

# Genetisch-genealogisch verwantschapsonderzoek in de Lage Landen op basis van Y-chromosomale variatie

“De Gen-iale Stamboom”

**Sofie CLAERHOUT**

Proefschrift ingediend tot het  
behalen van de graad van  
Master of Science in de biologie

Promotor: Prof. dr. T. Wenseleers  
KU Leuven

Co-promotor: Dr. M. Larmuseau  
KU Leuven

Academiejaar 2015-2016

© Copyright by KU Leuven

Zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van zowel de promotor(en) als de auteur(s) is overnemen, kopiëren, gebruiken of realiseren van deze uitgave of gedeelten ervan verboden. Voor aanvragen tot of informatie i.v.m. het overnemen en/of gebruik en/of realisatie van gedeelten uit deze publicatie, wendt u tot de KU Leuven, Faculteit Wetenschappen, Geel Huis, Kasteelpark Arenberg 11 bus 2100, 3001 Leuven (Heverlee), Telefoon +32 16 32 14 01.

Voorafgaande schriftelijke toestemming van de promotor(en) is eveneens vereist voor het aanwenden van de in dit afstudeerwerk beschreven (originele) methoden, producten, schakelingen en programma's voor industrieel of commercieel nut en voor de inzending van deze publicatie ter deelname aan wetenschappelijke prijzen of wedstrijden.

# Dankwoord

Reeds in het secundair onderwijs was ik geboeid door het vak biologie, en meer bepaald de genetica. Deze interesse had ik vooral te danken aan mijn leraar biologie, dhr. Robert Vantomme, die mij meenam in zijn verhaal, zijn uitgebreide kennis en vooral zijn passie voor het vak. Biologie studeren leek mij dan ook een logische keuze. Al startend aan de KULAK, ging ik via de Universiteit van Leiden richting de KU Leuven. Mijn studententraject van vijf jaar zit er bijna op, en dat begin ik te beseffen terwijl ik deze woorden neerschrijf.

Het behalen van een masterdiploma betekent het behalen van graden, het binnenhalen van studiepunten en het schrijven van een thesis. Het woord 'thesis' klonk vroeger niet als muziek in mijn oren, maar met de hulp van vele mensen heb ik het niet alleen overleefd, maar heb ik er ook plezier aan beleefd. Hierbij wil ik de KU Leuven, de faculteit Wetenschappen en in het bijzonder prof. dr. Tom Wenseleers, mijn promotor, bedanken voor de unieke kans die ze mij hebben gegeven om als bioloog mijn thesis af te leggen in een forensisch-genetisch kader. Daarnaast wil ik dr. Maarten Larmuseau, mijn co-promoter en tevens mijn begeleider, heel hard bedanken voor de leuke en vlotte samenwerking en voor de vele "Goed bezig, Sofie"-woorden die mij extra hard motiveerden. Ook hartelijk dank aan de evaluatoren, prof. dr. Ronny Decorte en dr. Anneleen Van Geystelen, die bereid zijn om mijn thesis met een kritisch oog na te lezen. Graag wil ik hierbij ook de mensen in het laboratorium voor Forensische Genetica en Moleculaire Archeologie bedanken voor de leerrijke opleiding en het eeuwige geduld om mij alle kneepjes van het vak te leren; bedankt prof. dr. Bram Bekaert, Nancy, Elisabeth, Nathalie, Kathleen en Lucie. Ook bedankt aan mijn mede-studenten die liefde en leed deelden in dit onderzoeksleven, die grapjes maakten over mijn West-Vlaams accent en die zorgden voor de leuke ontspanning tussen het werken door; bedankt Anke, Lode en 'partner-in-crime' Michiel. Bedankt aan Familiekunde Vlaanderen en de vele DNA-donoren om dit onderzoek mogelijk te maken en om de vele positieve reacties die mij telkens weer stimuleerden om goed en snel de gewenste resultaten neer te zetten. Verder wil ik graag mijn vrienden buiten het labo bedanken voor de vele Leuvense herinneringen die ik niet snel zal vergeten, mijn ouders en familie voor de onvoorwaardelijke steun en als laatste mijn vriend, Simon, voor zijn geduld en liefde die mij er telkens weer bovenop hielpen.

Het 'student zijn' zit er bijna op, da's een feit. Het einde van een 20 jarige schoolcarrière, het begin van een nieuw hoofdstuk. Ik heb in deze periode heel wat bijgeleerd, ik heb er heel veel mensen leren kennen en ik heb er vooral extreem veel van genoten! Bedankt!

Sofie

# Inhoudsopgave

Dankwoord .....	I
Inhoudsopgave .....	II
Lijst met afkortingen .....	IV
Samenvatting .....	V
Summary .....	V
<b>1. Introductie</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Literatuurstudie</b> .....	<b>2</b>
2.1 'Extra Pair Paternity' (EPP) .....	2
2.1.1 EPP in het dierenrijk .....	3
2.1.2 EPP bij de mens .....	5
2.1.3 EPP frequenties .....	6
2.1.4 Historische EPP frequenties .....	7
2.1.5 'Life History' theorie .....	9
2.2 Genetica binnen de genealogie .....	11
2.2.1 Overerving van DNA .....	11
2.2.2 Het Y-chromosoom .....	13
2.2.3 Y-chromosoom polymorfismen .....	15
2.2.3.1 'Short Tandem Repeats' (STRs) .....	15
2.2.3.2 'Single Nucleotide Polymorphisms' (SNPs) .....	16
2.2.3.3 Overige polymorfismen .....	17
2.4 Evolutionaire lijnen of Haplogroepen .....	18
2.3 Oorsprong en migratie van de mens .....	19
2.5 Genealogie in forensisch onderzoek .....	20
<b>3. Doelstellingen en hypothesen</b> .....	<b>22</b>
<b>4. Materiaal en methoden</b> .....	<b>23</b>
4.1 "De Gen-iale Stamboom" .....	23
4.1.1 Kandidaten zoeken .....	23
4.1.2 Selectie van de genealogische koppels .....	25
4.1.3 Afname van het DNA-staal .....	28
4.1.4 Ontvangst van het DNA-staal .....	29
4.2 Analyse van het genetisch materiaal .....	30
4.2.1 DNA-extractie .....	30
4.2.2 Y-STR analyse .....	30

4.2.3 Haplogroep predictie .....	34
4.2.4 Y-SNP analyse .....	34
4.3 Data-analyse.....	40
4.3.1 Algemene analyse .....	40
4.3.2 Analyse EPP frequenties via genealogische koppels.....	40
4.3.2.1 Temporele differentiatie in EPP frequenties .....	42
4.3.2.2 Spatiale differentiatie in EPP frequenties .....	42
<b>5. Resultaten</b> .....	<b>45</b>
5.1 Kandidaten van “De Gen-iale Stamboom” .....	45
5.2 Algemene analyse .....	46
5.3 Analyse EPP frequenties via genealogische koppels .....	48
5.3.1 Temporele differentiatie in EPP frequenties.....	49
5.3.2 Spatiale differentiatie in EPP frequenties .....	51
<b>6. Discussie</b> .....	<b>58</b>
6.1 EPP frequentie per generatie .....	58
6.2 Diversiteit in EPP frequenties.....	60
6.2.1 Temporele differentiatie in EPP frequenties.....	60
6.2.2 Spatiale differentiatie in EPP frequenties .....	63
6.3 Beperkingen van het onderzoek.....	69
<b>7. Algemeen besluit en toekomstperspectieven</b> .....	<b>70</b>
Referenties.....	71
Addendum.....	I
Addendum A1: risicoanalyse.....	I
Addendum A2: publicatie in Kerk & Leven .....	III
Addendum A3: brieven bij DNA-kits .....	IV
Addendum A4: de primersequenties uit MP2, MP4, MP5p en MP7.....	X
Addendum A5: MP2 Y-STR profiel.....	XII
Addendum A6: Y-SNPs met subhaplogroep benaming.....	XIII
Addendum A7: R1b1b2a1 Y-SNP profiel .....	XIV
Addendum A8: het Matlab script voor Bayesiaanse statistiek .....	XV
Addendum A9: familienamen .....	XVI

## Lijst met afkortingen

<b>A</b>	Adenine
<b>BI</b>	Betrouwbaarheidsinterval
<b>Bp</b>	Baseparen
<b>BELAC</b>	Belgische accreditatie instelling
<b>C</b>	Cytosine
<b>D</b>	Dichtbevolkte gemeente
<b>DD</b>	Hoge bevolkingsdichtheid bij beide naamgenoten
<b>DL</b>	Zowel hoge als lage bevolkingsdichtheid bij de naamgenoten
<b>DNA</b>	'Deoxyribonucleic acid' of desoxyribonucleïnezuur
<b>DNase</b>	Deoxyribonuclease
<b>DYS</b>	DNA Y-chromosoom Segment
<b>EPC</b>	'Extra Pair Copulation' of extra paar copulatie
<b>EPP</b>	'Extra Pair Paternity' of extra paar vaderschap
<b>G</b>	Guanine
<b>ISO</b>	Internationale organisatie voor standaardisatie
<b>L</b>	Laagbevolkte gemeente
<b>LL</b>	Lage bevolkingsdichtheid bij beide naamgenoten
<b>Mb</b>	Megabaseparen
<b>MP</b>	Multiplex-kit
<b>MSY</b>	'Male Specific region' of mannelijk specifieke regio op het Y-chromosoom
<b>mtDNA</b>	Mitochondriaal DNA
<b>NRY</b>	'Non-Recombining region' of de niet-recombineerbare Y-chromosomale regio
<b>PAR</b>	Pseudo-Autosomale Regio
<b>PCR</b>	'Polymerase Chain Reaction' of polymerase ketting reactie
<b>RM</b>	'Rapidly Mutating' of snel muterende
<b>RNA</b>	'Ribonucleic acid' of Ribonucleïnezuur
<b>RNase</b>	Ribonuclease
<b>SAP</b>	'Shrimp Alkaline Phosphatase' of garnaal alkalische fosfatase
<b>SNP</b>	'Single Nucleotide Polymorphism' of enkel nucleotide polymorfisme
<b>SRY</b>	'Sex determining Region' of de geslachtsbepalende Y-chromosomale regio
<b>STR</b>	'Short Tandem Repeat' of korte eenheidsherhalingen
<b>T</b>	Thymine
<b>VGM</b>	Veiligheid, Gezondheid en Milieu
<b>Yp</b>	De korte arm van het Y-chromosoom
<b>Yq</b>	De lange arm van het Y-chromosoom
<b>Y-STR</b>	'Short Tandem Repeat on the Y chromosome'
<b>Y-SNP</b>	'Single Nucleotide Polymorphism on the Y chromosome'

# Samenvatting

De moleculaire biologie kan via het Y-chromosoom de genetica achter genealogie bestuderen. Het Y-chromosoom wordt net als de familienaam grotendeels onveranderd doorgegeven van vader op zoon. Soms ontstaan toch spontane mutaties (Y-STRs), wat het mogelijk maakt om familiale lijnen op te stellen. Bij een verschil van meer dan 7 op de 46 geanalyseerde Y-STRs, is er geen dichte genetische verwantschap mogelijk. De focus van deze studie ligt op de aanwezigheid van buitenechtelijkheid of extra paar vaderschap (EPP). EPP kan worden verklaard met de 'Life History' theorie, waarbij vreemdgaan bij de vrouw een trade-off is van het risico van het verlaten van haar partner en het voordeel dat haar kind betere genen overerft. De gemiddelde EPP graad ligt tussen één en twee procent per generatie. In dit onderzoek werd het Y-chromosoom tussen 334 ver verwante naamgenoten uit de Lage Landen vergeleken om na te gaan of er subtiele verschillen in EPP graad zijn in tijd en ruimte. Bij de temporele differentiatie werd een hogere huidige EPP graad gevonden, als gevolg van de opkomst van onder andere mobiliteit en de verstedelijking. Hierdoor komen vrouwen met meer mannen in contact, wat kan zorgen voor instabiliteit binnen het huwelijk. Bij de onderzoeksvraag naar de spatiale differentiatie werd een significant lagere EPP graad gevonden in het platteland, hierbij kan onder andere de hogere invloed van de kerk of de hogere sociale controle en anonimiteit een verklaring bieden. Er kan worden geconcludeerd dat verstedelijking zowel in tijd en ruimte invloed heeft gehad op de buitenechtelijkheidsgraad.

## Summary

For several years the genealogy has got the attention of molecular biology, which can study the genetics behind genealogy based on the Y chromosome. The Y chromosome and the surname are passed on from father to son. Sometimes, spontaneous mutations occur which makes it possible to establish familial lines. In this study, the Y chromosome was compared between 334 distantly related namesakes from the Low Countries. The co-inheritance of the Y chromosome and the surname give the opportunity to study the presence of extra pair paternity (EPP). EPP can be explained by the Life History theory, in which the woman's cuckoldry is a trade-off between the risk of her partner leaving and the advantage of the better genes for her child. It is already known that the EPP average grade is between 1-2% per generation. This study examined whether subtle differences can be observed in time and space. For the temporal differentiation analysis, a higher current EPP degree was observed as a result of, among other things, the rise of the mobility or urbanization. This puts women in touch with men, which can cause marriage instability. For the spatial differentiation analysis, a significantly lower EPP degree was found in genealogical couples in a rural location. This could be the result of the higher influence of the church or the higher social control and lower anonymity. For this study there can be concluded that urbanization both in space and time has affected the degree of extra pair paternity.

# 1. Introductie

Mensen zijn van nature erg nieuwsgierig naar hun verleden, hun afkomst en hun oorsprong. Velen vragen zich wel eens af of die ene persoon met dezelfde familienaam mogelijk verwant zou kunnen zijn. Het is dan ook niet verwonderlijk dat heel wat mensen zich bezig houden met het reconstrueren van hun stamboom. Zo proberen velen een antwoord te krijgen op de vraag wie hun voorvaders waren, waar ze vandaan komen en wat de precieze geschiedenis is van hun familiestamboom. Deze nieuwsgierigheid is universeel en wordt dan ook bestudeerd vanuit verschillende invalshoeken. Zo zijn er al vele archeologische, paleontologische, historische en linguïstische studies bezig met genealogie of stamboomkunde.

Sinds enkele jaren heeft de genealogie ook de aandacht gekregen van de moleculaire biologie om aan de hand van het Y-chromosoom de genetica achter de genealogie te bestuderen. Het Y-chromosoom is het geslachtsdeterminerende chromosoom bij de mens en wordt net als de familienaam grotendeels onveranderd doorgegeven van vader op zoon. Soms ontstaan er toch spontane mutaties wat het mogelijk heeft gemaakt om vele evolutionaire onderverdelingen te kunnen maken. Zo kan men op basis van de tragere mutaties ('Single Nucleotide Polymorphisms' of SNPs) evolutionaire Y-chromosomale lijnen of haplogroepen opstellen, en kan men op basis van de snellere mutaties ('Short Tandem Repeats' of STRs) familiale lijnen of haplotypes achterhalen.

Het Y-chromosoom is dus een grote bron van informatie die in deze studie wordt gebruikt als hulpmiddel om alle antwoorden te vinden op de vragen van mensen over hun persoonlijke afkomst, het migratiepatroon van hun voorvaders en de verwantschap met hun naamgenoot. Door het vergelijken van het Y-chromosoom van mannen met dezelfde familienaam, kan men heel wat achterhalen over de mutatiesnelheid van de genen en de graad van buitenechtelijkheid. De focus van deze studie ligt op de graad van buitenechtelijkheid die meer antwoorden kan bieden op de aanwezigheid van 'Extra Pair Paternity' (extra paar vaderschap of EPP) bij de mens.



---

# LITERATUUR

---

## 2. Literatuurstudie

### 2.1 'Extra Pair Paternity' (EPP)

In sociaal monogame soorten met ouderlijke zorg, investeren beide ouders heel wat energie in hun nakomelingen. Deze investering is een grote opoffering om hun reproductief succes te verhogen en hun genen zo optimaal mogelijk te verspreiden (Liedtke & Fromhage, 2012). Dit maakt het extra belangrijk om absoluut zeker te zijn dat dit nageslacht wel degelijk hun biologisch nageslacht is. Hoewel in de meeste soorten het vrouwtje zeker is van de biologische relatie met haar kinderen, is het mannetje nooit echt 100% zeker van zijn vaderschap. Zo is er een mogelijkheid dat diens partner heimelijk gezocht heeft naar een 'Extra Pair Paternity' (extra paar vaderschap of EPP) door middel van een 'Extra Pair Copulation' (extra paar copulatie of EPC). Hierbij kiest het vrouwtje ervoor om met iemand anders te paren dan haar sociale partner, waardoor het reproductief succes van de sociale partner wordt verlaagd en waardoor hij bovendien heel wat energie verliest bij het opvoeden van andermans nakomelingen, de zogenaamde koekoeksjongen (Trivers & Campbell, 2010).

Het toegenomen gebruik van moleculaire technieken toont aan dat er matige tot hoge niveaus van EPP frequenties voorkomen in de natuur (Birkhead & Moller, 1998b). Gedragsobservaties onthullen dat EPPs vaak te wijten zijn aan het vrouwtje doordat deze actief uitnodigt tot EPCs (Stutchbury, 1998). Aangezien EPPs vaak voorkomen in de natuur, moet het zoeken naar EPCs zowel voordelen hebben voor het niet-sociaal gebonden mannetje, als voor het vrouwtje waarmee hij paart. Over de mogelijke voordelen van deze EPPs werd lang gedebatteerd. De evolutie van EPCs bij het niet-sociaal gebonden mannetje is relatief gemakkelijk te begrijpen, aangezien EPPs rechtstreeks zijn reproductief succes, en dus zijn fitness, verhogen zonder een al te grote energie kost. Hierbij is hij niet sociaal gebonden aan één vrouwtje, worden zijn nakomelingen verzorgd door iemand anders en kan hij opnieuw op zoek gaan naar een andere partner om mee te paren (Griffith, 2007). Echter blijft het vaak onduidelijk welke drijvende krachten er precies voor zorgen dat de sociaal monogame vrouwtjes kiezen voor EPPs (Reid *et al.*, 2011). In de literatuur worden heel wat mogelijke oorzaken aangegeven. Een grote reden voor vrouwtjes om aan EPCs te doen, is dat ze vaak materiële en vruchtbaarheids gerelateerde voordelen krijgen; zoals betere bescherming (Watson, Arnqvist, & Stallmann, 1998), overdracht van voedsel als 'huwelijks' geschenk (McLain, 1998), voedingsstoffen die de ei-rijping en de ovipositie bevorderen (Clutton-Brock & Parker, 1995), minder infanticides of kindermoorden (Smuts & Smuts, 1993), het vormen van sociale coalities (Smuts, 1985), verhoogde kans op zwangerschap (Scelza, 2011), enzovoort.

Naast de directe materiële voordelen, kan ook het indirecte, genetisch voordeel de kosten van EPPs voor het vrouwtje compenseren. Het vrouwtje probeert via EPCs de beste genen te vinden om de genetische fitness van haar nakomelingen te kunnen bevorderen. De specifieke genen of combinaties van genen die ze verkrijgt via EPPs, kan zorgen voor het verhogen van zowel de overlevingskans als het reproductieve succes van haar kinderen, waardoor ook haar eigen genen een grotere kans hebben om zich zo optimaal mogelijk te verspreiden (Jennions & Petrie, 2000).

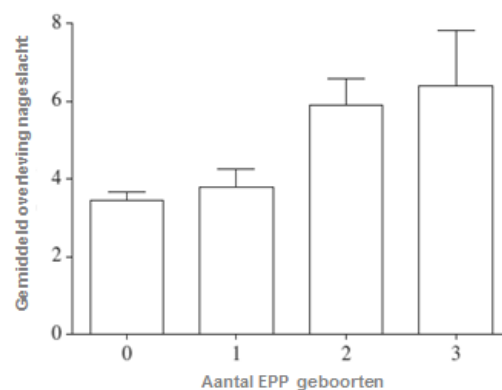
Zoals net aangehaald, komen EPCs dus bij beide geslachten voor, maar aangezien ze bij de mannetjes kunnen worden verworven met lage investeringskosten, worden zij het sterkst door de selectie bevoordeeld om aan EPCs te doen (Larmuseau *et al.*, 2013). Het is uiteraard zo dat deze paar-strategie enkel evolutionair kan worden behouden, indien het voor beide geslachten stabiel is. Zo zullen vrouwtjes enkel bereid zijn om de EPCs te accepteren, indien de voordelen van het paren met dat niet-sociaal gebonden mannetje zwaarder wegen dan de kost van haar verminderde vruchtbaarheid (Petrie & Lipsitch, 1994). De beslissing om voor nakomelingen te zorgen, is gebaseerd op de hoeveelheid energie die er moet worden geïnvesteerd ten opzichte van de energie die erbij wordt gewonnen. Het is een afweging van enerzijds de hoeveelheid fitness gewonnen bij het opvoeden van het nageslacht en anderzijds de hoeveelheid fitness verloren aan verminderde overlevingskansen, aan minder toekomstige nakomelingen en aan de eventuele kans op extra paar copulaties. Men verwacht dan ook dat de vaderlijke zorg zal worden stopgezet als mannetjes de mogelijkheid hebben om te detecteren of er een EPC bij hun partner heeft plaatsgevonden (Liedtke & Fromhage, 2012).

### 2.1.1 EPP in het dierenrijk

Seksueel gedrag dat leidt tot EPP komt heel vaak voor bij sociaal monogame vogels. Hierbij paren de vrouwtjes met een sociaal gebonden mannetje voor de directe voordelen van ouderlijke zorg en voor de toegang tot een broedplaats, maar paren ze daarnaast nog met niet-sociaal gebonden mannetjes om 'goede genen' voor hun nageslacht te verkrijgen (Moller, 1997).

Het is echter wel zo dat de EPP frequenties sterk kunnen variëren tussen verschillende vogelsoorten, tussen populaties van dezelfde soort en zelfs tussen individuen binnen een populatie. Een reden voor het vaak voorkomen van EPPs bij vogels is omdat het voor de vrouwtjes mogelijk is om het succes van de copulatie en spermaoverdracht zelf te kunnen controleren. Hierbij worden de spermacellen tijdelijk overgebracht naar specifieke spermaopslag-buisjes van de voortplantingsorganen, zonder dat de eicel hierbij bevrucht wordt (Birkhead, 1998a). Zo kan het vrouwtje beslissen om de EPC om te zetten in EPP wanneer de genen van het niet-sociaal gebonden mannetje voor haar nakomelingen

gunstiger zijn. Naast de genetische voordelen voor de nakomelingen van het vrouwtje, kan EPP haar ook persoonlijke voordelen opleveren. Zoals eerder vermeld, krijgen ze vaak extra bescherming van hun extra paar mannetje en is het mogelijk om te foerageren op het grondgebied van de verschillende mannetjes waarmee ze paart. Deze talrijke voordelen geven het vrouwtje dus genoeg redenen om aan verschillende EPCs te doen. In de studie van Scelza (2011) werd aangetoond dat de vrouwtjes die minstens één EPP hadden, gezegend waren met een beduidend hoger reproductief succes dan andere vrouwtjes. Zoals op figuur 2.1 wordt aangegeven, resulteert een verhoogd aantal van EPP geboorten heel vaak in een toename van het aantal kinderen die overleven tot de volwassenheid en levert het een verhoging van het reproductief succes (Scelza, 2011).



*Figuur 2.1: een verhoogd aantal EPP geboorten resulteert vaak in een toename van aantal kinderen die overleven tot de volwassenheid en levert een verhoogd reproductief succes (n=33) (Scelza, 2011).*

Aan de andere kant heeft de zorg voor andermans nakomelingen een grote negatieve impact op het eigen reproductieve succes, waardoor er bij sommige soorten anti-koekoeksgegedrag strategieën zijn geëvolueerd om het vaderschapsverlies van het sociaal gebonden mannetje tegen te gaan, en dus de impact van de EPCs op zijn fitness te reduceren (Neff & Clare, 2008). Een voorbeeld hiervan is frequente, en soms zelfs gedwongen, copulatie bij vogels als het vrouwtje ervan verdacht wordt bezig te zijn met EPCs. Het sociaal gebonden mannetje kan het verlies van vaderschap ook verminderen door zijn gedrag te veranderen. Indien hij agressief gedrag vertoont tegenover andere mannetjes, kan hij zijn partner bewaken en zal dit uiteraard de kans op EPCs verminderen. Maar niet alleen de mannetjes moeten op hun hoede zijn, ook het vrouwtje heeft er baat bij om zich agressief te gedragen tegenover andere vrouwtjes. Zij riskeert met de EPCs van haar partner namelijk heel wat verschillende ziektes, verlies van mannelijke investeringen en uitputting van zijn sperma (Vetsci, 2011).

Een soortgelijke paar-strategie kan worden waargenomen bij vissen, zoals het dikkopje (*Pomatoschistus minutus*) (zie figuur 2.2), een zeevissoort waarbij het mannetje het nest opbouwt en verdedigt. Het paarsysteem van de dikkopjes is gelijk aan veel aviaire

paarsystemen, met het grote verschil dat dikkopjes zeer polygaam zijn en geen moederlijke zorg hebben voor de nakomelingen. Ze planten zich voort in ondiep zandige gebieden waar de mannetjes de nesten onder de mosselschelpen bouwen. De vrouwtjes hechten de eieren in een laag aan het plafond van de schelp vast, bevruchten de eitjes en verlaten daarna deze plaats. Het mannetje blijft bij de eieren om ze te verdedigen totdat ze één tot drie weken later uitkomen. Ondanks langdurige vaderlijke zorg, werkt seksuele selectie het sterkst op de mannetjes. Hierbij is de invloed van het sluipen, of ook wel het 'stelen van de bevruchting', een vorm van seksuele selectie, waarbij succesvolle mannetjes vaak de eieren van twee tot zes verschillende vrouwtjes kunnen bevruchten. Deze alternatieve paar-strategie kan, net zoals de EPCs bij vogels, de seksuele reproductie en fitness van de dikkopjes enorm verhogen (Avisé *et al.*, 2001).



*Figuur 2.2: Pomatoschistus minutus, het dikkopje, heeft een alternatieve paar-strategie die zijn seksuele productie enorm kan verhogen ("Mazzun Tar Ramel - Sand Goby," n.d.).*

### 2.1.2 EPP bij de mens

Het zoeken naar extra paar vaderschap (EPP) is dus een vaak gebruikte paar-strategie bij heel wat verschillende soorten in de natuur, maar heeft de mens dan ook zo een natuurlijk instinct? Ja, ook in de menselijke samenleving houden sommige partners zich vaak heimelijk bezig met buitenechtelijke affaires, zoals ongetwijfeld kon gezien worden in de populaire TV-reeks 'Temptation Island'. Dit kan duiden op het feit dat deze strategie een belangrijk deel is van de reproductieve besluitvorming (Scelza, 2011). Veel reeds aangehaalde voordelen van EPCs en EPPs zijn dus ook zeker van toepassing bij de mens, waarbij het geassocieerd kan worden met duidelijke reproductieve voordelen. Ook bij de mens is het zo dat alle moeders zeker kunnen zijn van de biologische relatie met hun kinderen, terwijl de vaders nooit echt 100% zeker zijn van hun vaderschap. Zoals reeds vermeld, kan het harde werk van het opvoeden van andermans nakomelingen heel wat ongunstige gevolgen met zich meedragen voor de fitness van de zorgzame vader (Larmuseau *et al.*, 2013).

Meer dan 30 jaar geleden werd bij een grote, maar niet-representatieve steekproef in Amerika gevonden dat 20-25% van de vrouwen ten minste één extra paar seksuele relatie had tijdens hun huwelijk (Essock-Vitale & McGuire, 1985). Daarnaast rapporteerden nog eens een extra 25% dat ze een intieme, maar niet-seksuele extra paar relatie hadden ontwikkeld (Glass & Wright, 1992). Dit veroorzaakte bij de zorgzame vaders vaak een reële angst dat hun vrouwelijke partners zouden worden bevrucht door een andere man (Greiling & Buss, 2000). Deze angst voor het verliezen van vaderschap heeft ervoor gezorgd dat mannen bepaalde anti-koekoeksgedrag strategieën hebben ontwikkeld (Goetz & Shackelford, 2009; Simmons *et al.*, 2004); zoals psychologische mechanismen (vb. jaloezie)

(Buss *et al.*, 1992), gedragsaanpassingen (vb. het bewaken van de partner) (Shackelford *et al.*, 2006) en morfologische/fysiologische aanpassingen (vb. een grotere omvang van de testes) (Harcourt *et al.*, 1995). Na decennia van speculaties en valse of sterk bevooroordeelde uitspraken, kwamen er door het begin van de genetische vaderschapstesten meer betrouwbare gegevens over de EPP frequenties in vele Westerse bevolkingsgroepen. Gezien de potentiële voordelen voor zowel mannen als vrouwen om te zoeken naar EPCs, werd er al meerdere malen geprobeerd om de graad van EPP in te schatten bij de huidige bevolking (Larmuseau *et al.*, 2013).

### 2.1.3 EPP frequenties

Op basis van de afgenomen vaderschapstesten werd er door de populaire wetenschappelijke studies steeds gesuggereerd dat de EPP frequenties per generatie ongeveer tussen 10 en 30% ligt (Pagel, 2012). Hierdoor ontstond er opnieuw een mythe dat meer dan tien procent van alle kinderen afkomstig zouden zijn van een buitenechtelijke relatie. Deze hoge cijfers verontrusten terecht heel wat mensen en maakten in het bijzonder de vaders nog onzekerder over hun vaderschap. Onterecht zo blijkt, want deze conclusie was enkel gebaseerd op vaderschapstesten van mannen die reeds twijfels hadden over hun vaderschap en die dus hoogstwaarschijnlijk ook redenen hadden om te twifelen aan hun biologische relatie met hun nakomelingen. Zo was het niet wetenschappelijk correct om het resultaat van deze EPP frequenties te extrapoleren op de hele bevolking. Hierdoor werden heel wat wetenschappers getriggerd om de mythe te doorbreken en om op zoek te gaan naar de effectieve EPP graden van de huidige bevolking (Larmuseau *et al.*, 2013).

In 2006 werd in een publicatie van Anderson aangetoond dat bij 67 studies, met mannen waarbij het vertrouwen in hun vaderschap relatief hoog lag, de gemiddelde EPP frequenties rond de 1.7% lagen. Bij het toevoegen van de studies zonder gekende methodologie, kwam Anderson uit op een EPP frequentie van 3.3%. Hierbij werd geconcludeerd dat de gemiddelde EPP frequentie in de hedendaagse Westerse bevolkingsgroepen lag tussen één en drie procent (Anderson, 2006).

Later bracht Wolf *et al.* een studie uit in 2012 waarbij een actuele en onpartijdige schatting werd gemaakt van de graad van buitenechtelijkheid in Duitsland. Op basis van een dataset met 971 kinderen en hun ouders kon er een gemiddelde EPP graad van 0.94% worden vastgesteld met een 95% betrouwbaarheidsinterval van 0.33 tot 1.55%. Dit is een enigszins lagere schatting dan in het onderzoek van Anderson (2006), maar komt goed overeen met de gemiddelde EPP schatting van 0.65% bij Zwitserse populaties (Sasse *et al.*, 1994). De schatting is duidelijk een heel stuk lager dan bij de Duitse studies die op basis van data uit vaderschapstesten EPP frequenties berekenden van 50.2% (Henke *et al.*, 1999) en 16.8%

(Krawczak *et al.*, 1993). Deze laatste EPP frequenties zijn dus verre van representatief voor de algemene Duitse bevolking (Wolf *et al.*, 2012).

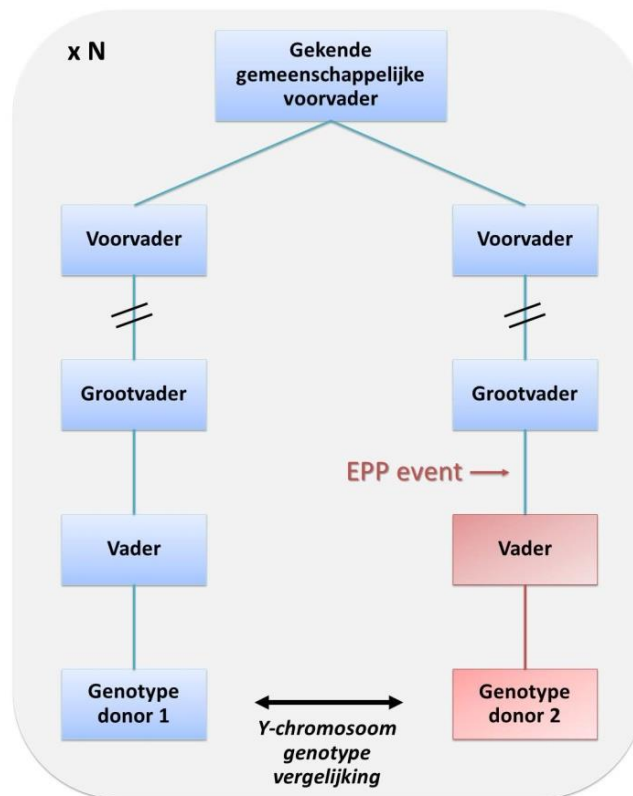
Echter, de bekomen EPP frequenties in deze studies zijn vrijwel altijd gericht op hedendaagse populaties waarbij anticonceptiemiddelen gemakkelijk verkrijgbaar zijn en waar de mensen beter op de hoogte zijn van seksueel overdraagbare aandoeningen. Hierbij rijst natuurlijk de vraag of de EPP frequenties dan misschien toch hoger waren in het verleden en of de zeldzaamheid van een EPP evenement een recente gebeurtenis is bij de hedendaagse Westerse bevolking (Larmuseau *et al.*, 2015).

#### 2.1.4 Historische EPP frequenties

Genetisch-genealogisch onderzoek biedt onderzoekers de kans om de historische EPP frequenties in te schatten aan de hand van het Y-chromosoom in familiestambomen. Het Y-chromosoom is het geslachtsdeterminerende chromosoom bij de mens en wordt net als de familienaam grotendeels onveranderd doorgegeven van vader op zoon. De graad van buitenechtelijkheid kan worden geschat door het Y-chromosoom te vergelijken tussen mannen met dezelfde familienaam. Op die manier kan de moleculaire biologie bijdragen tot het onderzoek naar de aanwezigheid van een EPP bij de mens (Larmuseau *et al.*, 2013).

Onderzoekers hebben dus geprobeerd om de historische EPP frequenties in te schatten voor de hele samenleving door Y-chromosoom genotypes te linken aan familienamen. Het probleem met deze benadering is echter dat er soms een discrepantie is tussen het Y-chromosoom en de familienaam door verschillende gebeurtenissen, zoals bijvoorbeeld wanneer dezelfde familienaam onafhankelijk van elkaar meerdere keren voor het eerst werd gebruikt, wanneer de familienaam via de moeder werd doorgegeven of wanneer de familienaam werd gewijzigd, zoals bij adoptie (King & Jobling, 2009). Dit resulteerde dan ook snel in sterke vooroordelen van de historische EPP frequenties.

Op basis van genetisch-genealogische benaderingen werd het alsnog mogelijk om de historische EPP frequenties in menselijke populaties zo correct mogelijk te berekenen. Een voorbeeld van zo'n methode om de historische EPP graad te bepalen is de "genealogische koppel"-methode (zie figuur 2.3). In deze methode wordt de EPP graad geschat op basis van verschillen in het Y-chromosoom tussen koppels van individuen die op basis van geschreven genealogische gegevens een gemeenschappelijke vaderlijke voorouder delen. Deze werkwijze wordt vooral gebruikt om rekening te houden met de aanwezigheid van meerdere niet-vaderschap gebeurtenissen binnen één stamboom (Larmuseau *et al.*, 2015).



Figuur 2.3: de “genealogische koppel”-methode: EPP graad op basis van verschillen in het Y-chromosoom tussen naamgenoten met een gemeenschappelijke vaderlijke voorouder. ( $N$  = aantal genealogisch koppels geanalyseerd) (Larmuseau *et al.*, 2015).

De historische EPP frequenties kunnen een antwoord bieden op de vraag of de verschillende aanpassingen, zoals voorbehoedsmiddelen en anti-koekoeksgedrag strategieën, de graad van EPP door de eeuwen heen hebben veranderd. In 2008 werd door Voracek *et al.* onderzocht of de komst van de moderne voorbehoedsmiddelen, met name de marktintroductie van de pil rond het jaar 1960, een invloed heeft gehad op de graad van buitenechtelijkheid. Door de schatting van de historische EPP graad kon er in zijn onderzoek worden bevestigd dat er inderdaad een kleine, significante daling van EPP gevallen was net na de introductie van de anticonceptiepil (Voracek *et al.*, 2008).

In 2013 werd door Larmuseau *et al.* via de “genealogische koppel”-methode, de historische EPP graad onderzocht op basis van de Y-chromosomale variatie van 60 verschillende genealogische koppels. Hierbij werden de familiestambomen opgesteld via geschreven genealogisch bewijs, om fouten in de vaderlijke lijnen te vermijden. Via deze methode werd de gemiddelde historische EPP frequentie per generatie voor één enkele Westerse bevolking in Vlaanderen geschat op 0.91% in de afgelopen 500 jaar met een 95% betrouwbaarheidsinterval van 0.41 tot 1.75% (Larmuseau *et al.*, 2013). Later bevestigde onderzoek bij drie andere Westerse bevolkingsgroepen dat de lage EPP waarden hoogstwaarschijnlijk mogen geëxtrapoleerd worden voor de hele Westerse samenleving. De schatting van de historische EPP graden in Zuid-Afrika resulteerden in een gemiddelde van 0.9% per generatie gedurende de afgelopen 300 jaar (Greeff & Erasmus, 2015), terwijl deze bij de Noord-Italiaanse bevolking gemiddeld 1.2% was per generatie in de afgelopen 400 jaar (Boattini *et*



*al.*, 2015). Bij het combineren van de Y-chromosomale variatie en de familienamen in Catalonië, werd een EPP waarde van 0.6 tot 1.7% per generatie geschat sinds de oorsprong van de familienamen, hierbij rekening houdend met adopties en overname van de familienaam van de moeder (Solé-Morata *et al.*, 2015).

Deze resultaten bevestigen dat in de afgelopen eeuwen slechts ongeveer 1 tot 2% van de kinderen in de Westerse samenleving een biologische vader had die niet de wettelijke vader was. Er is dus een overeenkomst tussen de gemiddelde EPP frequenties in de hedendaagse Westerse bevolking en de historische Westerse bevolking. Dit betekent dat de moderne voorbehoedsmiddelen de EPP frequenties niet zo sterk hebben beïnvloed. Dat de effectieve historische EPP graad zo laag ligt, kan betekenen dat de verleden bevolkingsgroep toch minder overspelig was (Larmuseau *et al.*, 2015). Dit toont alvast aan dat er toch een vaderlijke zekerheid heerst in de Westerse patrilineaire samenleving, waardoor de zichtbare hoge niveaus van vaderlijke zorg worden gezien als logisch gevolg van deze lage EPP graad. Hiernaast bevestigen deze resultaten ook de effectiviteit van de sterk negatieve reacties op vrouwelijk overspel binnen de Westerse samenleving en de verschillende anti-overspel tactieken van de mannen om te voorkomen dat ze zouden investeren in andermans nakomelingen (Larmuseau *et al.*, 2015).

Deze verschillende studies schetsen tot nu toe een idee over de gemiddelde historische EPP frequenties in populaties. Om hier dieper op in te gaan, werd er in deze studie onderzocht of er subtiele verschillen in EPP frequenties kunnen worden geobserveerd in tijd en ruimte als gevolg van evolutionaire, culturele en sociaal-demografische factoren. Zo kunnen verschillende factoren de differentiatie in EPP gedrag beïnvloeden, zoals bijvoorbeeld leven op het platteland versus leven in een stad.

### 2.1.5 'Life History' theorie

De 'Life History' theorie of levensgeschiedenis theorie is een theorie uit de evolutiebiologie die het gedrag van een organisme tracht te verklaren aan de hand van hun levensgeschiedenis. Levensgeschiedenissen kenmerken beïnvloeden het gedrag van het organisme en kunnen worden voorgesteld als variërende investeringen in groei, reproductie en overleving. Deze kunnen worden onderverdeeld in somatische inspanningen (overleving, groei en ontwikkeling) en in reproductieve inspanning (aantal nakomelingen). Deze laatste inspanning kan op haar beurt nog worden onderverdeeld in paring inspanning (zoeken van een partner, de verkering) en in ouderschaps inspanning (zwangerschap, bevallen en postnatale zorg) (Clutton-Brock, 1991). Door inzicht in de veranderende inspanningen van deze levensgeschiedenissen kenmerken te verwerven, kan men modellen samenstellen om te voorspellen welke kenmerken worden bevoordeeld in welke omgeving. Hierbij is sprake van een trade-off tussen investeringen in groei, overleving en reproductie, waarbij het organisme

telkens de hoogst mogelijke fitness probeert te bekomen in een bepaalde omgeving (Chisholm *et al.*, 1993).

Een typisch voorbeeld is bij het fourageergedrag, waarbij organismen hun beslissing om al dan niet te fourageren sterk laten hangen van de kwaliteit van de voedselbron. De zoektocht naar voedsel vraagt heel wat inspanningen, waardoor organismen het optimale evenwicht zoeken tussen de kost van de inspanningen en de winst van het voedsel (Lima & Dill, 1990). Het optimale risico-level staat dus in functie van de kwaliteit en kwantiteit aan bronnen. Bij een hogere kwaliteit van het voedsel, zal het organisme meer risico willen nemen dan bij een lagere kwaliteit. Hier is er sprake van een trade-off van de somatische inspanningen, namelijk overleving, groei en ontwikkeling (Abrams, 1991).

Vele sociale wetenschappers verwerpen evolutionaire standpunten over het menselijke gedrag vanwege hun verondersteld genetisch determinisme. In tegenstelling tot wat deze sociologen ook beweren, is en blijft de mens nog steeds een dier, waardoor de 'Life History' theorie ook waardevolle inzichten over het menselijke gedrag kan bieden (Chisholm *et al.*, 1993).

Vandaar dat in deze studie verschillende levensgeschiedenissenmerken werden onderzocht om de graad van buitenechtelijkheid bij de mens beter te begrijpen. De subtiele verschillen in de EPP graad werden geobserveerd in tijd en ruimte. Verschillende contextuele factoren, zoals de invloed van de demografische transitie waarbij het aantal kinderen per gezin aanzienlijk hoger lag of de grote industrialisering en verstedelijking waarbij vrouwen meer contact hadden met andere mannen (Jesmin & Salway, 2000), kunnen eventueel ook een cruciale rol spelen bij subtiele verschillen in de graad van EPP.

In dit onderzoek werd via de "genealogische koppel"-methode gezocht naar subtiele verschillen in de historische EPP frequenties binnen een populatie. Het project kreeg de naam "De Gen-iale Stamboom" (zie figuur 2.4) en werd een veel besproken wetenschappelijke studie in de wereld van de genealogie.



*Figuur 2.4: het officiële logo van het genetisch-genealogisch verwantschaps-onderzoek "De Gen-iale Stamboom".*

## 2.2 Genetica binnen de genealogie

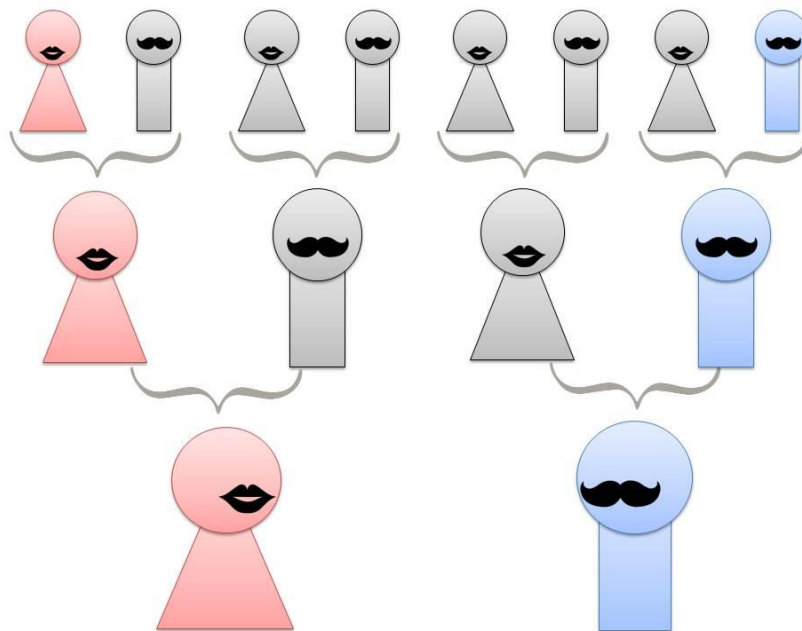
### 2.2.1 Overerving van DNA

Desoxyribonucleïnezuur, of kortweg DNA, is een van de belangrijkste macromoleculen die verborgen zit in de cellen van alle organismen. DNA heeft de vorm van een dubbele helix bestaande uit een heel lange en unieke sequentie van vier verschillende nucleotiden: adenine (A), thymine (T), cytosine (C) en guanine (G). DNA is de informatiebron voor opbouw, structuur en onderhoud van het organisme. Bovendien is het de drager van alle erfelijke informatie die deels wordt doorgegeven aan volgende generaties. DNA is heel compact aanwezig in onze cellen onder de vorm van verschillende chromosomen, die op hun beurt zijn onderverdeeld in meerdere genen. Een gen, bestaande uit stukjes DNA, codeert een specifieke erfelijke eigenschap. Elk gen heeft verschillende kopieën, die ook wel allelen worden genoemd. Bij overerving van twee identieke allelen spreekt men van een homozygoot organisme, terwijl bij twee verschillende allelen het organisme een heterozygoot wordt genoemd.

In 1865 is Gregor Mendel, zonder enige kennis over het bestaan van DNA, tot de ontdekking gekomen dat er in een bepaald patroon kenmerken worden overgeërfd. Later werd duidelijk dat overerving mogelijk was door het splitsen, kruisen en doorgeven van de parentale chromosomen en van de verschillende genen die zich op deze chromosomen bevinden (Miko *et al.*, 2010). De mens bezit in het totaal 23 paar chromosomen die kunnen worden opgedeeld in 22 paar autosomen en één paar geslachtschromosomen. De vrouw beschikt over homozygote geslachtschromosomen, bestaande uit 2 X-chromosomen (XX), terwijl de man beschikt over een X-chromosoom en een kleiner Y-chromosoom (XY).

De specifieke gameten of geslachtscellen worden gevormd door de meiotische celdeling. Hierbij wordt een diploïde cel ( $2n$ ) verdeeld tot vier verschillende haploïde cellen of gameten ( $4xn$ ). Bij de bevruchting zal een mannelijke gameet (zaadcel) met een vrouwelijke gameet (eicel) samensmelten ter vorming van een grotere diploïde cel, ook wel de zygote genoemd. Hoewel beide geslachtscellen hierbij van groot belang zijn, is de genetische bijdrage van deze twee gameten toch behoorlijk verschillend. Ten eerste is het belangrijk te weten dat de zaadcel kan worden onderverdeeld in een kop en een flagel, waarbij deze laatste zorgt voor het voortbewegen. Deze beweging vergt heel wat energie die wordt verkregen door de energierijke mitochondriën. Aangezien mitochondriën in oorsprong bacteriën waren, bezitten zij kleine genomen, ook wel gekend als mitochondriaal DNA (mtDNA). Doordat net vóór de bevruchting deze mitochondriënrijke flagel van de zaadcel wordt afgebroken, is er geen genetische bijdrage van het mannelijk mtDNA in de zygote waardoor nakomelingen dus

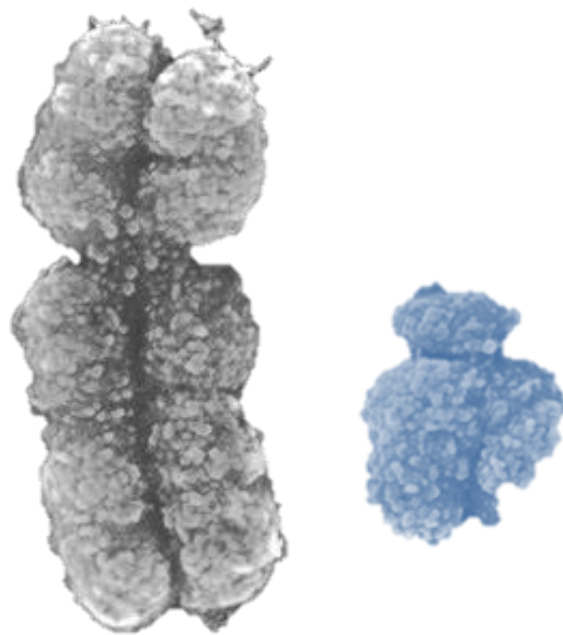
enkel het mtDNA van hun moeder overerven. Hierdoor spreekt men ook over maternale overerving (zie figuur 2.5). Daarnaast is er ook de paternale overerving, die tevens zeer belangrijk is voor dit onderzoek. Deze paternale overerving richt zich op het Y-chromosoom dat enkel van vader op zoon wordt doorgegeven. Hierbij is het belangrijk te benadrukken dat Y-chromosomen, in tegenstelling tot de andere chromosomen, zeer conservatief worden doorgegeven van generatie op generatie. Bij de meiose kunnen homologe chromosomen onderling genen uitwisselen en nieuwe combinaties van allelen vormen door recombinitie, ook wel bekend als 'crossing-over'. Bij het Y-chromosoom is 95% niet vatbaar voor recombinitie, waardoor het Y-chromosoom vaak onveranderd wordt doorgegeven. Hierdoor worden paternale lijnen goed bewaard en is het dus mogelijk om deze lijnen te reconstrueren tot honderden jaren terug (Mitchell, 1996).



*Figuur 2.5: de maternale overerving (rood) van het mitochondriaal DNA via de eicel, en de paternale overerving (blauw) van het Y-chromosoom via de zaadcel.*

## 2.2.2 Het Y-chromosoom

Het Y-chromosoom staat samen met het X-chromosoom in voor de geslachtbepaling van de nakomelingen, waardoor ze ook wel geslachtschromosomen worden genoemd (zie figuur 2.6). Deze geslachtschromosomen zijn geëvolueerd uit één voorouderlijk niet-geslachtsbepalend chromosoom. De ontwikkeling van het Y-chromosoom zou hebben plaatsgevonden door het snelle verlies van genen. Van de 184 genen die 300 miljoen jaar geleden op het voorouderlijke geslachtschromosoom aanwezig waren, zijn er slechts 3% van teruggevonden op het huidige Y-chromosoom. Dit betekent dat de divergentie tussen de twee geslachtchromosomen ontstond door een enorm grote degeneratie aan genen in de evolutie van het Y-chromosoom. Sindsdien zijn de bewaarde genen op het Y-chromosoom toch opmerkelijk stabiel gebleven (Clark, 2014). De overerving van deze geslachtschromosomen is bepalend voor het geslacht van de nakomelingen. Aangezien de moeder twee X-chromosomen bezit, erft haar kind met 100% zekerheid een X-chromosoom van de moeder. Hierdoor krijgt de vader de unieke mogelijkheid tot het bepalen van de sekse van zijn nageslacht. Zo schenkt hij zijn dochter een X-chromosoom, terwijl zijn zoon het Y-chromosoom mag ontvangen.



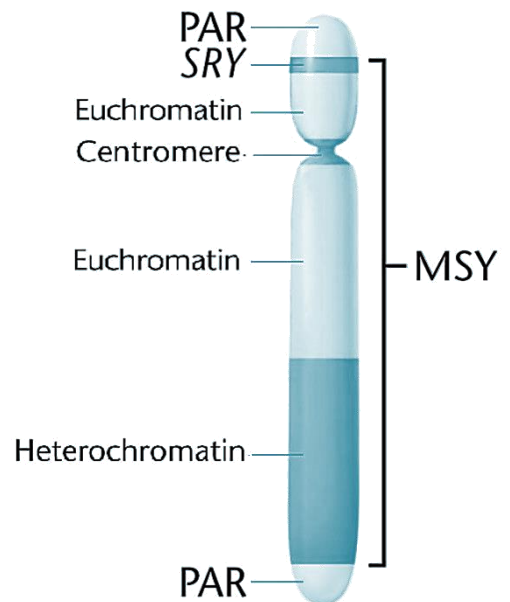
*Figuur 2.6: de twee geslachtschromosomen: het X-chromosoom (links) en het geslachtsbepalende Y-chromosoom (rechts) (Dongascience, n.d.).*

Het Y-chromosoom is door de grote degeneratie aan genen één van de kleinste chromosomen in het genoom (ongeveer 66 Mb) (Jobling & Tyler-Smith, 1995; Skaletsky *et al.*, 2003). Het is bovendien, in vergelijking met de andere chromosomen, ook nog zeer arm in aantal genen doordat meer dan de helft van zijn sequentie bestaat uit herhaalde

elementen. Door chromosoom banding technieken werd het mogelijk om de verschillende gebieden op het Y-chromosoom te identificeren (zie figuur 2.7). Het Y-chromosoom bestaat voor 5% (ongeveer 3Mb) uit pseudo-autosomale gebieden PAR 1 en PAR 2, die nog de mogelijkheid bieden om te recombineren met het X-chromosoom, en voor 95% uit niet-recombineerbare delen (NRY) (Quintana-murci & Fellous, 2001). In het NRY ligt onder andere de geslachtsbepalende regio (het SRY-gen), waardoor het ook wel het mannelijk specifieke regio op het Y-chromosoom of MSY wordt genoemd. Door de aanwezigheid van het SRY-gen op het Y-chromosoom, wordt er via een cascade aan reacties heel wat andere genen gestimuleerd tot het ontwikkelen van het mannelijk geslacht (Rozen *et al.*, 2003).

Zoals eerder vermeld bestaan chromosomen uit heel compact opgerold DNA. Histonen zijn de specifieke eiwitten die het DNA kunnen dragen en oprollen. Dit complex van DNA en histonen wordt ook wel nucleosoom genoemd. Deze nucleosomen worden op hun beurt als een spiraal opgewonden en vormen zo chromatine. Chromatine zorgt naast het compact maken van DNA ook voor diens versteviging en genexpressie. Het NRY bestaat uit twee soorten chromatine. Ten eerste is er het zeer sterk opgevouwen heterochromatine, een histonenrijke regio, waardoor de genen die zich op die plaats bevinden inactief zijn. Ten tweede bestaat het NRY uit het iets meer uitgerekte euchromatine, een histonen-arme regio die heel wat toegankelijke genen bevat.

Door afwezigheid van recombinatie mogelijkheden wordt het NRY bijna volledig onveranderd doorgegeven van generatie op generatie. Maar toch is het door de vele celdelingen in de gametogenese heel af en toe vatbaar voor mutaties. Deze spontane mutaties zijn het gevolg van een diverse groep aan herschikkingen in de nucleotidencode van DNA, ook wel bekend als polymorfismen. Polymorfismen kunnen zowel grootschalig (microsatellieten of STRs) als kleinschalig (puntmutaties of SNPs) zijn (Jobling & Tyler-smith, 1995). De ontstane polymorfismen op het Y-chromosoom kunnen ook worden doorgegeven aan volgende generaties, waardoor er verschillen zijn in de verschillende Y-chromosomen van de huidige bevolking. Doordat deze verschillende herschikkingen andere mutatiesnelheden hebben, is het mogelijk om aan de hand van deze polymorfismen de evolutie over heel wat



*Figuur 2.7: de verschillende elementen op het Y-chromosoom: PAR (pseudo-autosomale regio's), SRY (geslachtsbepalende regio), MSY (mannelijk specifieke regio), centromeer, heterochromatine en euchromatine (Tucker, n.d.).*

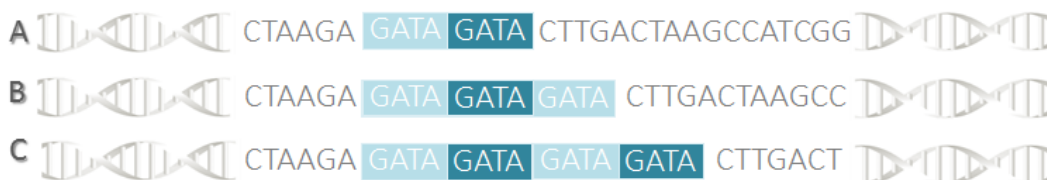
verschillende tijdsperiodes te bestuderen. Op die manier biedt het Y-chromosoom inzicht in de vele gebeurtenissen doorheen de menselijke evolutie langs de paternale lijnen (Mitchell, 1996). Dit maakt vele toepassingen mogelijk op het gebied van forensische geneeskunde, medische genetica, evolutionaire biologie en genealogisch onderzoek (Karafet *et al.*, 2008).

### 2.2.3 Y-chromosoom polymorfismen

Er bestaan veel soorten polymorfismen met heel wat verschillende mutatiesnelheden. De mutatiesnelheden zijn belangrijk om de verschillende processen in de tijd te kunnen interpreteren. Zo kan er op basis van snellere mutaties of microsatellieten ('Short Tandem Repeats' of STRs) familiale lijnen of haplotypes worden achterhaald, en op basis van tragere mutaties of puntmutaties ('Single Nucleotide Polymorfisms' of SNPs) kunnen er evolutionaire Y-chromosomale lijnen of haplogroepen worden opgesteld (Jobling & Tyler-smith, 2003).

#### 2.2.3.1 'Short Tandem Repeats' (STRs)

Microsatellieten of 'Short Tandem Repeats' (STRs) zijn polymorfismen met kort herhalende eenheden na elkaar (tandem). Deze STRs kunnen eenheden hebben van 1 tot 13 nucleotiden lang en kunnen tot 100 keer worden herhaald in het DNA (zie figuur 2.8). De STRs zijn aanwezig op de intronen van het DNA en worden dus niet vertaald naar eiwitten, maar zijn wel nodig voor het functioneren van een gen. Y-STRs zijn microsatellieten die specifiek aanwezig zijn op het Y-chromosoom (Primrose & Twyman, 2006).

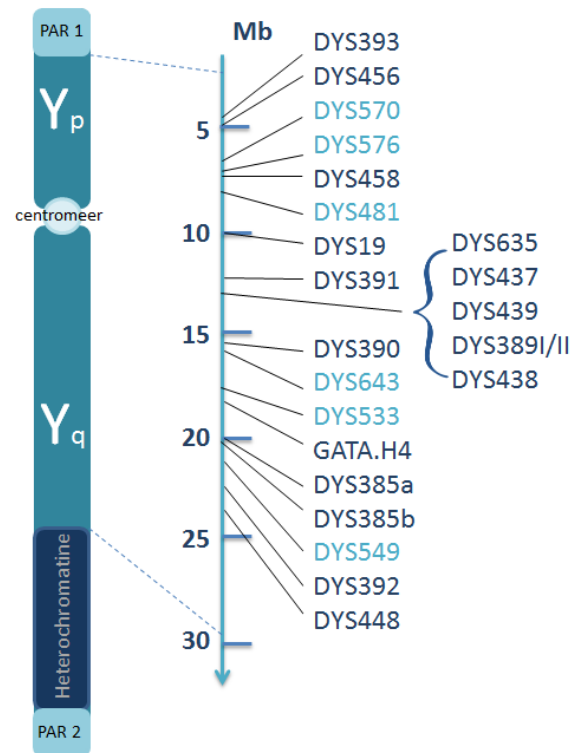


*Figuur 2.8: personen A, B en C bevatten 'Short Tandem Repeats' of STRs, hier eenheden van vier nucleotiden lang, die respectievelijk 3, 4 en 5 keer na elkaar worden herhaald in hun genoom. Dit zijn snel muterende polymorfismen die hulp bieden bij het opstellen van familiale lijnen of haplotypes.*

Door transcriptiefouten kan het aantal van de herhalende eenheden worden vergroot of verkleind, waardoor er heel wat variaties in de lengte kunnen ontstaan. De STRs zijn een polymorfe groep en hebben een hoge mutatiesnelheid van gemiddeld  $5.91 \times 10^{-3}$  mutaties per generatie (Ballantyne *et al.*, 2010). Door deze hoge mutatiesnelheid kunnen er situaties ontstaan waar er geheel toevallig twee allelen met hetzelfde aantal herhalingen voorkomen, beter bekend als homoplasie. Hierdoor kunnen Y-STRs niet worden gebruikt voor het reconstrueren van grote evolutionaire lijnen om de relaties en verhoudingen van de menselijke bevolking te achterhalen. Aan de andere kant zorgt de hoge mutatiefrequentie wel voor een hoge heterozygositeit aan Y-STRs, waarbij iedereen een zeer uniek profiel

heeft. Dit zorgt ervoor dat de relaties tussen dicht verwante populaties kunnen worden aangetoond, waardoor familiale lijnen of haplotypes gemakkelijk kunnen worden achterhaald. Deze snel muterende polymorfismen worden dan ook gebruikt voor vaderschapstesten en identificatie van personen, en zijn dus zeer nuttig voor forensische analyses en populatiegenetica (Primrose & Twyman, 2006).

In 2003 werd een kernset van elf Y-STR loci geselecteerd voor de identificatie van mensen, namelijk de DNA Y-chromosoom segmenten (DYS) DYS19, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS438, DYS439, en de 'multi copy' locus DYS385 a/b (NIJ, 2012). Kort daarna werd de AmpF $\lambda$ STR $\circledR$  Yfiler $\text{TM}$  Kit de grootste multiplex kit die in de handel te verkrijgen was. Deze kit had zes extra Y-STR loci die de onderscheiding voor identificatie aanzienlijk kon verbeteren, namelijk DYS437, DYS448, DYS456, DYS458, DYS635 en GATA.H4 (Purps *et al.*, 2014). In 2012 kwam de PowerPlex $\circledR$  Y23 op de markt door Promega, die opnieuw zes extra Y-STR loci had toegevoegd zodat de resolutie van de discriminatie tussen haplotypes van niet-verwante mannen nog meer kon verbeteren (zie figuur 2.9) (Butler *et al.*, 2012). Later werd de Yfiler $\circledR$  Plus PCR Amplification kit uitgebracht met 27 Y-STRs voor nog betere discriminatie mogelijkheden (Rapone *et al.*, 2016) doordat zeven snel muterende Y-STRs werden toegevoegd, zie deel 2.5 "Genealogie in forensisch onderzoek".



Figuur 2.9: de gebruikte DNA Y-chromosoom segmenten van de PowerPlex $\circledR$  Y23. De zes nieuwe Y-STR loci worden weergegeven in het lichtblauw (afbeelding gebaseerd op Butler *et al.*, 2012).

### 2.2.3.2 'Single Nucleotide Polymorphisms' (SNPs)

Puntmutaties of 'Single Nucleotide Polymorphisms' (SNPs) zijn polymorfismen met een toevoeging of verwijdering van slechts één nucleotide in het DNA (zie figuur 2.10). SNPs omvatten ongeveer 90% van alle genetische variaties in het menselijke genoom. Deze SNPs komen vooral in bepaalde gebieden van het genoom voor en zijn dus niet regelmatig verdeeld. Bij 66% van alle SNPs werd de nucleotide cytosine (C) vervangen door de nucleotide thymine (T) (Jobling *et al.*, 1997). Bij de zoektocht naar variaties in de sequentie van het Y-chromosoom zijn grote aantallen Y-specifieke SNPs geïdentificeerd. Deze Y-SNPs hebben een lage mutatiefrequentie van gemiddeld  $2 \times 10^{-8}$  mutaties per generatie, waardoor



er op een evolutionaire Y-chromosomale lijnen of haplogroepen kunnen worden opgesteld (Ballantyne *et al.*, 2010). Met deze traag muterende polymorfismen werd het dus mogelijk om de ontstaansgeschiedenis van de mens tot in detail te bestuderen en om een unieke fylogenetische stamboom van de mensheid te reconstrueren (Jobling & Tyler-smith, 2003).



*Figuur 2.10: personen A, B en C hebben ‘Single Nucleotide Polymorphisms’ of SNPs, waarbij één nucleotide werd vervangen. Dit zijn traag muterende polymorfismen die helpen bij het opstellen van de evolutionaire lijnen of haplogroepen.*

### 2.2.3.3 Overige polymorfismen

Naast de Y-STRs en Y-SNPs zijn er nog heel wat andere variaties in de genetische sequentie van het Y-chromosoom mogelijk. Voorbeelden van andere polymorfismen zijn inserties en deleties (zie figuur 2.11). Een insertie wijst op een mutatie waarbij één of meerdere baseparen werden toegevoegd aan de DNA sequentie. Het tegenovergestelde is een deletie, waarbij één of meerdere baseparen werden verwijderd. Deleties kunnen worden veroorzaakt door ongelijke recombinatie of door het breken van de chromosomen zonder enige herstelling. Een vijfde soort polymorfisme is de inversie (zie figuur 2.12). Hierbij werden sequenties van het chromosoom omgedraaid, ten gevolge van het breken en terug herstellen van de chromosomen op verschillende plaatsen. Op die manier verdwijnt de homologe sequentie tussen verschillende chromosomen en is er vaak geen recombinatie meer mogelijk is (Feuk *et al.*, 2005).



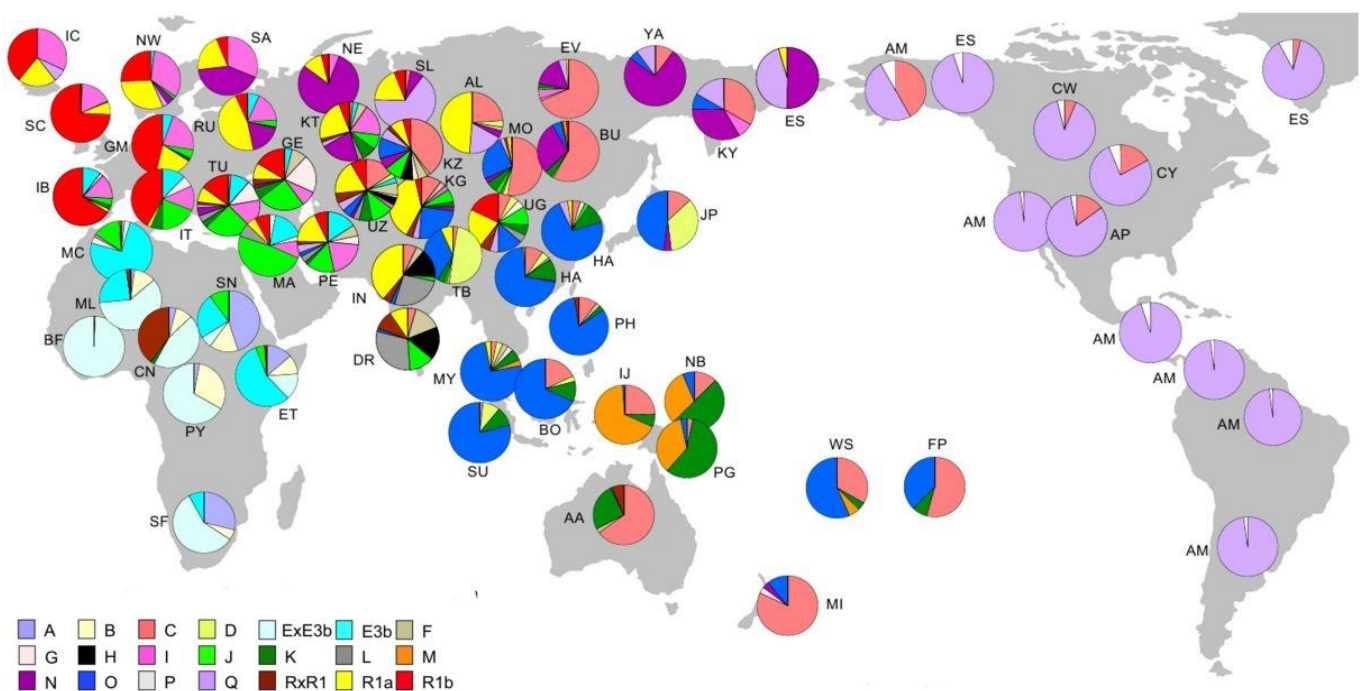
*Figuur 2.11: (A) insertie of toevoeging van vijf baseparen in de DNA sequentie (B) deletie of verwijdering van vijf baseparen in de DNA sequentie.*



*Figuur 2.12: inversie van een DNA sequentie met 8 baseparen tussen persoon A en B ten gevolge van het breken en terug herstellen van een DNA fragment.*

## 2.4 Evolutionaire lijnen of Haplogroepen

De huidige populatie kan op basis van de polymorfismen worden ingedeeld in verschillende haplogroepen. Deze haplogroepen zijn dus het resultaat van diverse allelencombinaties op het Y-chromosoom en bieden ons de kans om individuen van elkaar te onderscheiden. De traag muterende Y-SNPs worden gebruikt om alle mannen te verdelen in een aantal grote stammen of haplogroepen, die een bepaalde mutatie linken aan een regionale spreiding (Larmuseau *et al.*, 2011). Deze haplogroepen bieden heel wat informatie over de historische migratiebewegingen van de mens, waarbij de mannelijke oerhaplogroep wordt gekenmerkt door de letter A (haplogroep A). De huidige populatie mannen, die verspreid is over de hele wereld, kan door middel van de verschillende Y-SNPs worden ingedeeld in haplogroepen met de letters A tot en met T (zie figuur 2.13), waardoor er heel wat informatie kan verkregen worden over de temporele en spatiale verspreiding van de mens. Deze haplogroepen kunnen op hun beurt verder worden opgesplitst in verschillende subhaplogroepen, zo bestaat er bijvoorbeeld voor de haplogroep R de subhaplogroepen R1, R1a, R1b, enzovoort (Karafet *et al.*, 2008).



Figuur 2.13: de verdeling van de mannelijke haplogroepen (A-R) over de hele wereld aan de hand van de traag muterende Y-SNPs (McDonald, 2005).

## 2.3 Oorsprong en migratie van de mens

De verdeling van de verschillende Y-chromosoom genotypes bij de moderne populatie kan een groot deel van de belangrijkste menselijke prehistorische migraties beschrijven (zie figuur 2.14) (Underhill *et al.*, 2000). Uit paleontologisch en genetisch onderzoek is een consensus ontstaan over Afrika als primaire bakermat van de homo sapiens ongeveer 100 tot 200.000 jaar geleden, ook wel de 'Out of Africa' hypothese genoemd. Algemeen wordt aangenomen dat de oorsprong van de mens zich bevindt in de Olduvaikloof in Afrika. Deze "wiep van de mensheid" is één van de belangrijkste archeologische plaatsen ter wereld en brengt ons heel wat inzichten bij over de evolutie van de eerste mensachtigen (Reyes-Centeno *et al.*, 2015).

Paleo-antropologisch onderzoek heeft een vroege zuidelijke verspreiding gesuggereerd (Underhill *et al.*, 2000). Van zodra het klimaat het toeliet, heeft de bevolking zich vanuit Afrika verspreid om de toegankelijke delen van de wereld te koloniseren (Jobling & Tyler-Smith, 2003). Kleine groepen van jagers verlieten de Olduvaikloof en verspreidden zich uiteindelijk over Europa, het Midden-Oosten en Azië om dan later naar Amerika te trekken via de Beringstraat, de zeestraat gelegen tussen de Grote Oceaan en de Noordelijke Ijszee (Bellevue, 2014). De diversiteit van de moderne mens is bijgevolg het resultaat van verschillende evolutionaire gebeurtenissen te wijten aan de migratie uit Afrika over de eeuwen heen. De migratie van de moderne mens kan dankzij onderzoek op het Y-chromosoom tot in het kleinste detail verder worden onderzocht.



Figuur 2.14: de 'Out of Africa' hypothese suggereert dat de mens ongeveer 100 tot 200.000 jaar geleden in Afrika op het toneel verscheen. Deze eerste mensachtigen verlieten uiteindelijk de Olduvaikloof in kleine groepen van jagers en verspreidden zich over Europa, het Midden-Oosten en Azië om dan later over te steken via de Beringstraat naar Amerika (Bellevue, 2014).

## 2.5 Genealogie in forensisch onderzoek

In de meeste menselijke populaties worden de familienamen, net zoals het DNA, doorgegeven van generatie op generatie. Er wordt dan ook verwacht dat de mensen die hun familienaam delen, ook meer DNA delen dan mensen met een andere familienaam. Echter delen naamgenoten met een gemeenschappelijke voorvader die 10 meioses van elkaar zijn verwijderd maar slechts een miljoenste van hun DNA. Aangezien men daarbovenop nog niet kan aanduiden welk stukje dat precies is, maakt dit de analyse van het DNA voor verwantschapsonderzoek bijzonder moeilijk (Jobling, 2001).

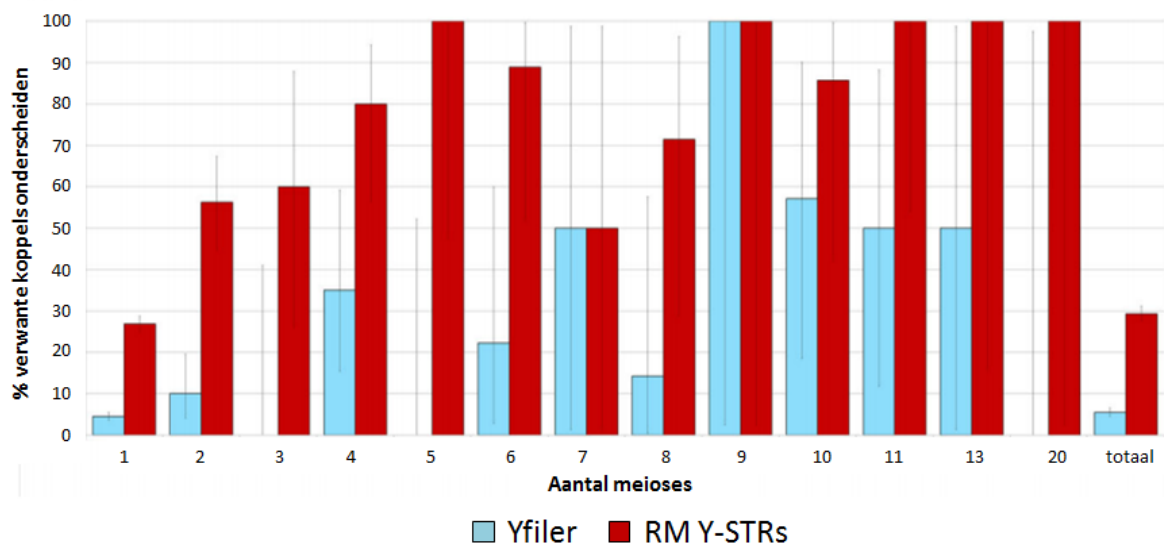
De zaken liggen al iets eenvoudiger bij samenlevingen waar familienamen van vader op kind worden doorgegeven, net zoals het Y-chromosoom. De microsatellieten of STRs op het Y-chromosoom spelen een belangrijke rol binnen de forensische moleculaire biologie. Al heel snel werden Y-STRs gebruikt om de mannelijke componenten van DNA te vinden in DNA mengsels waar er een hoge vrouwelijke achtergrond aanwezig was, of bij het reconstrueren van de vaderlijke lijnen tussen mannelijke individuen. Ondanks het feit dat de toen beschikbare Y-STRs zeer waardevol waren voor deze toepassingen, waren het er toch net te weinig voor een toepassing in het forensisch onderzoek. Het was namelijk zo dat het vermogen van deze Y-STRs om onderscheid te maken tussen individuen aanzienlijk minder was dan de autosomale STR-sets die toen gebruikt werden in het forensisch onderzoek. Dit kwam voornamelijk doordat de gebruikte Y-STRs niet bijdroegen tot het opstellen van een volledig haplotype profiel (Ballantyne *et al.*, 2012).

De meest opvallende zwakte bij deze Y-STRs voor forensisch onderzoek was het onvermogen om dichte of verre patrilineaire familieleden, met een ongeveer gelijkaardig Y-chromosoom, van de verdachte uit te sluiten. Deze merkers waren door hun relatief trage mutatiesnelheid (enkele mutaties per duizend generaties) van weinig nut in gevallen waarin ook familieleden betrokken waren in het onderzoek. Maar in de afgelopen jaren werd deze set Y-STRs uitgebreid met extra Y-STR merkers. Ballantyne *et al.* heeft in 2012 onderzoek gedaan naar de mutatiesnelheden van 186 Y-STRs door 2000 Europese vader-zoon koppels te analyseren. De meerderheid (93%) van de 186 Y-STRs hadden relatief trage mutatiesnelheden tussen  $1 \times 10^{-4}$  en  $1 \times 10^{-3}$  mutaties per generatie. Daarnaast waren er ook 13 Y-STRs die een aanzienlijk hogere mutatiesnelheid hadden, variërend tussen de  $1.19 \times 10^{-2}$  en  $7.73 \times 10^{-2}$  mutaties per generatie. Deze Y-STRs werden de snel muterende of 'Rapidly Mutating' Y-STRs (RM) genoemd (Ballantyne *et al.*, 2012).

In figuur 2.15 werden de theoretische verwachtingen van de 13 RM Y-STRs vergeleken met 17 relatief tragere Y-STRs (AmpF $\lambda$ STR $^{\circledR}$  Yfiler $^{\text{TM}}$  Kit). Er werden in het totaal 2372

mannelijke genealogische koppels geanalyseerd waarvan hun verwantschap eerder werd bevestigd door autosomale analyse van het DNA. Deze genealogische koppels zijn variërend van één tot 20 meioses van elkaar verwant. Hierbij kon de RM Y-STR set maar liefst 29% van alle genealogische koppels onderscheiden, terwijl de Yfiler™ kit dit slechts voor 5.5% van de koppels kon. Bij de vader-zoon koppels (één meiose) kon de RM Y-STR set 26.9% van de koppels onderscheiden, terwijl de Yfiler™ kit dit maar voor 4.5% van de koppels kon. Bij de broer-broer koppels (twee meioses) kon de RM Y-STR set maar liefst 56.3% van de koppels onderscheiden, terwijl de Yfiler™ kit dit slechts voor 10% kon (Ballantyne *et al.*, 2014).

Veel limitaties van de relatief trager muterende Y-STRs kunnen door deze 13 RM Y-STR set worden gereduceerd. Voor forensische toepassingen bieden de snel muterende RM Y-STRs de zekerheid dat ze patrilineaair gerelateerde mannen van elkaar kunnen onderscheiden, vandaar dat de forensische Yfiler® Plus PCR Amplification kit maar liefst zeven RM Y-STRs bevat (Rapone *et al.*, 2016). Zo kunnen de stalen van een verdachte tot in het detail worden geïdentificeerd en onderscheid van dicht verwante mannelijke naamgenoten.



Figuur 2.15: mannelijke verwantschapsdifferentiatie met behulp van 2528 genealogische koppels die van elkaar gescheiden zijn door één tot 20 meioses door 17 relatief traag muterende Y-STRs in een AmpF $\ell$ STR® Yfiler™ Kit (licht blauw) en door 'Rapidly Mutating' (RM) Y-STRs (donker rood). Hierbij is duidelijk te zien dat de RM Y-STRs zorgen voor een betere mogelijkheid tot het onderscheiden van dicht verwante mannelijke naamgenoten (Ballantyne *et al.*, 2014).

### 3. Doelstellingen en hypothesen

De focus van dit genetisch-genealogisch verwantschapsonderzoek op basis van Y-chromosomale variatie ligt op de graad van buitenechtelijkheid. Deze zou meer antwoorden kunnen geven over de aanwezigheid van EPPs bij de mens. De grootste doelstelling van deze thesis is om op verschillende onderzoeksvragen betreffende de EPP graad een antwoord te kunnen bieden. De onderzoeksvragen en de hypothesen worden weergegeven in tabel 3.1.

Tabel 3.1: de verschillende onderzoeksvragen van deze thesis met bijhorende hypothesen.

Onderzoeksvraag	Hypothese	
Wat is de algemene EPP graad per generatie?	H1	De berekende EPP graad per generatie ligt in het 95% betrouwbaarheidsinterval (0.41-1.75%) (Larmuseau <i>et al.</i> , 2013).
<b>TEMPORELE DIFFERENTIATIE</b> Hoe ligt de historische EPP graad in functie van de huidige EPP graad?	H2	De historische EPP graad ligt iets hoger dan de huidige EPP graad door het gebrek aan anticonceptie (Voracek <i>et al.</i> , 2008).
	H3	De EPP graad voor de demografische transitie ligt iets hoger door het hoger aantal kinderen per gezin.
	H4	De globale relatie tussen de historische EPP graad en de huidige EPP graad in de Lage Landen is lineair.
<b>SPATIALE DIFFERENTIATIE</b> Wordt de EPP graad beïnvloed door de bevolkingsdichtheid?	H5	De EPP graad ligt hoger in de stad dan in het platteland door de hogere bevolkingsdichtheid.
	H6	De EPP graad ligt hoger in Antwerpen (de 'stad') dan in West-Vlaanderen (het 'platteland') door de hogere bevolkingsdichtheid.
	H7	De EPP graad ligt hoger in Oud-Brabant in vergelijking met Oud-Vlaanderen door de hogere bevolkingsdichtheid.
	H8	De EPP graad is hoger in Vlaanderen in vergelijking met Nederland door de hogere bevolkingsdichtheid.

Larmuseau *et al.* heeft in 2013 op basis van de Y-chromosomale variatie van 60 genealogische koppels reeds aangetoond dat de gemiddelde EPP frequentie in de Westerse bevolking in Vlaanderen kon worden geschat op 0.91% en dat de EPP frequentie van de hedendaagse Westerse bevolkingsgroepen algemeen kon worden beschouwd als één tot twee procent per generatie. In het eerste deel van dit onderzoek wordt aan de hand van een uitgebreider onderzoek met 334 genealogische koppels, gekeken of de gemiddelde EPP frequenties uit de literatuur kunnen worden bevestigd (**hypothese 1**).

Daarnaast wordt dieper onderzocht of er subtiele verschillen kunnen worden geobserveerd in tijd en ruimte als gevolg van evolutionaire, culturele en sociaal-demografische factoren.

Voor de temporele differentiatie wordt de graad van buitenechtelijkheid in functie van het aantal meioses geplaatst, waarbij er aan de hand van een Chi-kwadraattoets en de Bayesiaanse statistiek van de meiose-intervallen zal worden nagegaan hoe de huidige EPP frequenties liggen ten opzichte van de historische EPP frequenties. Hierbij wordt onderzocht of er, zoals bij Voracek *et al.* in 2008, effectief een kleine, significante daling van EPP gevallen kan worden waargenomen net na de introductie van de voorbehoedsmiddelen (**hypothese 2**). Hiernaast wordt bekeken of de EPP graad hoger ligt vóór de demografische transitie, door het aanzienlijk hoger aantal kinderen per gezin (**hypothese 3**). Ook wordt er geverifieerd of er zoals bij Larmuseau *et al.* in 2013 een grote overeenkomst is tussen de gemiddelde EPP frequenties in de hedendaagse bevolking in vergelijking met de verleden Westerse bevolking (**hypothese 4**).

De spatiale differentiatie zal de invloed van de industrialisatie en verstedelijking op de EPP graad onderzoeken. Het is namelijk best mogelijk dat er een hogere EPP graad te vinden is in steden, doordat vrouwen meer in contact kunnen komen met andere mannen (Jesmin & Salway, 2000). Bij deze analyse worden de geboorteplaatsen van de voorvaders, die geboren zijn rond het jaar 1850, van de twee naamgenoten verdeeld in stad en platteland naargelang de bevolkingsdichtheid. Hierbij wordt er gekeken of er een significant verschil is in de EPP frequenties tussen de kleinschalige sociale samenlevingen op het platteland en de druk bezette samenlevingen van de stad (**hypothese 5**). Naast de vergelijking tussen stad en platteland, worden de EPP frequenties ook vergeleken tussen genealogische koppels uit de provincie West-Vlaanderen (lage bevolkingsdichtheid, het 'platteland') en de provincie Antwerpen (hoge bevolkingsdichtheid, de 'stad') (**hypothese 6**). Verder zullen de EPP frequenties vergeleken worden tussen genealogische koppels uit verschillende historische provincies, namelijk Oud-Vlaanderen (lage bevolkingsdichtheid) en Oud-Brabant (hoge bevolkingsdichtheid) (**hypothese 7**). En tenslotte worden de EPP frequenties vergeleken tussen genealogische koppels uit Nederland (lage bevolkingsdichtheid) en uit Vlaanderen (hoge bevolkingsdichtheid) (**hypothese 8**). Bij elke vergelijking wordt de significantie getest met een Chi-kwadraattoets en wordt er via de Bayesiaanse statistiek een schatting gemaakt van de EPP graad per generatie.

Een bijkomende doelstelling van deze thesis is om de kandidaten van "De Gen-iale Stamboom" zo snel mogelijk hun resultaten over de genetica van hun familiestamboom met bijkomende uitleg aan te bieden.

Als laatste heeft deze thesis ook de doelstelling om op lange termijn antwoorden te kunnen bieden op onderzoeksvragen betreffende forensische identificatie op basis van genetica en genealogie.

---

**MATERIAAL  
EN  
METHODEN**

---



## 4. Materiaal en methoden

De risicoanalyse van het project “De Gen-iale Stamboom” is te vinden in Addendum A1.

### 4.1 “De Gen-iale Stamboom”

Door de combinatie van genetica en genealogie kunnen heel wat inzichten worden verworven over de genetica tussen naamgenoten, de Y-chromosomale mutatiesnelheden en de graad van buitenechtelijkheid. Samen met Familiekunde Vlaanderen heeft de KU Leuven in 2009 een groot wetenschappelijk onderzoek gestart om de genetische verwantschappen te onderzoeken tussen en binnen verschillende families. Een nieuw deel van dit groot onderzoek is het project “De Gen-iale Stamboom”. In dit project werd het mannelijke Y-chromosoom vergeleken binnen genealogische koppels van heel wat verschillende regio’s. Genealogische koppels zijn ver verwante mannelijke naamgenoten, waarbij men juridisch kan aantonen dat zij een gemeenschappelijke voorvader delen in paternale lijn.

#### 4.1.1 Kandidaten zoeken

Het zoeken naar kandidaten voor “De Gen-iale Stamboom” verliep vlot. Het project werd in een sneltempo bekend na het maken van de informatieve website, de Facebook-pagina en een YouTube promotiefilmpje.

Op de website ([www.degenialestamboom.be](http://www.degenialestamboom.be)) werd heel wat informatie gegeven aan de potentiële kandidaten over onder andere de methode, het doel en het wetenschappelijk belang van dit onderzoek. Zo werd er duidelijk gemaakt dat alles gebeurt onder de controle van de privacy wetgeving en de ethische commissie van de KU Leuven. Ook werd er meegedeeld dat de genetische en persoonsgebonden resultaten uiterst anoniem zouden worden gepubliceerd, mits de toestemming van de kandidaat.

Daarnaast werden er op de Facebook-pagina ([www.facebook.com/degenialestamboom](http://www.facebook.com/degenialestamboom)) (zie figuur 4.1) regelmatig leuke foto’s en interessante weetjes geplaatst over het verloop van de stalen in het laboratorium. Deze gaven de kandidaten de kans om een kijkje te nemen achter de schermen. Ook werd elke stap in het laboratorium op een voor leken verstaanbare manier voorgesteld met een foto en een korte tekst, zodat het mogelijk was voor de kandidaten zonder enige wetenschappelijke kennis deze verschillende stappen te begrijpen. De pagina werd meermaals gedeeld door kandidaten die ook lid waren van andere genealogisch geïnspireerde pagina’s, waardoor er steeds meer mensen op de hoogte werden gebracht van dit uniek wetenschappelijk onderzoek.

Met een YouTube promotiefilmpje (<https://www.youtube.com/watch?v=1fPh2V-8ps4>) werd de zoektocht naar kandidaten uitgebreid, onder het motto “Een beeld zegt meer dan duizenden woorden”, waardoor de toekomstige kandidaten een duidelijke uitleg kregen over de uitvoering van de staalafname.



*Figuur 4.1: de omslag- en profielfoto van de Facebook-pagina van “De Gen-iale Stamboom”.*

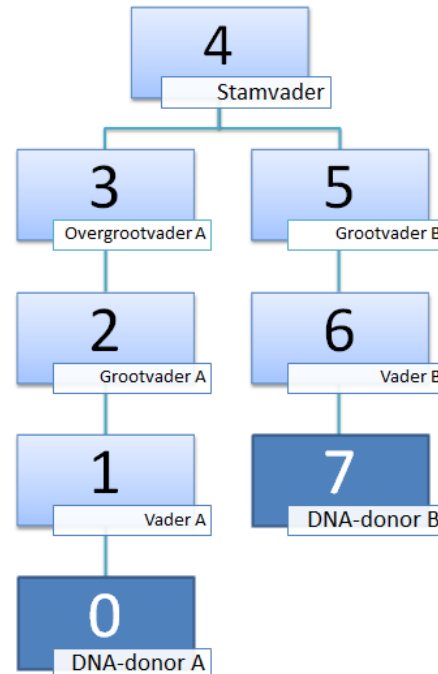
Maar ook via de andere media kreeg “De Gen-iale Stamboom” een grote naambekendheid. Zo werd het verhaal achter dit wetenschappelijk onderzoek geplaatst in *Kerk & Leven* (editie december 2015) (zie Addendum A2), *Eos wetenschap*, *KU Leuven campuskrant*, *Familiekunde Vlaanderen*, *de Vlaamse Stam* (editie januari-maart 2016), het afdelingsblad van de *NGV Rotterdam*, enz. Een iets meer directe aanpak was het versturen van e-mails naar kandidaten die reeds hadden deelgenomen aan eerdere projecten of naar gekende genealogen die regelmatig een bijdrage leverden op de bekende website ‘Geneanet’ (<http://nl.geneanet.org/>). Geneanet is een handige website waarbij het mogelijk is om uw stamboom toe te voegen en te delen met andere genealogen.

### 4.1.2 Selectie van de genealogische koppels

De kandidaten hadden de mogelijkheid om zich via e-mail in te schrijven. Bij het ontvangen van de inschrijvingsmail werd de geschiktheid van de potentiële kandidaten aan de hand van genealogische gegevens geverifieerd. Hierbij werd gekeken of de kandidaten wel degelijk ver verwante naamgenoten waren van elkaar, waarbij men juridisch kon aantonen dat zij een gemeenschappelijke voorvader delen in hun paternale lijn. Bovendien was het ook voor de ethische commissie nodig dat de kandidaten minstens zeven meioses of 'generaties' van elkaar waren verwijderd (zie figuur 4.2), zodat ze zeker geen nauw verwante familieband hadden met elkaar.

Bij het aanmelden van de (verwante) naamgenoten zonder een vooropgestelde vaderlijke lijn, waren geboortedatum en –plaats van de (over)grootvader heel belangrijk. Hierbij was het noodzakelijk dat hij geboren was vóór het jaar 1915, aangezien de wet op de privacy in België 100 jaar telt. Via verschillende websites kon er, indien deze niet gekend waren, online gezocht worden naar de geboorte-, trouw- of sterfteaktes. Een voorbeeld van een geboorteakte is te zien op figuur 4.3. Een geboorteakte bevat heel wat nuttige informatie over de ouders die kan worden gebruikt voor het verder opmaken van de paternale lijn; zoals de voornaam, de familienaam, de leeftijd, de geboorteplaats, het beroep en de woonplaats.

Een voorbeeld van een opgestelde stamboom voor twee kandidaten van de familie 'Claerhout' is te zien op figuur 4.4. Deze twee kandidaten zijn maar liefst 25 generaties van elkaar verwijderd, wat hen dus een perfect bruikbaar genealogisch koppel maakte voor dit project. Voor het opstellen van alle vaderlijke lijnen werd er gebruik gemaakt van onder andere de Nederlandse site 'Zoekakten' met zowel Nederlandse als Belgische akten ([www.zoekakten.nl](http://www.zoekakten.nl)), de website van het rijksarchief van België ([www.search.arch.be](http://www.search.arch.be)) en de website van 'Geneanet' (zie eerder).



*Figuur 4.2: de kandidaten werden enkel geselecteerd indien ze minstens zeven meioses van elkaar zijn verwijderd.*

Hiernaast toonden heel wat (amateur) genealogen, die reeds de relatie van hun vaderlijke lijn met die van hun naamgenoot hadden opgesteld, hun interesse in dit unieke project. Bij deze potentiële kandidaten was het enkel nodig om te verifiëren of deze familiestamboom correct werd opgesteld en of ze bruikbaar was voor het project. Een bruikbare stamboom kan gedefinieerd worden als een vaderlijke lijn waar geen gekende buitenechtelijkheid in voorkomt, waar er geen sprake is van familienaam-overdracht van moeder op zoon en waar er zo weinig mogelijk voorhuwelijkse kinderen aanwezig zijn.

**GEBORTE-AKTE** Ten jare achtien honderd acht en negentig, den zevendes juni  
 N<sup>o</sup> 27 ; ten negen ure voormiddag, voor ons  
Guustaaf Vandeputte, Burgemeester  
 ambtenaar van den burgerlijken stand der gemeente Bavikhove  
 provincie West-Vlaanderen, is verschenen Leonard Claerhout, slachwerker, oud  
negen en twintig jaren, geboren te Heulte en alhier wonende  
 die ons vertoond heeft een kind van het \_\_\_\_\_ mans geslacht, geboren  
 in deze gemeente, den zevendes dies, in zijn woning, sectie C  
 ten negen ure avonds, van hem verklaard  
 in voer Kathilde Van Sanduyken, kantwerkster, oud vijf en twintig  
jaren geboren en wonende te Bavikhove, zijn hulpverzoer.  
 En aan welk kind hij de voornamen geeft van Camille, Achille

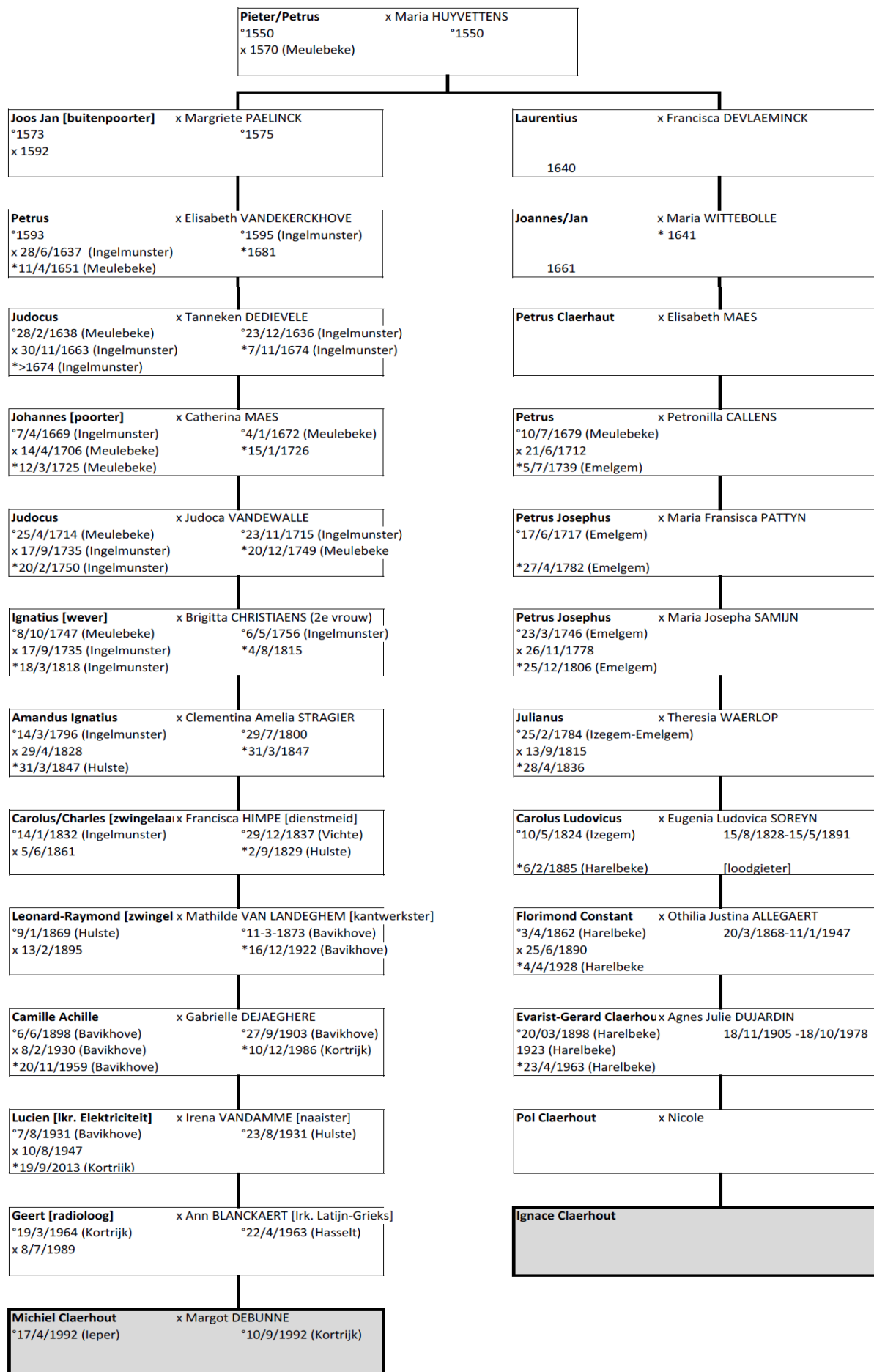
Welke aangifte en vertooning gedaan zijn in tegenwoordigheid van Bené Feins  
 oud vijs en vijftig jaren, Gemeente Sekretaris van beroep,  
 woonachtig te Bavikhove, en van Camiel Holvoet  
 oud een en veertig jaren,  
retswachter van beroep, woonachtig te Bavikhove

En na voorlezing aan den aangever en de getuigen, hebben wij onmiddellijk met hen geteekend.

Bené Feins Camiel Holvoet Guustaaf Vandeputte  
Clairhout Raymond

Figuur 4.3: de geboorteakte van Camille Achille Claerhout, geboren op 7 juni 1898 om 9 uur 's ochtends in de gemeente Bavikhove. Op de geboorteaktes staat heel wat nuttige informatie over de ouders van Camille Achille, zoals onder andere de voornaam, de familienaam, de leeftijd, de geboorteplaats, het beroep en de woonplaats.

Indien de naamgenoten aan deze verschillende voorwaarden voldeden, werden ze geselecteerd voor het project en werden ze verder geïnformeerd over het verloop van de volgende stap, namelijk de staalafname.



Figuur 4.4: op basis van de verschillende geboorte-, huwelijks- en sterfteaktes was het mogelijk om de twee naamgenoten van de familie 'Claerhout' aan elkaar te koppelen via hun vaderlijke lijn, waarbij hun gemeenschappelijke voorvader, Petrus Claerhout, geboren is in het jaar 1550. Dit genealogisch koppel is maar liefst 25 meioses van elkaar verwijderd, wat hen een perfect bruikbaar koppel maakt voor het project "De Gen-iale Stamboom".

### 4.1.3 Afname van het DNA-staal

Bij bevestiging van deelname werd een DNA-kit naar de kandidaat thuis opgestuurd. In deze DNA-kit zat een uitnodigingsbrief, een 'informed consent', een handleiding voor DNA-afname, een uitgebreid informatieformulier over "De Gen-iale Stamboom", twee Whatman™ OmniSwabs en een VWR® SuperClear™ Ultra-High Performance Centrifuge Tube (zie figuur 4.5). De toegevoegde brieven in deze DNA-kit kunnen worden teruggevonden in Addendum A3. Het DNA van de kandidaat werd via wangslimvlies verzameld. In de DNA-kit zat een uitgebreide handleiding met foto's over hoe de kandidaten hun wangslimvliesstaal moesten afnemen. Hierbij werd ook vermeld dat het aangewezen was om één uur voor de staalafname niet te eten of te drinken, aangezien er dan mogelijks te weinig wangslimvliescellen zouden aanwezig zijn om een goede DNA-analyse te kunnen uitvoeren.



*Figuur 4.5: afname van het wangslimvliesstaal gebeurde via de Whatman™ OmniSwab en een VWR® SuperClear™ Ultra-High Performance Centrifuge Tube.*

De afname gebeurde door middel van een Whatman™ OmniSwab, ook wel een 'wissertje' genoemd, dat aan het uiteinde een borsteltje bevat waarvan één zijde geribbeld is. Hierbij is het de bedoeling om de geribbelde kant tegen de wang te plaatsen en tien keer op en neer te bewegen. Vervolgens kan het borsteltje worden afgeworpen in de bijgevoegde SuperClear™ Tube, door een afschuifmechanisme aan het begin van het stokje. Deze procedure werd voor de andere wang met het tweede wissertje herhaald, als reservestaal. Door de foto's en het YouTube-filmpje was het voor de kandidaten geen grote uitdaging om hun wangslimvliesstaal zelf af te nemen. Indien gewenst werd er persoonlijk bij de kandidaat

langs gegaan om het DNA-staal af te nemen en het 'informed consent' te laten ondertekenen. Door het ondertekenen van dit formulier geven de kandidaten hun toestemming voor de DNA analyse van hun wangslimvliesstaal. Hiernaast werd ook de vraag gesteld of hun staal na analyse onmiddellijk zou moeten worden vernietigd of niet. Bij deze laatste optie wordt het staal nog tien jaar bijgehouden in het laboratorium, dit voornamelijk om niet opnieuw een staal te moeten afnemen indien de kandidaat wenst deel te nemen aan een volgend project. Tenslotte werd op dit formulier de toestemming van de kandidaat gevraagd om hun genealogische gegevens te gebruiken in wetenschappelijke publicaties. De kandidaten dienden het 'informed consent' samen met hun wangslimvliesstaal terug op te sturen naar het laboratorium van de Forensische Genetica en Moleculaire Archeologie te Leuven.

#### 4.1.4 Ontvangst van het DNA-staal

Bij aankomst van het wangslimvliesstaal in het laboratorium van de Forensische Genetica en Moleculaire Archeologie te Leuven, werd het staal zo snel mogelijk koel bewaard, ingeschreven in de databank en geanonimiseerd door nummering van het wangslimvliesstaal met het projectnummer '8825' gevolgd door het staalnummer, bijvoorbeeld '8825-001'. Daarna werd een bevestigingsmail gestuurd naar de specifieke kandidaat om hen te melden dat hun staal goed was aangekomen in het laboratorium en om hen op de hoogte te brengen wat de volgende stappen waren in het bestuderen van hun wangslimvliesstaal (zie tabel 4.1).

*Tabel 4.1: het programma van "De Gen-iale Stamboom" werd naar alle kandidaten verzonden bij aankomst van hun DNA-staal in het laboratorium voor Forensische Genetica en Moleculaire Archeologie. De bevestigingsmail was voornamelijk om hen te informeren over de duur van de studie van hun wangslimvliesstaal in het laboratorium.*

<b>Maand 1</b>	Staal ontvangst, inschrijving en anonimisatie
<b>Maand 2</b>	DNA extractie
<b>Maand 3</b>	Y-STR analyse (MP2 – MP4)
<b>Maand 4</b>	Y-STR analyse (MP5p – MP7)
<b>Maand 5</b>	Y-SNP analyse
<b>Maand 6</b>	Y-STR en Y-SNP data verwerking
<b>Maand 7</b>	Resultaten opsturen

## 4.2 Analyse van het genetisch materiaal

### 4.2.1 DNA-extractie

DNA-extractietechnieken zijn nodig om het DNA uit de wangslimvliescellen te halen voor verdere analyse. DNA wordt geëxtraheerd door het openbreken van de cellen, ook wel lysis genoemd. Hierdoor valt het celmembraan uit elkaar en wordt het DNA toegankelijker voor verder gebruik.

Het DNA van de kandidaten werd na aankomst onmiddellijk geëxtraheerd in het laboratorium voor Forensische Genetica en Moleculaire Archeologie. Met behulp van SwabSolution™ Reagent werd er een extract van het wangslimvlies bekomen dat meteen bruikbaar is voor het uitvoeren van een PCR reactie. Hiervoor werd er een kwart van een speekselwisser gebruikt, verkregen door de wisser in een petrischaal dwars door te snijden met een scalpelmesje. Het SwabSolution™ Reagent werd ontdooid in een waterbad van 37°C en kon hierdoor zacht worden gemengd. Vervolgens werd het stukje wisser in een genummerde 1.5 ml microtube gebracht en werd er 0.5 ml SwabSolution™ Reagent aan toegevoegd. Hierna werd de microtube geïncubeerd gedurende 30 minuten in een thermoblock op 70°C. Tenslotte werd het bekomen DNA-staal op 2 tot 8°C bewaard in de koelkast voor het uitvoeren van de PCR.

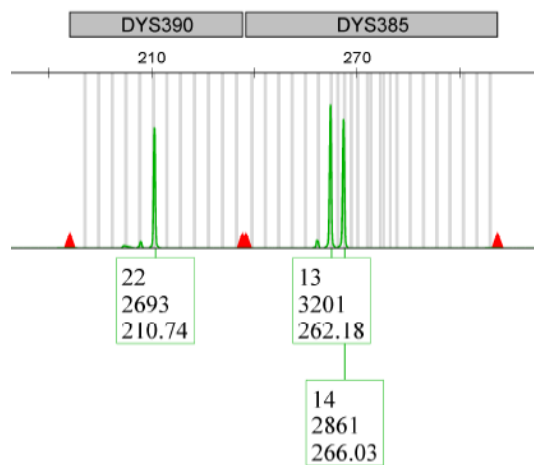
Om de Y-chromosomale variatie op de verschillende genealogische koppels te onderzoeken, werden de kandidaten vergeleken op basis van twee polymorfismen: de snelle mutaties of Y-STRs en de trage mutaties of Y-SNPs.

### 4.2.2 Y-STR analyse

Op de Y-chromosomen van de kandidaten werden 46 verschillende Y-STR loci geanalyseerd. Hierbij zijn er 32 'single copy' Y-STRs en zes 'multi copy' Y-STRs, namelijk DYS459a/b, DYS724a/b, DYS385a/b, DYS464a/b/c/d, YCAIIa/b en DYF387S1a/b. Deze laatste categorie heeft meerdere herhalingen van eenzelfde sequentie gelegen op verschillende loci. De 'multi copy' Y-STRs zijn dus merkers bestaande uit meerdere allelen die zijn ontstaan door duplicatie van bepaalde delen op het Y-chromosoom. Doordat dit herhalingen zijn van dezelfde sequentie, is er slechts één soort primer nodig om beide allelen te analyseren. Bij de resultaten van deze 'multi copy' Y-STRs is het dan ook mogelijk om twee of meer pieken waar te nemen (zie figuur 4.6). Onder elke piek zijn enkele getallen weergegeven, de '22' onder de Y-STR DYS390 betekent dat er 22 tandem herhalingen zijn van deze specifieke Y-STR sequentie, de '2693' geeft de hoogte van de piek weer en de '210.74' staat voor de grootte van de piek. Indien er slechts één piek zou worden



weergegeven bij de 'multi copy' Y-STR DYS385, betekent dit dat bij beide allelen van deze Y-STR het aantal herhalingen dezelfde zijn.



*Figuur 4.6: een voorbeeld van de pieken bij een 'single copy' Y-STR DYS390 (links) en bij een 'multi copy' Y-STR DYS385 (rechts).*

De 46 Y-STR loci werden getest in vier multiplexreacties: MP2, MP4, MP5p en MP7. Deze vier multiplex-kits zijn een mix van in het totaal 55 Y-STR loci, die te zien zijn in tabel 4.2. De MP7 is een multiplexkit met snel muterende ('Rapidly Mutating' of RM) Y-STRs die tijdens deze studie werd ontwikkeld in het laboratorium om de mutatiesnelheid in rekening te nemen voor verdere forensische analyse.

*Tabel 4.2: voor de analyse van de 46 verschillende Y-STR loci, werd gebruik gemaakt van vier multiplex-kits: MP2, MP4, MP5p en MP7. In het totaal werden er 55 Y-STR loci getest, waarvan er negen in twee verschillende multiplex-kits voorkomen ter controle (vet gedrukt).*

MP2	MP4	MP5p	MP7
<b>DYS576</b>	DYS391	DYS635	<b>DYS576</b>
DYS459a/b	<b>DYS393</b>	<b>DYS393</b>	DYS518
DYS438	DYS390	DYS388	DYS627
<b>DYS724a/b</b>	<b>DYS724a/b</b>	DYS456	DYF387S1a/b
DYS19	DYS426	DYS464a/b/c/d	<b>DYS533</b>
DYS392	<b>DYS570</b>	<b>DYS570</b>	
DYS389I	DYS437	YCAIIa/b	
DYS549	<b>DYS385a/b</b>	<b>DYS385a/b</b>	
DYS389II	DYS449	DYS439	
<b>DYS607</b>	DYS460	<b>DYS607</b>	
DYS458	GATA H4.1		
DYS643	DYS454		
DYS455	DYS481		
<b>DYS533</b>	DYS447		
	DYS448		
	DYS442		

Als interne controle komen negen Y-STR loci in meer dan één multiplex-kit voor, namelijk DYS576, DYS724a/b, DYS607, DYS533, DYS393, DYS570 en DYS385a/b. De multiplex-kits werden gemaakt door het bijeenbrengen van verschillende DNA Y-Segmenten (DYS). Een DYS werd op haar beurt gemaakt door de combinatie van twee specifieke kleine sequenties DNA (primers), namelijk een forward primer voor de coderende DNA streng (5'-3') en een reverse primer voor de template DNA streng (3'-5'). In tabel 4.3 worden de gebruikte sequenties voor de forward en reverse primers weergegeven voor DYS390 en DYS385. Een primer is het startpunt voor de 'Polymerase Chain Reaction' (PCR) en kopieert het DNA richting het 5' uiteinde. Door het samenvoegen van de unieke forward en reverse primers voor elke Y-STR, worden de twee DNA strengen van de specifieke stukken op het Y-chromosoom in grote aantallen gerepliceerd. Een uitgetypte tabel met alle gebruikte primers in dit project is te vinden in Addendum A4.

Tabel 4.3: de gebruikte sequenties voor de forward en reverse primers van twee DNA Y-segmenten (de 'single copy' DYS390 en de 'multy copy' DYS 385).

<b>DYS 390</b>	<b>Forward</b>	5' (VIC)-TATATTTTACACATTTTTGGGCC '3
	<b>Reverse</b>	5' GTGACAGTAAAATGAAAACATTGC '3
<b>DYS 385</b>	<b>Forward</b>	5' (VIC)-AGCATGGGTGACAGAGCTA '3
	<b>Reverse</b>	5' GTTTCTTCCAATTACATAGTCCTCCTTTC '3

Voor de analyse van de Y-STRs werd het DNA van de kandidaten eerst geamplificeerd via een PCR. Bij elke 3 µl geëxtraheerd staal werd een amplificatiemengsel van 10.5 µl toegevoegd. Dit mengsel bevat 6.25 µl Qiagen Multiplex PCR MasterMix 2x, 1.75 µl AmpSolution™ Reagent en 2.5 µl van de specifieke multiplex-kit. De specifieke primers voor deze multiplex-kits, alsook hun hoeveelheden, werden ontwikkeld door het Laboratorium voor Forensische Genetica en Moleculaire Archeologie (Jacobs *et al.*, 2009). Bij elke PCR werd gebruik gemaakt van zowel een negatieve controle met TE<sup>4-</sup> elution buffer, als een positieve controle met een staal waarvan de resultaten reeds geanalyseerd waren. De stalen werden ingezet in de GeneAmp® PCR System 9700 op een temperatuur snelheid van 9600°C/sec (ramp speed), de reactiecondities van de PCR zijn weergegeven in tabel 4.4.

Hierna werd het PCR-product opgezuiverd door de BigDye® XTerminator™ Purification Kit (Applied Biosystems). Bij elke 5 µl PCR-product werd een opzuiveringsmengsel van 16.5 µl toegevoegd. Dit mengsel bevat 3 µl XTerminator™ Solution en 13.5 µl SAM™ Solution. Daarna werd de bekomen mix in de MixMate™ geplaatst om het gedurende 30 minuten door elkaar te schudden aan een snelheid van 2000 rpm. Door deze opzuiveringsstap blijven enkel de bruikbare DNA-fragmenten over. Hierna werden de stalen afgedraaid in de

Eppendorf™ 5804 Series Centrifuge om de beads met het onnodige DNA materiaal te laten zakken, zodat de bruikbare DNA-fragmenten gemakkelijker kunnen worden overgepipetteerd

Tabel 4.4: de gebruikte reactiecondities bij de 'Polymerase Chain Reaction' (PCR) voor het amplificeren van de specifieke stukken DNA van de kandidaten voor de Y-STR analyse met MP2, MP4 en MP5p (links) en MP7 (rechts).

	Tijdsduur	Temperatuur		Tijdsduur	Temperatuur	
x 26 cycli	15 min	95°C	}	15 min	95°C	} x 5 cycli
	30 sec	94°C		30 sec	94°C	
	90 sec	62°C		30 sec	65°C	
	90 sec	72°C		1 min	72°C	
	45 min	60°C		30 sec	94°C	
	∞	8°C	30 sec	62°C	} x 24 cycli	
		1 min	72°C			
		45 min	60°C			
			∞	15°C		

Vervolgens werd er per 96 stalen een detectiemengsel klaargemaakt, bestaande uit 1200 µl Hi-Di™ Formamide (Applied Biosystems) en 6 µl GeneScan™ 500 LIZ™ dye Size Standard (Applied Biosystems), wat werkt als ladder voor een interne standaard. Van dit detectiemengsel werd telkens 10 µl per well van de MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate (Applied Biosystems) toegevoegd. Daarna werd er bij het detectiemengsel nog 1 µl van het opgezuiverde PCR product of 3 µl van de negatieve controle toegevoegd. De detectie werd uitgevoerd door de ABI3130XL Genetic Analyzer die via capillaire elektroforese de verschillende DNA-fragmenten kan scheiden volgens lengte, waardoor het kan detecteren welke allelen van de verschillende Y-STRs aanwezig zijn. De stalen werden geanalyseerd met het software programma GeneMapperID v3.2.1. De resultaten voor elk staal werden uitgeprint en geclassificeerd in mappen per multiplex-kit en werden op een overzichtelijke manier in een excel-bestand bewaard. Een voorbeeld van een bekomen Y-STR profiel met GeneMapperID v3.2.1 voor MP2 is te vinden in Addendum A5.

### 4.2.3 Haplogroep predictie

Aan de hand van deze 46 verschillende Y-STR loci kon een voorspelling worden gedaan van de specifieke haplogroep van de kandidaat. Dit werd gedaan via een online programma 'Whit Athey's Haplogroup Predictor' (<http://www.hprg.com/hapest5/>), waarbij men met de frequenties van allelen van de Y-STRs op basis van Bayesiaanse algoritmes een goede schatting kon maken van de hoofdhaplogroep (Athey, 2006). Hierbij werd gebruik gemaakt van de familytree-DNA Order van het 27-Haplogroup Programma (zie figuur 4.7).

	393	390	19	391	385a	385b	426	388
0	0	0	0	0	0	0	0	0
<8	389 1	392	389 2	458	459a	459b	455	
8	0	0	0	0	0	0	0	0
9	447	437	448	449	464a	464b	464c	
10	0	0	0	0	0	0	0	0
11								
12	460	H4	YCAIIa	YCAIIb	456	607	576	
13	0	0	0	0	0	0	0	0
14								
15	CDYa	CDYb	442	438	531	578	395a	
16	0	0	0	0	0	0	0	0
17								
18	590	537	641	472	406	511	425	
>18	0	0	0	0	0	0	0	0

*Figuur 4.7: een overzicht van de familytree-DNA Order van het 27-Haplogroup Programma waarbij men handmatig de waarden van de verschillende Y-STRs kan ingeven per kandidaat. Hierbij wordt er een predictie gemaakt van de hoofdhaplogroep uitgedrukt in procenten.*

### 4.2.4 Y-SNP analyse

Voor de analyse van de traag muterende polymorfismen werd er gezocht naar 81 verschillende Y-SNPs. Hiervan hoorden 24 Y-SNPs bij de haplogroep 'R', 26 Y-SNPs bij de haplogroep 'I', 15 Y-SNPs bij de haplogroep 'E', 12 Y-SNPs bij de haplogroep 'J' en 4 Y-SNPs bij de haplogroep 'G'. De 81 Y-SNPs werden voor analyse in 13 multiplex-kits verdeeld (zie tabel 4.5). Als interne controle komen acht Y-SNPs in meer dan één multiplex-kit voor, namelijk U152, L2, P312, M412, M223, M284, P215 en M12. Deze multiplex-kits werden gemaakt door een specifieke hoeveelheid toe te voegen van de gekozen Y-SNPs, waarbij elke Y-SNP bestond uit de combinatie van een forward en een reverse primer. De specifieke Y-SNPs voor deze multiplex-kits, alsook de concentraties in het amplificatiemengsel, werden ontwikkeld door het Laboratorium voor Forensische Genetica en Moleculaire Archeologie. In Addendum A6 is een tabel te vinden met alle Y-SNPs en hun subhaplogroep benaming.

Tabel 4.5: de onderverdeling van de 13 Multiplex-kits bij de analyse van 81 Y-SNPs voor haplogroepen 'R', 'I', 'E', 'J' en 'G'.

R-M412	R-P312	R-U152	R-M207	I1	I-M258	I2a	I2b	E1b1b	E1b1b1a	J1	J2b	G2a
U152	U152	U152	M173	P109	M258	M161	P95	M215	V12	M267	M205	P15
L2	L2	L2	M479	M27	DF29	M26	P78	M35	V13	<b>M12</b>	<b>M12</b>	P16
L48	M153	L20	M516	M227	M423	P37.2	M379	M224	V22	M62	M241	P18
Z195	SRY2627		M343	P259	L22	<b>P215</b>	<b>P215</b>	M78	V65	M369	M99	M286
<b>P312</b>	<b>P312</b>		M124	M21	<b>M223</b>		<b>M223</b>	M136	M34	M367	M280	
L11	M222		M207	M253	<b>M284</b>		<b>M284</b>	M81		P58	M321	
<b>M412</b>	M37		<b>M412</b>		Z58			M123			P84	
Z18	M65				Z131			M281				
M529					M438			V6				
Z381					Z60			P72				
U198					L80							
U106					M436							
					L801							

Voor de analyse van de Y-SNPs werd het DNA van de kandidaten geamplificeerd via een PCR. Bij elke 2 µl geëxtraheerd staal werd een amplificatiemengsel van 23 µl toegevoegd. Dit mengsel bevat 12.5 µl Qiagen Multiplex PCR MasterMix 2x, 0.5 µl 'nuclease free water', 5 µl AmpSolution™ Reagent en 2 µl van de specifieke primermix. Op basis van de haplogroepredictie door 'Whit Athey's Haplogroup Predictor' werd een bepaalde multiplexreactie gekozen. Bij elke PCR werd gebruik gemaakt van zowel een negatieve controle met TE<sup>4-</sup> elution buffer, als een positieve controle met een staal dat niet tot dezelfde haplogroep behoort als de gebruikte multiplexreactie. Zo zal de positieve controle voor elke Y-SNP de wildtype variant tonen, waardoor bij het analyseren van de stalen de Y-SNP mutaties gemakkelijk te zien zijn. De stalen werden ingezet in de GeneAmp® PCR System 9700 op een temperatuur snelheid van 9600°C/sec ('ramp speed'), de reactiecondities van de PCR zijn weergegeven in tabel 4.6.

Tabel 4.6: de gebruikte reactiecondities bij de 'Polymerase Chain Reaction' (PCR) voor het amplificeren van de specifieke stukken DNA van de kandidaten voor de Y-SNP analyse.

	Tijdsduur	Temperatuur
x 30 cycli {	15 min	95°C
	30 sec	94°C
	90 sec	55°C
	90 sec	72°C
	10 min	72°C
	∞	8°C

Hierna werd het PCR-product opgezuiverd door ExoSAP-IT® PCR Product Cleanup (Affymetrix). Bij elke 5 µl PCR-product werd er 2 µl ExoSAP-IT® toegevoegd. Daarna werd de bekomen mix opnieuw in de GeneAmp® PCR System 9700 geplaatst gedurende 30 minuten, de reactiecondities van de PCR zijn weergegeven in tabel 4.7. De hoge temperatuur bij de laatste 15 minuten zorgt ervoor dat de ExoSAP-IT® werd geïnactiveerd.

Tabel 4.7: de gebruikte reactiecondities bij de 'Polymerase Chain Reaction' (PCR) voor de opzuivering van het DNA via ExoSAP-IT®.

Tijdsduur	Temperatuur
15 min	37°C
15 min	80°C
∞	25°C

Op die manier werden specifieke fragmenten DNA, die de verschillende Y-SNPs van de multiplex-kit bevatten, geamplificeerd. Hierna kwam de genotypering van deze Y-SNPs door de 'SNaPshot® Multiplex System for SNP Genotyping' (Applied Biosystems). Bij elke 3 µl van het opgezuiverde PCR-product werd er 7 µl van een reactiemengsel toegevoegd. Dit mengsel bevat 5 µl SNaPshot® mix, 1 µl water en 1 µl primermix. De primermix is een combinatie van de SNaPshot®-primers in een concentratie van 2.5 µM. Daarna werd de bekomen mix in de GeneAmp® PCR System 9700 geplaatst, de reactiecondities van de PCR zijn weergegeven in tabel 4.8.

Tabel 4.8: de gebruikte reactiecondities bij de 'Polymerase Chain Reaction' (PCR) voor de genotypering van de Y-SNPs via de SnaPshot® mix.

	Tijdsduur	Temperatuur
x 25 cycli {	10 sec	96°C
	5 sec	50°C
	30 sec	60°C
	∞	8°C

Hierna werd het SNaPshot®-product opgezuiverd door de 'Shrimp Alkaline Phosphatase' of SAP (Affymetrix). SAP is een warmte labiele alkalische fosfatase die oorspronkelijk werd geïsoleerd uit *Pandalus borealis* (Noordpool garnalen). Bij elke 10 µl SNaPshot®-product werd een hoeveelheid van 1.5 µl SAP toegevoegd. De bekomen mix werd dan opnieuw in de GeneAmp® PCR System 9700 geplaatst gedurende 45 minuten, de reactiecondities hiervan

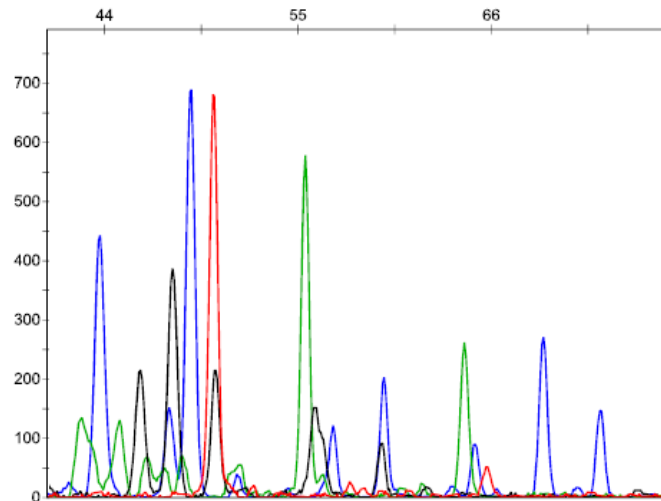
zijn weergegeven in tabel 4.9. De hoge temperatuur bij de laatste 5 minuten zorgt ervoor dat SAP geïnactiveerd werd.

*Tabel 4.9: de gebruikte reactiecondities bij de 'Polymerase Chain Reaction' (PCR) voor de opzuivering van de Y-SNPs via 'Shrimp Alkaline Phosphatase' (SAP).*

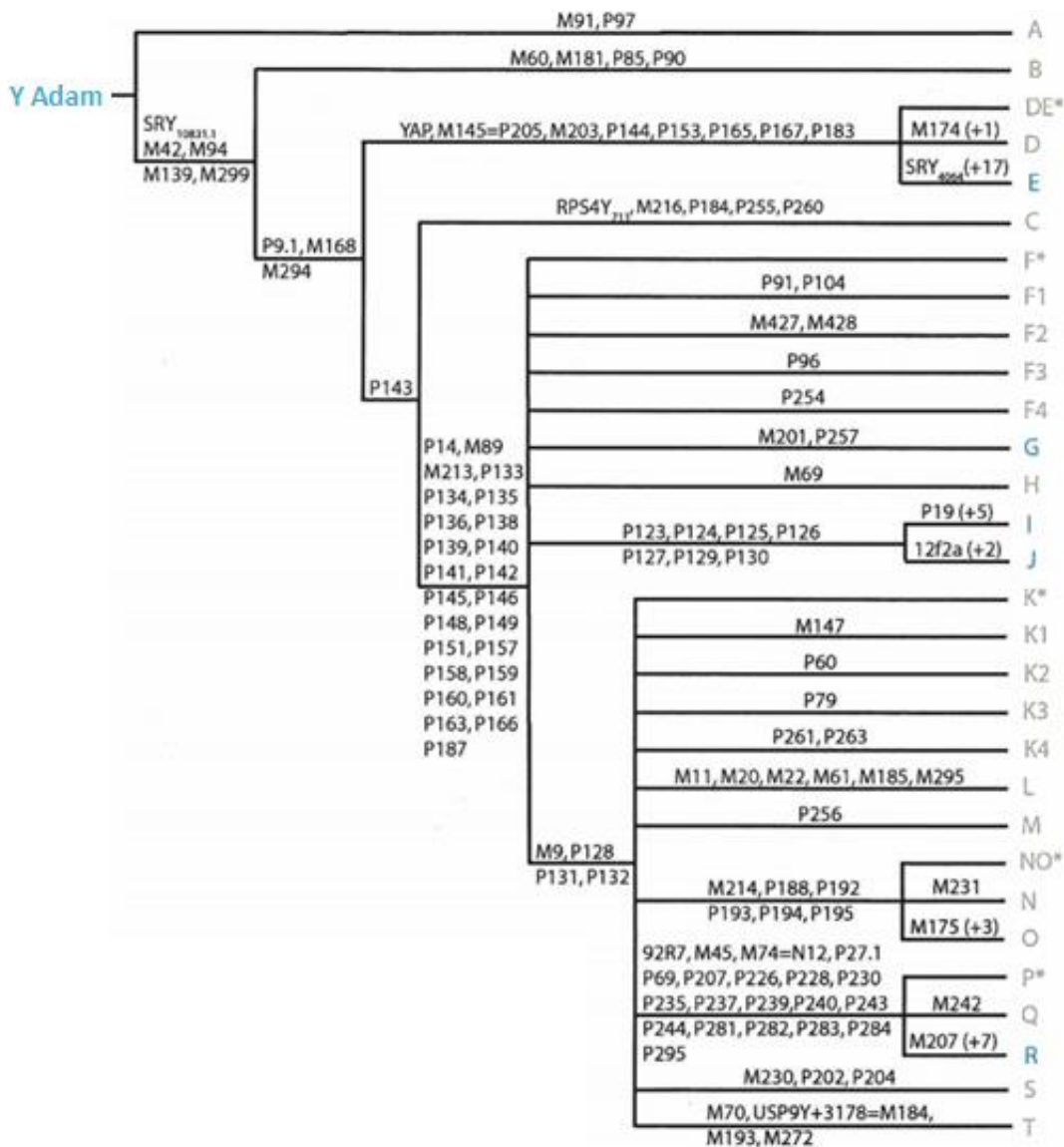
Tijdsduur	Temperatuur
40 min	37°C
5 min	90°C
∞	25°C

Vervolgens werd een detectiemengsel klaargemaakt, bestaande uit 14.5 µl Hi-Di™ Formamide (Applied Biosystems) en 0.8 µl GeneScan™ 120 LIZ™ dye Size Standard (Applied Biosystems), die werkt als ladder voor een interne standaard. Van dit detectiemengsel werd telkens 15.3 µl toegevoegd per well van een MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate (Applied Biosystems). Daarna werd er bij het detectiemengsel nog 1 µl van het opgezuiverde PCR product of 3 µl van de negatieve controle toegevoegd. De detectie werd uitgevoerd door de ABI3130XL Genetic Analyzer die via fluorescentie en capillaire elektroforese kan detecteren welke nucleotide er aanwezig is in welk DNA fragment.

De stalen werden geanalyseerd met het software programma GeneMapperID v3.2.1. Hierbij wordt elke nucleotide gecorreleerd met een bepaald kleur, zo geven adenine (A), thymine (T), guanine (G) en cytosine (C) respectievelijk een groen, rood, blauw en geel/zwart signaal, zie figuur 4.8. Door de bekomen kleuren van de pieken te vergelijken met de wildtype kleuren van de positieve controle, kunnen de mutante Y-SNPs van de kandidaten gemakkelijk worden gevonden. Hierbij werd gezocht naar de verst mutante Y-SNP in een fylogenetische boom per haplogroep. Op figuur 4.9 is te zien hoe deze fylogenetische boom met verschillende haplogroepen is ontstaan door trage Y-SNP mutaties op het Adam-Y-chromosoom die de haplogroep A typeert. Door deze Y-SNPs kan de huidige populatie mannen worden ingedeeld in haplogroepen A tot T. Op figuur 4.10 is de fylogenetische boom weergegeven die werd gebruikt in dit project om de meest specifieke subhaplogroep van de kandidaten vast te stellen op basis van de verschillende Y-SNPs. De resultaten werden uitgeprint, geclassificeerd in mappen per haplogroep en in het excel-bestand van de Y-STRs toegevoegd. Een voorbeeld van een bekomen profiel met het software programma GeneMapperID v3.2.1. van de subhaplogroep R1b1b2a1, is te vinden in Addendum A7.

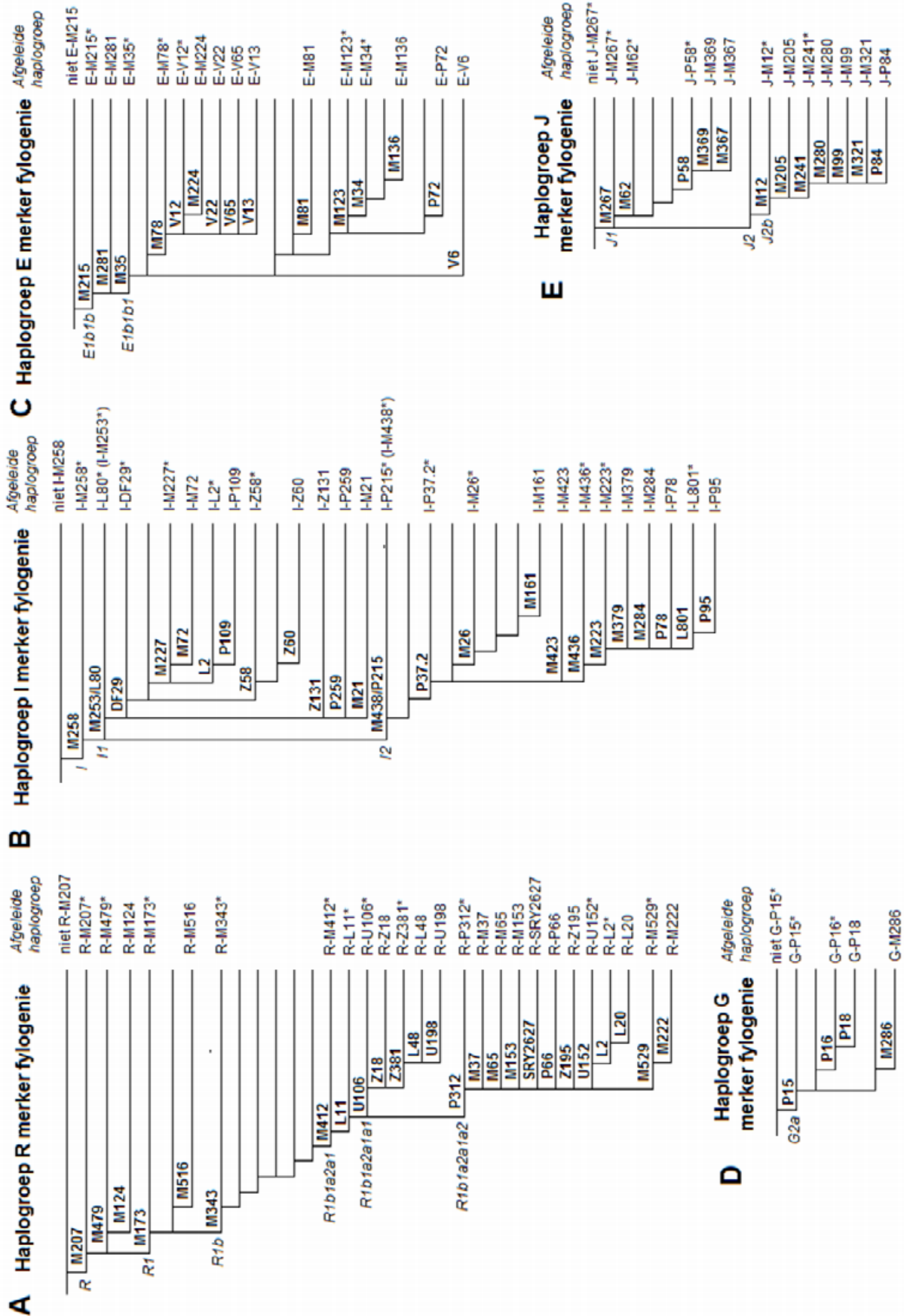


Figuur 4.8: bij de analyse van de stalen werd elke nucleotide gecorreleerd met een bepaald kleur, zo geven adenine (A), thymine (T), guanine (G) en cytosine (C) respectievelijk een groen, rood, blauw en geel/zwart signaal.



Figuur 4.9: de fylogenetische boom per haplogroep startend van de oerhaplogroep A (Y Adam). De verschillende Y-SNPs verdelen de hedendaagse populatie mannen in haplogroepen van A tot T (Karafet et al., 2008). De haplogroepen die verder gespecificeerd worden in figuur 4.10 zijn in het blauw aangeduid.





Figuur 4.10: de gedetailleerde fylogenetische boom voor de 81 gebruikte Y-SNP merkers in haplogroep R (A), haplogroep I (B), haplogroep E (C), haplogroep G (D) en haplogroep J (E) (Larmuseau et al., 2014).

## 4.3 Data-analyse

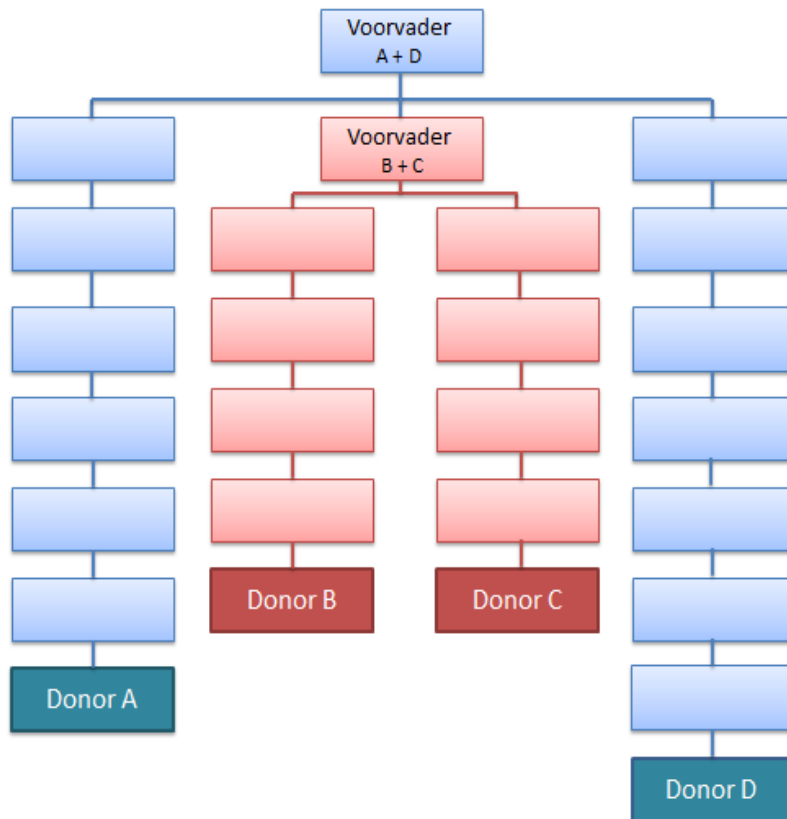
### 4.3.1 Algemene analyse

Een eerste algemene vergelijking werd gemaakt tussen de Y-SNP haplogroepfrequenties van de kandidaten in het project “De Gen-iale Stamboom” en de Y-SNP haplogroepfrequenties over zowel België als Nederland. Hierbij werden de verkregen subhaplogroepen van de kandidaten gegroepeerd en onderverdeeld in de hoofdhaplogroepen I1, I2\*/I2a, I2b, R1a, R1b, G, J\*/J1, J2, E1b1b, T, Q en N. Zo werd er een ruwe verdeling van de haplogroepen van de kandidaten verkregen. De controle verdeling van de haplogroepen over België en Nederland werd gevonden in een paper van Larmuseau *et al.* (2014) en via de website van Eupedia, een informatief forum over Europese geschiedenis en populatie genetica (Maciamo, 2016). Door de vergelijking te maken met deze controle verdeling kon worden nagegaan of de kandidaten van “De Gen-iale Stamboom” representatief waren voor de hele bevolking van de Lage Landen.

### 4.3.2 Analyse EPP frequenties via genealogische koppels

Voor de analyse van de graad van buitenechtelijkheid werd er gebruik gemaakt van de “genealogische koppel”-methode. Hierbij werden de kandidaten per twee naamgenoten geplaatst, ook wel genealogische koppels genoemd. Indien er meerdere kandidaten aangemeld waren bij één familiestamboom, werden telkens de twee kandidaten geselecteerd die het verst van elkaar waren verwijderd. In geval van twijfel, bij een gelijk aantal meioses, werd telkens de jongste kandidaat geselecteerd voor de resultatenanalyse. Indien er naast deze twee naamgenoten geen overlappingsen waren met de relatie tussen twee naaste naamgenoten, was het mogelijk om ook deze kandidaten te selecteren als apart genealogisch koppel (zie figuur 4.11).

Bij elk genealogisch koppel werd het Y-chromosoom vergeleken om te verifiëren of de genealogisch gemeenschappelijke voorvader ook effectief hun biologisch gemeenschappelijke voorvader was. Hierbij werd eerst gekeken naar de specifieke subhaplogroepen van de twee naamgenoten. Doordat deze subhaplogroepen werden verkregen door de analyse van traag muterende Y-SNPs, kan men besluiten dat mannen met dezelfde gemeenschappelijke voorvader dezelfde subhaplogroep delen. Ten tweede werden ook de 46 geanalyseerde Y-STR loci vergeleken met elkaar. Hierbij werd gebruik gemaakt van de door Ballantyne *et al.* (2010) gedefinieerde mutatiesnelheid van gemiddeld  $5.91 \times 10^{-3}$  mutaties per generatie. Het is hoogst onwaarschijnlijk dat er tussen twee biologisch verwante mannen meer dan zeven verschillen zijn binnen de 46 onderzochte Y-STRs (Larmuseau *et al.*, 2013).



*Figuur 4.11: bij meerdere kandidaten in één familiestamboom werden telkens de twee naamgenoten gekozen die het meeste aantal meioses of generaties van elkaar verwijderd waren. In dit voorbeeld zijn donor A en D met 15 meioses het verst van elkaar verwijderd (blauw genealogisch koppel). Hiernaast kunnen donor B en C onafhankelijk een ander koppel vormen (rood genealogisch koppel), aangezien er geen overlappingsen zijn in generaties met personen A en D.*

Door de “genealogische koppel”-methode werd het snel duidelijk of er al dan niet een EPP evenement voorkwam tussen de twee naamgenoten. Hierbij werd een dataset aangemaakt die voor elk koppel het aantal meioses aangaf ( $N$ ) en de aan- of afwezigheid van de overeenkomst tussen de genealogisch en biologisch gemeenschappelijke voorvader. Op basis van deze gegevens werd de graad van EPP per generatie ingeschat. Dit werd gedaan via de statistische Bernoulli-verdeling waarbij ‘succes’ of ‘mislukking’ de enige mogelijke uitkomsten zijn van het experiment. Hierbij werd één meiose gemodelleerd als een discrete kansverdeling met een willekeurige uitkomst ‘ja’, indien er sprake was van buitenechtelijkheid (met kans  $p$ ), of ‘nee’, indien er geen sprake was van buitenechtelijkheid (met kans  $1-p$ ). Voor elk genealogisch koppel werd een binomiale distributie  $B(N,p)$  verkregen die de kansverdeling van het totale aantal EPP gebeurtenissen uit de  $N$  meioses beschrijft. De maximum-likelihood schatting en het bijbehorende 95% betrouwbaarheids-interval van de waarschijnlijkheid  $p$ , werden eerst berekend op basis van de ruwe gegevens, namelijk het totale aantal EPP gebeurtenissen en het aantal meioses in de dataset. Vervolgens werd op basis van deze eerste schatting het aantal EPP bijgewerkt voor elk koppel. De initiële waarden veranderden in de verwachte waarde van het totale aantal EPP gebeurtenissen

tussen twee individuen met N meioses. Zo werd een correctie gemaakt om rekening te houden met eventuele 'verborgen' EPP events. Deze statistiek is gebaseerd op het Bayesiaans kansrekenen, waarbij aan de hand van nieuw verkregen informatie en voorgaande uitkomsten voortdurend wordt herzien wat de kans is dat er nog een EPP gebeurtenis zou voorkomen tussen de individuen. Het script om in Matlab de historische EPP graad in te schatten op basis van de "genealogische koppel"-methode, is te vinden in Addendum A8 (Larmuseau *et al.*, 2013).

#### 4.3.2.1 Temporele differentiatie in EPP frequenties

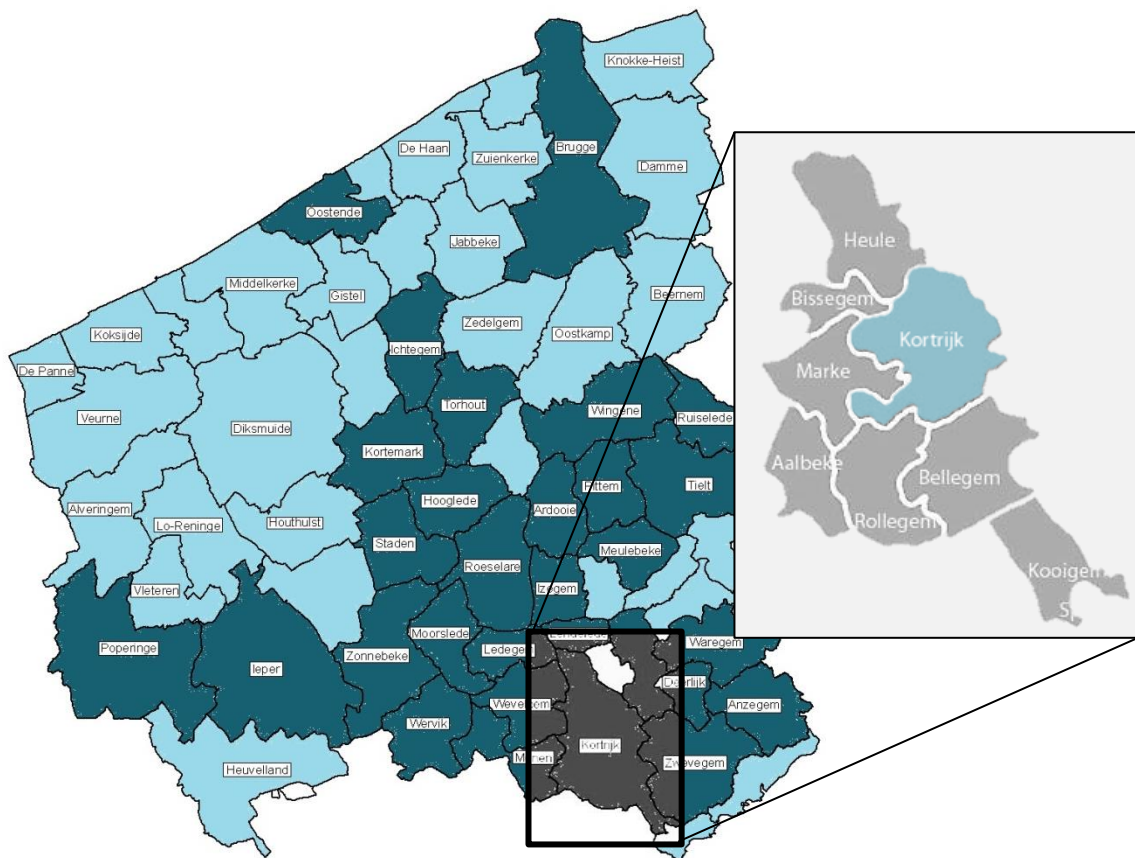
Een belangrijke analyse in dit project is de verdeling van de EPP graad over de tijd. Zoals eerder vermeld, werd er bij alle gevormde genealogische koppels gekeken naar de hoeveelheid EPP evenementen in functie van het aantal meioses tussen twee naamgenoten. Op deze manier is het mogelijk te achterhalen of de huidige graad van buitenechtelijkheid gelijk bleef, was gestegen of was afgenomen in vergelijking met de historische EPP graad. Hierbij werden alle genealogische koppels op basis van hun aantal meioses gesorteerd en opgedeeld in vier intervallen met gelijke aantallen genealogische koppels, namelijk [7-9], [10-13], [14-16] en [ $>17$ ]. Voor elk interval werd het procent van koppels met buitenechtelijkheid en het procent van buitenechtelijkheid per generatie berekend. Dit laatste werd via de Bayesiaanse statistiek berekend, samen met een 95% betrouwbaarheidsinterval voor deze EPP graad per generatie per meiose-interval. De resultaten werden uitgeplot op een grafiek met het procent van buitenechtelijkheid in functie van het aantal meioses tussen de genealogische koppels. Via de statistische Chi-kwadraattoets kon er worden nagegaan of er een significant verschil is van het procent koppels met buitenechtelijkheid tussen de verschillende meiose-intervallen.

#### 4.3.2.2 Spatiale differentiatie in EPP frequenties

Een tweede belangrijke analyse in dit project is de verdeling van de EPP graad over de ruimte. Hierbij werd per genealogisch koppel bij beide kandidaten gekeken naar de geboorteplaats van de voorvader die het dichtst bij het jaar 1850 was geboren. Zo verkreeg men twee geboorteplaatsen per genealogisch koppel. De geboorteplaatsen in Vlaanderen werden onderverdeeld in stad en platteland op basis van hun bevolkingsdichtheid. Dit laatste werd berekend door het aantal inwoners van de geboorteplaats in het jaar 1850 te delen door de oppervlakte in km<sup>2</sup> (FGOV Economie, 2013). Alle geboorteplaatsen die minder dan de gemiddelde bevolkingsdichtheid hadden, namelijk minder dan 142 inwoners per km<sup>2</sup>, werden gecategoriseerd als een plaats met lage bevolkingsdichtheid (L), terwijl de andere werden gecategoriseerd als een plaats met dichte bevolkingsdichtheid (D). Op figuur 4.12 is de onderverdeling op basis van bevolkingsdichtheid voor de provincie West-Vlaanderen

weergegeven. Hiervan zijn 42 gemeenten dichtbevolkt (D, donker blauw) en 22 gemeenten laagbevolkt (L, licht blauw). De dichtbevolkte gemeenten werden daarnaast nog eens onderverdeeld in een dichtbevolkte grootstad en in laagbevolkte deelgemeenten of dorpen.

Op deze manier werd Vlaanderen onderverdeeld in 323 laagbevolkte (L) en 266 dichtbevolkte (D) gemeenten, die op hun beurt werden opgedeeld in grootsteden (D) en deelgemeenten (L). De vier grootsteden van Vlaanderen zijn Brussel, Antwerpen, Gent en Brugge. Enkele voorbeelden van centrumsteden zijn Leuven, Kortrijk, Roeselare, Aalst, Oostende, Turnhout, Mechelen, Sint-Niklaas, Genk en Hasselt. Aangezien de oppervlakte van de gemeenten in Vlaanderen relatief constant gebleven is, werden de huidige oppervlaktewaarden gebruikt voor de bepaling van de bevolkingsdichtheid.



*Figuur 4.12: onderverdeling van de 64 gemeenten in West-Vlaanderen op basis van hun bevolkingsdichtheid: 22 lage (licht blauw) en 42 hoge (donker blauw). De dichtbevolkte gemeente Kortrijk wordt op haar beurt onderverdeeld in een dichtbevolkte grootstad Kortrijk (blauw) en in zeven laagbevolkte randgemeenten Heule, Bissegem, Marke, Aalbeke, Rollegem, Bellegem en Kooigem (grijs).*

Voor de spatiale analyse van de EPP graad, werd dus per genealogisch koppel de bevolkingsdichtheid van twee geboorteplaatsen in rekening gebracht (zie tabel 4.10). Hierdoor werden alle genealogische koppels onderverdeeld in drie grote groepen: beide

geboorteplaatsen met lage bevolkingsdichtheid (LL), zowel een geboorteplaats met dichte als met lage bevolkingsdichtheid (DL) en beide geboorteplaatsen met dichte bevolkingsdichtheid (DD).

De EPP frequenties in deze drie groepen werden onderling vergeleken met een Chi-kwadraattoets om na te gaan of er een significant verschil is tussen de graad van EPP in een dichtbevolkte stad of in een laagbevolkt dorp. Op basis van de Chi-kwadraattoets werd een kruistabel geanalyseerd met de buitenechtelijkheid als onbekende variabele (aantal 'Ja' vs 'Nee') en de te vergelijken plaatsen als bekende variabele (bijvoorbeeld 'stad' vs 'platteland').

Naast de vergelijking tussen stad en platteland, werden de EPP frequenties ook vergeleken tussen genealogische koppels uit verschillende provincies (West-Vlaanderen tegenover Antwerpen), uit verschillende streken (Oud-Vlaanderen tegenover Oud-Brabant) en uit verschillende landen (Nederland tegenover Vlaanderen). Ook bij deze vergelijkingen werd de significantie van de resultaten getest met een Chi-kwadraattoets.

*Tabel 4.10: het excel-databestand voor de spatiale analyse van de EPP graad. Hierbij werd per naamgenoot de bevolkingsdichtheid van de geboortestad bij het jaar 1850 in rekening gebracht. Elke rij staat voor een genealogisch koppel, N = meïoses, D = dichtbevolkt, L = laagbevolkt.*

N	EPP?	stad (1850)	Provincie	Land	D/L	stad (1850)	Provincie	Land	D/L
7	0	Geel	Antw	België	L	Geel	Antw	België	L
7	0	Eine	O-VI	België	L	Eine	O-VI	België	L
11	0	Rijen	x	NL		Rijen	x	NL	
38	0	Ravels	Antw	België	L	Driel	x	NL	
9	0	Heindonk	Antw	België	L	Heindonk	Antw	België	L
20	0	Deftinge	O-VI	België	L	Overboelare	O-VI	België	L
7	0	Pollinkhove	W-VI	België	L	Pollinkhove	W-VI	België	L
28	0	Maastricht	x	NL		Vroenhoven	Limburg	België	L
8	0	Keiem	W-VI	België	L	Keiem	W-VI	België	L
10	0	Oostkerke	W-VI	België	L	Oostkerke	W-VI	België	L
12	0	Ginneken	x	NL		Ginneken	x	NL	
13	0	Kessel	x	NL		Buggenum	x	NL	
8	0	Malderen	VI-Brab	België	L	Malderen	VI-Brab	België	L
9	0	Lotenhulle	O-VI	België	L	Aalter	O-VI	België	D
11	1	Geluwe	W-VI	België	L	Wervik	W-VI	België	D
13	1	Hoboken	Antw	België	D	Wilrijk	Antw	België	D
8	0	Assebroek	W-VI	België	L	Assebroek	W-VI	België	L
8	0	Zingem	O-VI	België	D	Huise	O-VI	België	L
18	0	St.Elooïis	W-VI	België	L	Oostrozebeke	W-VI	België	D
13	0	Lier	Antw	België	D	Gent	O-VI	België	D
15	0	Lovendegem	O-VI	België	D	Dikkelvenne	O-VI	België	L
27	0	Menen	W-VI	België	D	Halle	VI-Brab	België	D
7	0	Bocholt	Limburg	België	L	Bocholt	Limburg	België	L
11	0	Roeselare	W-VI	België	D	Ardooie	W-VI	België	D

---

# RESULTATEN

---

## 5. Resultaten

### 5.1 Kandidaten van “De Gen-iale Stamboom”

Met ongeveer 307 ‘vind-ik-leuks’ op de Facebook-pagina en meer dan 2000 kijkers van het YouTube-filmpje, werd “De Gen-iale stamboom” deels dankzij de sociale media een veel besproken, internationale studie in de wereld van de genealogie. Bij de meer directe aanpak werden e-mails verstuurd naar kandidaten die reeds hadden deelgenomen aan eerdere projecten of naar gekende genealogen die een grote bijdrage leverden op de bekende website ‘Geneanet’. Bij de eerste groep werden enkel de bruikbare kandidaten aangeschreven, dus exclusief de mensen afkomstig van buitenechtelijke kinderen, de overledenen, de vondelingen, enz. In tabel 5.1 wordt de respons ratio van de verzonden e-mails naar deze potentiële kandidaten weergegeven.

*Tabel 5.1: de respons ratio van de verstuurd e-mails naar kandidaten die al eerder deelnamen aan een DNA-project en gekende genealogen op de website ‘Geneanet’.*

	Gecontacteerden	Respons	Respons ratio
Eerdere kandidaten	353	70	20%
Geneanet	476	138	29%

Ondanks de iets lagere respons ratio's van 20% en 29%, verliepen de inschrijvingen voor “De Gen-iale Stamboom” heel vlot. Slechts enkele mensen werden niet geselecteerd, dit vooral omwille van de afwezigheid van een naamgenoot, de afwezigheid van een gemeenschappelijke voorvader met hun naamgenoot, de familienaamoverdracht van de moeder of een te weinig aantal meioses tussen de twee naamgenoten. Het aantal ontvangen inschrijvingsmails waren er meer dan verwacht. Na de eerste maand werden reeds 126 kandidaten geselecteerd voor deelname aan het project. In het totaal werden er 832 DNA-kits verzonden naar zowel binnen- als buitenland. De kandidaten waren verdeeld over drie verschillende continenten en waren uit tien verschillende landen: België, Nederland, Frankrijk, Duitsland, het Verenigd Koninkrijk, Portugal, Verenigde Staten, Canada, Nieuw-Zeeland en Australië. Op figuur 5.1 werden de verschillende woonplaatsen van de kandidaten aangeduid. Deze verspreiding schetst alvast een mooi beeld over hoe de mensen uit de Lage Landen zich in het verleden hebben verspreid over de hele wereld. “De Gen-iale Stamboom” werd een internationaal gekend project en kende een groot succes met een totaal van 821 kandidaten en 341 verschillende familienamen. Een lijst van alle betrokken familienamen in het project is te vinden in Addendum A9.





*Figuur 5.1: de verschillende woonplaatsen van de kandidaten die deelnamen aan “De Gen-iale Stamboom” op de wereldkaart, verspreid over 10 landen en 3 continenten: België, Nederland, Frankrijk, Duitsland, Verenigd Koninkrijk, Portugal, Verenigde Staten, Canada, Nieuw-Zeeland en Australië.*

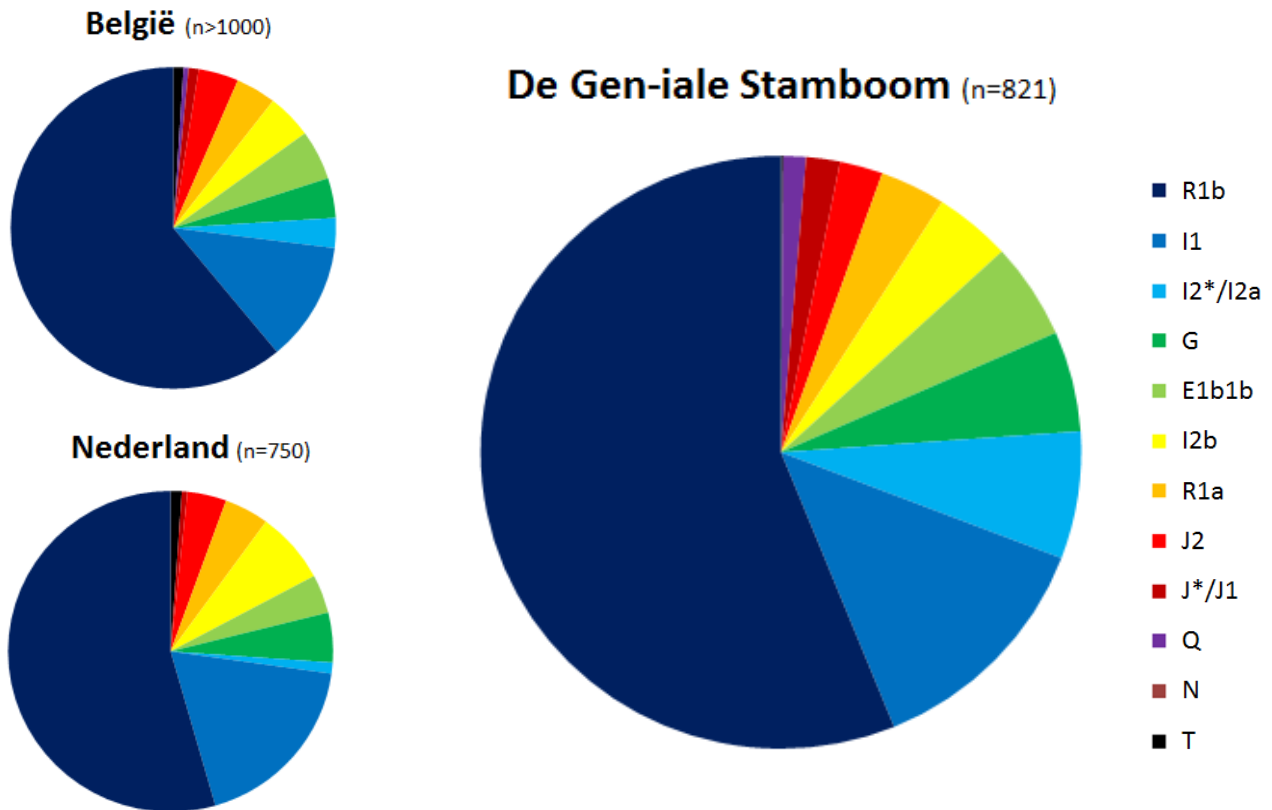
## 5.2 Algemene analyse

Een eerste algemene vergelijking werd gemaakt tussen de Y-SNP haplogroepfrequenties van de kandidaten in het project “De Gen-iale Stamboom” en de Y-SNP haplogroepfrequenties over zowel België als Nederland. Hierbij werden de verkregen subhaplogroepen van de kandidaten gegroepeerd en onderverdeeld in de hoofdhaplogroepen I1, I2\*/I2a, I2b, R1a, R1b, G, J\*/J1, J2, E1b1b, T, Q en N (zie tabel 5.2).

*Tabel 5.2: de verschillende hoofdhaplogroepen met hun frequenties van voorkomen in België, Nederland en “De Gen-iale Stamboom”. (n = aantal kandidaten)*

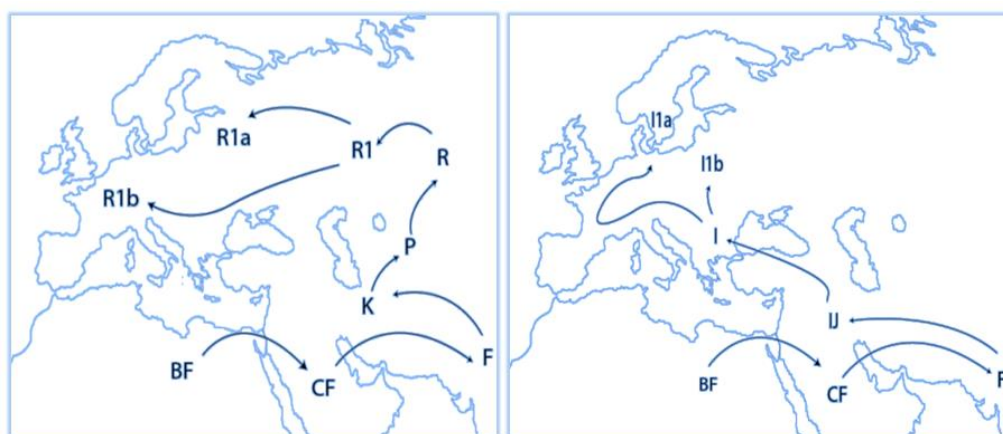
Haplogroepen	België	Nederland	De Gen-iale Stamboom	%
<b>R1b</b>	61	49	461	56,2
<b>I1</b>	12	16,5	107	13,0
<b>I2*/I2a</b>	3	1	57	6,9
<b>G</b>	4	4,5	45	5,5
<b>E1b1b</b>	5	3,5	43	5,2
<b>I2b</b>	4,5	6,5	34	4,1
<b>R1a</b>	4	4	29	3,5
<b>J2</b>	4	3,5	19	2,3
<b>J*/J1</b>	1	0,5	15	1,8
<b>Q</b>	0,5	0	10	1,2
<b>T</b>	1	1	1	0,1
<b>N</b>	0	0	0	0,0
<b>TOTAAL (n)</b>	<b>&gt;1000</b>	<b>750</b>	<b>821</b>	

Op figuur 5.2 is duidelijk te zien dat de verdeling van de Lage Landen in grote lijnen overeenstemt met de 821 kandidaten van “De Gen-iale Stamboom”. Hierdoor kan er worden aangenomen dat deze groep representatief is voor de gehele bevolking van de Lage Landen.



Figuur 5.2: verdeling van de haplogroepen over België en Nederland (Larmuseau et al., 2014; Maciamo, 2016) (links) en de verdeling van de haplogroepen bij de kandidaten van ‘De Gen-iale Stamboom’ (rechts).

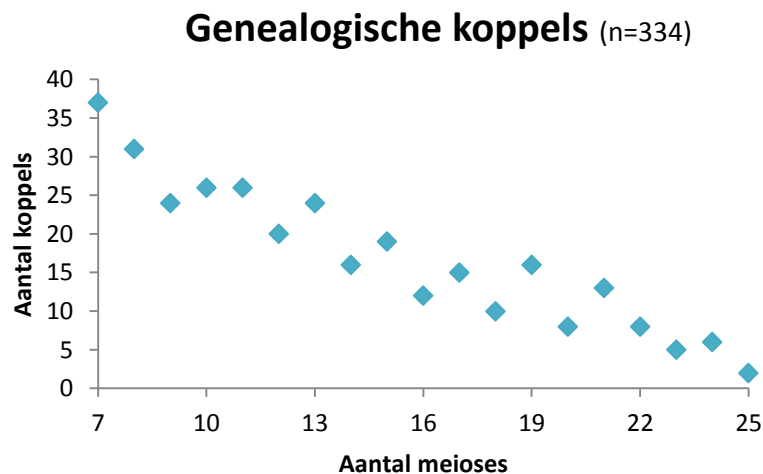
De twee meest voorkomende hoofdhaplogroepen in zowel “De Gen-iale Stamboom” als bij de Lage Landen zijn R1b en I1. De migratiepatronen van deze twee meest voorkomende haplogroepen worden ter informatie weergegeven in figuur 5.3.



Figuur 5.3: het migratiepatroon van de twee meest voorkomende hoofdhaplogroepen bij zowel de Lage Landen als bij de kandidaten van “De Gen-iale Stamboom”: R1b (links) en I1 (rechts).

### 5.3 Analyse EPP frequenties via genealogische koppels

Voor de analyse van de graad van buitenechtelijkheid werd gebruik gemaakt van de “genealogische koppel”-methode. Hierbij werden 309 genealogische koppels gevormd op basis van twee naamgenoten die, bij aanwezigheid van andere naamgenoten, het verst van elkaar waren verwijderd in hun familiestamboom. Doordat bij 13 familiestambomen er naast de twee geselecteerde naamgenoten geen overlappingsen waren met de relatie tussen twee naaste naamgenoten, was het mogelijk om nog 25 extra genealogische koppels op te nemen in de resultaten-analyse. Zo lag bijvoorbeeld het grootste aantal ingeschreven naamgenoten voor één familiestamboom op 33, waardoor het mogelijk was om zeven onafhankelijke genealogische koppels te vormen uit deze familie. In het totaal werden 334 genealogische koppels gevormd, variërend van zeven tot 25 meioses tussen de twee naamgenoten (zie grafiek 5.1), met uitzondering van één koppel met maar liefst 58 meioses.



*Grafiek 5.1: het aantal genealogische koppels in functie van het aantal meioses tussen de twee naamgenoten (n=334).*

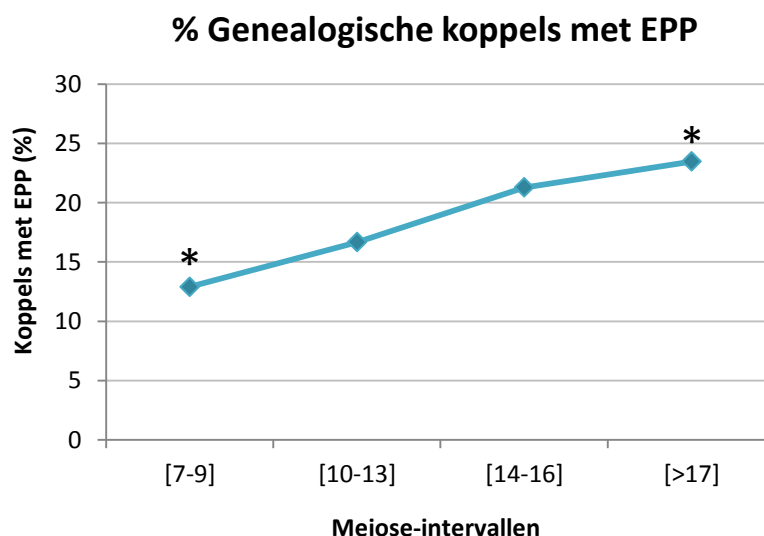
Op basis van de Y-chromosomale vergelijking bleek de meest recente gemeenschappelijke voorvader van 61 op de 334 genealogische koppels niet dezelfde als hun biologisch gemeenschappelijke voorvader. Bij 42 van deze 61 genealogische koppels waren de hoofdhaplogroepen van de naamgenoten niet dezelfde. Vijf andere genealogische koppels hadden dan weer een verschillende subhaplogroep. Bij de overige 14 genealogische koppels behoorden beide naamgenoten tot dezelfde subhaplogroep R1b, maar hadden ze toch zeven of meer mutaties op de 46 geanalyseerde Y-STRs. Voor de overige 273 genealogische koppels kon, op basis van de gelijkheid met hun subhaplogroep en Y-STRs, met zekerheid worden vastgesteld dat de recentste gemeenschappelijke voorvader ook hun biologisch gemeenschappelijke voorvader was. Op basis van de “genealogische koppel”-methode werd via de Bayesiaanse statistiek geschat dat de EPP graad per generatie lag op 1.44% met een 95% betrouwbaarheidsinterval (BI) van 1.12 tot 1.83%.

### 5.3.1 Temporele differentiatie in EPP frequenties

Voor de analyse van de verdeling van de EPP graad over de tijd, werd er bij alle gevormde genealogische koppels (n=334) gekeken naar de hoeveelheid EPP evenementen in functie van het aantal meioses tussen twee naamgenoten. Hierbij werden alle genealogische koppels op basis van hun aantal meioses gesorteerd en opgedeeld in vier intervallen met gelijke aantallen genealogische koppels, namelijk [7-9], [10-13], [14-16] en [>17]. In tabel 5.3 wordt het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP), zonder buitenechtelijkheid (%OK) en het procent van buitenechtelijkheid per generatie (P(EPP/meiose)) voor elk interval weergegeven. In grafiek 5.2 is het verband waar te nemen tussen het procent van de koppels met buitenechtelijkheid en het aantal meioses tussen de genealogische koppels. Via de statistische Chi-kwadraattoets kon er met een p-waarde van 0.044 worden geconstateerd dat er een significant verschil is in het procent van koppels met buitenechtelijkheid tussen de meiose-intervallen [7-9] en [>17].

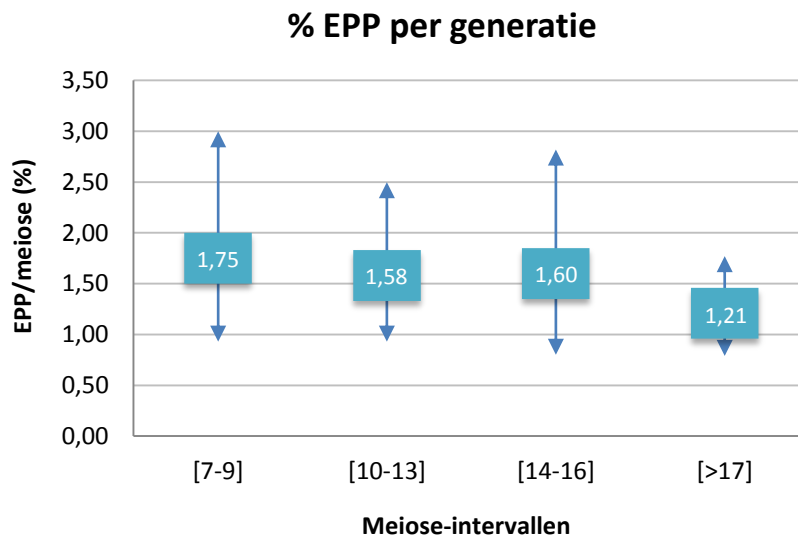
Tabel 5.3: het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) en de graad van buitenechtelijkheid per generatie (P(EPP/meiose)), verdeeld over vier meiose-intervallen.

Meioses	Koppels	# EPP	# OK	% EPP	% OK	# Meioses	P(EPP/meiose)	95% BI
[7-9]	93	12	81	12,90	87,10	728	1,75	0,93-3,00
[10-13]	96	16	80	16,67	83,33	1098	1,58	0,93-2,50
[14-16]	47	10	37	21,28	78,72	701	1,60	0,80-2,82
[>17]	98	23	75	23,47	76,53	2139	1,21	0,79-1,77



Grafiek 5.2: temporele differentiatie in het procent genealogische koppels met EPP. Het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) verdeeld over vier meiose-intervallen. (\*) p-waarde=0.044

In grafiek 5.3 is het verband waar te nemen tussen de graad van buitenechtelijkheid per generatie en het aantal meioses tussen de genealogische koppels. Via de Bayesiaanse statistiek kon er voor elk meiose-interval de kans van een EPP evenement per generatie worden berekend. Deze vier waarden liggen rond de algemeen gevonden EPP graad per generatie van 1.44% (95% BI: 1.12-1.83%). Doordat deze waarden binnen elkaars 95% betrouwbaarheidsinterval liggen, kan worden geconstateerd dat er geen significant verschil is in de graad van buitenechtelijkheid per generatie tussen de vier meiose-intervallen.



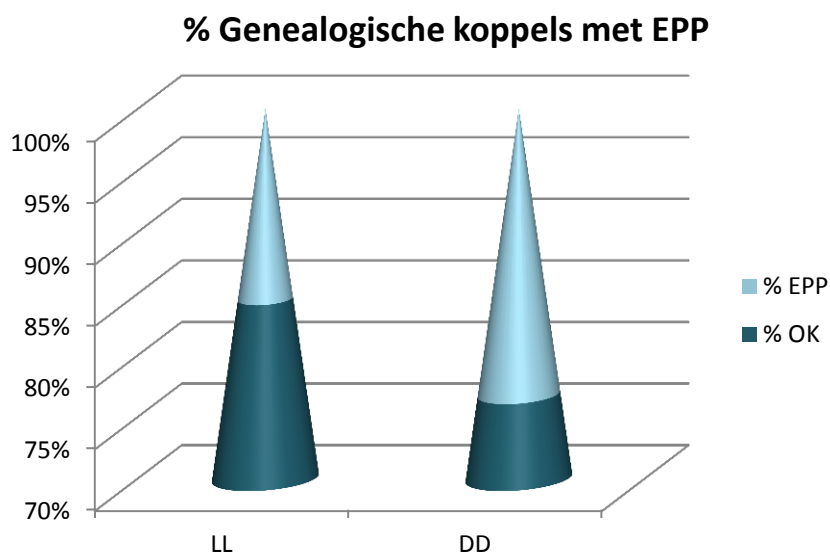
*Grafiek 5.3: temporele differentiatie in het procent EPP per generatie. De graad van buitenechtelijkheid per generatie ( $P(EPP/meiose)$ ), verdeeld over vier meiose-intervallen.*

### 5.3.2 Spatiale differentiatie in EPP frequenties

Zoals eerder aangehaald, werd er bij het analyseren van de verdeling van de EPP graad over de ruimte per genealogisch koppel bij beide kandidaten gekeken naar de geboorteplaats van de voorvader die het dichtst bij het jaar 1850 was geboren. Voor het eerste deel van de spatiale analyse werden de geboorteplaatsen in Vlaanderen opgedeeld in stad (dichte bevolkingsdichtheid, D) en platteland (lage bevolkingsdichtheid, L). De bevolkingsdichtheid werd berekend door het aantal inwoners van een stad in het jaar 1850 te delen door diens oppervlakte in km<sup>2</sup>. Hierdoor werden de 277 Vlaamse genealogische koppels onderverdeeld in 149 koppels waarvan beide geboorteplaatsen een lage bevolkingsdichtheid (LL) hadden, 59 koppels met zowel een geboorteplaats met dichte als met lage bevolkingsdichtheid (DL) en 69 koppels waarvan beide geboorteplaatsen een dichte bevolkingsdichtheid (DD) hadden. In tabel 5.4 wordt het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) en het procent van buitenechtelijkheid per generatie (P(EPP/meiose)) voor het platteland (LL) en voor de stad (DD) weergegeven. In grafiek 5.4 is het procent van de koppels met buitenechtelijkheid te zien in het platteland en in de stad. Via de statistische Chi-kwadraattoets kon er worden geconstateerd dat er geen significant verschil is in het procent van koppels met buitenechtelijkheid tussen de dichtbevolkte steden en het laagbevolkte platteland.

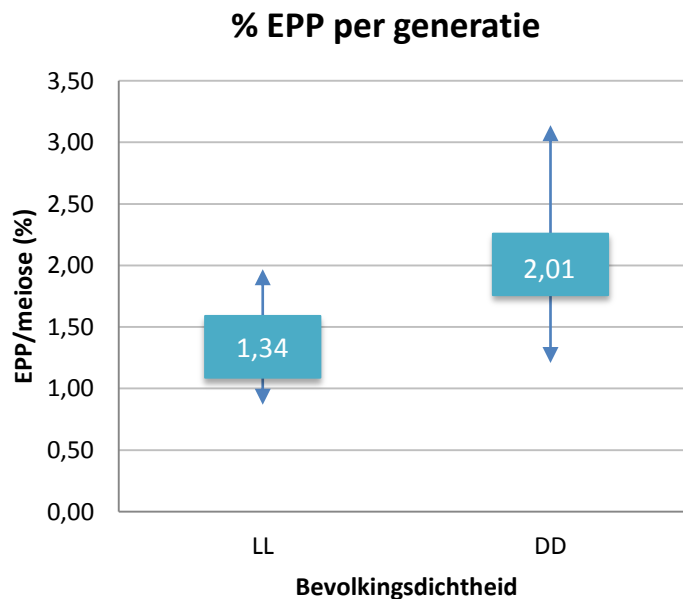
Tabel 5.4: het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) en de graad van buitenechtelijkheid per generatie (P(EPP/meiose)), verdeeld over het platteland en de stad.

Type	Koppels	# EPP	# OK	% EPP	# Meioses	P(EPP/meiose)	95% BI
LL	149	23	126	15,44	1878	1,34	0,87-1,97
DD	69	16	53	23,19	922	2,01	1,21-3,14



Grafiek 5.4: spatiale differentiatie in EPP frequenties: het procent genealogische koppels met buitenechtelijkheid tussen platteland (LL) en stad (DD).

In grafiek 5.5 is de graad van buitenechtelijkheid per generatie te zien in het platteland en in de stad. Via de Bayesiaanse statistiek kon er voor zowel het platteland als voor de stad de kans van een EPP evenement per generatie worden berekend. Op basis van de “genealogische koppel”-methode werd er via de Bayesiaanse statistiek een schatting gemaakt van de EPP graad per generatie ( $P(\text{EPP}/\text{meiose})$ ) van 1.34% (95% BI: 0.87-1.97%) in het platteland en 2.01% (95% BI: 1.21-3.14%) in de stad.

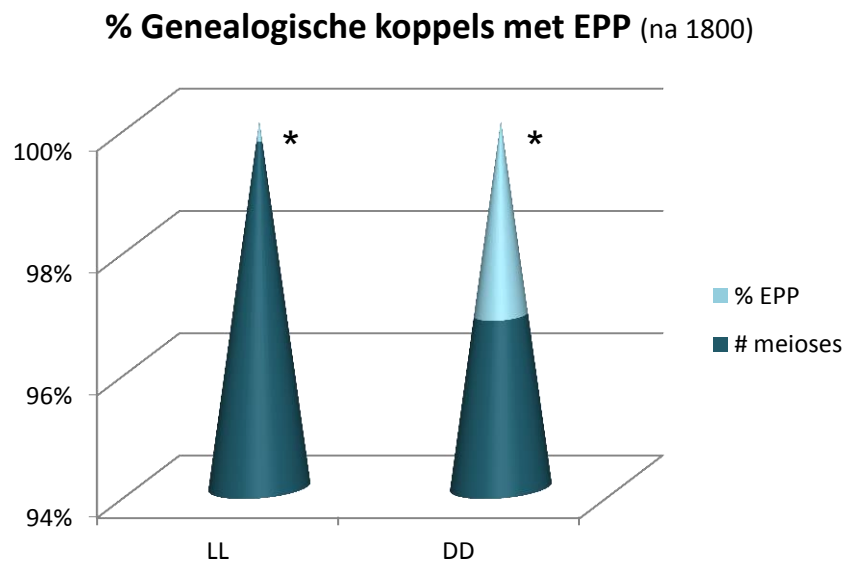


*Grafiek 5.5: spatiale differentiatie in het procent EPP per generatie. De graad van buitenechtelijkheid per generatie ( $P(\text{EPP}/\text{meiose})$ ), verdeeld over het platteland en de stad.*

Daarna werd deze analyse verfijnd door enkel rekening te houden met de genealogische koppels waarvan de geboortedatum van hun meest recente gemeenschappelijke voorouder rond het jaar 1800 lag. Zo werden 143 Vlaamse koppels met maximum 12 meioses tussen de naamgenoten geselecteerd. Deze genealogische koppels werden onderverdeeld in 81 koppels waarvan beide geboorteplaatsen een lage bevolkingsdichtheid (LL) hadden, 21 koppels met zowel een geboorteplaats met dichte als met lage bevolkingsdichtheid (DL) en 41 koppels waarvan beide geboorteplaatsen een dichte bevolkingsdichtheid (DD) hadden. In tabel 5.5 wordt het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) en het procent van buitenechtelijkheid per generatie ( $P(\text{EPP}/\text{meiose})$ ) voor het platteland (LL) en voor de stad (DD) weergegeven. In grafiek 5.6 is het procent van de koppels met buitenechtelijkheid te zien in het platteland en in de stad. Via een tweede Chi-kwadraattoest werd een p-waarde van 0.029 verkregen en kon er worden geconstateerd dat er in de stad een significant hoger procent van koppels met buitenechtelijkheid is.

Tabel 5.5: het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) en de graad van buitenechtelijkheid per generatie ( $P(EPP/meiose)$ ), verdeeld over het platteland en de stad.

Type	Koppels	# EPP	# OK	% EPP	# Meioses
LL	81	2	79	2,47	705
DD	41	5	36	12,20	371



Grafiek 5.6: spatiale differentiatie in EPP frequenties: het procent buitenechtelijkheid per generatie tussen platteland (LL) en stad (DD) met de genealogische koppels waarvan het geboortejaar van hun recenste gemeenschappelijke voorvader rond 1800 ligt. (\*)  $p$ -waarde=0.029

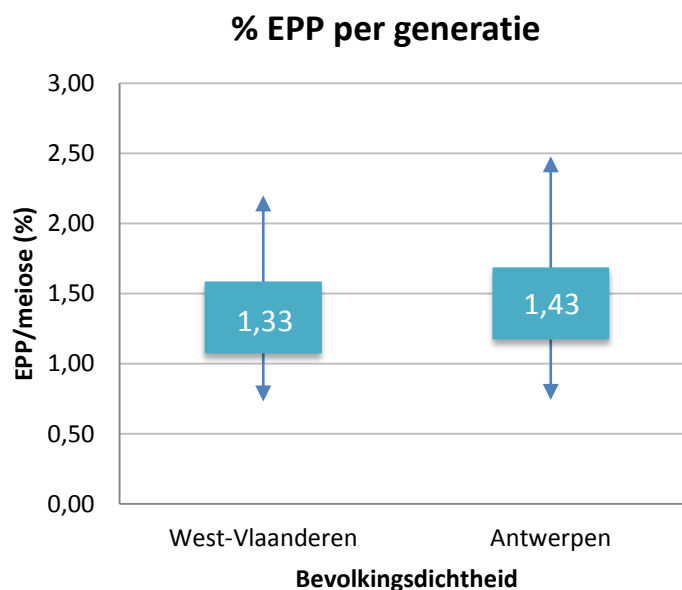
Op basis van de “genealogische koppel”-methode werd via de Bayesiaanse statistiek een schatting gemaakt van de EPP graad per generatie ( $P(EPP/meiose)$ ) van 1.35% (95% BI: 0.63-2.5%) in het platteland en 1.43% (95% BI: 0.48-3.23%) in de stad. Deze waarden hebben een heel breed betrouwbaarheidsinterval door het lage aantal genealogische koppels. Hierdoor kunnen deze waarden niet worden opgenomen in de analyse.



Bij een tweede spatiale analyse werden de EPP frequenties vergeleken tussen genealogische koppels uit verschillende provincies. De 277 Vlaamse genealogische koppels werden onderverdeeld in 78 koppels uit West-Vlaanderen, 71 uit Antwerpen, 50 uit Oost-Vlaanderen, 35 uit Brabant en 9 uit Limburg. Hiernaast waren er nog 34 genealogische koppels waarvan beide voorvaders een andere provincie hadden, deze werden niet in rekening gebracht in de analyse. Bij deze tweede spatiale analyse werd vooral gekeken naar de verschillen in de graad van EPP bij de provincie West-Vlaanderen, als platteland, en Antwerpen, als stad. In tabel 5.6 en grafiek 5.8 is te zien dat de procenten van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) in zowel West-Vlaanderen als Antwerpen zeer gelijkend zijn. Via de statistische Chi-kwadraattoets werd dan ook geen significant verschil gevonden tussen de provincies West-Vlaanderen en Antwerpen. Via de Bayesiaanse statistiek werd er op basis van de "genealogische koppel"-methode een schatting gemaakt van de EPP graad per generatie (P(EPP/meiose)) van 1.33% (95% BI: 0.73-2.20%) in West-Vlaanderen en 1.43% (95% BI: 0.74-2.48%) in Antwerpen. Ook hier is de EPP graad per generatie tussen beide provincies zeer gelijkaardig.

Tabel 5.6: het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) en de graad van buitenechtelijkheid per generatie (P(EPP/meiose)), tussen West-Vlaanderen en Antwerpen.

Provincie	Koppels	# EPP	# OK	% EPP	# Meioses	P(EPP/meiose)	95% BI
West-Vlaanderen	78	13	65	16,67	1080	1,33	0,73-2,20
Antwerpen	71	11	60	15,49	838	1,43	0,74-2,48

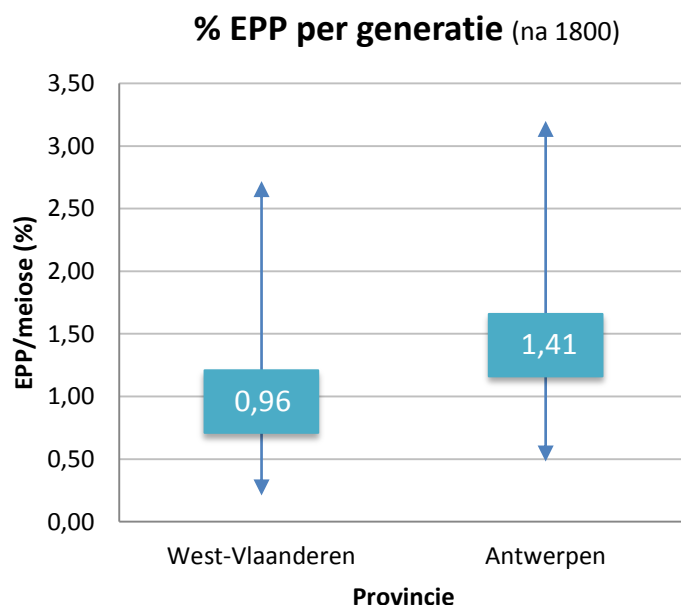


Grafiek 5.8: spatiale differentiatie in het procent EPP per generatie. De graad van buitenechtelijkheid per generatie (P(EPP/meiose)), verdeeld over de provincies West-Vlaanderen en Antwerpen.

Bij de beperking van enkel de genealogische koppels waarvan de recentste gemeenschappelijke voorvader geboren was rond het jaar 1800, werd er via de Chi-kwadraattoets opnieuw geen significant verschil vastgesteld. In tabel 5.7 wordt het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) en het procent van buitenechtelijkheid per generatie (P(EPP/meiose)) voor West-Vlaanderen en Antwerpen weergegeven. Via de Bayesiaanse statistiek werd er op basis van de “genealogische koppel”-methode een schatting gemaakt van de EPP graad per generatie (P(EPP/meiose)) van deze keer 0.96% (95% BI: 0.21-2.27%) in West-Vlaanderen en 1.41% (95% BI: 0.48-3.20%) in Antwerpen (zie grafiek 5.9). Doordat er hierbij minder koppels werden geanalyseerd, zijn er bredere 95% betrouwbaarheidsintervallen waar te nemen.

Tabel 5.7: het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) en de graad van buitenechtelijkheid per generatie (P(EPP/meiose)), tussen de koppels met maximum 12 meioses uit West-Vlaanderen en Antwerpen.

Provincie	Koppels	# EPP	# OK	% EPP	# Meioses	P(EPP/meiose)	95% BI
West-Vlaanderen	37	3	34	8,11	325	0,96	0,21-2,72
Antwerpen	42	5	37	11,90	375	1,41	0,48-3,20

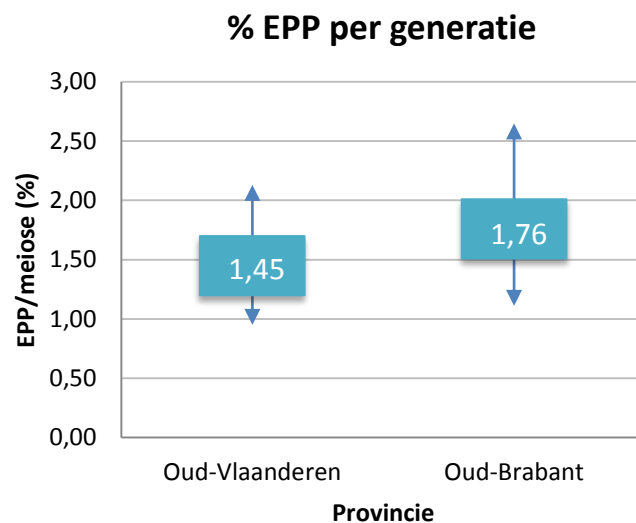


Grafiek 5.9: spatiale differentiatie in het procent EPP per generatie. De graad van buitenechtelijkheid per generatie (P(EPP/meiose)), verdeeld over de provincies West-Vlaanderen en Antwerpen met de genealogische koppels waarvan het geboortjaar van hun recentste gemeenschappelijke voorvader rond 1800 ligt.

Bij een derde spatiale analyse werden de EPP frequenties vergeleken tussen de genealogische koppels uit verschillende streken. Hierbij werden 128 genealogische koppels uit de streek Oud-Vlaanderen (West-Vlaanderen en Oost-Vlaanderen) geplaatst tegenover 106 koppels uit Oud-Brabant (Noord-Brabant en Antwerpen). In tabel 5.8 is onder andere het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) per streek weergegeven. Hierbij is al duidelijk te merken dat deze procenten heel dicht bij elkaar liggen. Via een Chi-kwadraattoest werd dan nog eens extra bevestigd dat er geen significant verschil is tussen beide streken. Via de Bayesiaanse statistiek werd er op basis van de “genealogische koppel”-methode een schatting gemaakt van de EPP graad per generatie ( $P(\text{EPP}/\text{meiose})$ ) van 1.45% (95% BI: 0.95-2.13%) voor Oud-Vlaanderen en 1.76% (95% BI: 1.11-2.65%) voor Oud-Brabant. Ook hier is de EPP graad per generatie tussen beide streken zeer gelijkaardig (zie grafiek 5.10).

Tabel 5.8: het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) en de graad van buitenechtelijkheid per generatie ( $P(\text{EPP}/\text{meiose})$ ), tussen West-Vlaanderen en Antwerpen.

Streek	Koppels	# EPP	# OK	% EPP	# Meioses	$P(\text{EPP}/\text{meiose})$	95% BI
Oud-Vlaanderen	128	23	105	17,97	1744	1,45	0,95-2,13
Oud-Brabant	106	20	86	18,87	1273	1,76	1,11-2,65



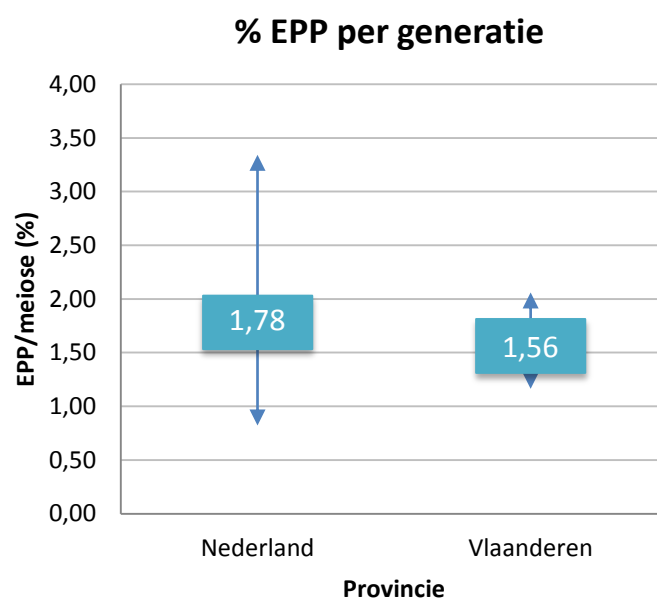
Grafiek 5.10: spatiale differentiatie in het procent EPP per generatie. De graad van buitenechtelijkheid per generatie ( $P(\text{EPP}/\text{meiose})$ ), verdeeld over de streken Oud-Vlaanderen en Oud-Brabant.

Ook bij de beperking van enkel de genealogische koppels waarvan de recenste gemeenschappelijke voorvader geboren was rond het jaar 1800, lag de waarde van het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) tussen beide streken zeer dicht bij elkaar, namelijk 14.06% voor Oud-Vlaanderen en 13,84% voor Oud-Brabant. Daarnaast werd ook via de Chi-kwadraattoets geen significant verschil tussen de EPP graad per generatie vastgesteld.

Een vierde en laatste analyse was het vergelijken van de EPP frequenties tussen de genealogische koppels uit de verschillende landen van de Lage Landen. Hierbij werden de EPP frequenties van 277 genealogische koppels uit Vlaanderen vergeleken met de EPP frequenties van 36 genealogische koppels uit Nederland. In tabel 5.9 is onder andere het procent van de koppels met buitenechtelijkheid per land weergegeven. Hierbij is te zien dat deze procenten relatief dicht bij elkaar liggen. Via een Chi-kwadraattoest werd dan nog eens extra bevestigd dat er geen significant verschil is tussen beide landen. Ook via de beperking van enkel de genealogische koppels waarvan de recentste gemeenschappelijke voorvader geboren was rond het jaar 1800, werd er geen significant verschil vastgesteld. Via de Bayesiaanse statistiek kon er op basis van de “genealogische koppel”-methode een schatting gemaakt worden van de EPP graad per generatie ( $P(\text{EPP}/\text{meiose})$ ) van 1.78% (95% BI: 0.82-3.34%) voor Nederland en 1.56% (95% BI: 1.16-2.06%) voor Vlaanderen (zie grafiek 5.11). De beperking van enkel de genealogische koppels waarvan de recentste gemeenschappelijke voorvader geboren was rond het jaar 1800, werd voor deze vergelijking niet geanalyseerd wegens een te laag aantal genealogische koppels voor Nederland.

Tabel 5.9: het procent van de koppels met buitenechtelijkheid (%EPP) en de graad van buitenechtelijkheid per generatie ( $P(\text{EPP}/\text{meiose})$ ), tussen Nederland en Vlaanderen.

Land	Koppels	# EPP	# OK	% EPP	# meioses	$P(\text{EPP}/\text{meiose})$	95% BI
Nederland	36	8	28	22,22	510	1,78	0,82-3,34
Vlaanderen	277	52	225	18,77	3478	1,56	1,16-2,06



Grafiek 5.11: spatiale differentiatie in het procent EPP per generatie. De graad van buitenechtelijkheid per generatie ( $P(\text{EPP}/\text{meiose})$ ) tussen Vlaanderen en Nederland.

---

# DISCUSSIE

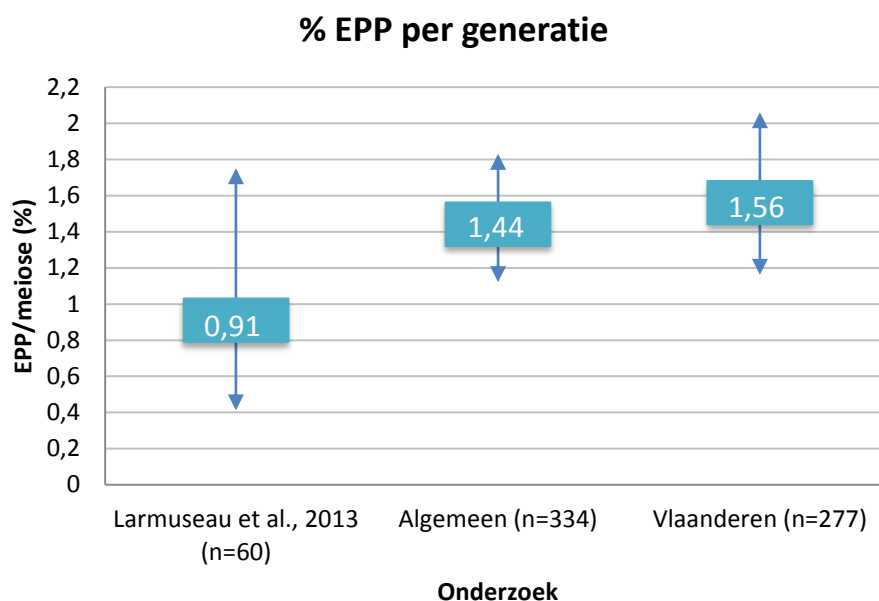
---

## 6. Discussie

Het project “De Gen-iale Stamboom” kende een groot succes van 821 kandidaten, waarvan 685 kandidaten uit België, 110 uit Nederland en 26 uit andere landen. Op basis van de Y-SNP analyse van deze 821 kandidaten werd de hoofdhaplogroepverdeling bepaald. Deze hoofdhaplogroepverdeling stemde in grote lijnen overeen met de hoofdhaplogroepverdeling van de Lage Landen (Larmuseau *et al.*, 2014; Maciamo, 2016). Hierdoor kon er met grote zekerheid worden aangenomen dat de geanalyseerde kandidaten representatief waren voor de gehele bevolking van de Lage Landen.

### 6.1 EPP frequentie per generatie

De eerste resultaten die werden vergeleken met de literatuur zijn deze van de gemiddelde EPP frequentie per generatie. Bij de studie van Larmuseau *et al.* in 2013 werd er op basis van 60 Vlaamse genealogische koppels een EPP graad per generatie geschat van 0.91% met een 95% betrouwheidsinterval van 0.41 tot 1.75%. Op basis van de “genealogische koppel”-methode werd er in “De Gen-iale Stamboom” voor de 334 geanalyseerde genealogische koppels een EPP graad per generatie van 1.44% bekomen. Bij de 277 Vlaamse genealogische koppels van “De Gen-iale Stamboom” werd er een EPP frequentie per generatie van 1.56% bekomen. Op grafiek 6.1 zijn deze EPP frequenties met hun betrouwheidsintervallen waar te nemen. Dat de EPP frequentie uit de studie van Larmuseau *et al.* in 2013 lager ligt, kan te danken zijn aan het lager aantal onderzochte genealogische koppels, waardoor ook het betrouwheidsinterval groter is.



Grafiek 6.1: de gemiddelde EPP frequenties per generatie. (links) EPP/meiose uit de studie van Larmuseau *et al.* in 2013 (n=60) (midden) EPP/meiose uit “De Gen-iale Stamboom” (n=334) (rechts) EPP/meiose uit de Vlaamse genealogische koppels van “De 58 Gen-iale stamboom” (n=277).

Door de grotere dataset met 334 genealogische koppels in dit onderzoek zijn de 95% betrouwbaarheidsintervallen aanzienlijk kleiner, waardoor er een meer accuraat resultaat werd bekomen dan in de literatuur. De hogere EPP frequenties in “De Gen-iale Stamboom” verwerpen de eerste hypothese, waar werd verondersteld dat de EPP graad per generatie dicht bij deze uit de literatuur zou liggen. Echter is het wel zo dat deze waarden nog steeds binnen het 95% betrouwbaarheidsinterval liggen uit de studie van Larmuseau *et al.* in 2013.

Om 100% zekerheid te bieden dat de EPP frequenties per generatie in “De Gen-iale Stamboom” niet overschat worden, zouden de familiestambomen met de aanwezigheid van een EPP evenement nog eens extra moeten worden nagekeken door expert genealogen. Zo kunnen vals-positieve fouten worden vermeden waar valse buitenechtelijkheid werd gedetecteerd bij genealogische koppels door een te snelle aanname van de verwantschap tussen de twee naamgenoten.

Ondanks deze hogere EPP graad van 1.56% in vergelijking met de 0.91% van Larmuseau *et al.* (2013), is deze nog steeds binnen de range van 1.7-3.3% uit de studie van Anderson (2006). Deze algemene lage graad van buitenechtelijkheid in de West-Europese maatschappij zorgt voor hoge vaderlijke zekerheid en kan een verklaring bieden voor de sterke vaderlijke zorg bij de mens (Geary, 2006). Vaderlijke zorg bij de mens is niet vanzelfsprekend, maar wel nuttig. Ze zorgt voor onder andere een verbeterde overleving en hoger reproductief succes voor de nakomelingen, en resulteert dus in een indirecte verhoging van de fitness van de vader. Met de waargenomen lage EPP graden bij de mens, wegen voor de vader de voordelen van vaderlijke zorg op tegen de risico's van het investeren in andermans nakomelingen (Moller, 2000). Naast de co-evolutie van vaderlijke zekerheid en vaderlijke zorg, kunnen de algemeen lage EPP graden en hoge vaderlijke zorg ook worden beïnvloed door verschillende andere culturele factoren, zoals de invloed van de kerk en religie of de landelijke beschavingen in Vlaanderen (Larmuseau *et al.*, 2013), zie verder.

## 6.2 Diversiteit in EPP frequenties

### 6.2.1 Temporele differentiatie in EPP frequenties

Door de temporele differentiatie analyse werd het mogelijk te achterhalen of de huidige graad van buitenechtelijkheid gelijk bleef, was gestegen of was afgenomen in vergelijking met de historische EPP graad.

De tweede hypothese veronderstelde dat de historische EPP graad net iets hoger zou liggen dan de huidige EPP graad door een gebrek aan anticonceptiemiddelen. De eerste anticonceptiemiddelen zijn ontstaan in de 16<sup>e</sup> eeuw, maar waren weinig efficiënt en dus weinig gebruikt. Een van de eerste echte voorbehoedsmiddelen was het linnen condoom ontstaan rond 1640. In de 18<sup>e</sup> eeuw werden condooms gemaakt uit de blindedarm van een lam, kalf of geit. In 1839 ontstond het elastische condoom uit natuurrubber, maar het gebruik van dit anticonceptiemiddel kende pas een grote stijging toen er tijdens de tweede wereldoorlog het nylon condoom werd uitgevonden (Skovbo, 2016). De vrouwelijke anticonceptiepil verscheen rond 1960 op de markt en kent tien jaar later al meer dan 50 miljoen gebruikers (Verhaeghe, 2010).

Ondanks de veronderstelling in hypothese twee, is in dit project geen daling van EPP frequenties waar te nemen na de opkomst van de anticonceptiemiddelen, er is in tegenstelling zelfs een lichte stijging te zien (zie grafiek 5.3). Dit kan eventueel worden verklaard door het feit dat de mens tegenwoordig door deze talloze voorbehoedsmiddelen minder schrik heeft om vreemd te gaan. In tegenstelling tot vroeger, leidt seks tegenwoordig niet altijd tot zwangerschap, waardoor mensen minder afgeremd zijn om deze misstap te begaan. Echter houden velen geen rekening met het feit dat voorbehoedsmiddelen geen 100% slaagkans bieden op bescherming. In de praktijk zijn twee op de 100 vrouwen na een jaar zwanger ondanks het correcte gebruik van het condoom (Porche, 1998).

In de derde hypothese werd verondersteld dat de gemiddelde EPP graad hoger zou liggen vóór de demografische transitie, door het aanzienlijk hoger aantal kinderen per gezin. De demografische transitie wordt gekenmerkt door de overgang van een hoog geboorte- en sterftcijfer door gebrek aan voorbehoedsmiddelen en minder goede levensomstandigheden, naar een laag geboorte- en sterftcijfer door stijgende welvaart en door betere medische kennis. Andere redenen tot het beperken van het aantal kinderen zijn de hogere kost, de betere overlevingskansen van de kinderen, de gedachte dat minder kinderen voordeliger is, de carrière als prioriteit, enzovoort (Bronso, 2014).

Ondanks de veronderstelling in hypothese drie, is in dit project geen daling van EPP frequenties waar te nemen na de demografische transitie, er is in tegenstelling zelfs een



lichte stijging te zien (zie grafiek 5.3). Dit kan worden verklaard aan de hand van de 'Life History' theorie, waarbij het aantal nakomelingen één van de belangrijkste kenmerken is voor verdere reproductieve inspanningen (Clutton-Brock, 1991). Volgens de 'Life History' theorie is het koekoeksgedrag van de vrouw afhankelijk van de trade-off tussen het risico van het verlaten van haar sociale partner, die de zekerheid van vaderlijke zorg biedt voor haar nakomelingen en het voordeel dat haar kind wordt verwekt door een man met betere genen, die een hogere overlevingskans biedt voor haar nakomelingen (Geary, 2006). Een mogelijke verklaring waarom de vrouw een iets groter risico wil nemen om haar kinderen 'goede' genen te geven, is dat er tegenwoordig minder kinderen op de wereld worden gezet per gezin. Door het minder grote nageslacht, kan het dus interessant worden voor vrouwen om naar mannen op zoek te gaan met 'aantrekkelijkere' genen.

Voor de laatste hypothese van de temporele analyse werd de algemene relatie tussen de historische EPP graad en de huidige EPP graad van de Lage Landen onderzocht. In hypothese vier werd er een lineaire relatie verwacht tussen de huidige EPP graad per generatie en de historische EPP graad per generatie (Larmuseau *et al.*, 2013). Eerst werd er gekeken naar het procent van de koppels met buitenechtelijkheid en het aantal meioses tussen de genealogische koppels. Door de genealogische koppels op basis van hun aantal meioses te ordenen en te verdelen in vier meiose-intervallen, kon er met een p-waarde van 0.044 worden geconstateerd dat er een significant verschil is in het procent van koppels met buitenechtelijkheid tussen de twee uiterste meiose-intervallen [7-9] en [>17] (zie grafiek 5.3). Hierbij kan er worden aangenomen dat de kans van buitenechtelijkheid aanzienlijk groter wordt bij genealogische koppels met een hoger aantal meioses tussen de geanalyseerde naamgenoten. Vervolgens werd via de Bayesiaanse statistiek gekeken naar de gemiddelde EPP frequenties per generatie in deze meiose-intervallen. De EPP graad per generatie in het hoogste meiose-interval [>17] werd geschat op 1.21% met een 95% betrouwbaarheidsinterval van 0.79-1.77%. De EPP graad per generatie in het laagste meiose-interval [7-9] werd geschat op 1.75% met een 95% betrouwbaarheidsinterval van 0.93-3.00% (zie tabel 5.3). Hierbij werd een lagere EPP graad per generatie vastgesteld via de Bayesiaanse statistiek. De EPP graad per generatie van het laagste meiose-interval (1.75%) ligt nog net binnen het 95% betrouwbaarheidsinterval van de EPP graad per generatie van het hoogste meiose-interval (0.79-1.77%).

Deze aanzienlijk lagere historische graad van buitenechtelijkheid zou kunnen te wijten zijn aan de invloed van de industriële revolutie. De industriële revolutie is de overgangperiode van een agrarische economie met handenarbeid naar een industriële en machinale maatschappij. Deze periode werd gekenmerkt door onder andere de betere transportmogelijkheden en de verbeterde communicatiemiddelen. Terwijl de mensen voor de industriële revolutie vaak enkel contact hadden met familie, waren mensen vanaf de

industriële revolutie veel mobieler en stonden ze nauwer in contact met anderen (Britannica Academic, 2016). Zo kan de lichte stijging van de huidige EPP graad een gevolg zijn van de opkomst van mobiliteit, waarbij de huidige populatie vrouwen met meer mannen in contact komen dan vroeger en waarbij de verleiding en het verlangen naar andere mannen wat groter wordt (Jesmin & Salway, 2000).

Een tweede oorzaak voor de hogere EPP graad bij de industriële revolutie is het feit dat heel wat mensen begonnen te migreren van het platteland naar de stad. Landbouwers hadden vaak geen werk meer op het platteland en trokken naar de stad om in fabrieken te gaan werken (Vanhaute, 2005). Globaal gezien werd er door de verhoogde transportmogelijkheden heel wat meer gemigreerd naar Vlaanderen en Nederland, waardoor de bevolkingsdichtheid aanzienlijk steeg in de Lage Landen. De oorzaken van deze bevolkingsstijging zijn voornamelijk de betere voedselvoorzieningen, de hogere hygiëne en de snelle vooruitgangen in de geneeskunde. De bevolkingsgroei van ongeveer 0.65% per jaar heeft gezorgd voor een sterke verstedelijking van het landschap. In 1800 leefde meer dan driekwart van de bevolking in dorpen kleiner dan 5000 inwoners, rond 1900 slechts de helft van de bevolking en omstreeks 1950 iets meer dan een derde van de bevolking (Vanhaute, 2005). Deze verstedelijking van de Lage Landen had ook een belangrijke invloed op de EPP graad in de loop van de tijd. Verstedelijking zorgt er onder andere voor dat vrouwen meer mogelijkheden hebben om in contact te komen met niet-verwante mannen. Het argument verstedelijking wordt verder in detail besproken bij de spatiale differentiatie analyse tussen het platteland en de stad.

Naast de hogere mobiliteit kan ook de verminderde invloed van de kerk en het geloof een gevolg hebben gehad voor de hogere huidige EPP graad. Doordat kerk en religie vroeger een grotere rol speelden in het huwelijk en gezinsleven, stonden vrouwen vroeger iets meer op hun waarden, normen en morele integriteit (King & Roberts, 2011). De religie gebruikte vroeger geloofssystemen om grenzen op seksueel gedrag te stellen, en om in het bijzonder de kuisheid te promoten. Volgens Strassmann *et al.* (2012) delen alle godsdiensten een gemeenschappelijke culturele oplossing voor het biologisch probleem over de vaderlijke onzekerheid. Een vrouw die niet aan de morele waarden kan voldoen, verliest namelijk haar kans op het huwelijk en dus haar kans op vaderlijke investering (Strassmann *et al.*, 2012). In Vlaanderen weerspiegelen de lage EPP graden de dominantie van de Rooms-Katholieke Kerk en de strikte religieuze moraal over seks en huwelijk. Deze invloeden werden sinds het einde van de 16<sup>e</sup> eeuw geïntroduceerd en worden gedomineerd tot het midden van de 20<sup>e</sup> eeuw (Larmuseau *et al.*, 2013).

## 6.2.2 Spatiale differentiatie in EPP frequenties

### Platteland versus stad

Voor de eerste spatiale differentiatie analyse van de EPP frequenties werden de Vlaamse genealogische koppels onderverdeeld in 'platteland' en 'stad' op basis van de bevolkingsdichtheid van de geboorteplaats in het jaar 1850 van diens voorvaderen. Bij de eerste vergelijking tussen de genealogische koppels uit het platteland en de stad, werd geen significant verschil gevonden tussen beide groepen (zie grafiek 5.4). Doordat de getallen van het bewonersaantal werden gebruikt uit het jaar 1850, werd er voor een tweede vergelijking enkel gebruik gemaakt van de genealogische koppels waarbij hun meest recente gemeenschappelijke voorvader geboren was rond het jaar 1800. Hierbij werd er een significant verschil waargenomen, met een p-waarde van 0.029 (zie grafiek 5.6), tussen de kleinschalige sociale samenlevingen op het platteland en de druk bezette samenlevingen van de stad. Ook bij de gemiddelde EPP graad per generatie was een hogere trend te zien in de stad (2.01%) dan op het platteland (1.34%). Hierbij is er nog net een overlapping waar te nemen tussen beide 95% betrouwheidsintervallen, zie grafiek 5.5. De gemiddelde EPP graad per generatie voor de genealogische koppels na 1800 werd niet in rekening gebracht, aangezien het lage aantal geanalyseerde meioses zorgden voor brede betrouwheidsintervallen.

Algemeen ondersteunen deze resultaten de vijfde hypothese die veronderstelde dat de EPP graad hoger zou liggen in steden dan in het platteland. Het feit dat er in het platteland minder sprake is van buitenechtelijkheid, is voor een groot deel te danken aan de grotere belangstelling voor culturele tradities, zoals de genderongelijkheid, het huwelijk en het gezinsleven. Zo spelen ook kerk en religie een zeer grote rol bij het plattelands traditionalisme, waardoor deze vrouwen meer staan op hun waarden, normen en morele integriteit (King & Roberts, 2011), en waardoor er een lagere EPP graad kan worden waargenomen, zie eerder.

Vrouwen in een stedelijke omgeving zijn ook veel mobieler dan de meer traditionele vrouwen in een landelijke omgeving die vaak de verzorgende, ondergeschikte huishoudsters zijn voor de mannelijke kostwinner. Deze genderongelijkheid wordt gezien als hun culturele traditie en komt meer voor in een landelijke omgeving (Little & Panelli, 2003). Hierdoor hebben de meer mobiele vrouwen in de stad een grotere kans om te werken naast mannen, waardoor ze veel meer mogelijkheden hebben om in contact te komen met niet-verwante mannen dan vrouwen op het platteland. Deze man-vrouw interactie kan leiden tot wantrouwen of jaloezie die op haar beurt heel wat druk kan zetten op de hechte band van het getrouwd koppel. Zo kunnen de verwachtingen van het huwelijk sterk veranderen bij vrouwen die buitenshuis werken, waarbij een andere man als meer aantrekkelijk wordt beschouwd dan haar eigen

echtgenoot (Jesmin & Salway, 2000). Door de hogere instabiliteit van het huwelijk is het dan ook niet verwonderlijk dat er in de stad een hogere EPP graad wordt verkregen.

Naast de sociale isolatie, is ook de geografische isolatie een reden voor de lagere graad van buitenechtelijkheid in het platteland, waardoor vrouwen minder snel in contact komen met andere en eventueel (genetisch) betere mannen. Deze theorie sluit dicht aan bij een van de hoofdredenen waarom heel wat diersoorten aan EPCs doen. Het is namelijk zo dat er veel meer EPCs en EPPs zullen voorkomen bij de populaties met een grote variatie aan mannelijke genetische kwaliteit, zoals in de dichtbevolkte steden, (Scelza, 2011).

De lagere EPP graad in het platteland kan ook worden verklaard aan de hand van de 'Life History' theorie, waarbij het koekoeksgedrag van de vrouw afhankelijk is van de trade-off tussen het risico van het verlaten van haar sociale partner en het voordeel dat haar kind wordt verwekt door een man met betere genen (Geary, 2006). Door de kleinschalige samenlevingen op het platteland, komen mensen vaker in contact met elkaar en is er heel wat meer sociale controle. Een mogelijke verklaring voor de lagere EPP graad op het platteland is dat het risico op betrap worden aanzienlijk groter is dan in de stad, waar meer anonimiteit wordt verzekerd. De grotere kans op het verliezen van de vaderlijke zorg voor het nageslacht, en het verliezen van de reputatie bij dorpsgenoten, kunnen ervoor zorgen dat vrouwen op het platteland minder zullen zoeken naar buitenechtelijke relaties.

In theorie is het voor de meeste vrouwen het interessantst om te trouwen met een welgestelde en rijke man die in staat is om zijn potentieel te investeren in haar kinderen (Gangestad & Simpson, 2000). Helaas is dit niet altijd haalbaar, vooral bij omgevingen waar mannen wonen met een lagere status die niet de materiële middelen hebben om een gezin te onderhouden. Een mogelijke oplossing voor de vrouw is het aangaan van relaties met meerdere mannen die tegelijk investeren gedurende hun relatie (Campbell, 2013). Deze vrouwen en hun kinderen zijn vaak gezonder dan monogame vrouwen die getrouwd zijn met mannen van een lage status (Lancaster, 1989). De hogere EPP graad in de stad kan deels verklaard worden door de zwaardere levensomstandigheden, waardoor de vrouw extra hulp kan gebruiken bij de opvoeding van haar kinderen, en door de grotere populatie mannen die eventueel kunnen investeren in haar kinderen.

Een laatste verklaring voor de lagere EPP graad in het platteland is de regionale endogamie, huwen binnen een sociaal geïsoleerde groep, en de hoge vaderlijke investering als gevolg van de patrilineale erfenis van grond en andere middelen. De hoge waarschijnlijkheid van biologische vaderschap zal ervoor zorgen dat de vader meer middelen investeert in vaderlijke zorg, aangezien het risico van investeren in andermans nakomelingen kleiner is (Larmuseau *et al.*, 2013).

## West-Vlaanderen versus Antwerpen

Bij de spatiale vergelijking tussen West-Vlaanderen en Antwerpen, werd in de zesde hypothese verwacht dat de EPP graad hoger zou liggen in de dichtbevolkte provincie Antwerpen (609 inw/km<sup>2</sup>), dan in de laagbevolkte provincie West-Vlaanderen (369 inw/km<sup>2</sup>).

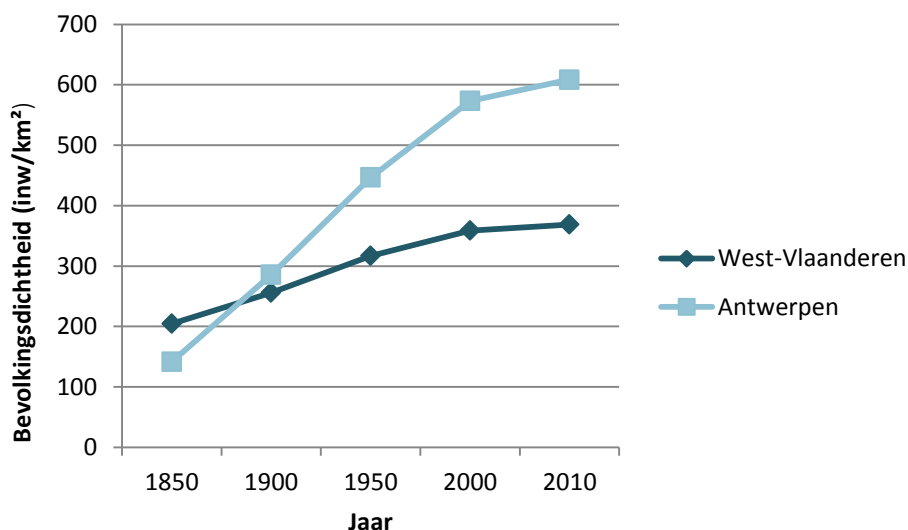
Bij de resultaten was te zien dat de procenten van koppels met buitenechtelijkheid in zowel West-Vlaanderen als Antwerpen zeer gelijkend is. Er werd dan ook geen significant verschil gevonden in het procent koppels met buitenechtelijkheid tussen beide provincies. Ook de EPP graad per generatie is tussen beide provincies gelijkaardig, namelijk 1.33% in West-Vlaanderen en 1.34% in Antwerpen (zie grafiek 5.8). Bij een tweede vergelijking tussen deze provincies werd enkel gebruik gemaakt van de genealogische koppels waarbij hun meest recente gemeenschappelijke voorvader geboren is rond het jaar 1800. Hierbij werd er een hoger procent van buitenechtelijkheid verkregen bij de genealogische koppels uit Antwerpen (11.90%), dan uit West-Vlaanderen (8.11%) (zie tabel 5.7). Hiernaast was ook de EPP graad per generatie hoger bij de genealogische koppels uit Antwerpen (1.41%) dan uit West-Vlaanderen (0.96%) (zie grafiek 5.9). Er werd echter nog steeds geen significant resultaat bekomen tussen beide provincies, maar de resultaten liggen alvast in dezelfde lijn volgens de stelling van de zesde hypothese.

Een mogelijke reden voor de afwezigheid van een significant verschil, is dat beide provincies verschillende gemeentes hebben met lage of hoge bevolkingsdichtheid. Hierdoor is West-Vlaanderen niet enkel platteland en is Antwerpen niet alleen stad. Bij het verifiëren in de dataset, werd dan ook duidelijk dat het procent geanalyseerde genealogische koppels uit het Antwerpse platteland veel groter was dan bij West-Vlaanderen (zie tabel 6.1). Doordat de ratio platteland/stad (LL/DD) bijna dubbel zo groot was in Antwerpen dan in West-Vlaanderen, kan het zijn dat hierdoor een minder scherp beeld van de EPP graad werd bekomen.

*Tabel 6.1: de geanalyseerde genealogische koppels uit West-Vlaanderen en Antwerpen verdeeld over platteland (LL) en stad (DD).*

Provincie	Koppels	LL	DL	DD	% LL	%DD	LL/DD
West-Vlaanderen	78	37	19	22	47,44	28,21	1,68
Antwerpen	71	50	4	17	70,42	23,94	2,94

Een andere mogelijke verklaring voor deze resultaten zou kunnen zijn dat de provincie Antwerpen niet altijd drukker bezet is geweest dan West-Vlaanderen (Vanhaute, 2005). Zo was West-Vlaanderen in 1850 zelfs dichter bevolkt dan Antwerpen (zie grafiek 6.2). Met deze schommelende bevolkingsdichtheid kan het moeilijk worden om een significant resultaat te bekomen bij de analyse voor spatiale differentiatie van de EPP frequenties in de provincies West-Vlaanderen en Antwerpen.



Grafiek 6.2: bevolkingsdichtheid (inw/km<sup>2</sup>) in functie van de tijd van de provincies West-Vlaanderen en Antwerpen (FGOV Economie, 2013).

De bekende uitspraak “Antwerpen is de stad en de rest is parking”, kan dus op basis van deze EPP frequenties nog niet worden bevestigd of tegengesproken.

### Oud-Vlaanderen versus Oud-Brabant

Een derde spatiale vergelijking van de EPP graad was tussen de grondgebieden van het vroegere Graafschap Vlaanderen (Oud-Vlaanderen) en het vroegere Hertogdom Brabant (Oud-Brabant). Oud-Vlaanderen ontstond rond de 9<sup>e</sup> eeuw en stond onder het gezag van een Franse koning. Oud-Brabant kende zijn oorsprong in de 12<sup>e</sup> eeuw en was een staat van een Duitse keizer. De opheffing van het graafschap en het hertogdom kwam er in het jaar 1795. Op figuur 6.1 is te zien dat het gebied van Oud-Vlaanderen gelegen was tussen de Noordzee en de Schelde en grotendeels bestond uit het huidige West- en Oost-Vlaanderen. Oud-Brabant was gelegen aan de andere zijde van de Schelde en omvatte onder andere uit het huidige Brabant en Antwerpen (Van Daele, 2005).



Figuur 6.1: het grondgebied van Oud-Vlaanderen (links) en Oud-Brabant (rechts) worden gescheiden van elkaar door de Schelde (blauw). Afbeelding gebaseerd op het boek “De bosatlas van Nederland” (Wolters-Noordhoff, 2007).

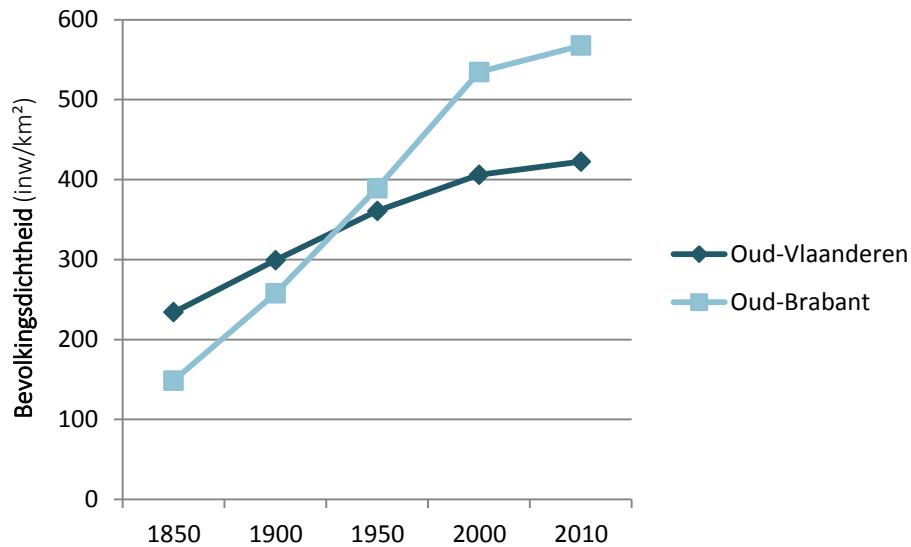
Op basis van de huidige hoge bevolkingsdichtheid van het grondgebied van Oud-Brabant (567 inw/km<sup>2</sup>) en de lagere bevolkingsdichtheid van Oud-Vlaanderen (422 inw/km<sup>2</sup>), en hun fysieke scheiding door de Schelde, werd er in hypothese zeven verondersteld dat er een hogere EPP frequentie zou zijn in Oud-Brabant. Bij de resultaten is te zien dat de procenten van de koppels met buitenechtelijkheid in zowel het gebied van Oud-Vlaanderen als van Oud-Brabant zeer gelijkend zijn. Er werd dan ook geen significant verschil in het procent koppels met buitenechtelijkheid tussen beide streken gevonden. Ook de EPP graad per generatie is tussen beide streken zeer gelijkaardig, namelijk 1.45% in Oud-Vlaanderen en 1.76% in Oud-Brabant (zie grafiek 5.10) .

Ook bij deze analyse is een mogelijke reden voor de afwezigheid van een significant verschil, dat beide streken verschillende gemeentes hebben met lage of hoge bevolkingsdichtheid. Hierdoor is het grondgebied van Oud-Vlaanderen niet enkel platteland en is Oud-Brabant niet alleen stad. Bij het verifiëren in de dataset, werd dan ook duidelijk dat er een hoger procent geanalyseerde genealogische koppels uit het Oud-Brabants platteland kwam dan uit Oud-Vlaanderen (zie tabel 6.2). Doordat de ratio platteland/stad (LL/DD) bijna dubbel zo groot was bij het grondgebied van Oud-Brabant dan bij Oud-Vlaanderen, kan het zijn dat hierdoor een minder duidelijk beeld van de EPP graad werd bekomen.

*Tabel 6.2: de geanalyseerde genealogische koppels uit Oud-Vlaanderen en Oud-Brabant verdeeld over platteland (LL) en stad (DD).*

Streek	Koppels	LL	DL	DD	% LL	%DD	LL/DD
Oud-Vlaanderen	128	60	34	34	46,88	26,56	1,76
Oud-Brabant	106	74	8	24	69,81	22,64	3,08

Een andere mogelijke verklaring voor deze resultaten, zou ook hier kunnen zijn dat het grondgebied van het vroegere Oud-Brabant niet altijd drukker bezet is geweest dan Oud-Vlaanderen (FGOV Economie, 2013). Zo was het grondgebied van het vroegere Oud-Vlaanderen in 1850 zelfs dichter bevolkt dan het vroegere Oud-Brabant (zie grafiek 6.3). Met deze schommelende bevolkingsdichtheid kan het moeilijk worden om een eenduidig resultaat te bekomen bij de analyse voor spatiale differentiatie van de EPP frequenties in de grondgebieden van het Graafschap Vlaanderen en het Hertogdom Brabant.



Grafiek 6.3: bevolkingsdichtheid (inw/km<sup>2</sup>) in functie van de tijd van de grondgebieden van het vroegere Graafschap Vlaanderen en het Hertogdom Brabant (FGOV Economie, 2013).

### Nederland versus Vlaanderen

Tenslotte werd er voor de spatiale vergelijking van de EPP graad tussen Nederland en Vlaanderen in de achtste en laatste hypothese een hogere EPP graad verwacht in Vlaanderen. Dit voornamelijk omdat de bevolkingsdichtheid van Vlaanderen (439 inw/km<sup>2</sup>) heel wat hoger is dan deze van Nederland (385 inw/km<sup>2</sup>). Hierdoor werd er in hypothese acht verondersteld dat er een hogere EPP graad zou zijn in Vlaanderen. Desondanks de grote interesse van de noorderburen voor het project “De Gen-iale Stamboom”, waren er slechts 35 Nederlandse genealogische koppels bruikbaar voor verdere analyse. Door dit relatief lage aantal genealogische koppels werd er een heel breed 95% betrouwbaarheidsinterval bekomen voor de EPP graad per generatie van Nederland (0.82-3.34%) en kon er bijgevolg geen significant verschil worden gevonden tussen de EPP graad in Vlaanderen en Nederland (zie grafiek 5.11). Een grotere dataset met Nederlandse genealogische koppels zou helpen om meer correcte conclusies te kunnen trekken.



## 6.3 Beperkingen van het onderzoek

Het succes van het project “De Gen-iale Stamboom” was tevens de grootste beperking van dit genetisch-genealogische verwantschapsonderzoek. Vanwege de interesse van meer dan 1000 potentiële kandidaten, moest er heel wat tijd geïnvesteerd worden in het beantwoorden van e-mails en het opmaken van familiestambomen. Door tijdsgebrek werd het dan ook niet mogelijk om het volledige 46 Y-STR profiel van alle kandidaten op te stellen. Hierdoor was het niet haalbaar om alle genealogische koppels op te nemen in deze thesis. De 334 gebruikte genealogische koppels voor de resultatenanalyse werden geanalyseerd tot op een niveau waarbij 100% zekerheid van de aanwezigheid of afwezigheid van hun verwantschap kon worden verkregen.

Een tweede beperking van het onderzoek was het relatief lage aantal bruikbare Nederlandse genealogische koppels, waardoor er geen vergelijking kon gemaakt worden tussen Vlaanderen en Nederland. Deze studie kon helaas ook niet meer aandacht besteden aan het evenwicht tussen de regio's van de genealogische koppels, waardoor er bijvoorbeeld evenveel genealogische koppels uit het Antwerps platteland als uit Antwerpse steden zouden zijn.

Tenslotte ging het controleren van de accuraatheid van de familiestambomen, die werden ingezonden door (amateur) genealogen, voorbij aan het doel van deze studie. Hierbij zouden de familiestambomen met de aanwezigheid van een EPP evenement nog eens extra moeten worden nagekeken door expert genealogen, zodat er zeker geen valse buitenechtelijkheid werd vastgesteld door een te snelle aanname van de verwantschap tussen twee naamgenoten. Een mogelijke oplossing om deze vals-positieve fouten eruit te halen, is door de stambomen van alle genealogische koppels met buitenechtelijkheid opnieuw te laten opstellen door expert genealogen. Hierbij zouden de experten de noodzakelijke gegevens krijgen van de grootvaders van de kandidaten, waarbij ze de vaderlijke lijn verder kunnen zetten tot rond het jaar 1700, zonder dat ze op de hoogte zijn van hun verwantschap. Zo zullen de vals-positieve fouten worden vermeden, waar valse buitenechtelijkheid werd gedetecteerd bij genealogische koppels door een te snelle aanname van de verwantschap tussen de twee naamgenoten.

## 7. Algemeen besluit en toekomstperspectieven

Algemeen kan er aan de hand van de hoofdhaplogroepverdeling worden geconcludeerd dat de kandidaten van “De Gen-iale Stamboom” representatief waren voor de Westerse bevolkingsgroep van de Lage Landen.

Een eerste onderzoeksvraag van dit genetisch-genealogisch verwantschapsonderzoek ging over de algemene EPP graad per generatie. Uit de resultaten van dit onderzoek is gebleken dat de algemene EPP graad per generatie in de Lage Landen kan worden beschouwd als 1.44%. Bij de vergelijking van de Vlaamse EPP graad met deze van Larmuseau *et al.* (2013), werd er een hogere EPP graad per generatie verkregen van 1.56% met een aanzienlijk kleiner 95% betrouwbaarheidsinterval, dit voornamelijk door het groter aantal geanalyseerde genealogische koppels. Deze gemiddelde EPP frequenties liggen nog steeds binnen de waarden uit de studie van Anderson (2016) voor de Westerse bevolking.

In het tweede deel van dit onderzoek werd er gezocht naar subtiele verschillen in EPP frequenties in tijd en ruimte. Bij de onderzoeksvraag naar de temporele differentiatie werd een lichte stijging gevonden bij de huidige EPP graad in vergelijking met de historische EPP graad. Deze hogere huidige EPP graad kan een gevolg zijn van de opkomst van mobiliteit na de industriële revolutie of de verstedelijking door de bevolkingsgroei. Hierbij komen vrouwen met meer mannen in contact dan vroeger. Deze man-vrouw interactie kan leiden tot wantrouwen of jaloezie die op haar beurt kan zorgen voor instabiliteit in het huwelijk. Bij de onderzoeksvraag naar de spatiale differentiatie werd gevonden dat de bevolkingsdichtheid de EPP graad zeker kan beïnvloeden. Er werd een significant lagere EPP graad gevonden bij genealogische koppels uit een landelijke omgeving, hierbij kan onder andere de hogere invloed van de kerk of de sociale controle en lage anonimiteit een verklaring bieden. Uit dit onderzoek kan worden geconcludeerd dat verstedelijking zowel in tijd en ruimte een invloed heeft gehad op de graad van buitenechtelijkheid.

Bij de kleinschalige samenlevingen op het platteland werd geen verschil in EPP gedrag gevonden in de loop van de geschiedenis. Een toekomstige studie met meer genealogische koppels uit het platteland kan uitwijzen of er temporele differentiatie aanwezig is in deze landelijke populaties. Een ander mogelijk onderzoeksluik omvat de invloed van socio-economische factoren of van de levensovertuigingen en de religie op de EPP graad.

Als laatste kunnen de bekomen Y-STR profielen van de geanalyseerde genealogische koppels antwoorden bieden aan verder onderzoek naar identificatie via genealogie voor forensisch-genetische doeleinden. Hierbij kan verder onderzoek naar de mutatiesnelheden tussen naamgenoten die weinig of veel meioses van elkaar zijn verwijderd, heel nuttig blijken.

# Referenties

- Abrams, P. A. (1991). Life history and the relationship between food availability and foraging effort. *Ecology*.
- Anderson, K. G. (2006). How well does paternity confidence match actual paternity? Evidence from worldwide nonpaternity rates. *Current Anthropology*, 47(3), 513–520.
- Athey, T. W. (2006). Haplogroup Prediction from Y-STR Values Using a Bayesian-Allele-Frequency Approach. *Journal of Genetic Genealogy*, 2, 34–39.
- Avise, J. C., Jones, A. G., Walker, D., Kvarnemo, C., & Lindstro, K. (2001). How cuckoldry can decrease the opportunity for sexual selection: Data and theory from a genetic parentage analysis of the sand goby, *Pomatoschistus minutus*, 98(16), 9151–9156.
- Ballantyne, K. N., Goedbloed, M., Fang, R., Schaap, O., Lao, O., Wollstein, A., Kayser, M. (2010). Mutability of Y-chromosomal microsatellites: rates, characteristics, molecular bases, and forensic implications. *American Journal of Human Genetics*, 87(3), 341–353.
- Ballantyne, K. N., Keerl, V., Wollstein, A., Choi, Y., Zuniga, S. B., Ralf, A., Kayser, M. (2012). A new future of forensic Y-chromosome analysis: Rapidly mutating Y-STRs for differentiating male relatives and paternal lineages. *Forensic Science International: Genetics*, 6(2), 208–218.
- Ballantyne, K. N., Ralf, A., Aboukhalid, R., Achakzai, N. M., Anjos, M. J., Ayub, Q., Kayser, M. (2014). Toward Male Individualization with Rapidly Mutating Y-Chromosomal Short Tandem Repeats.
- Bellevue, O. (2014). Göbekli Tepe and the Mystery of History. Retrieved from <http://mememerchant.blogspot.be/2014/01/gobekli-tepe-and-mystery-of-history.html>
- Birkhead, T. R. (1998a). Sperm competition in birds, 123–129.
- Birkhead, T. R., & Moller, A. P. (1998b). Sperm Competition and Sexual Selection. *Academic Press*. New York.
- Boattini, A., Sarno, S., Pedrini, P., Medoro, C., Carta, M., Tucci, S., Pettener, D. (2015). Traces of medieval migrations in a socially stratified population from Northern Italy. Evidence from uniparental markers and deep-rooted pedigrees. *Heredity*, 114(2), 155–162.
- Britannica Academic. (2016). Industrial Revolution. *Encyclopaedia Britannica*.
- Bronso. (2014). Demografische transitie in de 19e en 20e eeuw.
- Buss, D. M., Larsen, R. J., Westen, D., & Semmelroth, J. (1992). Sex Differences in Jealousy: Evolution, Physiology, and Psychology. *Psychological Science*, 3(4), 251–255.
- Butler, J. M., Hill, C. R., & Coble, M. D. (2012). Variability of New STR Loci and Kits in US Population Groups.
- Campbell, A. (2013). A mind of her own: The evolutionary psychology of women (2nd ed.). *A Mind of Her Own: The Evolutionary Psychology of Women (2nd Ed.)*.
- Chisholm, J. S., Ellison, P. T., Evans, J., Lee, P. C., Lieberman, L. S., Pavlik, Z., Worthman, C. M. (1993). Death, Hope, and Sex: Life-History Theory and the Development of Reproductive Strategies [and Comments and Reply]. *Current Anthropology*, 34.
- Clark, A. G. (2014). The vital Y chromosome, 6–8.

- Clutton-Brock T. H. (1991). The Evolution of Parental Care. *Journal of Evolutionary Biology* (Vol. 5). Princeton University Press.
- Clutton-Brock, T. H., & Parker, G. A. (1995). Sexual coercion in animal societies. *Animal Behaviour*, 49(5), 1345–1365.
- Dongascience. (n.d.). Science. [http://www.dongascience.com/special/lists/001\\_017/special/?&pg=8](http://www.dongascience.com/special/lists/001_017/special/?&pg=8)
- Essock-Vitale, S. M., & McGuire, M. T. (1985). Women's lives viewed from an evolutionary perspective. I. sexual histories, reproductive success, and demographic characteristics of a random sample of american women. *Ethology and Sociobiology*, 6(3), 137–154.
- Feuk, L., MacDonald, J. R., Tang, T., Carson, A. R., Li, M., Rao, G., Scherer, S. W. (2005). Discovery of human inversion polymorphisms by comparative analysis of human and chimpanzee DNA sequence assemblies. *PLoS Genetics*, 1(4), 489–498.
- FGOV Economie. (2013). Bevolking en bevolkingsdichtheid per gemeente.
- Gangestad, S. W. W., & Simpson, J. A. A. (2000). The evolution of human mating: trade-offs and strategic pluralism. *The Behavioral and Brain Sciences*, 23(4), 573–587; discussion 587–644.
- Geary, D. C. (2006). Coevolution of paternal investment and cuckoldry in humans. In *Female Infidelity and Paternal Uncertainty* (pp. 14–34).
- Glass, S. P., & Wright, T. L. (1992). Justifications for extramarital relationships: The association between attitudes, behaviors, and gender. *Journal of Sex Research*, 29(3), 361–387.
- Goetz, A. T., & Shackelford, T. K. (2009). Sexual conflict in humans: Evolutionary consequences of asymmetric parental investment and paternity uncertainty. *Animal Biology*, 59(4), 449–456.
- Greeff, J. M., & Erasmus, J. C. (2015). Three hundred years of low non-paternity in a human population. *Heredity*, 115(5), 396–404.
- Greiling, H., & Buss, D. M. (2000). Women's sexual strategies: the hidden dimension of extra- pair mating (Vol. 28).
- Griffith, S. C. (2007). The evolution of infidelity in socially monogamous passerines: neglected components of direct and indirect selection. *American Naturalist*, 169(2), 274–281.
- Harcourt, A., Purvis, A., & Liles. (1995). Sperm competition: mating system, not breeding season, affects testes size of primates. *Functional Ecology*, 9(3), 468–476.
- Henke, L., Fimmers, R., Josephi, E., Cleef, S., Dülmer, M., & Henke, J. (1999). Usefulness of conventional blood groups, DNA-minisatellites, and short tandem repeat polymorphisms in paternity testing: a comparison. *Forensic Science International*, 103(2), 133–142.
- Jacobs, M., Janssen, L., Vanderheyden, N., Bekaert, B., Voorde, W. Van De, & Decorte, R. (2009). Forensic Science International: Genetics Supplement Series Development and evaluation of multiplex Y-STR assays for application in molecular genealogy, 2, 57–59.
- Jennions, M. D., & Petrie, M. (2000). Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 75(1), 21–64.
- Jesmin, S., & Salway, S. (2000). Marriage among the urban poor of Dhaka: Instability and uncertainty. *Journal of International Development*, 12(5), 689–705.
- Jobling, M. A. (2001). In the name of the father : surnames and genetics, 17(6), 353–357.
- Jobling, M. A., & Tyler-Smith, C. (1995). Fathers and Sons: the Y chromosome and human evolution,

11, 449–456.

- Jobling, M. A., Pandya, A., & Tyler-Smith, C. (1997). The Y chromosome in forensic analysis and paternity testing. *International Journal of Legal Medicine*.
- Jobling, M. A., & Tyler-Smith, C. (2003). The human y chromosome : an evolutionary marker comes of age, *4*(August), 598–612.
- Karafet, T. M., Mendez, F. L., Meilerman, M. B., Underhill, P. A., Zegura, S. L., & Hammer, M. F. (2008). New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree, 830–838.
- King, T. E., & Jobling, M. A. (2009). What's in a name? Y chromosomes, surnames and the genetic genealogy revolution, 351–360.
- King, L. L., & Roberts, J. J. (2011). Traditional Gender Role and Rape Myth Acceptance: From the Countryside to the Big City. *Women & Criminal Justice*, *21*, 1–20.
- Krawczak, M., Böhm, I., Nürnberg, P., Hampe, J., Hundrieser, J., Pöche, H., Schmidtke, J. (1993). Paternity testing with oligonucleotide multilocus probe (CAC)5/(GTG)5: A multicenter study. *Forensic Science International*, *59*(2), 101–117.
- Lancaster, J. B. (1989). Evolutionary and cross-cultural perspectives on single-parenthood. Texas Tech University Press.
- Larmuseau, M. H. D., Ottoni, C., Raeymaekers, J. A. M., Vanderheyden, N., Larmuseau, H. F. M., & Decorte, R. (2011). Temporal differentiation across a West-European Y-chromosomal cline: genealogy as a tool in human population genetics, *20*(4), 434–440.
- Larmuseau, M. H. D., Vanoverbeke, J., Geystelen, A. Van, Defraene, G., Vanderheyden, N., Matthys, K., Defraene, G. (2013). Low historical rates of cuckoldry in a Western European human population traced by Y-chromosome and genealogical data Low historical rates of cuckoldry in a Western European human population traced by Y-chromosome and genealogical data.
- Larmuseau, M. H. D., Vanderheyden, N., Van Geystelen, A., Van Oven, M., Kayser, M., & Decorte, R. (2014). Increasing phylogenetic resolution still informative for y chromosomal studies on West-European populations. *Forensic Science International: Genetics*, *9*(1), 179–185.
- Larmuseau, M. H. D., Matthijs K., & Wenseleers T. (2015). Cuckolded fathers also rare in past Western society.
- Liedtke, J., & Fromhage, L. (2012). When should cuckolded males care for extra-pair offspring?, 2877–2882.
- Lima, S. L., & Dill, L. M. (1990). Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology*, *68*(4), 619–640.
- Little, J., & Panelli, R. (2003). Gender Research in Rural Geography. *Gender, Place and Culture*, *10*(3), 281–289.
- Maciamo. (2016). Eupedia.
- Mazzun Tar Ramel - Sand Goby. (n.d.). <http://renotonna.yolasite.com/mazzun-tar-ramel.php>
- McDonald, J. D. (2005). Y Haplogroups of the World.
- McLain, D. K. (1998). Non-genetic benefits of mate choice: fecundity enhancement and sexy sons. *Animal Behaviour*, *55*(5), 1191–1201.

- Miko, B. I., Write, P. D., Right, S., & Education, N. (2010). Gregor Mendel and the Principles of Inheritance Gregor Mendel ' s principles of inheritance form the cornerstone of modern genetics. So just. *Science*, 1, 1–6.
- Mitchell, R. J. (1996). Human evolution and the Y chromosome, 737–742.
- Moller, A. P. (1997). Immune defence, extra-pair paternity, and sexual selection in birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 264, 561–566.
- Moller, A. P. (2000). Male parental care, female reproductive success, and extrapair paternity. *Behavioral Ecology*, 11(2), 161–168.
- Neff, B. D., & Clare, E. L. (2008). Temporal variation in cuckoldry and paternity in two sunfish species (*Lepomis* spp.) with alternative reproductive tactics. *Canadian Journal of Zoology*, 86(2), 92–98.
- NIJ. (2012). Forensic DNA: Y-chromosome.
- Pagel, M. D. (2012). Wired for culture: origins of the human social mind.
- Petrie, M., & Lipsitch, M. (1994). Avian Polygyny is Most Likely in Populations with High Variability in Heritable Male Fitness. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 256(1347).
- Porche, D. J. (1998). Condom effectiveness. *Journal of the Association of Nurses in AIDS Care*, 9(3), 91–94.
- Primrose, S. B., & Twyman, R. M. (2006). Principles of Gene Manipulation and Genomics. *ncbinlmnihgov*.
- Purps, J., Siegert, S., Willuweit, S., Nagy, M., Alves, C., Salazar, R., Tillmar cf, A. (2014). A global analysis of Y-chromosomal haplotype diversity for 23 STR loci. *Forensic Science International: Genetics*, 12, 12–23.
- Quintana-murci, L., & Fellous, M. (2001). The human Y chromosome: the biological role of a “functional wasteland” 1, 18–24.
- Rapone, C., D’Atanasio, E., Agostino, A., Mariano, M., Papaluca, M. T., Cruciani, F., & Berti, A. (2016). Forensic genetic value of a 27 Y-STR loci multiplex (Yfiler® Plus kit) in an Italian population sample. *Forensic Science International: Genetics*.
- Reid, J. M., Arcese, P., Sardell, R. J., & Keller, L. F. (2011). Additive genetic variance, heritability, and inbreeding depression in male extra-pair reproductive success. *The American Naturalist*, 177(2), 177–187.
- Reyes-centeno, H., Hubbe, M., Hanihara, T., Stringer, C., & Harvati, K. (2015). Testing modern human out-of-Africa dispersal models and implications for modern human origins. *Journal of Human Evolution*, 87, 95–106.
- Rozen, S., Skaletsky, H., Marszalek, J. D., Minx, P. J., Cordum, H. S., Waterston, R. H., ... Page, D. C. (2003). Abundant gene conversion between arms of palindromes in human and ape Y chromosomes. *Nature*, 423(6942), 873–876.
- Sasse, G., Müller, H., Chakraborty, R., & Ott, J. (1994). Estimating the frequency of nonpaternity in Switzerland. *Human Heredity*, 44(6), 337–343.
- Scelza, B. A. (2011). Female choice and extra- pair paternity in a traditional human population, 889–891.
- Shackelford, T. K., Goetz, A. T., Guta, F. E., & Schmitt, D. P. (2006). Mate guarding and frequent in-

- pair copulation in humans: Concurrent or compensatory anti-cuckoldry tactics? *Human Nature*, 17(3), 239–252.
- Simmons, L. W., Firman, R. C., Rhodes, G., & Peters, M. (2004). Human sperm competition: Testis size, sperm production and rates of extrapair copulations. *Animal Behaviour*.
- Skaletsky, H., Kuroda-Kawaguchi, T., Minx, P. J., Cordum, H. S., Hillier, L., Brown, L. G., Page, D. C. (2003). The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature*, 423, 825–837.
- Skovbo, M. (2016). Geschiedenis van het condoom: van darmen tot steppegras. *Wetenschap in Beeld*.
- Smuts, B. B., & Smuts R.W. (1993). Male aggression and sexual coercion of females in nonhuman primates and other mammals: evidence and theoretical implications.
- Smuts, B. B. (1985). *Sex and friendship in baboons*. Aldine Pub. Co.
- Solé-Morata, N., Bertranpetit, J., Comas, D., & Calafell, F. (2015). Y-chromosome diversity in Catalan surname samples: insights into surname origin and frequency. *European Journal of Human Genetics*, 23(11), 1549–1557.
- Strassmann, B. I., Kurapati, N. T., Hug, B. F., Burke, E. E., Gillespie, B. W., Karafet, T. M., & Hammer, M. F. (2012). Religion as a means to assure paternity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(25), 9781–9785.
- Stutchbury, B. J. . (1998). Extra-pair mating effort of male hooded warblers, *Wilsonia citrina*. *Animal Behaviour*, 55(3), 553–561.
- Trivers, R. L., & Campbell, B. (2010). SEXUAL SELECTION AND THE DESCENT OF MAN 1871-1971 Parental Investment and Sexual Selection, 136–179.
- Tucker. (n.d.). Chapter 7 - Sexual differentiation. Wayne State University. <https://www.studyblue.com/notes/n/chapter-7/deck/8167638>
- Underhill, P. A., Shen, P., Lin, A. A., Jin, L., Passarino, G., Yang, W. H., Oefner, P. J. (2000). Y chromosome sequence variation and the history of human populations, 26, 358–361.
- Van Daele, H. (2005). Een geschiedenis van Vlaanderen. Lannoo.
- Vanhaute, E. (2005). Paradoxen van pedagogisering : handboek pedagogische historiografie. Acco.
- Verhaeghe, J. (2010). De pil is vijftig. *Karakter | Tijdschrift van Wetenschap*.
- Vetsci. (2011). The Costs & Benefits of Extra Pair Copulations. *Vetsci | Science & Learning*.
- Voracek, M., Haubner, T., & Fisher, M. L. (2008). Recent decline in nonpaternity rates: a cross-temporal meta-analysis. *Psychological Reports*, 103(3), 799–811.
- Watson, P. J., Arnqvist, G., & Stallmann, R. R. (1998). Sexual conflict and the energetic costs of mating and mate choice in water striders. *The American Naturalist*, 151(1), 46–58.
- Wolf, M., Musch, J., Enczmann, J., & Fischer, J. (2012). Estimating the Prevalence of Nonpaternity in Germany. *Human Nature*, 23(2), 208–217.
- Wolters-Noordhoff. (2007). De Bosatlas van Nederland. Groningen.

# Addendum

## Addendum A1: risicoanalyse

De L1 laboratorium accreditatie van het laboratorium voor Forensische Genetica en Moleculaire Archeologie wijst op de minimale milieu- of gezondheidsrisico's die verbonden zijn met de aanwezige agentia. Sinds 2003 is de forensische dienstverlening geaccrediteerd door BELAC, volgens de internationale ISO 17025 norm. Het laboratorium werd officieel erkend sinds begin 2004, voor het uitvoeren van forensische analyses van DNA in strafzaken door de Belgische Minister van Justitie. Er werden enkele voorzorgen genomen om bepaalde risico's te reduceren. Deze voorzorgen liggen in de lijn van de Good Laboratory Practice, in het kader van Veiligheid, Gezondheid en Milieu (VGM) van de KU Leuven.

Er werden steeds handschoenen en een labojas gedragen bij binnenkomst in het laboratorium. Bij het voorbereiden van de stalen voor de PCR werd er constant onder een laminaire flowkast gewerkt om de risico's voor de laborant aanzienlijk te reduceren. Deze flowkast werd zowel voor als na het gebruik met DNase en RNase mengsel gereinigd. Bij het verlaten van de werkplaats, werden de laminaire flowkasten gesloten en onder UV-licht steriel gehouden. De laboranten vermeden ten alle tijde het contact met UV-licht op de ogen of de huid. Bij de extractie van het DNA werd een mondmaskertje, een labojas en handschoenen gedragen.

De veiligheid voor de laboranten die werken met verschillende producten, kon worden teruggevonden op de Material Safety Data Sheets van de agentia. De gebruikte agentia met een mogelijks milieu- of gezondheidsrisico zijn hieronder te vinden.

- **Qiagen Multiplex PCR MasterMix 2x**
  - 1,2,4-TRIAZOOL
    - Hazard: H361d, H302, H319
    - Precaution: P201, P202, P280, P281, P264, P308 + P313, P305 + P351 + P338, P337 + P313, P405, P501
    - Risicoklasse: E3 (Gevaarlijk)
  - TROMETAMOL
    - Hazard: H319, H335, H315
    - Precaution: P264, P271, P280, P312, P321, P302 + P352, P304 + P340, P305 + P351 + P338, P332 + P313, P337 + P313, P405, P403 + P233, P501
    - Risicoklasse: E1 (Weinig gevaarlijk)



- **Hi-Di™ Formamide (Applied Biosystems)**
  - Hazard: H360, H351, H373
  - Precaution: P308 + P313, P202, P260, P201, P281, P314
- **XTerminator™ Solution (Applied Biosystems)**
  - Hazard: H315, H319, H335
  - Precaution: P304 + P340, P305 + P351 + P338, P312, P332 + P313, P337 + P313, P362
- **SAM™ Solution (Applied Biosystems)**
  - Hazard: H315, H319
  - Precaution: P264, P280, P305 + P351 + P338, P332 + P313, P337 + P313, P362
- **ExoSAP-IT® (Affymetrix)**
  - Hazard: H316, H320
  - Precaution: P264, P305 + P351 + P338
- **Shrimp Alkaline Phosphatase of SAP (Affymetrix)**
  - Hazard: H316, H320
  - Precaution: P264, P305 + P351 + P338

Volgende producten houden geen milieu- of gezondheidsrisico's in:

- SNaPshot® mix (Applied Biosystems)
- GeneScan™ 500 LIZ™ dye Size Standard
- GeneScan™ 120 LIZ™ dye Size Standard

# Wat het Y-chromosoom ons leert

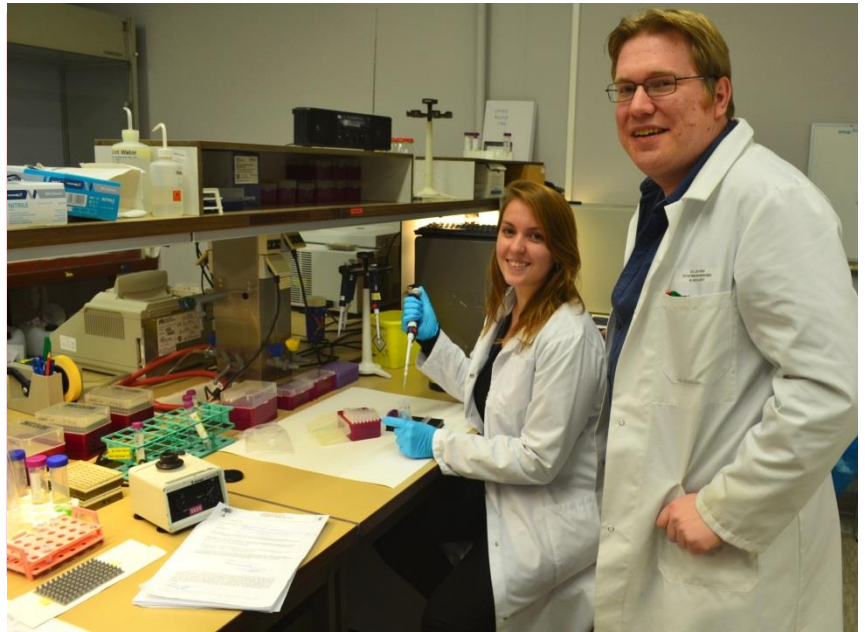
Maarten LARMUSEAU heeft een passie voor genetica en stambomen

## Christof BOUWERAERTS

Onlangs was hij nog een van de vijf laureaten voor de prestigieuze prijs Eos Pipet, waarmee het wetenschapsmagazine *Eos* de meest beloftevolle jonge onderzoeker van het jaar 2015 bekroonde. „Een grote eer en blijk van erkenning”, zegt Maarten Larmuseau. „Aan wetenschap doe je echter niet in je eentje. Ik maak deel uit van een team van toegewijde collega's, studenten en vrijwilligers.”

De 32-jarige Maarten Larmuseau uit het Oost-Vlaamse Zandbergen is bioloog en als postdoctoraal onderzoeker verbonden aan de KU Leuven. Daar doet hij genetisch genealogisch onderzoek. „Dat wil zeggen dat ik genetisch onderzoek combineer met familiegeschiedenis”, verduidelijkt hij. „Heel wat mensen zijn geboeid door hun afkomst. In iedere familie heb je wel iemand die de stamboom uitpluist. Vanaf ongeveer 1400 ontstonden familienamen en omstreeks 1600 voerde de Kerk parochieregisters in. Je kunt dus behoorlijk wat informatie over je verre voorouders vinden.”

Aan die stambomen koppelt Maarten Larmuseau informatie over het DNA. „Dat levert heel wat nieuwe mogelijkheden op voor het stamboomonderzoek”, zegt hij „Zo kunnen we nagaan of mensen met dezelfde familienaam daadwerkelijk verwant zijn. Ook andere disciplines hebben er baat bij. Ik werkte al samen met geschiedkundigen en archeologen. Zo onderzocht ik



enkele jaren geleden demografische verschuivingen in Vlaanderen en ging na of de stoffelijke resten van de Engelse koning Richard III wel authentiek zijn.”

## Gen-iale stambomen

De nieuwe inzichten die Maarten Larmuseau door zijn onderzoek opdoet over het menselijke genoom spelen ook een rol in de opheldering van misdaden. „Dat vind ik belangrijk”, zegt hij. „Het is bemoedigend te zien dat dankzij een bijdrage van ons na jaren eindelijk wordt uitgeklaard wie de dader is, zodat de slachtoffers weer rust vinden.”

Samen met masterstudente Sofie Claerhout lanceerde Larmuseau dit jaar een nieuw project: *De gen-iale stamboom*. „We vergelijken het mannelijke Y-chromosoom van genealogische

koppels”, legt hij uit. „Dat zijn mannen met dezelfde familienaam die vermoeden dat ze verwant zijn in vaderlijke lijn. De kandidaten moeten minstens zeven generaties verschillen. We hopen meer inzichten te verwerven in de graad van buitenechtelijke kinderen, maar ook in welke verschillen er genetisch bestaan tussen verre verwanten en hoe snel die opduiken.”

Wilt u een bijdrage leveren aan het project *De gen-iale stamboom*? Stuur vóór 29 februari 2016 naam en geboortegegevens van uw (over)grootvader in vaderlijke lijn, uw eigen contactgegevens en die van uw (mogelijk) verwante naamgenoot naar Maarten Larmuseau via [maarten.larmuseau@bio.kuleuven.be](mailto:maarten.larmuseau@bio.kuleuven.be) of Charles Deberiotstraat 32, box 2439, 3000 Leuven.

## Addendum A3: brieven bij DNA-kits

De uitnodigingsbrief, het 'informed consent', de handleiding voor DNA afname en het uitgebreid informatie formulier over "De Gen-iale Stamboom"



**KU LEUVEN**

DR. MAARTEN LARMUSEAU  
FORENSISCHE BIOMEDISCHE WETENSCHAPPEN  
KAPUCIJENVOER 33  
3000 LEUVEN, BELGIË



**xx**

**xx**

**xx**

Leuven, **dd mm yyyy**

**Betreft:** De **DNA-kit** voor uw deelname aan het wetenschappelijk project 'De Gen-iale Stamboom'.

Geachte,

U ontvangt deze brief omdat u zich kandidaat heeft gesteld deel te nemen aan het wetenschappelijk project 'De Gen-iale Stamboom', georganiseerd door de KU Leuven in samenwerking met Familiekunde Vlaanderen. Bij deze brief vindt u alle nodige informatie en documenten, alsook een DNA-kit om een wangslimvliesstaal af te nemen dat u samen met het ingevulde document naar ons kunt terugsturen in de bijgevoegde kleine envelop. De kosten voor de verzending van het DNA-staal kunt u nadien bij ons terugvorderen.

Indien u nog bijkomende vragen heeft of problemen ondervindt tijdens de DNA-afname, dan mag u ons steeds contacteren via telefoon (0494/39 72 97), via email (maarten.larmuseau@bio.kuleuven.be; sofie.claerhout@student.kuleuven.be), of via onze facebook-pagina ([www.facebook.com/degenialestamboom](http://www.facebook.com/degenialestamboom)). Meer informatie kunt u ook terugvinden op onze website ([www.degenialestamboom.com](http://www.degenialestamboom.com)).

Wij danken u nu al hartelijk voor uw bereidheid tot deelname aan dit onderzoek.

Hoogachtend,

Dr. Maarten Larmuseau

Sofie Claerhout



G....-

Ondergetekende, .....

Adres .....

Geboortedatum .....

stemt hierbij in met het bepalen van het Y-STR/SNP profiel op het bijgevoegd wangslimvliesstaal in het kader van het wetenschappelijk project 'De Gen-iale Stamboom'.

stemt hierbij in dat zijn genealogische gegevens gebruikt worden in wetenschappelijke publicaties - deze studies hebben geen betrekking op medische informatie/gegevens:

Ja  Neen (uw antwoord aankruisen)

Het resterende wangslimvliesstaal en het DNA-extract moet vernietigd worden na de analyses:  Ja  Neen (uw antwoord aankruisen)

- Indien geopteerd wordt voor bewaring van de stalen, worden deze stalen gedurende 10 jaar bewaard in het laboratorium. Indien u in aanmerking komt voor een nieuwe studie zal u gecontacteerd worden met informatie betreffende deze studie en zal u een nieuw toestemmingsformulier moeten tekenen voor akkoord.

Datum:  
Gelezen en goedgekeurd,

Ik ga akkoord met de verwerking van mijn persoonlijke gegevens door het Laboratorium voor Forensische Genetica en Moleculaire Archeologie, K.U. Leuven. De verwerking van mijn persoonlijke gegevens heeft de volgende doelen: administratieve verwerking van het dossier, de DNA-analyse, het maken van statistieken. Mijn gegevens worden niet kenbaar gemaakt of gebruikt voor andere dossiers tenzij mits schriftelijke toestemming van ondergetekende. Ik heb toegang tot mijn gegevens en kan verzoeken onjuiste gegevens te verwijderen of aan te passen. Hiervoor kan ik mij wenden tot het hoofd van het Laboratorium voor Forensische Genetica en Moleculaire Archeologie, met een schriftelijk verzoek en met het bewijs van mijn identiteit. (Privacy Commissie: nr VT 4000838)

voor akkoord,

handtekening:



## Afname van wanglijmvlies voor het project "De Gen-iale Stamboom"



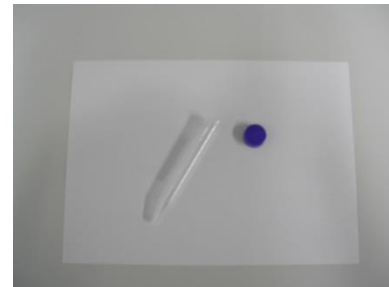
KU LEUVEN

Het is aangewezen deze procedure niet uit te oefenen binnen 1 uur na een maaltijd of nadat u gedronken heeft. Er bestaat de mogelijkheid dat er dan onvoldoende wanglijmvlies aanwezig is om een DNA-analyse uit te voeren.

### Procedure:

1. Plaats een blanco blad papier op de tafel. Neem de meegeleverde plastic tube (met blauwe dop) en controleer het nummer op de tube met het nummer op het document dat u moet ondertekenen. Wanneer er geen nummer werd toegewezen, schrijft u uw naam op het blanco etiket op de tube.

Open de plastic tube en leg de tube op het papier alsook de blauwe dop. Zorg ervoor dat de rand van de tube niet wordt aangeraakt met de handen.



2. Open het verpakte borsteltje aan de zijde van het stompe uiteinde (achterkant).



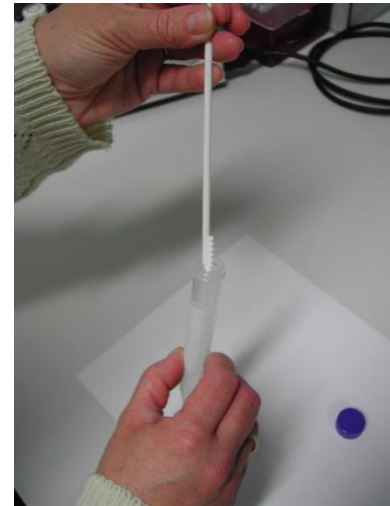
3. Neem het borsteltje uit de verpakking met het stompe uiteinde (achterkant) en zorg ervoor dat het borsteltje (voorkant) niet in contact komt met de handen.



4. Plaats het borsteltje in de mond tegen de rechterwang en wrijf tegen de wang gedurende 15 sec. om het wangslimvlies op te nemen.



5. Plaats het borsteltje in de plastic tube.



6. Werp het borsteltje af door op het stompe uiteinde te drukken.

Sluit de tube zorgvuldig met de blauwe dop.



7. Voer de procedure 2-6 opnieuw uit voor de linkerwang. Gebruik hiervoor het tweede borsteltje en plaats het in dezelfde tube.





## Informatieformulier 'De Gen-iale Stamboom'

Begin 2009 werd in opdracht van Familiekunde Vlaanderen vzw een **grootschalig genetisch genealogisch onderzoek** binnen de Belgische mannelijke bevolking georganiseerd door genetici van de KU Leuven waaronder prominente onderzoekers als Prof. Em. Dr. Jean-Jacques Cassiman en Prof. dr. Ronny Decorte. Dit project loopt nog steeds en is van groot belang om de genetische 'wortels' van de Vlaamse bevolking te achterhalen, verschillen tussen regio's te observeren en aldus om de genetische erfenis van (on)gekende historische migraties aan te tonen. Daarnaast zijn de resultaten ook voor amateurgenealogen interessant om (on)verwachte verwantschappen te vinden of te bevestigen tussen deelnemers die uitdrukkelijk hun toestemming hebben verleend om hun genetische en genealogische gegevens onderling uit te wisselen zonder dat hun informatie hierdoor verspreid wordt buiten deze groep deelnemers. Op deze manier kunnen eigen familiestambomen geverifieerd en aangevuld worden. Hoe dan ook, dit onderzoek is uniek aangezien de resultaten interessant zijn zowel voor **academici** als voor het **grote publiek** dat geïnteresseerd is in de eigen familiale afkomst en in hun streekgeschiedenis.

Anno december 2015 is het **Y-chromosoom** van meer dan 1500 Belgische en Noord-Brabantse families geanalyseerd en gekoppeld aan hun genealogische afkomst. Het Y-chromosoom is het geslachtsdeterminerende chromosoom bij de mens en wordt net als onze familienaam meestal onveranderd doorgegeven van vader op zoon. Nu en dan sluipen er toch foutjes in het DNA, wat doorheen de menselijke evolutie geleid heeft tot verschillende Y-chromosomale 'lijnen'. Deze lijnen zijn onafhankelijk van elkaar geografisch verspreid waardoor ieder deel van het Europees continent dan ook zijn eigen specifieke lijnen heeft. Daarnaast kunnen we ook deze lijnen verder opdelen om op die manier elke familie van elkaar te onderscheiden. Een nieuw luik van het project, '**De Gen-iale Stamboom**' zal vanaf december 2015 dit wetenschappelijk onderzoek verderzetten door het Y-chromosoom van specifieke 'genealogische koppels' te vergelijken. Dit zal gebeuren om verder inzicht te krijgen in genetische verwantschap, mutatiesnelheden en de historische graad aan buitenechtelijke kinderen.

U ontvangt dit informatieformulier aangezien u geselecteerd bent om aan 'De Gen-iale Stamboom' deel te nemen. Indien u effectief deelneemt aan dit project zal een staal van het

wangslimvlies volledig pijnloos afgenomen worden, waaruit dan het DNA geïsoleerd zal worden. Vervolgens zal uw Y-chromosoom worden geanalyseerd aan de hand van 42 Y-STRs en een subset van in totaal 150 Y-SNPs. Dit zijn genetische merkers die ons in staat stellen om te bepalen tot welke Y-chromosomale lijn uw familie behoort. Deze merkers zijn volledig neutraal en houden totaal geen medische informatie in. De data zullen wetenschappelijk worden geanalyseerd, vergeleken worden met een verre verwant van u (geen familie van de zesde of lagere graad) en anoniem worden gepubliceerd. De resultaten van het wetenschappelijk project zullen steeds aan elke deelnemer worden meegedeeld. Aan deze deelname zijn geen kosten verbonden en u krijgt indien u dit wenst ook de resultaten van het genealogisch onderzoek en de DNA-analyse waarmee u eventueel verder onderzoek kunt gaan doen om uw genealogie te vervolledigen. Wij wensen u hierbij op de hoogte te brengen dat het persoonlijk resultaat teleurstellend kan zijn indien bijvoorbeeld zou blijken dat een verwachte verre verwantschap op basis van genealogische gegevens echter genetisch niet bevestigd kan worden. Dit zou betekenen dat ergens in de vorige generaties een andere Y-chromosomale lijn in uw familie is terecht gekomen wegens een buitenechtelijk kind, een anonieme adoptie of babyverwisseling. Op basis van het DNA-onderzoek kan niet bepaald worden wanneer (in welke generatie) dit zou hebben plaatsgevonden. Gezien de mogelijkheid bestaat dat we in het project deze situatie tegenkomen, worden de resultaten steeds anoniem gepubliceerd.

Wij zijn uiteraard ten volle bereid u met meer informatie te verstrekken indien u dit wenst en wij danken u bij voorbaat vriendelijk voor uw deelname aan het project.



Dr. Maarten Larmuseau,  
KU Leuven - Laboratory of Forensic Genetics and Molecular  
Archaeology  
Kapucijnenvoer 33, 3000 Leuven  
Tel: 0494 39 72 97 Email: [maarten.larmuseau@bio.kuleuven.be](mailto:maarten.larmuseau@bio.kuleuven.be)



## Addendum A4: de primersequenties uit MP2, MP4, MP5p en MP7.

### MP2 multiplexkit

Merker	Sequentiemotief	Singlecopy (s) Multicopy (m)	Primersequentie FORWARD	Primersequentie REVERSE
DYS438	[TTTT]n	s	5'-(56FAM) TGGGGAATAGTTGAACGGTAA-3'	5'-GGCAACAAGAGTGAAAATCCCA-3'
DYS459	[TAAA]n	m	5'-(VIC) AACCAAAATTCAGGGATGACTGA-3'	5'-TTGAGCAACAGAGCAAGACTTA-3'
DYS576	[AAA]n	s	5'-(56-FAM) TGGGCTGAGGAGTTCAATC-3'	5'-GGCAGTCTCATTTCTGGAG-3'
DYS19	[TAGA]3 [TAGA]n	s	5'-(56FAM) ACTACTGAGTTCTGTTATAGTGTGTTT-3'	5'-GTTTCTTGTCAATCTCTGCACCTGGA-3'
DYS724	[AAA]n N5[AAA]n	m	5'-(6-FAM) CAAAAGACTTAAGGAATTTCAACTC-3'	5'-ACGGTGACGAATGTTGAAACGGTCTAT-3'
DYS392	[TAT]n	s	5'-(VIC) AAAAGCCAAGAAAGAAAACAAA-3'	5'-GAAACTACCAATCCCATCTCT-3'
DYS389I	[TCTG]3 [TCTA]n	m	5'-(VIC) CCAACTCTCATCTGATTTATCT-3'	5'-GTTATCCCTGAGTAGAGAAGAAT-3'
DYS549	[GATA]n	s	5'-(VIC) AACCAATTCAGGGATGACTGA-3'	5'-GTCCCTTTCCATTTGTA-3'
DYS389II	[TCTG]3 [TCTA]n	m	5'-(VIC) CCAACTCTCATCTGATTTATCT-3'	5'-GTTATCCCTGAGTAGAGAAGAAT-3'
DYS458	[GAAA]n	s	5'-(VIC) GCAACAGGAATGAACTCCAAT-3'	5'-GTTCTGGCATTACAGCATGAG-3'
DYS607	[GAA]n N16 [GATG]n [GAAG]n	s	5'-(VIC) AGCATAACAGCTAATCACAGC-3'	5'-TCAGACAAAAGCCAGTTGAG-3'
DYS643	[CTTT]n	s	5'-(PET) TGCCTGGTAAACTACTGTGC-3'	5'-GCCCCAAAATTTACTGGAAG-3'
DYS455	[AAAT]n	s	5'-(PET) GGGGTGGAAACGAGTGT-3'	5'-ATCTGAGCCGAGAGAATGATA-3'
DYS533	[ATCT]n	s	5'-(VIC) CATCTAACATCTTTGTCTACTACC-3'	5'-TGATCAGTTCTTAACTCAACCA-3'

### MP4 multiplexkit

Merker	Sequentiemotief	Singlecopy (s) Multicopy (m)	Primersequentie FORWARD	Primersequentie REVERSE
DYS391	[TCTA]n	s	5'-(6-FAM)TTCAATCATACACCCATATCTGTC-3'	5'-GATAGGGATAGGTAGGCAGGC-3'
DYS437	[TCTA]n [TCTG]2 [TCTA]4	s	5'-(6-FAM)GACTATGGCGTGAGTGCAT-3'	5'-GTTTCTTGGACCTGTCTACAGATGA-3'
DYS570	[TTTC]n	s	5'-(6-FAM)GAACTGTCTACAATGGCTCACG-3'	5'-TCAGCATAGTCAAGAAAACAGACA-3'
DYS724	[AAA]n N5 [AAA]n	m	5'-(6-FAM)CAAAAGACTTAAGGAATTTCAACTC-3'	5'-ACGGTGACGAATGTTGAAACGGTCTATGTTAGTCCACACTTG-3'
DYS426	[GTT]n	s	5'-(VIC)CTCAAAAGTATGAAAGCATGACCA-3'	5'-GGTGACAAGACGAGACTTTGTG-3'
DYS393	[AGAT]n	s	5'-(VIC)GTGGTCTTACTGTGTCAATAC-3'	5'-GTTTCTTAACTCAAGTCCAAAATAAGG-3'
DYS390	[TCTG]n [TCTA]n [TCTG]n [TCTA]n	s	5'-(VIC)TATATTTTACACATTTTGGGCC-3'	5'-GTGACAGTAAAATGAAAACATTGC-3'
DYS385	[GAAA]n	m	5'-(VIC)AGCATGGTGACAGAGCTA-3'	5'-GTTTCTTCAATTTACATAGTCTCCTTTC-3'
DYS449	[TTTC]n N50 [TTTC]n	s	5'-(VIC)TGGAGTCTCAAGCCTGTTCTA-3'	5'-CTGGAAAGTGGAGTTTGTGT-3'
DYS460	[ATAG]n	s	5'-(VIC)GAGGAATCTGACACCTCGACA-3'	5'-GTCCATATCATCTCTGCTGCTA-3'
GATA H4.1	[TAGA]n	s	5'-(VIC)ATGCTGAGGAAATTTCAA-3'	5'-GTTTCTTCTATTCATCCATCAATCTATCCATT-3'
DYS454	[AAA]n	s	5'-(VIC)GACATGAGTCTTCACTTCAAC-3'	5'-GACTGACCTCACATTTGTTA-3'
DYS481	[CTT]n	s	5'-(PET)AGGAATGTGGTAAACGCTGT-3'	5'-GACAGCTACCAGAAAGTTGC-3'
DYS447	[TAATA]n [TAAAA]1 [TAATA]n	s	5'-(PET)GGTACAGCATGGCTTGGTT-3'	5'-GGGCTTGTGGTTGCTTATCTCT-3'
DYS448	[TAAAA]1 [TAATA]n	s	5'-(PET)TGGGAGGCAAGGATCCAA-3'	5'-GTCATATTTCTGGCCGGTCTGG-3'
DYS442	[AGAGAT]n N42 [AGAGAT]n	s	5'-(PET)GTGCACCCATCTCTTAGCAG-3'	5'-AATCACGGAAACCAACCCAAAC-3'

### MP5p multiplexkit

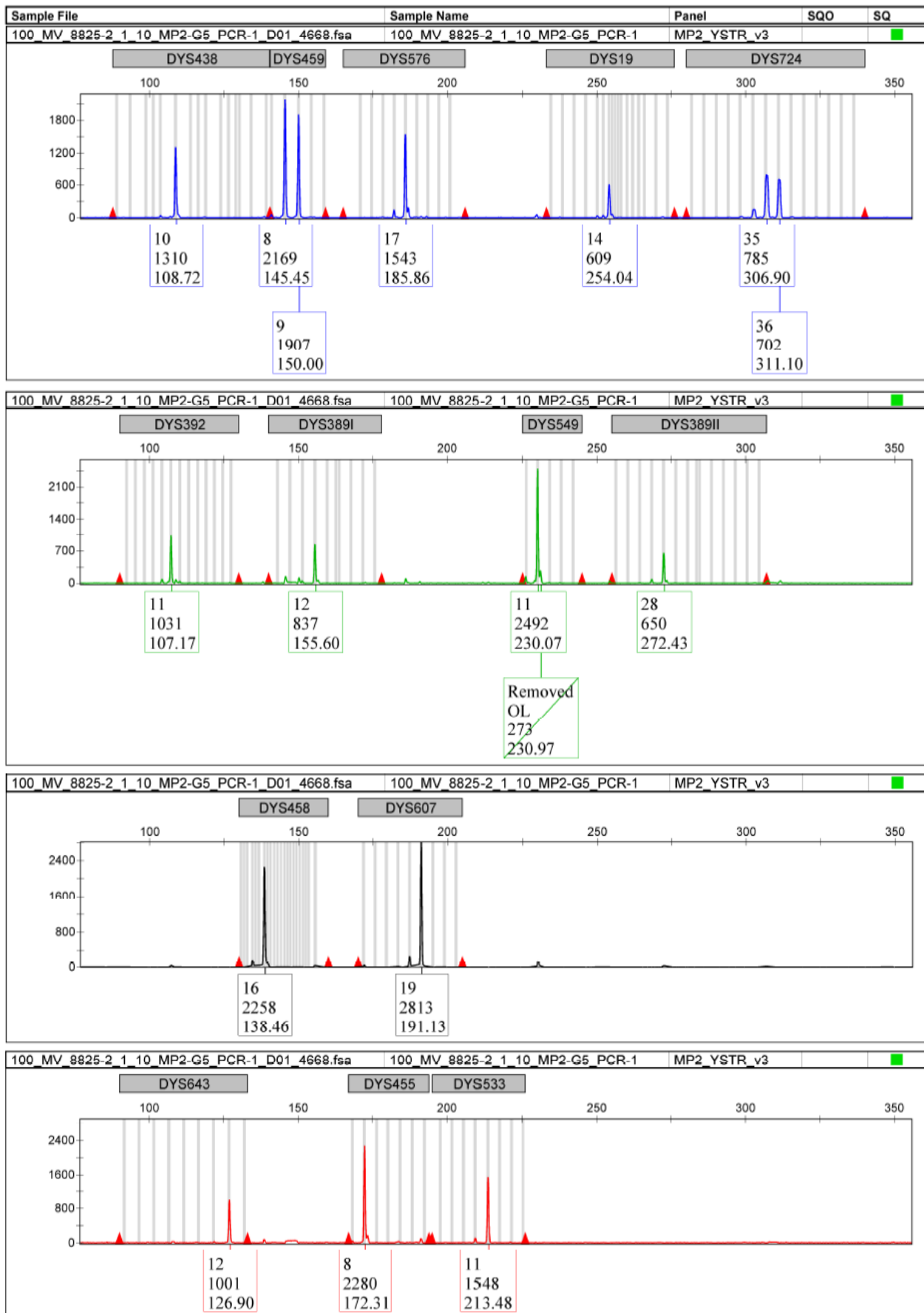
Marker	Sequentiemotief	Singlecopy (s) Multicopy (m)	Primersequentie FORWARD	Primersequentie REVERSE
DYS635	[TCTA] <sub>4</sub> [TGTA] <sub>2</sub> [TCTA] <sub>2</sub> [TGTA] <sub>2</sub> [TCTA] <sub>2</sub> [TGTA] <sub>0,2</sub> [TCTA] <sub>n</sub>	s	5'-GGCTTCTCACTTTGCATAGAATC-3'	5'-(6-FAM)ACCAGCCCAAAATATCCATCA-3'
DYS570	[TTTC] <sub>n</sub>	s	5'-(6-FAM)GAACTGTCTACAATGGCTGGCTCACG-3'	5'-TCAGCATAGTCAAGAAACCAGACA-3'
DYS393	[AGAT] <sub>n</sub>	s	5'-(VIC)GTGGTCTTCTACTTGTGCAATAC-3'	5'-GTTTCTTAACCTCAAGTCCAAAAATGAGG-3'
DYS385	[GAAA] <sub>n</sub>	m	5'-(VIC)AGCATGGGTGACAGAGTA-3'	5'-GTTTCTTCCAATTACATAGTCTCCTTTC-3'
DYS456	[AGAT] <sub>n</sub>	s	5'-(NED)GGACCTTGTGATAATGTAAGATAG-3'	5'-GTAGAGGGGACAGAACTAATGGAA-3'
DYS607	[GAAG] <sub>n</sub> N16[GATG] <sub>n</sub> [GAAG] <sub>n</sub>	s	5'-(NED)AGCATACAGCGTAATCACAGC-3'	5'-TCAGACAAAAGCCAGTTGAG-3'
DYS464	[CCTT] <sub>n</sub>	m	5'-(NED)TTACGAGCTTTGGGCTATG-3'	5'-CCTGGGTAAACAGAGAGACTCTT-3'
DYS388	[ATT] <sub>n</sub>	s	5'-(PET)GAATTCATGTGAGTTAGCCGTTTAGC-3'	5'-GAGGGGAGCTTTTAGTGAG-3'
DYS439	[GATA] <sub>n</sub>	s	5'-(PET)TCCTGAATGGTACTTCTAGGTTT-3'	5'-GCCTGGCTTGGAAITCTTTT-3'
YCAII	[CA] <sub>n</sub>	m	5'-(PET)GTCAAAATTTAAACCCACAATCA-3'	5'-GCAGTCTTTCACCCATAAGGTTAGC-3'

### MP7 multiplexkit

Marker	Sequentiemotief	Singlecopy (s) Multicopy (m)	Primersequentie FORWARD	Primersequentie REVERSE
DYS576	[AAAG] <sub>n</sub>	s	5'-(56-FAM) TTGGGCTGAGGAGTTCAATC-3'	5'-GGCAGTCTCATTTCTGGGAG-3'
DYS518	[AAAG] <sub>n</sub>	s	5'-(6-FAM)TGCGCAACACAAAGTGAAACTGC-3'	5'-TCAGCTCTTACCATGGGTGAT-3'
DYS627	[AAAG] <sub>n</sub>	s	5'-(VIC)CTAGGTGACAGCGCAGGATT-3'	5'-GGATAATGAGCAAAATGGCAAG-3'
DYF387S1ab	[RAAG] <sub>n</sub>	m	5'-(NED)GCCTGGGTGACAGAGCTAGA-3'	5'-GCCACAGTGTGAGAAAGTGA-3'
DYS533	[ATCT] <sub>n</sub>	s	5'-(VIC) CATCTAACATCTTTGTCACTACTACC-3'	5'-TGATCAGTCTTAACTCAACCA-3'

## Addendum A5: MP2 Y-STR profiel

Een voorbeeld van een bekomen Y-STR profiel met de multiplex-kit MP2.

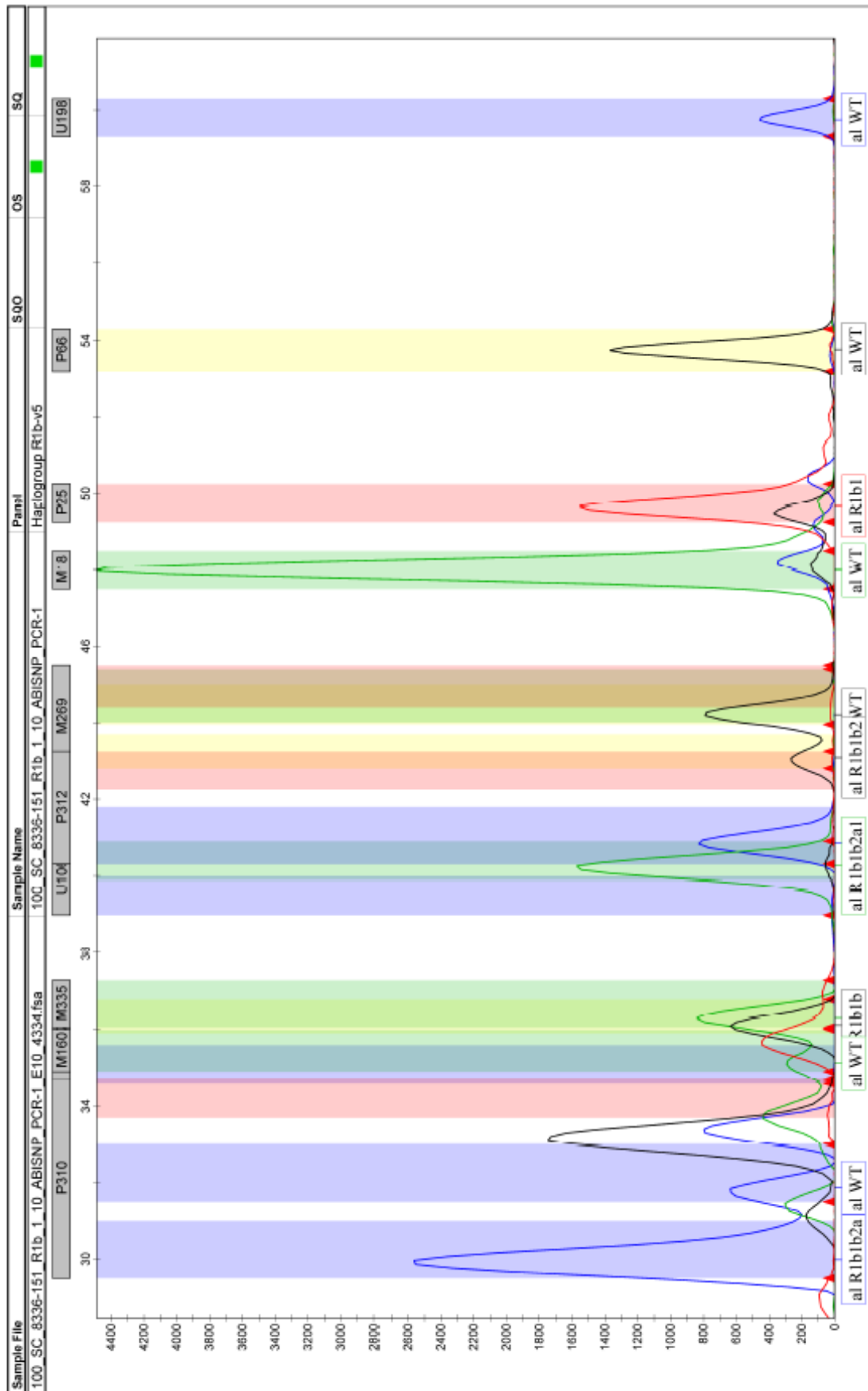


## Addendum A6: Y-SNPs met subhaplogroep benaming.

Sub-haplogroup	Alternative nomenclature	Sub-haplogroup	Alternative nomenclature
Y(xBT)	Y(xV21)	L1*	L-M27*
E1b1b*	E-M215*	L2*	L-M317*
E1b1b1a1*	E-M78*	Q1*	Q-P36.2*
E1b1b1a1a*	E-V12*	R1*	R-M173*
E1b1b1a1b*	E-V13*	R1a1*	R-SRY10831.2*
E1b1b1a1c*	E-V22*	R1a1a*	R-M198*
E1b1b1b1*	E-M81*	R1b1*	R-P25*
E1b1b1c*	E-M123*	R1b1b*	R-P297*
E1b1b1c1*	E-M34*	R1b1b2*	R-M269*
G2a*	G-P15*	R1b1b2a1*	R-M412*
G2a3*	G-U8*	R1b1b2a1a*	R-P310*
G2a3a*	G-M406*	R1b1b2a1a1*	R-U106*
G2a3b1*	G-U1*	R1b1b2a1a1a	R-Z18
I1*	I-M253*	R1b1b2a1a1b*	R-Z381*
I1b	I-M227*	R1b1b2a1a1b1	R-U198
I1c	I-P109	R1b1b2a1a1b2	R-L48
I2*	I-P215*	R1b1b2a1a2*	R-P312*
I2a*	I-P37.2*	R1b1b2a1a2d*	R-Z195*
I2b1*	I-M223*	R1b1b2a1a2d1	R-SRY2627
I2b1a	I-M284	R1b1b2a1a2e*	R-M529*
I2b1c	I-P78	R1b1b2a1a2g*	R-U152*
I2b1d	I-P95	R1b1b2a1a2g3*	R-L2*
J1*	J-M267*	R1b1b2a1a2g3a	R-L20
J1e*	J-P58*	T1a*	T-L208*
J2a*	J-M410*	T1a2	T-P77
J2a2*	J-M67*	T1b*	T-L131*
J2a2a*	J-M92*		
J2a8	J-M319		
J2b2*	J-M241*		

## Addendum A7: R1b1b2a1 Y-SNP profiel

Een voorbeeld van een bekomen Y-SNP profiel van de subhaplogroep R1b1b2a1.



## Addendum A8: het Matlab script voor Bayesiaanse statistiek

Het script om in Matlab de historische EPP graden in te schatten op basis van de “genealogische koppel”-methode (Larmuseau *et al.*, 2013).

```
function [p,pci] = estimateP(data,niters,tol)
%This mfile defines the maximum likelihood estimate of the probability p,
%given the 2 column data matrix, number of iterations and tolerance 100 level

%Find trees with missing gca bca match
indcs = find(not(data(:,2)==0));
sizes=data(indcs);
nsizes = size(sizes);

%Search iteratively for maximum likelihood estimate of p
for i = 1:niters
[phat,pci] = binofit(sum(data(:,2)),sum(data(:,1)),tol);
for j = 1:nsizes
N=sizes(j);
summ=0;
for k=1:N
summ = summ+binopdf(k,N,phat)/(1-binopdf(0,N,phat))*k;
end
data(indcs(j),2) = summ;
end
end

p = phat;
pci|
```

## Addendum A9: familienamen

De 341 betrokken familienamen uit het project “De Gen-iale Stamboom”.

Abrath	Cornelissens	Donders	Kempeneers
Acke	Cornet	Draulans -	Kenis
Aerts	Corremans	Draelants	Kennes
Ameye	Cortebeeck	Elleboudt	Kerckhove
Andreoli	Corten	Engelen	Kimpe
Baetens	Cortens	Erkelens	Kin
Bastiaensen	Corthout	Exelmans	Kockx-Cox
Beirens	Craen	Eyckerman	Koreman
Belmans	Daemen	Foqué	Kusters
Bergen	De Baets	Forger	Lagast
Berkenhagen	De Beul	Frederickx	Lampaert
Biesemans	De Bie	Gabriels	Lansens
Billiet	De Block	Gailliaert	Larmuseau
Billion	De Brabandere	Garmyn	Laukens
Blancke	De Buck	Gekiere	Lauwers
Bocken	De Caestecker	Gevaert	Lecluyse
Boer	De Coninck	Gheysen	Lem
Boerjan	De Dobbeleer	Gielen	Lemm
Bolckmans	De Hullu	Goegebeur	Lernout
Bollens	De Jonckheere	Goemaere	Liesenborghs
Bonroy	De Laender	Goetschalckx	Lievens
Bonte	De Neve	Guiette	Ligtenberg
Borgonion	De Ruyver	Haast	Logghe
Bosiers	De Smedt	Haeghens	Louwagie
Boucneau	De Wachter	Haerynck	Louwers
Braet	De Waele	Hautekiet	Luijten
Broekmeulen	De Winter	Hemelaere	Luyten
Brosens	Debelva	Henckens	Maertens
Buyse	Dedobbeleer	Hertich_Hartog	Maes
Callens	Dehenau	Heyman	Mahieu
Callewaert	Delalieu	Heymans	Mares
Caluwé	Demaree	Hillebrandt	Meire
Cappelle	Denduyver	Hinderyckx	Meiresonne
Carpentier	Deneweth	Hiroux	Meirhaeghe
Celis	Depoorter	Houthoofd	Mekerlé
Ceulemans	Deraedt	Hulpiau	Mercaert
Charle	Derudder	Huysecom	Mertens
Claerhout	Desloovere	Huysegems	Meulders
Cleeren-Cleiren	Devenyn	Ickx	Meyvaert
Clemens	D'haeseleer	Ingelbrecht	Michielsens
Coomans	D'hoop	Jacob	Monbaliu
Coremans	Dickx	Jacobs	Mondelaers
Corens	Diepstraten	Janssens	Moonens
Corluy	Dillen	Joosen	Moorkens
Cornelis	Dobbelaer	Jouck	Moors
Cornelissen	Doms	Keers	Morreel

Nachtergaele	Supeene	Van Deyk	Verhaeghe
Naus	Taes	Van Dingenen	Verhassel
Neyt	Taeymans	Van Dooren	Verlinden
Nolet De	Teunissen Van	Van Dooren	Vermaete
Brauwere	Manen	Van Dycke	Vermant
Nolf	Thomaes	Van Eeckhaute	Vermeiren
Nouwens	Tijskens	Van Eygen	Verplancke
Oevelen	Tirez	Van	Verreycken
Ons	Tock	Ginderdeuren	Verschueren
Oomen	Tousseyn	Van Gorkum	Vervaeck
Opsomer	T'syen	Van Hecke	Vervaeat
Panis	Vaganay	Van Hofstraeten	Vervloet
Pas	Van Acoleyen	Van Holderbeke	Verwerft
Patteeuw	Van Andel	Van Hoorick	Vlaeyen
Peene	Van Assche	Van Houcke	Vlassenroot
Pennings	Van Bael	Van Hout	Volckaerts
Penninx	Van Beers	Van Landschoot	Vols
Pictoel	Van Beers	Van Lent	Wauters
Pierar	Van Beurden	Van Liefferinge	Welkenhuysen
Pletinck	Van Bogaert	Van Lijf	Wens
Plovie	Van Boheemen	Van Ongevalle	Winnelinckx
Polfliet	Van Bulck	Van Oostende	Witterzeel
Pots	Van	Van Osselaer	Wollaert
Proost	Cauwenberghe	Van Roost	Wouters
Quinart	Van Coppenolle	Van Roy	Wylock
Rosseau	Van Daal	Van Ryckegem	Zuiderent
Roukens	Van Damme	Van Steenbergen	
Schalk	Van De Leur	Van Thillo	
Schepens	Van De	Van Vuren	
Scheys	Meulebroeke	Van Wynsberghe	
Schoonjans	Van De Weghe	Vanaudenaerde	
Schul	Van Den Brempt	Vanborren	
Seerden	Van Den Eijnden	Vanden Bempt	
Serneels	Van Den	Vandenbempt	
Sichien	Kieboom	Vandenbulcke	
Sieders	Van Den Steen	Vandenbussche	
Sleeckx	Van Der Elst	Vander Goten	
Smessaert	Van Der Gracht	Vanderdonckt	
Somers	De Rommerswael	Vanderper	
Sonck	Van Der Heide	Vanhouche	
Spruyt	Van Der Maat	Vanlouwe	
Staes	Van Der Poorter	Vanpaemel	
Stekelorum	Van Der Sande	Vanvinckenroye	
Stellamans	Van Der Straeten	Verdonk	
Stockbroeckx	Van Der Vonder	Vereecke	
Stuer	Van Dessel	Verelst	
	Van Deuren		



**UZ LEUVEN SINT-RAFÄL  
FORENSISCHE GENETICA  
EN MOLECULAIRE  
ARCHEOLOGIE**

Kapucijnenvoer 33, Blok N  
3000 LEUVEN, BELGIË  
tel. + 32 16 33 65 55  
fax + 32 16 33 65 54  
[www.kuleuven.be](http://www.kuleuven.be)

