



Aus der Art geschlagen

Wenn Pflanzenpollen eine Eizelle befruchtet, müssen das Erbgut im Kern und das in den Chloroplasten miteinander harmonisieren. **Stephan Greiner** vom **Max-Planck-Institut für molekulare Pflanzenphysiologie** in Golm bei Potsdam möchte herausfinden, welche Faktoren in den Chloroplasten die Kreuzung von Pflanzenarten verhindern. Er untersucht dazu eine Modellpflanze, die es mit der Artgrenze nicht so genau nimmt: die Nachtkerze.

TEXT **CATARINA PIETSCHMANN**



Angenommen, der Pollen eines Kirschbaums könnte bei Kürbisblüten landen oder der Blütenstaub einer Bananenstaude verirrt sich erfolgreich zu Kakteen. Kämen dabei saftige Kürbisse mit Kirschgeschmack und Bananen mit stacheliger Schale heraus?

Eine faszinierende Vorstellung – die Erde wäre voller bizarrer Arten, und die Küchen dieser Welt würden um immer neue Geschmacksvarianten bereichert. Aber die Evolution hat wenig Sinn für solche Fantasien. Sie mischt nicht wahllos, sondern hält die Arten meist getrennt voneinander. Ein Konzept, das in den vergangenen 500 Millionen Jahren zu schätzungsweise 500 000 Pflan-

zenarten führte. Und obwohl alle einen gemeinsamen Urahn haben, kann sich heute längst nicht mehr jede mit jeder fortpflanzen.

Dennoch geschieht bei Pflanzen hin und wieder, was im Tierreich extrem selten ist: Es kommt zu Kreuzungen über Artgrenzen hinweg. Damit daraus gesunde Nachkommen entstehen, sogenannte Hybride, müssen sich die zwei beteiligten Arten allerdings sehr ähnlich sein. Die genetische Hürde wäre sonst zu hoch. So keimt beispielsweise Pollen von der Sonnenblume im Löwenzahn nicht. Und das, obwohl beide zur Familie der Korbblütler gehören. Aber genetisch betrachtet haben sich Sonnenblume und Löwenzahn meilen-

Keimlinge der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) in einer Petrischale. Kondenswasser bildet kleine Tropfen am Schalendeckel. Die zur Familie der Kreuzblütler gehörende Pflanze ist ein wichtiger Modellorganismus für Pflanzengenetiker.

weit voneinander entfernt. Sie gehören deshalb auch unterschiedlichen Gattungen an.

Sonnenblume und Löwenzahn können daher getrost nebeneinander wachsen, und trotzdem würde zwischen ihnen nichts passieren. „Es fehlen die Signale, die dem Pollen den Weg zur Eizelle weisen“, erklärt Stephan Greiner vom Max-Planck-Institut für molekulare Pflanzenphysiologie. Er ist mit seiner Arbeitsgruppe „Zytoplasmatische und



1



2



3

- 1 | Die Narbe einer Nachtkerzenblüte wird mit fremdem Pollen bestäubt. Der Blüte wurden zuvor Kron- und Staubblätter entfernt (unten). Der Pollen bildet Pollenfäden, die noch an den Staubblättern der anderen Blüte hängen (oben).
- 2 | Nach der Fremdbestäubung werden die Blüten abgedeckt, damit weitere unkontrollierte Bestäubung verhindert wird.
- 3 | Stephan Greiner kontrolliert im Foliengewächshaus, ob die Bestäubung erfolgreich war und die Pflanzen Samenkapseln bilden.



Evolutionäre Genetik“ am Potsdamer Max-Planck-Institut den Artbarrieren auf der Spur – den Hürden also zwischen eng verwandten Pflanzen.

BARRIEREN LASSEN NEUE ARTEN ENTSTEHEN

„Ein gängiges Modell besagt: Eine neue Art entsteht, wenn eine Population der Ursprungsart aus irgendeinem Grund über längere Zeit vom Rest getrennt wird“, erzählt der Biologe. „Das kann eine Eiszeit sein, ein Fluss oder ein Gebirge.“ Die isolierte Population entwickelt sich nun unabhängig weiter, und ihre Gene passen sich in den kommenden Generationen immer besser an die Lebensbedingungen in ihrer Umwelt an. Im Extremfall gedeiht sie nun prächtig in der Wüste, während die Ursprungsart im Sumpf zu Hause ist. Kommen beide Populationen wieder zusammen – weil die Eiszeit zu Ende ging oder der Fluss ausgetrocknet ist –, passen sie nicht mehr zusammen. Zwar besitzen sie noch sehr ähnliches Erbgut, doch einige ihre Gene sind unterschiedlich aktiv. „Die Faktoren der Artbildung sind genetische Isolation, Veränderung von Lebensräumen und die damit verbundenen Anpassungen“, fasst Greiner zusammen. Auch der Zufall kann eine Rolle spielen.

Stephan Greiner untersucht am Beispiel der Nachtkerze, worin solche Artbarrieren bestehen. Sein Fokus liegt dabei auf dem Plastom – dem ringförmigen Erbgut der Chloroplasten, jener kleinen grünen Kügelchen in Pflanzenzellen, in denen die Fotosynthese stattfindet. Denn nicht nur das Erbgut im

Zellkern, auch das der Chloroplasten ist wichtig für Erfolg oder Misserfolg einer Kreuzung.

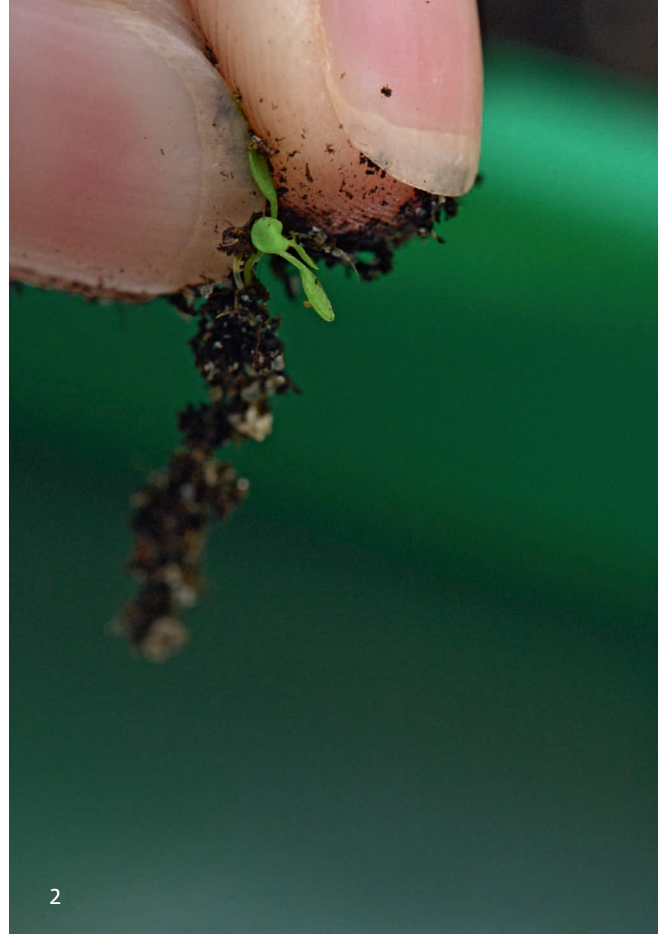
Die Chloroplasten sind der Endosymbiontentheorie zufolge das Ergebnis einer Notlage: Vor rund zwei Milliarden Jahren hatten viele Einzeller ein massives Problem, denn in der Erdatmosphäre nahm der Sauerstoffgehalt immer mehr zu. Entstanden durch Cyanobakterien, die Fotosynthese betrieben – also mittels Sonnenlicht aus Kohlendioxid und Wasser Kohlenhydrate aufbauten. Für die meisten anderen, die diesen Trick nicht beherrschten, war der dabei freigesetzte Sauerstoff pure Gift. Einziger Ausweg aus der Misere: Sie schnappten sich Bakterien, die mit dem Sauerstoff zurechtkamen, verschlangen sie, ohne sie zu verdauen, und lebten fortan in einträchtiger Symbiose. So entstand das Mitochondrium. Das war, so die Theorie, der erste Schritt zum Mehrzeller und die Entstehung des tierischen Lebens. Später nahmen diese Organismen zusätzlich ein Cyanobakterium auf, denn mit dieser Verschmelzung konnten die Organismen selbst Energie aus dem Sonnenlicht gewinnen. So entstanden erste Algen, später dann Pflanzen. Die gegenseitige Anpassung ging so weit, dass sich die Partner alle lebenswichtigen Aufgaben teilten. Die vereinnahmten Bakterien wurden zu Zellorganellen, den Chloroplasten. Sie konzentrierten sich ganz auf die Fotosynthese und gaben alle anderen Aufgaben an die Zelle ab. Ungenutzte Gene gingen entweder verloren, oder sie wurden in das Erbgut der Zelle integriert. Daher ist das Chloroplasten-Erbgut auch ver-

Oben: Kreuzung mit Folgen: Die linke Pflanze ist vom Typ AA-I. Bei ihr harmonieren das Erbgut aus Zellkern und Chloroplasten. Im Gegensatz dazu passen bei der AA-III-Pflanze (rechts) Kern und Chloroplasten nicht zusammen. Die Blätter sind blass mit grünen Bereichen an den Blatträndern und Blattadern.

Unten: Kreuzungsquadrat der Nachtkerzen: Die Buchstabenkombinationen bezeichnen Kerngenom-Typen, die römischen Ziffern stehen für verschiedene Chloroplastengenome. Die Zeichen symbolisieren die unterschiedlichen Erscheinungsbilder der gekreuzten Pflanzen. Kleine zusätzliche Zeichen in einem Feld zeigen die Varianten einer Kreuzung. Die rot umrandeten Kombinationen kommen in der Natur vor, alle übrigen stammen aus dem Labor.

| Kern-genom | Chloroplastengenom | | | | |
|------------|--------------------|----|-----|----|---|
| | I | II | III | IV | V |
| AA | ● | ● | ● | ● | † |
| AB | ● | ● | ● | ● | † |
| BB | ● | ● | ● | ● | † |
| BC | ● | ● | ● | ● | ● |
| CC | † | † | † | ● | ● |
| AC | ● | ● | ● | ● | ● |

- Normal grün
- Grün bis graugrün
- Gelbgrün
- Zeitweise gelbgrün
- Gelbgrün bis gelb
- Weiß oder gelb
- Weiß mit Hemmung des Zellwachstums
- † Nicht lebensfähig oder unfruchtbar
- Leicht gelblich
- Umkehrbar blass
- Zeitweise blass



- 1 | Stephan Greiner (links) und Dirk Zerning begutachten Boxen mit ausgesäten Nachtkerzen im Foliengewächshaus.
- 2 | Wenige Tage alter Keimling einer Nachtkerze.
- 3 | Sven Roigk (links) und Katrin Seehaus pflanzen die Nachtkerzenkeimlinge von Aussaat-schalen in Töpfe um und wählen die Pflanzen mit dem gewünschten Aussehen aus.



Das Potsdamer Max-Planck-Institut beherbergt mit 1000 verschiedenen Stämmen die größte Lebendsammlung von Nachtkerzen.

gleichsweise klein: Das Chloroplasten-Erbgut der Nachtkerze beispielsweise besteht aus rund 160 000 Buchstaben des genetischen Codes und enthält nur etwa 120 Gene. Das Kerngenom dagegen ist eine Milliarde Buchstaben groß.

Bei Kreuzungen zwischen Pflanzen müssen also nicht nur zwei, sondern vier Gensätze zusammenpassen: zwei Kerngenome plus ein Chloroplasten- und ein Mitochondriumgenom. Greiner zieht ein Kreuzungsquadrat hervor, das alle möglichen genetischen Kombinationen der Nachtkerze enthält: Drei verschiedene Kerngenome (AA, BB, CC) und die entsprechenden Mischungen (AB, AC, BC) haben sich herausgebildet – macht zusammen sechs. Kombiniert mit fünf Plastomvarianten (I–V) ergibt das 30 Möglichkeiten. Grüne Punkte zeigen an: Diese Hybride sind gesund und fruchtbar. Schwarze Kreuze lassen keinen Zweifel: Da geht gar nichts mehr.

Dem Kreuzungsquadrat zufolge verursacht Plastom I die meisten Probleme: Nur in Kombination mit Kerngenom-Variante AA entstehen wirklich gesunde Nachtkerzen. Außerdem gibt es diverse Abstufungen. Die Chloroplasten bringen in diesen Fällen nicht die volle Leistung, es hapert an der Fotosynthese. In der Natur wachsen solche Pflanzen langsamer, sie produzieren weniger Samen und sind aus diesem Grund nicht so erfolgreich.

Nachtkerzen sind neben Pelargonien, zu denen die bei Hobbygärtnern beliebten Geranien zählen, das klassische genetische Modell für biparentale Vererbung. Das heißt: Die Chloroplasten werden nicht, wie bei den meisten Pflanzen, nur mütterlicherseits an die Nachkommen weitergegeben, sondern auch über die väterliche Linie vererbt. „Ein weiterer Vorteil ist, dass wir hier

etwas tun können, was bei anderen Pflanzen nicht klappt: Wir können die Chloroplasten zwischen zwei Arten austauschen.“ In der ersten Generation (F1) erhält man die Mischung der Elterngenome. Doch kreuzt man F1 untereinander – „selbst“ nennt Greiner das –, lassen sich die Eltern wieder herauszüchten.

Die rund 130 Mitglieder starke Familie der Nachtkerzengewächse stammt ursprünglich aus Amerika. Im 17. Jahrhundert wurden sie in Europa eingeschleppt. Hier verwilderten sie und sind heute fester Bestandteil der mitteleuropäischen Flora. Stephan Greiner forscht an der Subsektion *Oenothera*, von welcher es lediglich 13 Arten gibt. Für einen Laien ähneln sich die Pflanzen sehr. Trotzdem können Botaniker sie anhand von Blütengröße, Blattform, Wuchs, Stiefelfärbung und Verzweigungsart unterscheiden.

AMERIKANISCHE URSPRÜNGE

Auf einer biologischen Landkarte des amerikanischen Kontinents sind die meist durch Eiszeiten aufgespaltenen und sich wieder annähernden Populationen verzeichnet. Fast überall in Nord- und Mittelamerika ist der Typ AA-I zu finden. Nur in Florida und wenigen umliegenden Staaten wächst BB-III. Nordöstlich davon liegt ein durchmisches Gebiet (AA-I/BB-III und Hybride) mit einer kleinen Enklave von CC-V-Pflanzen.

Ein Teil von Greiners Nachtkerzen steht draußen, im luftigen Foliengewächshaus. Auch hier blüht es überall gelb. Aber nur für Menschengen. Greiner öffnet eine Blüte. Innen hat sie kaum sichtbare Streifen. „Schmetterlinge sehen im UV-Bereich. Für sie sind diese Blüten weiß mit roten Streifen.“

Greiners Gruppe arbeitet mit 300 experimentellen Linien. „In Golm haben wir mit knapp 1000 Stämmen die größte Lebendsammlung von Nachtkerzen“, erzählt er. Einige davon wachsen in Töpfen im angrenzenden Hightech-Gewächshaus. Bei manchen sind die gelb blühenden Zweige komplett in einer luftigen weißen Papiertüte eingepackt – damit sie „clean“ bleiben, also nicht von anderen Linien wild bestäubt werden können.

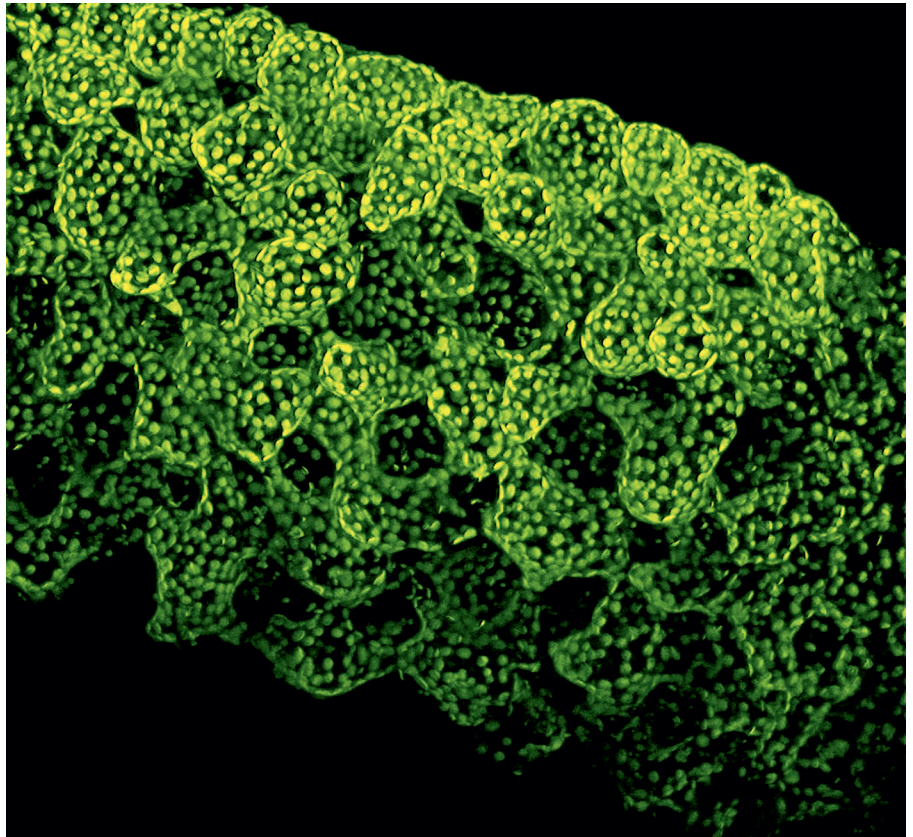
Viele Pflanzenarten, darunter auch Nutzpflanzen wie Gerste, Bohnen und Erbsen, legen es gar nicht erst auf Fremdbestäubung an. Einige bestäuben sich selbst, bevor sie ihre Blüten öffnen. Andere verzichten ganz auf Sex und produzieren Samen ohne Befruchtung. Stellt sich die Frage: Sexuelle oder asexuelle Vermehrung – was bringt mehr? „Im Grunde weiß niemand so recht, warum es überhaupt Sex gibt“, erzählt Stephan Greiner. „Eine Wüstenpflanze zum Beispiel ist perfekt an extreme Trockenheit angepasst. Wird sie fremdbestäubt, ist es eher unwahrscheinlich, dass ihre Nachkommen ebenfalls so gut klarkommen.“ Für sexuelle Fortpflanzung spricht in solchen Fällen, dass sich im Laufe der Zeit durch Inzucht Mutationen anhäufen. Sex dagegen frischt den Genpool immer wieder auf.

Ein Teil von Greiners Arbeit sind klassische Züchtungsversuche: gezielt bestäuben, die Samenbildung abwarten, aussäen, umpflanzen und aufziehen. Bei 300 Stämmen ist das eine Menge Arbeit. Dazu kommt die Molekularbiologie: Proben nehmen, DNA gewinnen, vervielfältigen und analysieren.

Ein weiterer Forschungsansatz ist die bewusste Mutagenese, also das absichtliche Erzeugen von Veränderungen im Erbgut, die es einem Chloro-

Links: Chloroplasten in einem Blatt der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*). Pflanzenzellen besitzen unterschiedlich viele dieser Organellen, mit denen sie durch Fotosynthese Energie aus dem Sonnenlicht gewinnen.

Rechts: Durch Fluoreszenzmessungen können die Forscher die Fotosyntheserate, hier an einem Blatt der Ackerschmalwand, ermitteln.



plasten erlauben, wieder mit dem Kern zu harmonieren. „Wir besitzen eine Nachtkerzenlinie, die Chloroplastenmutator heißt. Sie hat ein defektes Gen im Kerngenom und verursacht deshalb relativ viele Mutanten.“ Auch daraus erhofft sich der Biologe Erkenntnisse darüber, warum manche Kreuzungen keine Überlebenschance haben.

Das Schöne an Greiners Forschungsansatz: Da das Chloroplastengenom fast nur für die Fotosynthese zuständig ist, kann man den Pflanzen ansehen, ob und wie dieser Prozess beeinträchtigt ist. Dann sind die Blätter entweder zu klein, gelbgrün oder auffällig gemustert: weiß-grün gestreift oder weiß gerändert. Solche Entmischungsmuster sind Hinweis darauf, dass nur der gestörte Chloroplast vererbt wurde.

Ob und welcher Teil der Fotosynthese in Hybriden gestört ist, ist durch Fluoreszenzmessungen leicht festzustellen. Arbeitet das Chlorophyll in den Blättern tadellos, wird eine bestimmte Menge des eingestrahlichten Lichtes reflektiert. Aus der Reflexion lässt sich auf den Zustand der Chloroplasten schließen.

„Uns interessieren vor allem diese inkompatiblen Hybride, denn bei ihnen wird das Kern- und das Chloroplasten-

genom nicht mehr richtig reguliert.“ Dazu kommt es, wenn beide Genome eine unterschiedliche Evolutionsgeschichte haben. Durch die lange Symbiose haben sich Kerngenom und Plastom aneinander angepasst. Kreuzt man aber zwei unterschiedliche Populationen, kann es sein, dass die Chloroplasten mit dem ungewohnten Kerngenom nicht harmonieren.

WENN CHLOROPLASTEN UND KERN NICHT ZUSAMMENPASSEN

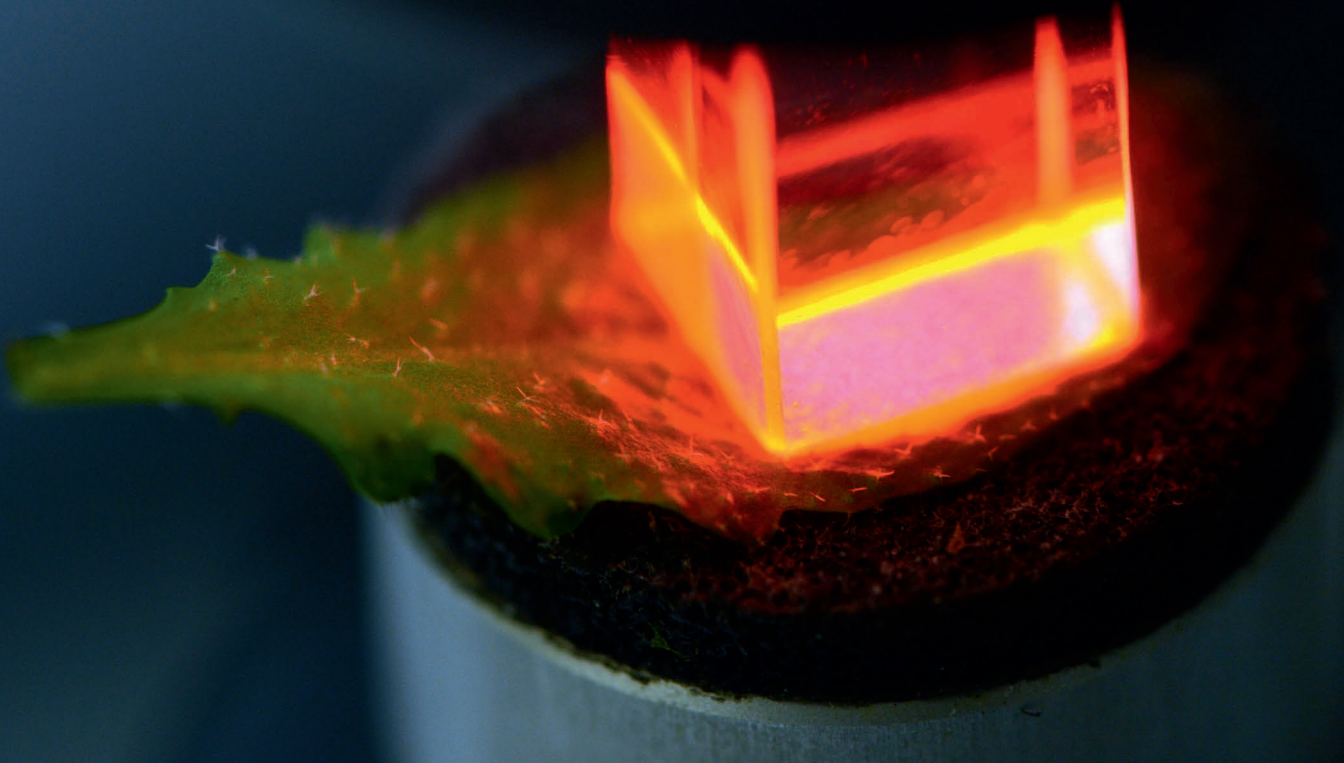
Mangelhafte Zusammenarbeit zwischen Kern und Chloroplast scheint eine wichtige Artbarriere zu sein. An der Fotosynthese selbst liegt es dagegen nicht. „Cyanobakterien gewinnen Energie aus dem Sonnenlicht seit zwei Milliarden Jahren. Sie hatten also genug Zeit, die Fotosynthese zu optimieren. Es ist daher unwahrscheinlich, dass sich daran innerhalb einer relativ kurzen Zeitspanne von einer Million Jahren etwas geändert hätte.“

Nein, es scheint eher um das Feintuning zu gehen, um die Regulation des komplizierten Prozesses. „Fotosynthese hängt von Wasser ab – Nachtkerzen in Florida haben also mehr Wasser für die

Fotosynthese zur Verfügung als die Pflanzen in Kalifornien.“ Das könnte der Knackpunkt sein.

Zwei Faktoren hat Greiners Team bereits gefunden, die den Erfolg von Hybriden beeinflussen: ein Enzym zur Regulierung von Chloroplasten-Proteinen und eine Untereinheit des Fotosystems II – einer der Komplexe, die die Energie für die Pflanze bereitstellen.

Nachtkerzen begleiten den gebürtigen Ulmer seit seinem Studium an der Universität München. Zwar war die klassische Genetik dieser Pflanzenfamilie damals schon erforscht, aber ein molekulares Modell gab es nicht. Das wurde deshalb zum Thema von Greiners Doktorarbeit. „Das war Knochenarbeit“, erinnert er sich. Zusammen mit einem Kollegen entwickelte er Verfahren, um DNA, RNA und die Organellen aus der Pflanze herauszulösen. Nicht einfach, denn Nachtkerzen besitzen so viele Schleimstoffe, dass beim Zerkleinern eine klebrige, Fäden ziehende Masse entsteht. „Viele Botaniker hatten vor uns damit gearbeitet, aber keiner bekam diesen Kaugummi in den Griff. Mit unseren Methoden konnten wir die fünf Plastome der Nachtkerze analysieren und Genkar-



ten aufstellen.“ Dann ging sein Doktorvater in den Ruhestand, und niemand interessierte sich mehr für das Modell. So viele Jahre Forschung, und alles für die Katz?

Dass Stephan Greiner heute am MPI in Golm forscht, ist ein glücklicher Zufall. Denn eigentlich hatte er sich 2009 für einen klaren Schnitt entschieden und bei einer Münchner Patentanwaltskanzlei ein Büro bezogen. „Der Job war nicht übel und gut bezahlt“, sagt er lächelnd. „Das hätte schon gepasst.“ Doch nach einem halben Jahr im Paragrafenschungel kam ein Anruf. Ralph Bock, einer der drei Institutsdirektoren in Golm, interessierte sich für Greiners *Oenothera*-System und lud ihn zum Gespräch ein.

„Für mich war das Wissenschaftsthema eigentlich durch – aber die Arbeitsgruppe hat mich beeindruckt. Man beherrscht hier die ganze klassische Genetik genauso wie die Chloroplasten-Biochemie. Das können nur ganz wenige.“ Und so ließ Greiner München samt Kanzlei hinter sich und kam Mitte 2009 nach Brandenburg. Inzwischen betreut der 33-Jährige sechs Doktoranden und weiß nicht, wo ihm vor Arbeit der Kopf steht.

Nun will er die Faktoren identifizieren, welche die genetische Anpassung von Pflanzen widerspiegeln. „Dann können wir nämlich unterscheiden, ob sich ein Faktor rein zufällig oder unter Druck der natürlichen Selektion verändert hat, also ob er beispielsweise eine Pflanze besser an Wüstenklima anpasst.“ Was die *Nachtkerze* betrifft, ist Greiner zuversichtlich: Von 30 Kombinationsmöglichkeiten erbringen 19 inkompatible Pflanzen, wie das Kreuzungsquadrat zeigt. Das Suchgebiet ist also überschaubar, aber dennoch groß genug, um allgemeingültige Schlüsse zu ziehen.

Lässt sich aus seinen Studien auch etwas über Artbarrieren zwischen Tieren lernen? Greiner lacht. „Direkt übertragbar ist es nicht, denn sie haben ja keine Chloroplasten. Aber Inkompati-

bilitäten zwischen Kern und Mitochondrien spielen bei Tieren genauso wie bei Pflanzen eine Rolle.“

Auf die Pflanzenzüchtung werden sich Greiners Forschungen dagegen ganz sicher auswirken. Denn sind die Artbarrieren erst einmal bekannt, lassen sich auch Wege finden, sie zu überwinden. „Wenn es nur ein oder zwei Faktoren sind, ginge das durch Genaustausch.“ Neuartige Kreuzungen wären möglich. Sicher nicht Kirschkürbis oder Stachelbannane, aber saharataugliche und ertragreichere Getreidesorten vielleicht.

Doch wollen wir überhaupt transgene Pflanzen? Für einen Planeten, der bald zehn Milliarden Menschen ernähren muss, ist das fast eine rhetorische Frage. Doch das ist eine ganz andere Geschichte. ◀

AUF DEN PUNKT GEBRACHT

- Das Erbgut der Chloroplasten ist neben dem Genom des Zellkerns ein wichtiger Faktor für die Artbildung.
- Die Regulation der Gene des Chloroplastengenoms beeinflusst die Kreuzungsfähigkeit verschiedener Linien der *Nachtkerze*.
- Hybride verschiedener *Nachtkerzen*linien können die Fotosynthese nicht so gut an die natürlichen Gegebenheiten anpassen. Dadurch bleiben die Pflanzen schwächlich und bilden weniger Samen.