we tegen het probleem aan dat er naast dit mechanisme ook nog andere mechanismen zijn die hetzelfde fenotype opleveren. De Barker hypothese zoals we hem hier voorstellen is een zuiver omgeving effect. Er zijn echter ook genetische en genotype-bij-omgeving effecten die leiden tot metabole ziekten.

Een voorbeeld van genotype-bij-omgeving effecten die leiden tot ziekte komt van de natuurlijke bevolking van het Polynesische eiland Nauru. De Nauruanen hebben duizenden jaren van evolutie achter de rug waarin sterk geselecteerd werd op het zuinig omspringen met je energie. Ze leefden voornamelijk van de visvangst en hebben behoorlijke perioden van honger overleefd op hun tochten van eiland naar eiland, die vaak weken duurden. De Nauru hadden dus een zuinige motor, een 'thrifty genotype', waar ze perfect mee konden leven in de barre omstandigheden op het eilandje. Aan het begin van de vorige eeuw werd echter ontdekt dat Nauru rijk was aan fosfaat dat, ironisch genoeg gezien de gelimiteerde landbouwmogelijkheden op Nauru, goed gebruikt kon worden als bemesting. Buitenlandse investeerders stonden al snel op de stoep en maakten van Nauru een van de rijkere landen op de aardbol. Door de ineens sterk vergrote rijkdom konden de Nauruanen zich veel voedsel en inspanningbesparende materialen veroorloven. In combinatie met hun zuinige genotype leidde dit al snel tot een epidemiologische explosie van metabole ziekten.

De Nauruanen leiden aan dezelfde metabole ziekten als die bedoeld worden in de Barker hypothese (diabetes type II, obesitas *etcetera*) en ze komen beiden tot stand door een verstoring van de homeostase (metabolisch evenwicht). De oorzaak van deze ziekten is echter fundamenteel verschillend; de Barker hypothese draait om een omgevingeffect, terwijl het Nauru voorbeeld een genotype-maal-omgeving effect is dat voorkomt uit de evolutionaire historie. Omdat ze beiden hetzelfde resultaat opleveren is het belangrijk om ze te scheiden in dit onderzoek waar we maar

geïnteresseerd zijn in één van die factoren. Als we de Nauru-factor niet uit dit onderzoek weglaten kunnen we eigenlijk niets zeggen over de effecten van de slechte pre-natale (voor de geboorte, in dit geval voor de ontpopping) omstandigheden, maar weten we alleen dat fruitvliegen metabole ziekten kunnen krijgen.

Daarom lieten we larven in een normale dichtheid (80 eieren per buisje) opgroeien in standaard medium, medium met de helft aan voedingswaarde en medium met een dubbele voedingswaarde. We verzamelden de uitgekomen vliegjes en bestudeerden hoe lang het duurde tot ze ontwikkeld waren, het lichaamsgewicht en de levensduur. Om geen 'Nauru-vliegen' te krijgen hielden we de uitgekomen vliegen altijd op een medium dat hetzelfde was als het medium waar ze aan aangepast waren in het laatste gedeelte van hun evolutionaire geschiedenis.

We vonden dat er een duidelijk effect was van het medium met de halve voedingswaarde (Half), wat de Barker hypothese nabootste. De vliegen deden er langer over om te ontwikkelen, waren kleiner en er kwamen minder vliegen uit. Het Half medium was dus duidelijk een ongunstige omstandigheid. Tussen het dubbele en standaard medium was nauwelijks verschil in de eigenschappen. De vliegen op standaard en dubbel medium verschilden niet van elkaar in de levensduur als volwassenen op het standaard medium. Ze leefden echter wel langer dan de beestjes die op het Half medium waren opgegroeid. Dit duidt er dus op dat de pre-natale omstandigheden wel degelijk een effect hebben op de levensduur als volwassenen. Dit lijkt een indicatie te zijn voor het bestaan van de Barker hypothese in fruitvliegen. De vraag blijft of de verkorting van de levensduur ook het effect is van daadwerkelijke metabole ziekten. Het nader uitzoeken van dergelijke ziekten in de fruitvliegen onder deze omstandigheden is het onderwerp van vervolgonderzoek.

**Hoofdstuk drie.** De evolutie van meerdere eigenschappen door selectie op verhoogde hongerresistentie in *Drosophila melanogaster*.

In de vorige hoofdstukken heb ik het voornamelijk gehad over de effecten van de omgeving op de levensduur en hongerresistentie. In dit hoofdstuk doe ik onderzoek naar de effecten van de genetica op deze fenotypes. Levensduur en hongerresistentie zijn sterk gecorreleerde eigenschappen. Dat houdt in dat een lange levensduur ook een hogere hongerresistentie zou inhouden en *vice versa*. In hoofdstuk 1 hebben we al gezien dat deze relatie niet zo simpel is als dat hij hier voorgesteld wordt. De correlatie hield echter wel in dat de hongerresistentie een manier zou zijn om inzicht in levensduur te krijgen. Vanuit ons project gezien was het dus meer dan de moeite waard om dit te testen en wellicht lang levende fruitvliegen te krijgen.

Fruitvliegen uit Panama, Frankrijk en Nederland (Groningen en Leiden) werden verzameld en een paar generaties gemixt. Zo werd een grote genetische heterogeniteit gemengd tot een homogene populatie met een grote interne variatie. Dit betekent dat veel verschillende op zichzelf staande genetische eigenschappen van verschillende vliegenpopulaties gemengd werden tot een grote populatie waar deze eigenschappen verdeeld waren over alle vliegen. Vliegen konden dus

eigenschappen van Franse, Nederlandse en Panamese populaties hebben. Uit deze populatie werden 6 lijnen gecreëerd; 2 controle lijnen en 4 selectielijnen. De controle lijnen ondergingen exact hetzelfde behandeling als de geselecteerde beesten, behalve dat ze niet geselecteerd werden op hongerresistentie. De selectie op hongerresistentie vond als volgt plaats; de vliegen van een lijn werden als maagd na de ontroping verzameld en per sekse op een medium gezet waar ze wel toegang hadden tot vocht, maar niet tot voedsel. Als ongeveer de helft van de fruitvliegjes was overleden als gevolg van de afwezigheid van voedsel, dan werden de overige vliegjes op een voedselmedium gezet. Daar werden ze, na een paar dagen te hebben gegeten, verenigd met de overlevenden van de andere sekse van hun lijn. De beestjes paarden en werden toegestaan om eitjes te leggen. Dan werden de eitjes in een standaard dichtheid in een buis met standaard voedsel opgekweekt. De ontroppte beestjes ondergingen weer hetzelfde regime. Dit ging dus 20 generaties zo door. Daarna werden de lijnen doorgemeten voor verschillende eigenschappen. Doordat telkens alleen de vliegen met de allelen voor hongerresistentie overbleven, selecteerden we het genetische materiaal voor hongerresistentie in onze vliegen populatie. Dit is artificiële selectie; evolutie in het laboratorium.

De selectielijnen hadden alle 4 een hongerresistentie die ongeveer 60 tot 80% hoger lag dan die van de controle lijnen. Deze lijnen kunnen dus ongeveer 3.5 à 4 dagen langer zonder voedsel dan de lijnen die er niet op geselecteerd waren. De lijnen hadden allemaal een sterk verhoogde relatieve hoeveelheid vet, zoals we al hadden voorspeld op basis van de bevindingen in hoofdstuk 1. Van deze 4 lijnen hadden er 2 (SR1 en SR2) een verlengde levensduur en de andere 2 (SR3 en SR4) niet. Ook was van de lang levende lijnen (SR1 en SR2) de resistentie tegen paraquat hoger, terwijl die van SR3 en SR4 net zo hoog was als die van de controle lijnen. Paraquat is een giftige stof die er voor zorgt dat er schade in je lichaam ontstaat door oxidatieve radicalen. Oxidatieve radicalen zijn zuurstofdeeltjes die zich binden aan het eerste het beste wat ze tegenkomen. Daarbij gaat hetgeen waar ze zich aan binden meestal direct kapot. Dat betekent dus dat door oxidatieve radicalen schade aan onder andere het DNA en eiwitten ontstaat. Meestal wordt gesuggereerd dat een betere resistentie tegen paraquat en een hogere hongerresistentie het resultaat zijn van een verlaagd metabolisme (trage verbranding). In dat geval zou er minder verbrand worden en daardoor wordt de paraquat minder snel schadelijk gemaakt, waardoor je langer mee kan en dus langer leeft. Ook wordt door minder te verbranden je reserve minder snel aangesproken en heb je dus wat achter de hand voor barre tijden. In onze analyse bleek dit echter niet zo te zijn. Als er voedsel aanwezig was bleek het 'verbruik' gelijk te zijn in de controle en geselecteerde lijnen. Als de beestjes uitgehongerd werden dan bleek de verbranding van de geselecteerde fruitvliegjes zelfs hoger te zijn. Een trage verbranding was dus niet de oorzaak van de hongerresistentie, en in het geval van SR1 en SR2, de verhoogde paraquat resistentie en de verlengde levensduur.

Hongerresistentie is afhankelijk van de hoeveelheid vet van een beest. Het draait allemaal om de reserves en in deze lijnen niet om een tragere stofwisseling. Ook is duidelijk dat een langere levensduur het resultaat kan zijn van selectie op een grotere hongerresistentie, zoals al eerder gevonden was. Maar het hoeft niet zo te zijn, dat blijkt uit de lijnen SR3 en SR4, die wel hongerresistent zijn maar geen langere levensduur hebben. Er zijn dus duidelijk meerdere genetische oplossingen voor het honger probleem. Ook wordt duidelijk dat een lange levensduur een bijproduct is van hongerresistentie. Met andere woorden, een langere levensduur is

niet nodig voor een goede hongerresistentie. Op een langere levensduur kan niet geselecteerd worden in de natuur. De individuen met de langste levensduur zitten in de selectieschaduw. Dat betekent dat het eigenlijk niet meer uitmaakt wat voor genetisch materiaal ze hebben voor de evolutie. Door toeval zijn veel individuen met dezelfde genen al doodgegaan en veel met andere genen zijn blijven leven. Van de lang levende individuen heeft maar een gedeelte ook echte lang leven allelen. Ook reproduceren deze beesten helemaal niet meer, waardoor er door langer te leven geen extra nakomelingen zijn en dus geen voordeel in de evolutionaire zin. De bijdrage van de langlevende allelen is zo klein dat hij in het niet valt bij de krachten die in het selectieproces werken. Lang leven moet dus altijd meeliften met een andere eigenschap. Hongerresistentie is een eigenschap waarbij dat kan.

**Hoofdstuk vier.** De interactie tussen voedsel en levensduur in een verzameling *D. melanogaster* lijnen die geselecteerd zijn voor een langere levensduur en een verhoogde hongerresistentie.

Uit de eerste drie hoofdstukken weten we dat de levensloop eigenschappen worden beïnvloed door de genetica van een organisme en door de omgeving waarin het leeft. We weten ook dat de omgeving en de genetica kunnen interacteren. Dit betekent dat de organismen met verschillende genen een andere respons laten zien over een gradiënt van omgevingen. In het vorige hoofdstuk hebben we gezien dat de lijnen die geselecteerd zijn voor verhoogde hongerresistentie niet per se langer leven. Interessant is nu om te beseffen dat hongerresistentie afhankelijk is van de afwezigheid van voedsel en een lange levensduur afhankelijk is van de aanwezigheid van voedsel. Dit lijkt simpel, maar het herbergt een wetenschappelijk interessante vraag. Ook al is er een sterke correlatie en hebben individuen die hongerresistent zijn vaak ook een verhoogde levensduur, toch worden deze eigenschappen gemeten in verschillende omgevingen. Om te weten te komen in hoeverre dezelfde mechanismen achter deze eigenschappen zitten is het belangrijk om lijnen die geselecteerd zijn voor een van beide eigenschappen door te meten in beide milieus. Hier hebben we dat gedaan. We hebben de honger resistente lijnen samen met langlevende en kortlevende lijnen uit Groningen met hun controles doorgemeten op de levensduur onder uitgehongerde, en slechte (half medium) en goede (dubbel medium) voedselomstandigheden. Door de controles van de verschillende soorten lijnen (lang levend, kort levend, hongerresistent) mee te nemen kunnen er meerdere vergelijkingen worden gemaakt. Een van die vragen is hoe de levensduur van de geselecteerde lijnen zich over de omstandigheden verhoudt ten opzichte van de controles. De andere is, hoe de levensduur van de hongerresistente en lang levende lijnen zich over de verschillende voedselomstandigheden verhoudt. Dit laatste kan geanalyseerd worden met de levensduur, maar ook met de levensduur gecorrigeerd voor de genetische achtergrond. Met de genetische achtergrond bedoelen we de effecten die alle genen waar je geen onderzoek naar doet hebben op de beesten. Zo weet je zeker dat je kijkt naar het effect van het gen van jouw interesse, omdat de effecten van de andere genen worden weggehaald uit de analyse. Als je corrigeert voor de genetische achtergrond trek je de gemiddelde levensduur van de controle af van de data van de geselecteerde lijnen. De data die overblijven, representeren het levensduurverschil dat veroorzaakt wordt door de selectie: de genetische verandering ten opzichte van de originele beesten. Als voor alle genetische achtergronden is gecorrigeerd, levert dat een dataset waarin het

effect van selectie in de verschillende selectielijnen gemakkelijk vergeleken kunnen worden.

We hebben gevonden dat als alle lijnen worden getest in de omstandigheden waar de lijnen in geselecteerd zijn, de selectielijn voor die omstandigheid altijd een superieure levensduur heeft. Op het dubbele medium lieten de honger resistente lijnen wel een verhoogde levensduur zien ten opzichte van hun controles, maar niet zo extreem als onder de honger omstandigheden. De hongerresistente lijnen lieten hier ook een levensduur zien die sowieso lager lag dan die van de langlevende lijnen. De lang levende lijnen deden het niet beter dan hun controlelijnen op het hongermEDIUM. Dit laat zien dat de levensduur van beide lijnen verhoogd is, maar met name op het medium waarop ze geselecteerd zijn. De theorie van het wegwerplichaam gaat hierover. Die stelt dat de evolutie voornamelijk selecteert op de productie van de meeste nakomelingen. Je hebt een zogenaamde soma kant (lichamelijk onderhoud) en een reproductie kant. In het geval dat de meeste stoffen naar de soma-kant gaan is er minder reproductie en leven de dieren langer. Honger resistentie en lang leven zijn eigenschappen die dus echt bij de soma horen. Hier zien we dat in dit geval allocatie (verdeling, toewijzing) van de reserves gaat naar de soma kant in deze lijnen. Het feit dat de lijnen het langste leven in de omstandigheden waarin ze zijn geselecteerd laat dus een genotype-maal-omgevings interactie zien; in de verschillende omgevingen zijn andere genotypen superieur. Verder werd gevonden dat de voor de genetische achtergrond gecorrigeerde levensduur een vergelijkbaar patroon laat zien.

Al met al kunnen we dus zeggen dat de lang levenden en honger resistenten wel allebei een verhoogde allocatie naar de soma laten zien, maar dat het afhankelijk is van de omgeving waar hun voordeel tot uitdrukking komt. Ze doen exact het tegenovergestelde en laten zo dus zien dat als de reserves naar de soma zijn gealloceerd, er meerdere processen zijn die hun voordeel daarmee kunnen doen. Ze doen dit alleen niet noodzakelijkerwijs proportioneel. Het is duidelijk dat de genen die verantwoordelijk zijn voor de langere levensduur gedeeltelijk anders zijn dan de genen die verantwoordelijk zijn voor de honger resistentie. Anders zouden de hongerresistente en de langlevende lijnen hetzelfde reageren op de verschillende omstandigheden. Ook is het voordeel in levensduur afhankelijk van de voedselomstandigheden die ze tegen komen.

#### **Hoofdstuk vijf.** Genexpressie patronen van hongerresistente *Drosophila melanogaster* onder voedsel en honger omstandigheden.

In dit microarray experiment is gekeken naar de genexpressie van alle genen (het hele genoom) van *D. melanogaster*. De vraagstelling was welke genen er belangrijk waren voor de toegenomen hongerresistentie en misschien zelfs voor een verlengde levensduur. Daarom werd gekozen om met lijn SR2 te werken, een hongerresistente lijn met de langste levensduur. Lijn C1 werd gekozen als controle lijn voor dit experiment. Maagdelijke vrouwtjes fruitvliegen van beide lijnen werden voor drie dagen onderworpen aan ofwel voedselomstandigheden ofwel honger. Na die drie dagen werden de vliegen gedood in vloeibare stikstof om hun RNA te behouden. Dit RNA werd geïsoleerd (uit de vliegen gehaald) en middels enkele stappen op een microarray gehybridiseerd. Dit betekent dat het totale RNA van de beestjes aan

stukjes RNA waarvan we weten met welke genen ze te maken hebben op het glazen plaatje van de array worden gehecht. Daarna konden de microarrays worden bekeken (uitgelezen) en hun data worden geanalyseerd. Dit gebeurde grotendeels bij Unilever in Colworth, UK. Niet alleen was dit een experiment om te kijken hoe deze geavanceerde technologie kon worden gebruikt in onze vraagstellingen, het was ook een eerste vooronderzoek waarin we wilden kijken of we algemene patronen op konden pikken die te verklaren waren met onze theorie. De data waren uitermate interessant. In een data reducerende principale componenten analyse werd duidelijk gezien dat ongeveer een kwart van alle variatie verklaard werd door het verschil tussen gevoede en uitgehongerde dieren. Een groot deel van de verschillen wordt dus geïnduceerd door de omgeving. Iets minder dan een kwart van alle variatie in genexpressie werd verklaard door het verschil tussen de lijnen. Deze verschillen zijn dus het resultaat van verschillen in de genen. Als de eerste en de tweede principale component samen werden genomen (zie hoofdstuk 5, figuur 2) dan kwam duidelijk een genotype-maal-omgeving interactie naar voren. De controle lijnen vertoonden onder honger situaties een behoorlijk afwijkend patroon in hun genexpressie. We zagen in de derde en vierde principale componenten wel een behoorlijke technische variatie, waardoor we onze data met een behoorlijke reserve hebben geïnterpreteerd. In de genspecifieke analyse hebben we ons met name gericht op een analyse van in hoeveel genen de expressie wordt veranderd door de genetische verandering door het selectieproces (G-effect), wat er anders tot expressie kwam in uitgehongerde beesten dan in doorvoede beesten, dus een omgevingseffect (E-effect) en hoe de interactie tussen die twee was (G\*E-effect). De expressie van een groot aantal genen werd veranderd door het verschil in voedselomstandigheid (3625), een kleiner deel werd beïnvloed door de genetische verandering door de selectie (454) en 42 genen vertoonden genotype-maal-omgeving interacties.

In een analyse van enkele processen die belangrijk zijn in relatie tot hongerresistentie en lang leven vonden we de bekende patronen terug. Onder andere waren alle reproductie gerelateerde genen die wij konden identificeren op een lager niveau van expressie in de hongerresistente lijnen dan in de controle lijnen. De thermostaat voor reproductie stond dus lager in de hongerresistente beesten. Dit strookt met de theorie van het wegwerplijf (soma). Ook vonden we een verminderde activiteit van zenuwsignaal doorgevende zenuwen. Stress signalering was lager in de resistente diertjes. Dit heeft er waarschijnlijk mee te maken dat de resistente beesten nog geen stress ervaren na drie dagen uithongering en de controle lijn al wel. Hetzelfde gold voor de insuline signaalroute (bekend van suikerziekte). Hierdoor wordt voedselopname minder goed doorgegeven en de beestjes dus wat zuiniger aan doen omdat ze denken dat ze minder hebben dan ze hebben. Als gevolg van verminderde insuline signalering vonden we ook dat de glycolyse, een proces in de afbraak van glucose, op een lager pitje werd gezet. De genen die betrokken waren bij de afbraak van vet, eiwitten en andere suikers dan glucose kwamen daarentegen wel veel hoger tot expressie. De dieren zullen als gevolg hiervan genoeg energie hebben om te leven. Zoals we al vonden in het derde hoofdstuk was de stofwisseling van de hongerresistente vliegen gelijk aan of zelfs hoger dan die van de controle lijnen. De glucose spiegels in het bloed (haemolymfe) zullen echter ook erg hoog zijn door de verhoogde afbraak van glycogeen (wat bestaat uit glucose moleculen die dan vrij komen) en de lage afbraak van glucose. Dit lijkt een beetje op een diabetische respons. Nu is bekend dat diabetici gemiddeld korter leven dan niet-diabetici. Hoe valt dit te rijmen met de suggestie dat onze hongerresistente, lang levende lijnen eigenlijk een soort van diabetes hebben? Diabetici hebben vaak last

van hun bloedvaten en dit blijkt ook de grootste doodsoorzaak in deze groep te zijn. Fruitvliegen hebben een compleet ander circulatiesysteem dan mensen, onder andere zonder vaten. Vandaar dat het grote hart- en vaatrisico dus uitgesloten wordt in de fruitvlieg.

Dit vooronderzoek is dus geslaagd te noemen. We weten nu dat we microarrays kunnen gebruiken voor onze proefopzet en dat er interessante patronen uit kunnen komen die eerder werk bevestigen. Wel dient de technische variatie beperkt te worden en moet er duidelijk beseft worden dat microarray werk slechts een indicatie geeft van systemen die belangrijk zijn in de eigenschappen die we bestuderen. Deze indicaties dienen verder onderzocht te worden met onder andere kwantitatieve PCR (een manier om te weten hoeveel RNA of DNA zich in een monster bevindt door terug te rekenen) om tot sluitend bewijs te komen.

**Hoofdstuk zes.** De levensloop van *methusalem* onder verschillende omstandigheden, implicaties voor het gebruik van mutanten in onderzoek naar levensduur.

In het verouderingsonderzoek wordt met enige regelmaat een mutant geïdentificeerd die langer leeft dan representanten van de lijn waar hij uitkomt. Een mutant is een individu met een genetische verandering, mutaties gebeuren iedere dag in ieder organisme en kunnen soms nare gevolgen opleveren zoals kanker. In veel gevallen is de vermeende superioriteit van de lijn onderuit gehaald (gefalsificeerd) doordat de mutatie bijvoorbeeld alleen het levensverlengende effect bleek te hebben in heel specifieke omstandigheden, of dat de voedselafhankelijke levensduur bleek te zijn verschoven. Zoniet bij de langlevende mutant *methusalem* (*mth*) die werd gepresenteerd als een mutant die langer leefde en beter tegen honger, hitte en paraquat kon. De evolutionaire biologie leert dat er beperkingen en grenzen (constraints) zijn waarbinnen een organisme kan evolueren. Als je goed bent in het ene, is goed zijn in het andere onmogelijk binnen dezelfde omgeving. De vraag was eigenlijk waarom we in het laboratorium een zo superieure mutant kunnen identificeren, die in de natuur helemaal niet gevonden wordt. Temeer daar we weten dat in het veld het gen onder selectie staat die geassocieerd is met levensduur. Dat wil niet zeggen dat de selectie op de levensduur plaatsvindt, maar juist op een andere eigenschap die er ook voor zorgt dat de levensduur verlengd wordt. In het onderzoek dat hier gedaan werd is gekeken naar de invloed van de omgeving waarin, en de leeftijd van de vliegen waarop eigenschappen gemeten werden. Zo bleek dat op ons medium de hongerresistentie en de paraquatresistentie lang niet zo goed waren als in de originele studie waar de *methusalem* beesten als superieur werden erkend. De levensduur van de maagdelijke mutant was wel iets langer dan die van de maagdelijke controle groep, maar niet zoveel als in de originele studie. Sterker nog, als we op het dubbele medium testten dan leefden de *mth* vliegen zelfs significant korter dan de controle lijn. De extrapolatie van deze gegevens en het feit dat er in het medium van de originele publicatie vrijwel geen gist zat leidde ons tot de conclusie dat als er meer gist in het medium zat, de *methusalem* minder lang leefde dan wanneer er minder in zat. Dit komt waarschijnlijk doordat meer gist de allocatie naar de reproductie vergroot en dat een negatief effect heeft op de levensduur. Of de *methusalem* mutatie inderdaad voordelen heeft is dus afhankelijk van de omgeving waar de mutant zich in bevindt.



Ook hebben we proeven gedaan naar het effect van de mutatie op de reproductie. Daaruit bleek dat de mutanten en de controle vliegen dezelfde reproductiviteit hebben over hun hele leven. De levensduur van deze gepaarde mutanten was overigens identiek aan die van de controle vliegen. Het paren had dus wel degelijk een negatief effect op de verlengde levensduur van de mutant. Een nadere analyse leerde dat de mutanten een lagere reproductiviteit vroeg in het leven hadden en een hogere later in het leven. In de natuur is de reproductiviteit vroeg in het leven het belangrijkste, omdat de kans groot is dat je niet oud wordt van kans afhankelijke (stochastische) gevaren. Je kunt bijvoorbeeld gemakkelijk opgegeten worden. Dieren die later in het leven reproduceren hebben dus een behoorlijk nadeel en brengen gemiddeld minder nakomelingen in de populatie. Daardoor zullen ze langzaam uitgeselecteerd worden over de tijd. De combinatie van omgeving afhankelijke superioriteit en een verminderde reproductiviteit vroeg in het leven is dus waarschijnlijk de oorzaak van het feit dat we in de natuur geen vliegen tegenkomen die vergelijkbaar zijn met *methusalem*.

### **Samenvatting van de samenvatting**

De samenvatting van de samenvatting dient natuurlijk kort te zijn. Om kort te gaan is het volgende uit het proefschrift gerold. Vet is in fruitvliegen een voorwaarde voor honger resistentie maar niet de oorzaak van een verhoogde honger resistentie. Daarvoor moeten andere processen ook meewerken, bijvoorbeeld de allocatie van energetische stoffen (o.a. vet, suikers) naar de soma in plaats van naar de reproductie. Ook werd duidelijk dat selectie op honger resistentie niet noodzakelijkerwijs exact dezelfde eigenschappen oplevert als selectie op een lange levensduur. Beide eigenschappen liggen aan de soma kant zoals die bedoeld is in de wegwerplichaam-theorie. Selectielijnen voor langere levensduur en hogere hongerresistentie vertonen naast een relatief verhoogde algemene levensduur echter wel een behoorlijke interactie als ze getest worden over een gradiënt van omgevingen. Daaruit werd geconcludeerd dat beide eigenschappen tot op zekere hoogte door dezelfde mechanismen worden bepaald, maar vanaf een zeker moment gescheiden zijn. De microarray analyse leverde een aardig beeld op van de processen die veranderd waren in een selectielijn. De insuline signaalroute, de glycolyse, reproductie en de katabolische (afbraak van stoffen) routes deden precies de dingen die verwacht werden van hongerresistente lijnen (zie hoofdstuk 6). In het *methusalem* onderzoek kwam duidelijk naar voren dat, net zoals in de selectielijnen, de omgeving waarin getest wordt erg belangrijk is. Ook werd daar duidelijk dat binnen een bepaald systeem de bouwstoffen maar één keer kunnen worden uitgegeven en dat niet slechts één eigenschap ten voordele kan veranderen als er verder niets verandert.

Eén studie wil ik hier dan toch graag aanhalen omdat zij zo elementair is. In 1986 publiceerden Van Noordwijk en De Jong hun Y-allocatiemodel. Ze legden hun model uit in een prachtige metafoer die ik graag mee wil geven. Als je een vast bedrag hebt kun je dat uitgeven aan een auto of aan een huis. Een grote auto betekent dat er minder geld is voor een huis en *vice versa*. Dit houdt in dat er een negatieve correlatie is tussen de grootte van je huis en van je auto. Het probleem dat het lastig

maakt om dit zonder kennis van de maatschappij te ontdekken ligt hem erin dat niet iedereen evenveel te besteden heeft. Een rijk persoon kan een heel groot huis en een hele grote auto hebben. Hoe meer je hebt, hoe groter beiden zullen zijn. Dit leidt tot een positieve correlatie tussen de grootte van je auto en je huis. Deze negatieve en positieve correlaties heffen elkaar gedeeltelijk op en het is dus lastig om een helder beeld te krijgen als je niet weet dat er twee processen spelen. Met het systeem van lang leven en honger resistentie is het precies zo. In de selectielijnen is er meer allocatie naar de soma geweest. De soma processen hebben dus meer te besteden. Daarom wordt vaak gevonden dat zowel de honger resistentie als de levensduur is vergroot in de selectielijnen. Deze processen variëren echter zo sterk in hun onderlinge verhoudingen dat het erop lijkt dat tussen deze twee processen ook weer een grondstof-allocatie probleem ontstaat.

Al met al leidde ons dit tot de conclusie dat er na de eerste allocatie tussen soma en voortplantingssystemen een tweede bestaat tussen honger resistentie en een lange levensduur (zie de Summarising Discussion, figuur 1 op pagina 149).

