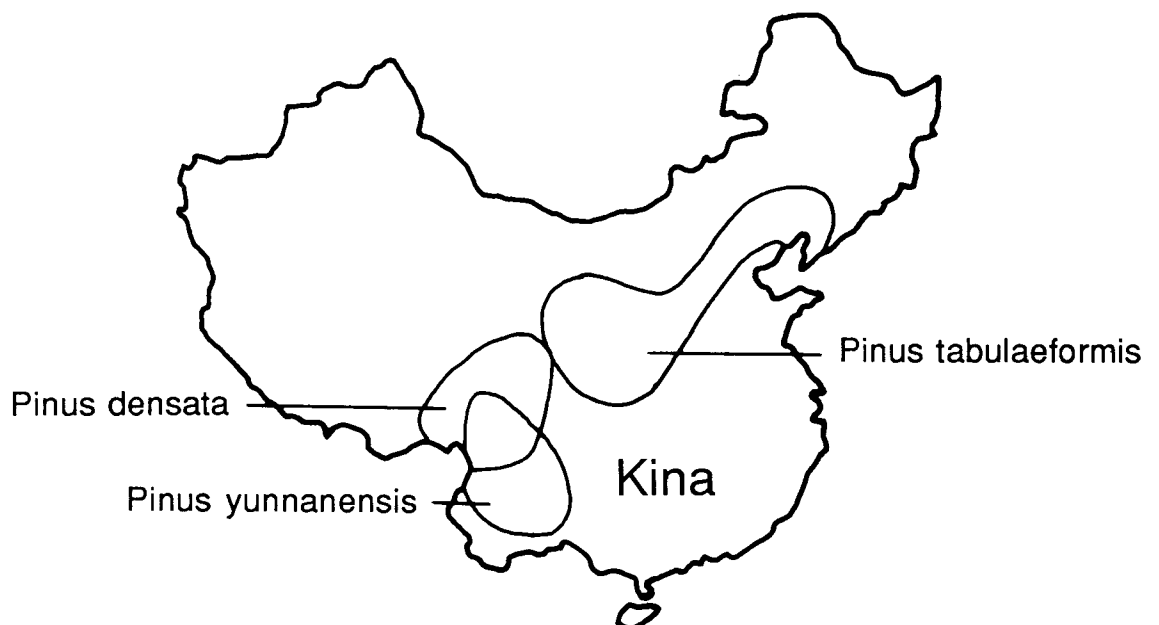


Skogsträdens evolution

Hybridiseringens betydelse för artbildningen

KJELL OLOFSSON och ALFRED E. SZMIDT

- * Genetisk variation är en förutsättning för evolution.
- * Mutationer, rekombinationer och hybridiseringar ökar den genetiska variationen.
- * Hybridisering bidrar vid stora miljöförändringar kraftigt till evolutionen hos växter, och däribland även hos skogsträden.
- * Den asiatiska tallarten *Pinus densata* har misstänkts vara en hybrid mellan *Pinus tabulaeformis* och *Pinus yunnanensis* som uppstått under tertiärperioden.
- * Nu finns molekylärgenetiska data som stöder teorin att *Pinus densata* uppstått genom hybridisering.



Nuvarande utbredning av *Pinus densata* och dess sannolika förfäder.

Ökande intresse för evolutionsforskning

Allt sedan Lamarck och Darwin lade fram sina respektive evolutionsteorier har evolutionen varit en fråga som fascinerat människan. Då kände man inte till att det finns arvs massa som överförs från generation till generation. Även sedan man bättre lärt sig förstå hur nedärvning fungerar, har man i stort sett varit hänvisad till yttre synliga och mätbara egenskaper för att studera släktskap och evolution. De senare årens utveckling inom molekylärbiologin har gjort det möjligt att direkt studera arvs massan och att jämföra arvs massa mellan t.ex. individer, populationer och arter. Därför har evolutionsforskningen nu blivit ett mycket aktivt område.

Teorier om evolution

Man kan förenklat säga att det finns två teorier om vad som orsakar evolution, en selektionsteori och en neutralteori.

Selektionsteorin framfördes av Darwin och innebär att det sker en selektion, dvs. ett urval, för eller emot vissa egenskaper. De bäst anpassade individerna överlever och för sina egenskaper vidare till kommande generationer.

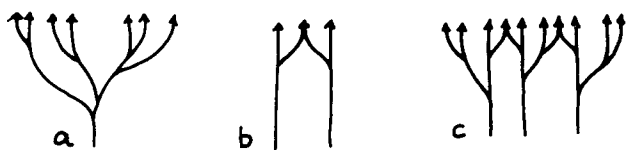
Neutralteorin innebär att slumpen spelar en stor roll i evolutionen. De flesta mutationer som inte är skadliga eller dödliga innebär ändå ingen fördel för organismen utan är likvärdiga med ursprungsförhållandet. Sådana neutrala mutationer kan trots det slå igenom kraftigt, t.ex. när nya populationer uppstår genom spridning och nyetablering från enstaka individer. Ingen av de två teorierna kan ensam förklara evolutionen.

Den traditionella bilden av evolutionen är att genetiska skillnader uppstår inom en art och leder till uppdelning i nya arter (figur 1a). Det finns också evolutionsprocesser som går åt motsatt håll, där nya arter uppstår genom att arter korsas sig med varandra, dvs. genom hybridisering (figur 1b). Med nuvarande kunskap anser forskare att evolutionen är en blandning av dessa två och närmast att likna vid ett nätverk (figur 1c).

Det är viktigt att komma ihåg att evolution sker på populationsnivå, dvs. att genetiska förändringar hos enstaka individer måste sprida sig och slå igenom i populationen.

Arter och arthybrider

Man brukar definiera en art som en grupp av individer/populationer som under naturliga förhållanden kan reproducera sig med varandra och samtidigt är reproduktivt isolerade från andra sådana grupper. Individer av samma art kan få gemensam fertil avkomma. Det finns dock många arter som inte ifrågasätts, trots att de kan korsa sig med andra arter och bilda fertila arthybrider. Bland t.ex. barrträd finns många exempel på arter som kan bilda hybrider.



Figur 1. Förenklad bild av olika evolutionsförlopp. a: divergerande, b: hybridisering, c: nätverk.

Evolution

Den gradvisa utvecklingen av organismer från tidigare existerande organismer sedan livets uppkomst.

Fertil

Kan genom sexuell förökning alstra livsduglig avkomma.

Hybrid

Resultatet av en korsning mellan genetiskt olika föräldrar. Korsning mellan olika växtarter kan förhindras på en rad olika sätt. Det kan vara så att ena artens pollen inte gror på den andra artens pistillmärke, eller att det embryo som bildas dör. Mellan många närbesläktade arter finns inga sådana korsningsbarriärer, och så kallade arthybrider kan uppstå. Ofta är arthybrider sterila. Det kan bero på olika kromosomtäl hos föräldrarna, vilket ger oförmåga att para kromosomerna vid reduktionsdelning.

Hybridisering

Korsning mellan genetiskt olika föräldrar. Se Hybrid.

Mutation

Plötslig förändring i arvs massan ofta i en enda nukleotid, dvs. ett enda "tecken" i den genetiska koden. De flesta mutationer är skadliga för organismen.

Paleobotanik

Studiet av fossila växter.

Polyploidi

Förekomsten av tre eller flera kromosomuppsättningar. Normalt finns dubbel kromosomuppsättning (2n) i kroppsceller och enkel uppsättning (n) i köns celler.

Rekombination

Bildning av avkomma med genkombinationer som inte finns hos någon av föräldrarna. Uppstår genom att parvis lika (homologa) kromosomer byter delar vid bildning av köns celler.

Det finns till och med exempel på arter av tallar från Asien som kan korsa sig med tallarter från Nordamerika, trots att de varit geografiskt isolerade från varandra i flera hundratusen år.

Tre processer som ökar den genetiska variationen

Genetisk variation är en förutsättning för att selektionen eller slumpen skall kunna driva evolutionen vidare. Det finns tre viktiga processer som ökar den genetiska variationen, nämligen mutation, rekombination och hybridisering. Vi vet att alla tre processerna bidrar till den genetiska variationen hos växter, men inte i vilka proportioner. Troligen är mutationernas bidrag ganska litet i ett kortare tidsperspektiv. Rekombination bidrar till genetisk variation och därigenom till evolutionen. Vi vet dock ännu inte hur stor betydelse rekombination har för skogsträdens evolution.

Hybridisering som artbildande process

Hybridisering bidrar alltid till kraftigt ökad genetisk variation. Den bidrar i vissa situationer kraftigt till evolutionen. Det finns många bevis för detta hos växter. Nu finns det även en del exempel på skogsträdsområdet.

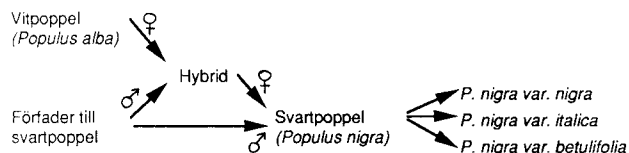
För att en hybrid skall bli framgångsrik måste några viktiga förutsättningar uppfyllas. Det måste finnas en eller flera ekologiska nischer som hybriderna har bättre möjlighet än någon av föräldrapopulationerna att anpassa sig till och ta över. Hybriderna måste vara fertila eller kunna föröka sig vegetativt. Om den är fertil måste hybridpopulationen vara tillräckligt genetiskt stabil för att bestå.

I ekosystem som varit opåverkade mycket länge är växter och djur relativt väl anpassade, och det är svårt för hybrider att göra sig gällande. Kraftiga miljöförändringar är och har varit mycket viktiga för att skapa nya förutsättningar som hybrider kan utnyttja. Sådana förändringar kan till exempel vara bildning av bergskedjor eller nedisningar. Även människan kan orsaka kraftiga miljöförändringar. Ett exempel där människan har inverkat på miljön är Nya Zeeland. Genom införande av däggdjur och kulturväxter åstadkom man en kraftig störning på den ursprungliga växtligheten. Det ledde i sin tur till uppkomsten av en mängd hybrider som sedan blev grunden för nya växtarter.

Hybridisering tycks hos de flesta högre växter, bl.a. lövträd, vara kopplat till polyploiditet. Om de två föräldrararterna har olika kromosomtäl eller olika form och storlek på kromosomerna, blir det problem när kromosomerna skall para ihop sig inför celledelningen. Detta leder ofta till sterilitet. Troligen är det nödvändigt att fördubbla kromosomtalen för att undvika sådana problem. Hos barrträd däremot förekommer nästan aldrig polyploida hybrider. Det kan bero på att de flesta barrträd har samma kromosomtäl, $2n=24$. Kromosomerna hos olika barrträdsarter är dessutom mycket lika i form och storlek. Av någon anledning tycks polyploiditet till och med vara negativt, möjligen dödligt, för barrträd.

Exempel från lövträd

Björkar (släktet *Betula*) och pilar/sälgar/viden (släktet *Salix*) anses vara goda exempel på släkten där ras- och artbildning är intensiv i områden som utsatts för nedisning. I östra Nordamerika är det lätt att klassificera de björkararter som växer söder om tidigare nedisade områden. I de nordligare områdena däremot är björkarna mycket variabla och svåra att inordna i distinkta arter. Det gäller särskilt arterna kring Canoe birch (*Betula papyrifera*). Man anser att arterna är instabila, och att evolution pågår med hybridisering som ett viktigt inslag. Förhållandena är liknande i norra Eurasien.



Figur 2. Trolig uppkomst av svartpoppel. Vitpoppel och en okänd förfader till svartpoppel korsade sig, med vitpoppel som moder. Den uppkomna hybriderna återkorsade sig, som moder, med förfadern till svartpoppel. Resultatet blev svartpoppel, med kloroplast-DNA från vitpoppel och huvuddelen av kärn-DNA från förfadern. Därefter uppstod de olika varieteterna av svartpoppel.

Barrträden som grupp är mycket gamla men åsikterna om deras ålder varierar starkt, varför uppgifterna bör tas med en nypa salt. Man anser att de uppstod för 250–300 miljoner år sedan. Släktet tallar (*Pinus*) är ca 200 miljoner år gammalt och släktet granar (*Picea*) något yngre. De grundläggande dragen i våra dagars granarter anses ha utvecklats för ungefär 70 miljoner år sedan.

Lövträden är troligen betydligt yngre men även här varierar uppgifterna. De tidigaste fossilen av gömfröiga växter (angiospermer) är ca 150 miljoner år gamla.

Hybridisering hos lövträd, bl.a. popplar/asp (släktet *Populus*), har nu studerats med hjälp av DNA-analys. Till exempel har nordamerikanska forskare visat hur svartpoppel troligen uppkommit genom hybridisering (figur 2).

Exempel från barrträd

Flera av nutidens tallarter kan bilda hybrider med varandra, t.ex. contortatall (*Pinus contorta*) och banksianatall (*P. banksiana*) i Nordamerika, tall (*P. sylvestris*) och bergtall (*P. mugo*) i Europa. Ingen av dessa hybrider tycks hittills ha lett till uppkomsten av nya arter.

Den asiatiska tallarten *P. densata* förmodas ha uppstått genom hybridisering mellan *P. tabulaeformis* och *P. yunnanensis* under tertiärperioden. Hittills har man bara haft paleobotaniska och morfologiska data som stöd för denna teori. *P. tabulaeformis* har idag en vid utbredning i norra och centrala Kina, medan *P. yunnanensis* finns i sydvästra Kina. De båda arternas utbredningsområden överlappade varandra i norra Yunnan under tertiär, och man tror att en hybrid då uppstod. Möjligen kunde ytterligare en tallart (*P. massoniana*) ha varit inblandad i en sådan hybridisering. Himalayaområdet har veckats i flera omgångar och senast skedde det i slutet av tertiärperioden. Då påverkades även Tibet och omkringliggande områden av landhöjning. Det ledde till stora klimatförändringar. *Pinus densata* anpassade sig till att växa på hög höjd i bergen ovanför de områden där föräldrararterna nu normalt växer. Därför har arterna blivit mer eller mindre geografiskt isolerade från varandra.

Evolutionsforskningsgruppen vid institutionen för skoglig genetik och växtfysiologi, SLU, Umeå har kunnat visa att de två troliga föräldrararterna säkert går att skilja från varandra genom analys av kloroplast-DNA. Dessutom har vi konstaterat att i bestånd av *P. densata* finns kloroplast-DNA som är typiskt både för *P. tabulaeformis* och *P. yunnanensis*. Detta stöder mycket starkt teorin att *P. densata* är en hybrid mellan *P. tabulaeformis* och *P. yunnanensis*.

Den här sannolika hybriderna är mycket intressant av flera orsaker. Normalt bildas hybrider mellan arter som är relativt lika varandra både utseendemässigt och i ekologiska krav. Men de här föräldrararterna är både ekologiskt och morfologiskt väl skilda från varandra. *P. yunnanensis* växer i södra Kina i närmast tropiskt klimat. Den är trebarrig med mycket långa barr. *P. tabulaeformis* har sin huvudutbredning i centrala och norra Kina. Den är tvåbarrig med betydligt kortare barr än *P. yunnanensis*. Hybrider har i regel små utbredningsområden. Även här är *P. densata* speciell med sitt stora utbredningsområde.



Bestånd av *Pinus densata* i Tibet. I förgrunden naturlig föröng-ring. Artens utbredningsområde ligger högre än 2500 m ö.h. och till största delen även över 3500 m ö.h. Foto: Xiao-Ru Wang.

Fördelningen av kloroplast-DNA från respektive föräldraart i populationer av *P. densata* är ca 60:40, dvs. ganska lika. Ett antal exempel av andra hybrider både bland barrträd och örter har kloroplast-DNA-fördelningar på ca 95:5 i populationerna. Hybriderna är då instabila och är så att säga på väg tillbaka till en av föräldraarterna.

För att undersöka kärn-DNA-förhållandena i *P. densata* har vi tittat på proteiner, närmare bestämt ett antal enzymer som kodas från kärn-DNA. Enzymstudierna visar på ungefär lika stora bidrag från *P. tabulaeformis* och *P. yunnanensis*. Resultaten liknar och stöder de resultat vi fått från undersökningarna av kloroplast-DNA. Den sannolika förklaringen är att hybriden är fertil och korsar sig inom hybridpopulationen. Detta håller DNA-andelarna från de bägge föräldraarterna i balans och upprätthåller *P. densata* som egen art. Endast där utbredningsområdet överlappas av en föräldraart sker en viss återkorsning med föräldern.

Något om arbetsmetoderna

Växter har tre olika uppsättningar av DNA i sina celler, nämligen kärn-DNA, mitokondrie-DNA och plastid-DNA. Eftersom kloroplasten är den vanligaste plastiden i de gröna delarna av växten brukar man tala om kloroplast-DNA, förkortat cp-DNA. Det ärvs liksom mitokondrie-DNA bara från en av föräldrarna. Mitokondrierna ärvs alltid från modern. Kloroplasterna ärvs hos de flesta högre växter från modern, men hos barrträd ärvs de från fadern (se Skogsfakta nr 37, 1987). Då cp-DNA har ändrat sig långsamt genom tiderna och dessutom är en måttligt stor molekyl, är det mycket lämpat för släktskapsstudier.

Ett sätt att jämföra exempelvis cp-DNA från olika arter är att klippa sönder DNA med så kallade restriktionsenzymer. Dessa enzymer känner igen speciella kombinationer av koder i DNA-molekylen och klipper av den vid varje sådan kodkombination. Inom en art är cp-DNA i princip identiskt. Varje art får därför ett typiskt mönster av bitar av olika längd. Likheter och skillnader i detta mönster kan användas för att avgöra släktskapsförhållanden.

Man mortlar först sitt växtmaterial och renar fram cp-DNA via bl.a. gradientcentrifugering och ett antal tvättsteg. När cp-DNA är rent kan man klippa det med restriktionsenzymer. Klippt cp-DNA körs med elektrofores, dvs. får vandra i ett elektriskt fält i en gel. DNA-fragmenten vandrar olika långt beroende på hur stora de är. De kortaste fragmenten vandrar snabbast. Gelen färgas så att band med de olika fragmenten framträder. Genom att mäta hur långt respektive fragment har vandrat kan man beräkna de olika fragmentens storlek.

Man kan även gå vidare och bestämma på vilket fragment en viss gen finns, om man har tillgång till en så kallad prob. En prob är en radioaktivt inmärkt enkelsträng av den gen man söker. Genom upphettning får man de dubbla DNA-fragmenten att sära sig, och en tillsatt prob kommer att fastna och bilda dubbelsträng endast där samma gen finns. Den radioaktiva inmärkingen gör att man kan avgöra på vilket fragment den sökta genen finns.

Kjell Olofsson, FK, laboratorieassistent
Alfred E. Szmidt, SkogD, forskarasistent



Sveriges lantbruksuniversitet
Institutionen för skoglig
genetik och växtfysiologi
901 83 Umeå



Skogsfakta utges av Sveriges lantbruksuniversitet, skogsvetenskapliga fakulteten och sammanfattar aktuell forskning inom fakulteten. För innehållet ansvarar respektive författare.
Ansvarig utgivare: Torbjörn Lestander, SLU Info/Skog, 901 83 Umeå.
Redaktör: Jan Zimmerman, SLU/Info, Box 7077, 750 07 Uppsala
(telefon 018-67 14 56, telefax 018-30 98 17).
Årsprenumeration kostar 300 kr + moms. Även enstaka exemplar kan beställas.
Kundtjänst: SLU Info/Försäljning, Box 7075, 750 07 Uppsala
(telefon 018-67 11 20, telefax 018-67 28 54).

ISSN 1101-8305