



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Comparative genomics of the balanced lethal system in *Triturus newts*

France, J.M.

Citation

France, J. M. (2025, April 3). *Comparative genomics of the balanced lethal system in Triturus newts*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4210100>

Version: 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/1887/4210100>

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

Samenvatting

Het zogenaamde ‘balanced lethal system’ (gebalanceerd dodelijk systeem), dat voorkomt bij de kam- en marmersalamanders die samen het geslacht *Triturus* vormen, is een bijzonder raadselachtig fenomeen. Bij deze salamanders komt de helft van alle bevruchte eitjes niet uit; in plaats daarvan stopt de ontwikkeling en sterven de embryo’s uiteindelijk. Dit fenomeen leidt tot een catastrofale afname van het reproductieve succes, wat bij geen enkele andere (water-)salamandersoort wordt waargenomen. Ondanks dat we evolutie begrijpen als een stochastisch proces zonder doelgerichtheid, blijft het uiterst verrassend dat zo een overweldigend nadelige mutatie zich heeft kunnen vestigen in een volledig geslacht. Mijn proefschrift richt zich op het blootleggen van de aard van deze mutatie en de evolutionaire krachten die dit systeem mogelijk voortgebracht hebben.

In hoofdstuk 1 beschrijf ik de achtergrond van het onderzoek. Ik introduceer de onderzochte organismen (*Triturus*-salamanders) en plaats ze in een fylogenetische context, inclusief hun zuster-geslacht *Lissotriton* en minder nauw verwante soorten binnen en buiten de familie Salamandridae. Vervolgens leg ik de algemene mechanismen van balanced lethal systems uit en bespreek ik de literatuur over het systeem in *Triturus*, dat bestaat uit twee verschillende, niet recombinerende vormen van chromosoom 1. Ik bespreek verschillende hypothesen die het ontstaan van het balanced lethal system proberen te verklaren, waaronder de evolutie vanuit geslachtschromosomen en de degeneratie van een supergen-systeem. Tot slot presenteer ik de doelstellingen van mijn promotieonderzoek: het testen van deze hypothesen door de genomen van *Triturus* en verwante soorten in kaart te brengen en structurele veranderingen te identificeren die gerelateerd zijn aan de evolutie van het balanced lethal system.

In hoofdstuk 2 beginnen we met het testen van de hypothese dat het systeem zijn oorsprong vindt in geslachtschromosomen. Dit doen we door het Y-chromosoom van *Lissotriton* te identificeren, dat in dit model homoloog zou moeten zijn aan het niet-recombinerende gebied van *Triturus* chromosoom 1. Dit onderzoek is ingewikkeld omdat salamanders zeer grote genomen hebben (20-30 Gbp) en kleine, homomorfe geslachtschromosomen. We proberen twee RADseq-gebaseerde methodes: het identificeren van genetische markers bij volwassen individuen met een bekende sekse die uniek zijn aan de mannelijke salamanders en het in kaart brengen van een paternaal overgeërfd, niet-recombinant gebied via een genkoppelingskaart (linkage map). De geslachtsgebonden benadering blijkt effectief; er worden meerdere Y-gebonden markers geïdentificeerd die in verschillende *Lissotriton* soorten gevalideerd worden.

Echter, ondanks het samenstellen van een genkoppelingskaart met hoge dichtheid, wordt een Y-gebonden, niet recombinerende regio niet onmiddellijk zichtbaar, zonder de merkers die eerder bij volwassen mannetjes gevonden zijn eruit te lichten.

In hoofdstuk 3 passen we de technieken uit hoofdstuk 2 toe op *Triturus* zelf. We stellen een gedetailleerde RADseq genkoppelingskaart samen en identificeren Y-gebonden merkers via geslachts associate in een populatie volwassen mannetjes. Vervolgens worden deze Y-merkers geïntegreerd in de genkoppelingskaart om het Y-chromosoom te lokaliseren. Door de genkoppelingskaarten van *Triturus* en *Lissotriton* met elkaar te vergelijken, ontdekken we dat beide geslachten verschillende Y-chromosomen hebben. Dit betekent dat ten minste één van de twee geslachten een nieuw Y-chromosoom heeft ontwikkeld sinds hun laatste gemeenschappelijke voorouder. Dit is belangrijk, omdat het model van geslachtschromosoom-oorsprong een dergelijke Y-chromosoom vervanging vereist binnen deze tijdspanne. We constateren echter ook dat het *Lissotriton* Y-chromosoom niet homoloog is aan *Triturus* chromosoom 1. Daarom concluderen we dat, hoewel er duidelijk bewijs is voor recente Y-chromosoomvervanging binnen salamanders, dit waarschijnlijk geen rol heeft gespeeld in de evolutie van het balanced lethal system van *Triturus*.

In hoofdstuk 4 onderzoeken we alternatieve modellen voor de evolutie van het balanced lethal system door direct chromosomale mutaties te identificeren die hebben plaatsgevonden sinds *Triturus* en *Lissotriton* zich van hun laatste gemeenschappelijke voorouder hebben afgesplitst. We gebruiken target-capture-sequencing om genkoppelingskaarten te construeren voor beide geslachten, elk met de locatie van meer dan 3,500 coderende genen. Daarnaast vergelijken we deze kaarten met de genomassemblages van de ribbensalamander (*Pleurodeles waltl*) en de axolotl (*Ambystoma mexicanum*). Opvallend genoeg vinden we op het niveau van het gehele genoom zeer weinig structurele variatie tussen de drie watersalamandergeslachten, ondanks het feit dat hun laatste gemeenschappelijke voorouder meer dan 60 miljoen jaar geleden leefde. Specifiek in *Triturus* chromosoom 1 zijn er echter wel herschikkingen die verband houden met het balanced lethal system. We constateren dat beide varianten van chromosoom 1 een grote deletie van ongeveer 200 Mbp hebben. Dit verklaart de dodelijke aard van het systeem: de 50% van de embryo's die de pech hebben twee kopieën van dezelfde variant te erven, missen een aanzienlijk deel van hun genoom. Verrassend genoeg lijkt elke deletie gecompenseerd te worden door een duplicatie van hetzelfde DNA-segment op de andere variant van chromosoom 1, waardoor de 50% van de embryoes die beide varianten erven alsnog over een enkel exemplaar van elk gen beschikken. Dit patroon van deletie en duplicatie is het voorspelde resultaat van een ongelijkmatige uitwisseling tussen zusterchromosomen, een mechanisme dat in theorie een balanced lethal system in één enkele stap zou kunnen creëren. We modelleren dit scenario en ontdekken dat het balanced lethal system zich contra-intuïtief kan vestigen in een subpopulatie en vervolgens bestand kan

worden tegen invasie door de ancestrale chromosoomvariant. Dit komt doordat de duplicaties binnen het systeem de deleties volledig compenseren, terwijl dit niet het geval is voor 'hybride' combinaties van het balanced lethal system en het voorouderlijke chromosoom.

In hoofdstuk 5 vat ik de bevindingen uit de voorgaande hoofdstukken samen en bepaal ik richtingen voor toekomstig onderzoek. De identificatie van twee totaal verschillende Y-chromosomen in twee nauw verwante geslachten is verrassend en suggereert dat het geslachtsbepalingssysteem bij salamanders verder onderzocht moet worden. Ik stel voor om hiervoor dezelfde methodologie te gebruiken als in hoofdstuk 2 en 3. Een terugkerende bevinding is het sterke behoud van genomische syntenie binnen salamanders. Het zou interessant zijn om te onderzoeken of dit beperkt is tot *Triturus*, *Lissotriton* en *Pleurodeles*, of een algemeen kenmerk is van de gehele familie Salamandridae. Daarnaast bespreek ik de implicaties van de in hoofdstuk 4 gemodelleerde reproductieve isolatie en de hierdoor gesuggereerde onverwachte verbinding tussen het balanced lethal system en soortvorming. Ik concludeer dat het balanced lethal system in *Triturus* een uitstekend voorbeeld is van hoe het toepassen van moderne genomische technieken op voorheen onoplosbare evolutionaire vraagstukken nieuwe en verrassende inzichten kan bieden.