
Natuurlijke hybridisatie tussen *Senecio jacobaea* en *Senecio aquaticus*

Heather Erin Kirk
Instituut Biologie Leiden
Postbus 9505, 2300 RA Leiden
hkirk10@hotmail.com

Pas 150 jaar nadat Darwin (1859) zijn fascinerende vragen over de betekenis van hybridisatie voor evolutionaire veranderingen publiceerde, zijn onderzoekers goed op weg hierop de antwoorden te vinden. Natuurlijke hybridisatie wordt steeds meer gezien als een proces met belangrijke gevolgen voor de ecologie en evolutie van natuurlijke plantenpopulaties en voor de levensgemeenschappen waarvan ze deel uitmaken, en bovendien voor de evolutie van nieuwe kenmerken en soorten. Recent onderzoek aan populieren toonde bijvoorbeeld aan dat hybride genotypen een grote invloed hebben op de levensgemeenschappen van geleedpotigen en weekdieren die er in voorkomen (Wimp et al. 2005, Albrechtson et al. 2007). De zones met hybriden blijken een reservoir te kunnen zijn van biologische diversiteit (Bangert et al. 2005, Blair et al. 2008). Bovendien heeft onderzoek aan plantensoorten, waaronder zonnebloemen (*Helianthus*), aangetoond dat hybridisatie sleuteladaptaties kan opleveren die tot soortvorming kunnen leiden (Rieseberg et al. 2003, Rieseberg 2009).

Er zijn veel gevallen bekend van interspecifieke hybridisatie binnen het genus *Senecio*. Hybridisatie zou wel eens een zeer belangrijke rol kunnen spelen bij de evolutie van Seneciosoorten. Van de eenjarige soort *Senecio squalidus* wordt bijvoorbeeld gedacht dat zij is ontstaan uit een hybride van *S. aethensis* en *S. chrysanthemifolius*. Hybriden van de laatst genoemde soorten werden vanuit een natuurlijke populatie op de berg Etna (Sicilië) overgebracht naar Groot-Brittannië waar ze zich als een hybridesoort vestigden (Abbott et al. 2000; 2002). Op de zelfde wijze heeft hybridisatie tussen *S. vulgaris* en *S. squalidus* geleid tot het ontstaan van de polyploïde soorten *S. cambrensis* en *S. eboracensis* op de Britse eilanden (Abbott and Lowe 2004). Een mooi onderzoek van Kim et al. (2008) heeft aangetoond dat een specifiek kenmerk van de ene naar de andere soort kan worden doorgegeven. De introductie van *S. squalidus* in Engeland heeft niet alleen de vorming van twee nieuwe hybridesoorten (*S. eboracensis* en *S. cambrensis*) tot gevolg gehad, maar heeft ook lintbloemen als eigenschap aan *S. vulgaris* doorgegeven (Kim et al. 2008). Diverse andere artikelen over hybridisatie tussen verschillende Seneciosoorten (bijvoorbeeld *S. vulgaris* en *S. vernalis*; Comes 1994, *S. germanicus*, *S. hercynicus* en *S. ovatus*; Hodalova and Marhold; Hodalova 2002, *S. keniodendron* en *S. keniensis*; Beck et al. 1992) geven de indruk dat evolutie via hybridisatie binnen dit genus zeer veel voorkomt.

In mijn proefschrift (Kirk 2009) koos ik voor *S. jacobaea* en *S. aquaticus** omdat, ondanks de grote verschillen in ecologische verspreiding, er veel gevallen van hybridisatie tussen beide soorten bekend zijn. *Senecio jacobaea* komt voornamelijk voor in verstoorde en voedselarme habitats. *S. aquaticus* daartegen groeit voornamelijk in voedselrijke habitats die in de winter kunnen overstroomd worden en een dichte vegetatie bezitten. Daarnaast worden deze soorten belaagd door verschillende soorten specialistische en generalistische herbivoren en maken ze verschillende typen pyrrolizidine alkaloiden. Dat zijn secundaire plantestoffen die een rol spelen bij hun interactie met natuurlijke vijanden.

Om te kunnen nagaan of hybridisatie tussen deze soorten belangrijke ecologische en/of evolutionaire gevolgen heeft, ben ik begonnen om vast te stellen of natuurlijke populaties van hybriden in Nederland voorkomen. Vervolgens heb ik het vermogen van natuurlijke hybriden om zich blijvend te vestigen en te reproduceren in de natuurlijke populatie bepaald door een schatting te maken van de vegetatieve en reproductieve fitness van gekweekte en natuurlijke hybriden in een klimaatcel. Tenslotte heb ik getest of hybridisatie van invloed is op de expressie, en uiteindelijk op de evolutie van primaire en secundaire metabolieten die een rol kunnen spelen bij hun interactie met natuurlijke vijanden.

* *S. jacobaea* en *S. aquaticus* en enkele verwante soorten worden tegenwoordig in de *Senecio* sectie *Jacobaea* geplaatst op grond van de DNA volgorde van het genoom van hun plastiden. Ze worden nu respectievelijk *Jacobaea vulgaris* en *Jacobaea aquatica* genoemd.

De ecologie van natuurlijke *Senecio jacobaea* x *Senecio aquaticus* hybriden in het natuurreservaat het Zwanenwater

Natuurlijke hybriden tussen *S. jacobaea* en *S. aquaticus* komen voor in het Zwanenwater, en naar alle waarschijnlijkheid is er al ruim 25 jaar een aanzienlijke populatie aanwezig (R. van der Meijden, persoonlijke mededeling). Een van nature hoog niveau van terugkruising naar *S. jacobaea*, zoals blijkt uit moleculair onderzoek, kan het resultaat zijn van passieve kruising van de hybriden met *S. jacobaea*, die algemener is dan *S. aquaticus* in de buurt van de hybridenzwermen. Maar het is ook mogelijk dat er selectie plaatsvindt van hybride nakomelingen met een *S. jacobaea* moeder, omdat deze misschien een hogere fitness bezitten onder de heersende omgevingsfactoren dan hybriden met een *S. aquaticus* moeder. Verder toon ik aan dat zelfs sterk teruggekruiste hybriden over een unieke mix van afweerstoffen kunnen beschikken die een combinatie vormen van PA's van beide oudersoorten.

Hoewel ik geen onderzoek naar de dynamiek van deze populatie gedurende meerdere jaren heb gedaan, is het wel duidelijk dat natuurlijke hybriden over het algemeen op zijn minst een even hoge fitness hebben als de *S. jacobaea* individuen waarmee zij in een habitat voorkomen. Een redelijk niveau van fitness van natuurlijke hybriden in combinatie met het vermogen van vroege-generatie hybriden om succesvol tot reproductie te komen, suggereert dat er geen sterke negatieve selectie plaatsvindt tegen hybriden in de hybridenzone. Het suggereert ook dat de hybridenzonatie zich potentieel over een langere periode kan handhaven of zelfs uitbreiden in concurrentie met individuen van de oudersoorten in duinen en natte weilanden.

Het vermogen van hybriden om het beter te doen dan hun ouders wat betreft vegetatieve groei is duidelijk aanwezig bij de F_1 hybriden (Figuur 1). Het zijn onder de meeste omstandigheden krachtige groeiers in vergelijking met beide oudersoorten en zelfs de natuurlijke hybriden. Als groeikrachtige F_1 hybriden in de natuur vaak gevormd worden, dan zal hun aanwezigheid een groot effect op de populatiedynamiek van beide oudersoorten in het Zwanenwater hebben. Uit ons moleculaire onderzoek blijkt echter dat intermediaire, op F_1 hybriden lijkende genotypen, relatief zeldzaam zijn in de natuurlijke populatie.



Figuur 1. Bloemhoofjes van eerste-generatie (F_1) hybriden van *Senecio jacobaea* en *Senecio aquaticus* (de twee bloemhoofjes onderaan) en bloemhoofjes van de kruisingsouders (*Senecio aquaticus* linksboven en *Senecio jacobaea* rechtsboven).

Er zijn minstens twee redenen waarom maternale effecten een grote rol kunnen spelen bij de dynamiek van hybride populaties. Ten eerste zijn (F_1) hybride nakomelingen van *S. jacobaea*-moederplanten veel groeikrachtiger dan die van *S. aquaticus*-moederplanten. Als zulke maternale effecten worden overgedragen naar volgende generaties, dan kunnen terugkruisingen naar *S. jacobaea* succesvoller zijn dan die naar *S. aquaticus*. Dit kan een verklaring zijn voor het hoge niveau van terugkruising naar de oorspronkelijke oudersoort zoals blijkt uit de moleculaire studies. Ten tweede hebben metingen van het reproductieve succes van F_1 hybriden in vergelijking tot hun oudersoorten laten zien dat F_1 terugkruisingen naar *S. aquaticus* meer en grotere zaden produceren dan die naar *S. jacobaea*, wat de vegetatieve voordelen die een hybride nakomeling van een *S. jacobaea* moeder ondervindt gedeeltelijk tegenwerkt. Voor vaststellen van de mogelijke rol van maternale effecten op de dynamiek van hybride zwermen is dan ook aanvullend veldonderzoek nodig.

Samenvattend laten de bovenstaande resultaten zien dat de hybridenzone in het Zwanenwater niet in stand wordt gehouden via een evenwicht tussen verspreiding van hybriden in de zone gevolgd door een negatieve selectie zoals wordt voorgesteld door Barton en Hewitt's (1985) in hun 'tension zone model'. Hoewel de oudersoorten duidelijk voorkomen in het voor hen meest geschikte habitat, zijn er weinig aanwijzingen dat hybriden in vergelijking met de oudersoorten in sommige omgevingen relatief fitter zijn dan in andere. De hier beschreven studies geven de indicatie dat efemere genetische effecten, zoals heterose en maternale effecten, in combinatie met passieve verspreiding en mogelijk genotype-specifieke selectie op hybride individuen, de genetische samenstelling en geografische verspreiding van de hybridenpopulatie bepalen.

Evolutionaire consequenties

Variabiliteit in hybride genotypen is één van de terugkerende thema's in de resultaten in mijn proefschrift. Veel auteurs hebben geprobeerd om klassen van hybriden (bijvoorbeeld F_1 , F_2 , TK = terugkruising) onderling en met hun oudersoorten te vergelijken, zonder rekening te houden met genotypische variatie binnen deze klassen (Campbell and Waser 2001; Johnston et al. 2001a; Hochwender and Fritz 2004). Vanuit de klassieke Mendeliaanse genetica gezien, is het duidelijk dat binnen F_2 en TK planten segregatie plaatsvindt. De variatie binnen de F_2 en TK wordt vergroot door segregatie, en door recombinatie ontstaan nieuwe combinaties van genen. Dat maakt de variatie in segregerende F_2 -populaties, en in mindere mate in TK populaties vanuit een evolutionair oogpunt zeer interessant. Zo hebben diverse auteurs er op gewezen dat de variatie tussen hybride individuen erg groot kan zijn en dat deze variatie de basis van het grote adaptatievermogen van hybride genotypen kan zijn (Johnston et al. 2001; Gross et al. 2004).

Waarnemingen met betrekking tot het reproductieve succes en de fytochemie van *S. jacobaea* x *S. aquaticus* hybriden ondersteunen de conclusie dat het door de grote variatie onmogelijk is om een allesomvattende conclusie over de fitness van hybriden in relatie tot de oudersoorten te trekken. Het reproductieve succes van vroege-generatie hybriden is afhankelijk van de genetische interactie tussen de kruisingsouders, in die zin dat het reproductiesucces van een individu alleen gemeten kan worden in relatie tot de beschikbare pool van individuen waarmee kruising kan plaatsvinden. Verder kan het reproductiesucces van genotypen binnen een hybrideklasse afhangen van aanvullende factoren zoals bloem-morfologie (die zeer variabel is tussen genotypen, Kim et al. 2008) en concurrentie om pollen.

In mijn proefschrift toon ik aan dat zelfs F_1 -hybride genotypen zeer variabel kunnen zijn, wat er op wijst dat in de productie van primaire en vooral secundaire metabolieten, al veel genetische variatie bij de beide oudersoorten aanwezig moet zijn. Verwacht mag worden dat de variatie in segregerende generaties zelfs nog groter zal worden door middel van transgressieve segregatie. Behalve dat primaire (Zangerl and Berenbaum 2004) en secundaire metabolieten (O'Reilly-Wapstra et al. 2005) een belangrijke rol spelen bij de interactie met veel verschillende natuurlijke vijanden, zijn zij betrokken bij een groot aantal andere processen. We hebben gevonden dat hybridisatie de expressie van verschillende primaire en secundaire metabolieten, waaronder pyrrolizidine alkaloiden, kan veranderen. Dit wijst erop dat hybridisatie een belangrijke rol kan spelen bij de evolutie van metabolische expressie.

Aanvullend hierop, kan de variatie in ecologisch belangrijke kenmerken zoals PA-expressie, bloem-morfologie en zaadgrootte, de basis vormen voor studies naar de natuurlijke selectie of genetische regulatie van deze kenmerken (bijvoorbeeld Lexer et al. 2003; Kim et al. 2007, Leiss et al. 2009). Inter-specifieke hybriden kunnen zo een belangrijk instrument voor verdere evolutionaire studies vormen.

Hybridisatie in *Senecio*

Er zijn talrijke meldingen van hybridisatie tussen soorten binnen het genus *Senecio* en diverse *Senecio*-soorten zijn ontstaan als gevolg van hybridisatie. De studies van Richard Abott en zijn collega's in het bijzonder, zijn zeer nuttig geweest om het belang van hybridisatie tussen verschillende soorten binnen dit genus te demonstreren. Veel andere onderzoekers zijn zich echter niet of onvoldoende bewust geweest van het belang van hybridisatie voor ecologische interacties en voor de diversificatie van *Senecio*-soorten. Hoewel de totale rol die hybridisatie speelt in de soortsvorming binnen het genus hier niet besproken is, zou die rol wel eens cruciaal kunnen zijn om te begrijpen waarom *Senecio*-soorten zo succesvol zijn in vergelijking met andere genera.

Een grote barrière om de rol van hybridisatie vast te stellen bij soortsvorming in fylogenetische/evolutionaire studies, was dat er tot voor kort geen instrumenten beschikbaar waren om moleculaire aanwijzingen van hybridisatie te herkennen. Door recente ontwikkelingen op dit gebied zijn er nu sterk verbeterde methoden beschikbaar die systematische identificatie van interspecifieke geneflow in speciatie studies mogelijk maken (Seehausen 2004; Linder and Rieseberg 2004, Kim et al. 2008).

Deze studie is de aanzet geweest voor onderzoek naar hybriden tussen *S. jacobaea* en *S. aquaticus* door de onderzoeksgroep Plantenecologie en Fytochemie in Leiden. Van de kruising tussen *S. jacobaea* en *S. aquaticus* zijn P, F₁ en 130 F₂ lijnen gemaakt die worden aangehouden om de variatie in chemische, fysiologische en morfologische kenmerken te bestuderen. De evolutionaire gevolgen van een dergelijke variabiliteit en recombinatie in de F₂-generatie kunnen op deze manier zowel in het veld als in het laboratorium worden bestudeerd. (Leiss et al. 2009). Er wordt een genetische kaart gemaakt die het mogelijk zal maken om de relatie tussen verschillende kenmerken te bestuderen en om het aantal genen dat bepalend is voor deze kenmerken te achterhalen.

Literatuur

- Abbott RJJ, K James, DG Forbes & HP Comes 2002. Hybrid origin of the Oxford ragwort, *Senecio squalidus* L.: morphological and allozyme differences between *S. squalidus* and *S. rupestris* Waldst. and Kit. *Watsonia* 24: 17-29
- Abbott RJJ, K James, JA Irwin & HP Comes 2000. Hybrid origin of the Oxford ragwort, *Senecio squalidus* L. *Watsonia* 23: 123-138
- Abbott RJ & Lowe AJ 2004. Origins, establishment and evolution of new polyploid species: *Senecio cambrensis* and *S. eboracensis* in the British Isles. *Biological Journal of the Linnean Society* 82: 467-474.
- Albrechtsen BR, Gutierrez L, Fritz RS, Fritz RD & Orians CM 2007. Does the differential seedling mortality caused by slugs alter the foliar traits and subsequent susceptibility of hybrid willows to a generalist herbivore? *Ecol. Entomol.* 32: 211-220.
- Bangert RK, Turek RJ, Martinsen GD, Wimp GM, Bailey JK & Whitham TG 2005. Benefits of conservation of plant genetic diversity to arthropod diversity. *Conservation Biology* 19: 379-390.
- Beck E, Scheibe R, Schlutter I & Sauer W 1992. *Senecio x saundersii* Sauer and Beck (Asteraceae), an intermediate hybrid between *S. keniodendron* and *S. keniensis* of Mt Kenya. *Phyt. Ann. Rei Bot.* 32: 9-17
- Blair AC, Schaffner U, Hafliger P, Meyer SK & Hufbauer RA 2008. How do biological control and hybridization affect enemy escape? *Biol. Control* 46: 358-370.
- Campbell DR & Waser NM 2001. Genotype-by-environment interaction and the fitness of plant hybrids in the wild. *Evolution* 55: 669-676.
- Comes HP 1994. The occurrence of *Senecio vulgaris* L var *vulgaris* and *S x helwingii* Beger ex hegi *S. vulgaris* x *S. vernalis* Waldst et Kit in Israel. *Isr. J. Plant Sci.* 42: 105-113.
- Darwin C 1859. On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life. John Murray, London.
- Gross BL, Kane NC, Lexer C, Ludwig F, Rosenthal DM, Donovan LA & Rieseberg LH 2004. Reconstructing the origin of *Helianthus deserticola*: Survival and selection on the desert floor. *American Naturalist* 164: 145-156.
- Hochwender CG & Fritz RS 2004. Plant genetic differences influence herbivore community structure: evidence from a hybrid willow system. *Oecologia* 138: 547-557.
- Hodalova I 2002. A new hybrid *Senecio X slovacus* from the *S. nemorensis* group (Compositae) in the West Carpathians. *Biologia* 57: 75-82.

-
- Hodalova I & Marhold K 1996. Sympatric populations of *Senecio ovatus* subsp *ovatus*, *S. germanicus* subsp *germanicus* (Compositae) and their hybrid in the Carpathians and the adjacent part of Pannonia .1. Multivariate morphometric study. *Flora* 3: 283-290.
 - Johnston JA, Grise DJ, Donovan LA & Arnold ML 2001. Environment-dependent performance and fitness of *Iris brevicaulis*, *I-fulva* (Iridaceae), and hybrids. *American Journal of Botany* 88: 933-938.
 - Johnston JA, Wesselingh RA, Bouck AC, Donovan LA & Arnold ML 2001. Intimately linked or hardly speaking? The relationship between genotype and environmental gradients in a Louisiana *Iris* hybrid population. *Molecular Ecology* 10: 673-681.
 - Kim M, Cui ML, Cubas P, Gillies A, Lee K, Chapman MA, Abbott RJ & Coen E 2008. Regulatory Genes Control a Key Morphological and Ecological Trait Transferred Between Species. *Science* 322: 1116-1119
 - Kirk H 2009. Natural hybridization between *Senecio jacobaea* and *Senecio aquaticus*: ecological outcomes and evolutionary consequences. Proefschrift Universiteit Leiden. Online te lezen bij: <https://openaccess.leidenuniv.nl/bitstream/1887/14333/1/Kirk-thesis%5B1%5D.pdf>
 - Leiss KA, Choi YH, Abdel-Farid IB, Verpoorte R & KLinkamer PGL 2009. NMR Metabolomics of Thrips (*Frankliniella occidentalis*) Resistance in *Senecio* Hybrids. *J. Chem. Ecol.* 35: 219-229.
 - Lexer C, Welch ME, Raymond O & Rieseberg LH 2003. The origin of ecological divergence in *Helianthus paradoxus* (Asteraceae): selection on transgressive characters in a novel hybrid habitat. *Evolution* 57: 1989-2000.
 - Linder CR & Rieseberg LH 2004. Reconstructing patterns of reticulate evolution UN plants. *Am. J. Bot.* 91: 1700-1708.
 - O'Reilly-Wapstra JM, Potts BM, McArthur C, Davies NW & Tilyard P 2005. Inheritance of resistance to mammalian herbivores and of plant defensive chemistry in a *Eucalyptus* species. 2005. *J. Chem. Ecol.* 31: 519-537.
 - Rieseberg LH, Raymond O, Rosenthal DM, Lai Z, Livingstone K, Nakazato T, Durphy JL, Schwarzbach AE, Donovan LA & Lexer C 2003. Major ecological transitions in wild sunflowers facilitated by hybridization. *Science* 301: 1211-1216.
 - Rieseberg LH 2009. Evolution: Replacing Genes and Traits through Hybridization. *Current Biology* 19: R119-R122
 - Seehausen O 2004. Hybridization and adaptive radiation. *TREE* 19:4, 198-207.
 - Wimp GM, Martinsen GD, Floate KD, Bangert RK & Whitham TG 2005. Plant genetic determinants of arthropod community structure and diversity. *Evolution* 59: 61-69.
 - Zangerl AR & Berenbaum MR 2004. Genetic variation in primary metabolites of *Pastinaca sativa*; Can herbivores act as selective agents? *Journal of Chemical Ecology* 30: 1985-2002.