

EVOLUTION

Synergistisch wirkende Isolationsmechanismen bei der Artbildung

Damit Arten entstehen können, muss sich eine Fortpflanzungsbarriere zwischen verschiedenen Populationen einer Ausgangsart aufbauen. An Petunien konnte jetzt gezeigt werden, dass sich dabei Mechanismen, die vor der Bildung einer Zygote wirken, und Mechanismen, die nach der Befruchtung wirken, gegenseitig verstärken können.

Neue Arten können nur dann entstehen, wenn sich eine Reproduktionsbarriere zwischen verschiedenen Populationen entwickelt. Solch eine Barriere kann prä- oder postzygotisch sein, also entweder vor oder nach der Bildung einer befruchteten Eizelle wirken. Zu den präzygotischen Mechanismen zählt z. B. das Bestäubungssyndrom bei Pflanzen: Je nachdem welche Gestalt, welchen Duft oder welche Farbe eine Blüte hat, wird sie bevorzugt von bestimmten Bestäubern besucht. Abhängig davon, wie ausgeprägt die Präferenz eines Bestäubers ist, kann es passieren, dass Pollen nur noch zwischen bestimmten Blütenformen ausgetauscht wird.

Als postzygotische Barriere kommen z. B. negative epistatische Interaktionen zwischen bestimmten Allelen an zwei oder mehr Genloci in Frage. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von Dobzhansky-Muller-Genpaaren. Häufig betrifft dies Gene, die an der Immunabwehr beteiligt sind. Eine ungünstige Kombination von Allelen kann in diesen Fällen zu einer Autoimmunreaktion führen, die sich in dem vermehrten Auftreten von Nekrosen und damit einhergehend in einer verminderten Vitalität äußert (Hybridnekrose). Chaobin Li et al. haben jetzt einen interessanten Fall untersucht, in dem beide Mechanismen eine Rolle spielen [1].

Untersucht wurden zwei Petuniensarten, die im Überlappungsbereich ihrer Areale noch miteinander hybridisieren können. *Petunia axillaris* ist eine in Südamerika weit verbreitete Art mit weißen, UV-Strahlung absorbierenden und duftenden Blüten, die

von Schwärmern bestäubt werden. Die nahe verwandte *P. exserta* hingegen kommt nur in einer eng begrenzten Region am Rio Grande do Sul in Brasilien vor und nutzt Kolibris als Bestäuber. Ihre roten Blüten duften nicht, da Kolibris sich an der Farbe orientieren. Die jeweils für die UV-Absorption, den Duft und die Länge des Griffels verantwortlichen Gene (*MYB-FL*, *CNLI* und *EOBII*) sind alle Teil eines Supergens auf Chromosom 2. Als Supergen werden mehrere gekoppelt vererbte Gene bezeichnet, die an einem gemeinsamen Prozess beteiligt sind und die durch Rekombination in der Regel nicht mehr getrennt werden. Die enge Kopplung der Gene verhindert, dass es zu ungünstigen Kombinationen kommt, also z. B. zu Blüten, die an keine Bestäubergruppe mehr optimal angepasst sind.

Zwei inkompatible Genloci

Um die *axillaris*-Variante des für das Bestäubungssyndrom verantwortlichen Supergens in das Genom von *P. exserta* einzubringen, müssen *P. axillaris* (BioVar N) und *P. exserta* gekreuzt und die entstandene Hybride dann mehrmals mit *P. exserta* rückgekreuzt werden. Auf diese Weise entstehen Pflanzen, deren Genom überwiegend dem Genom von *P. exserta* entspricht, die aber für das *axillaris*-Supergen hetero- (IL5-Het-Pflanzen) oder homozygot (IL5-Ax-Pflanzen) sind. In ersterem Fall weisen die Pflanzen schwache, in letzterem ausgeprägte Nekrosen auf, die mit einem verminderten Wachstum, weniger Blüten, einer vermehrten Bildung von

reaktiven Sauerstoffspezies und einer erhöhten Expression an Abwehrgenen einhergehen.

Mit Hilfe von Rückkreuzungen und einer als *bulked segregant analysis* (BSA) bezeichneten Methode konnten schließlich zwei Genregionen identifiziert werden, die für die Nekrosen verantwortlich sind. Bei der BSA wird in einem großen Pool von Nukleinsäuresequenzen, die jeweils von Individuen stammen, die sich hinsichtlich eines Merkmals (Nekrosen bei IL5-Ax-Pflanzen mit dem *axillaris*-Supergen, keine Nekrosen bei IL5-Ex-Pflanzen mit dem *exserta*-Supergen) unterscheiden, nach denjenigen Sequenzen gesucht wird, in denen sich alle Träger eines bestimmten Merkmals nicht unterscheiden. Diese Genregionen befinden sich auf den Chromosomen 2 und 7 und erhielten zunächst die Namen *HNe2* und *HNe7*. Nekrosen treten immer dann auf, wenn der *HNe2*-Locus von *P. axillaris* mit dem *HNe7*-Locus von *P. exserta* zusammentrifft.

Eine genauere Analyse des *HNe2*-Locus konnte schließlich vier Kandidatengene für den Phänotyp identifizieren. Von diesen vier Genen führt lediglich die Stilllegung des Gens *ChiA1* von *P. axillaris* zu einer deutlichen Abnahme der Nekrosen. Interessanterweise trägt das *ChiA1*-Gen von *P. exserta* eine *nonsense*-Mutation, die zu einem verkürzten Protein führt. Bei der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) kodiert das homologe Gen für ein Chitin- bzw. Peptidoglykan-abbauendes Enzym und ist an der Abwehr von Pilzen und Bakterien beteiligt. Die Überexpression des *ChiA1^{ax}*-Allels in IL5-Ex-Pflanzen ruft Nekrosen hervor. Der Versuch, auch das *ChiA1^{ex}*-Allel unter der Kontrolle eines starken Promotors zu exprimieren, führt allerdings nur zu einer schwachen Expression und dementsprechend auch nicht zu Nekrosen. Verantwortlich für die schwache Expression ist wahrscheinlich ein Mechanismus, der als *nonsense mediated RNA decay* (NMD) bezeichnet wird: Stellen, an

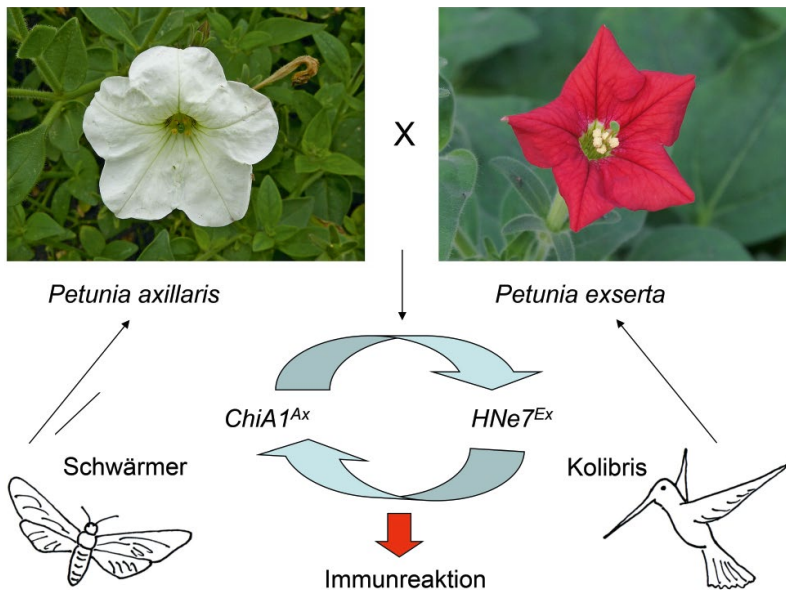


ABB. 1 Normalerweise wird *Petunia axillaris* durch Nachtschwärmer und *P. exserta* durch Kolibris bestäubt. Kommt es dennoch zu einer Kreuzung und gelangen dadurch das *ChiA1^{Ax}*-Allel und der *HNe7^{Ex}*-Locus in dasselbe Genom, so kommt es zu einer sich aufschaukelnden Immunreaktion, die die Vitalität der Nachkommen einschränkt. Fotos aus Wikipedia (scott.zona und Magnus Manske), Konzept der Abbildung und Zeichnungen: Johannes Sander.

denen eine mRNA gespleißt wurde, sind durch den EJC-Proteinkomplex (*exon junction complex*) markiert. Tritt ein Stoppcodon vor dem letzten EJC-Komplex auf, so ist es offensichtlich zu weit vorne. Solche mRNAs werden dann abgebaut.

Eine Chitinase induziert Gene

Der Austausch einzelner Aminosäuren im katalytischen Zentrum der Chitinase *ChiA1^{Ex}*, die zwar zu einem Verlust der enzymatischen Aktivität, aber nicht zu einem verkürzten Protein führen, verhindert nicht die Bildung von Nekrosen. Die enzymatische Aktivität der Chitinase ist also offensichtlich nicht für deren Ausbildung erforderlich. Eine Analyse aller Promotoren von differentiell exprimierten Genen in IL5-Ax- und IL5-Ex-Pflanzen zeigte, dass viele dieser Promotoren eine WRKY-Erkennungssequenz besitzen. Wahrscheinlich ist also ein WRKY-Transkriptionsfaktor (benannt nach dem DNA-Bindemotiv aus Tryptophan (W), Arginin (R), Lysin (K) und Tyrosin (Y)) an deren Steuerung beteiligt. Das *WRKY18*-Gen wiederum zeigt starke Expressionsunterschiede zwischen den bei-

den Genotypen IL5-Ax und IL5-Ex, und eine Überexpression in IL5-Ex-Pflanzen und in Tabakpflanzen (*Nicotiana benthamiana*) führt zu Nekrosen. Die Überexpression von *ChiA1* wiederum induziert die *WRKY18*-Expression. Offensichtlich induziert die Chitinase also direkt – oder wahrscheinlicher – indirekt über einen *WRKY18*-Transkriptionsfaktor die Expression zahlreicher Gene.

Welches Gen hinter dem *HNe7*-Locus steht, konnte bisher nicht ermittelt werden. Es ist aber wahrscheinlich, dass auch dieses Gen eine Funktion in der Immunabwehr hat und dass sich das *ChiA1^{Ax}*-Allel und der *HNe7*-Locus gegenseitig aktivieren, so dass es zu einer sich aufschaukelnden Autoimmunreaktion kommt (Abbildung 1).

In wilden Populationen

Interessanterweise konnten in wilden Populationen von *Petunia exserta* bzw. *P. axillaris* jeweils sowohl das *ChiA1^{Ax}*- und das *ChiA1^{Ex}*-Allel gefunden werden. Allerdings ist Ersteres bei *P. exserta* und Letzteres bei *P. axillaris* selten. Bei *P. axillaris* tritt das *ChiA1^{Ex}*-Allel bevorzugt bei

der Unterart *parodii* auf, die sich durch längere Kronröhren auszeichnet. Wahrscheinlich ist das *ChiA1^{Ax}*-Allel durch Einkreuzung in die *P. exserta*-Population gelangt. In diesem Fall müsste allerdings der Nachteil, den der Besitz eines *ChiA1^{Ax}*-Allels in Kombination mit dem *P. exserta*-Genotyp verursacht, durch einen entsprechenden Vorteil – etwa eine bessere Pathogenabwehr – kompensiert werden. Bei *P. axillaris* ssp. *parodii* ist die Situation nicht so einfach, denn deren Areal überlappt sich nicht mit dem Areal von *P. exserta*. In diesem Fall könnte es zu einem *incomplete lineage sorting* gekommen sein: Besitzt eine Ausgangspopulation zwei Allele eines Gens und spaltet sich dann die Ausgangspopulation in mehrere Linien auf, so kann selektiv in den verschiedenen Linien mal das eine und mal das andere Allel verloren gehen. Dadurch können zwei weniger verwandte Linien dasselbe und zwei enger verwandte Linien hingegen verschiedene Allele tragen.

ChiA1 ist bei Petunien eng gekoppelt mit dem *MYB-FL*-Gen, das Teil des Bestäubungssyndrom-Supergens ist. Da diese Kopplung bei Tomaten (*Solanum lycopersicum*) und Kartoffeln (*S. tuberosum*), die ebenso wie die Petunien zu den Nachtschattengewächsen (Solanaceae) gehören und somit relativ enge Verwandte sind, noch nicht auftritt, ist sie wahrscheinlich erst vor kurzem entstanden. Es ist anzunehmen, dass sich prä- und postzygotische Isolationsmechanismen hier gegenseitig verstärken. Jeder dieser Mechanismen hat für sich genommen nur eine begrenzte Wirkung, denn weder sind die Präferenzen der Bestäuber absolut, noch sind Hybride vollständig letal oder unfruchtbar. Gemeinsam können beide Mechanismen aber einen starken Effekt haben.

Literatur

- [1] C. Li et al. (2023), Nature Plants, doi.org/10.1038/s41477-023-01354-8

Johannes Sander, Halver