

Experimentelle Evolution

Genomische Signaturen des Übergangs zur Mehrzelligkeit

LUTZ BECKS¹, UWE JOHN^{2, 3}

¹ LIMNOLOGISCHES INSTITUT, UNIVERSITÄT KONSTANZ

² ALFRED-WEGENER-INSTITUT, HELMHOLTZ-ZENTRUM FÜR POLAR- UND MEERESFORSCHUNG, BREMERHAVEN

³ HELMHOLTZ-INSTITUT FÜR FUNKTIONELLE MARINE BIODIVERSITÄT AN DER UNIVERSITÄT OLDENBURG (HIFMB)

We examined the evolution of cell groups in ten isogenic lines of the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii* upon exposure to a rotifer predator and found that cell groups evolving in the presence of predation had increased survival compared to single cells but at a cost of reduced reproduction. Identical mutations evolved in cell group isolates and were associated with their growth form. The observation of repeated genomic changes after 500 generations of predator selection, suggest some level of deterministic evolution.

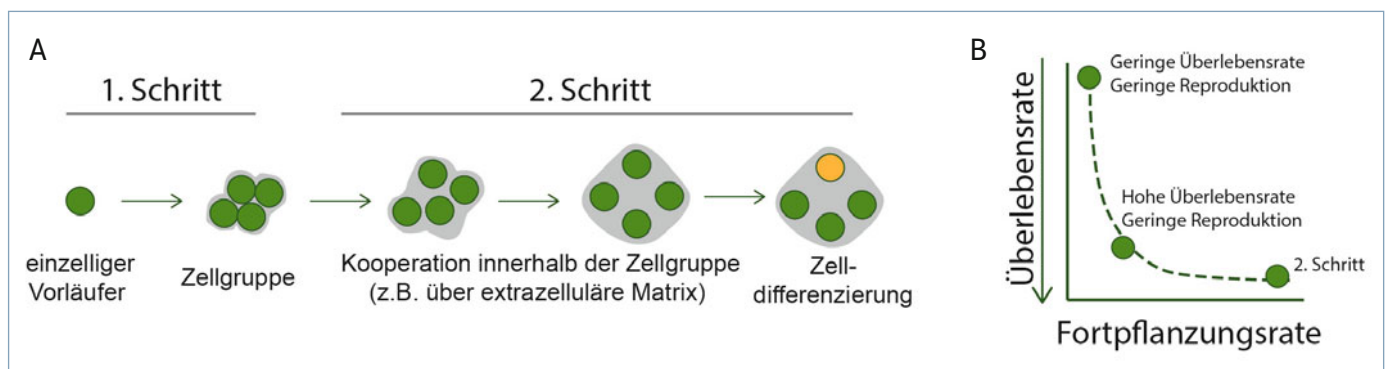
DOI: 10.1007/s12268-022-1764-z
© Die Autoren 2022

■ Mehrzelligkeit hat sich im Laufe der Erdgeschichte wiederholt und unabhängig voneinander entwickelt und hat wesentlich zur Entstehung der biologischen Vielfalt beigetragen [1]. Die allgemeinen Bedingungen, die die Entstehung der Mehrzelligkeit begünstigen haben, wie z. B. die Selektion durch Fraßfein-

de mit begrenzter Zellmundgröße [2], und die allgemeinen zellulären Schritte, die zu dieser grundlegenden evolutionären Veränderung geführt haben, sind bereits recht gut untersucht. So zeigen vorangegangene Studien, dass die Entwicklung der Mehrzelligkeit aus einzelligen Vorfahren wahrscheinlich in

zwei wesentlichen Schritten erfolgte [3]. Zunächst entstehen Zellgruppen, entweder durch den Zusammenschluss von oft nicht verwandten Zellen einer Art [4] oder weil sich Zellen nach der Zellteilung nicht mehr voneinander trennen (**Abb. 1A**, [5]). In der Folge entwickeln die Zellen einer Gruppe dann ein höheres Maß an Kooperation, z. B. durch effizientere gemeinsame Nutzung von Ressourcen, was schließlich zur Entwicklung der Zelldifferenzierung innerhalb des Aggregats und damit zu mehrzelligem Leben führen kann (**Abb. 1A**).

Für diesen zweiten Schritt spielt die Balance (Trade-off) zwischen Überleben und Fortpflanzung der Zellgruppe eine entscheidende Rolle [6]. Tatsächlich ist Mehrzelligkeit nur dann zu erwarten, wenn Selektion zunächst zu Zellgruppen führt, die eine höhere Überlebenswahrscheinlichkeit, aber eine geringere Fortpflanzungsrate als ihre einzelligen Vorfahren haben (**Abb. 1B**). Wenn sowohl die Überlebens- als auch die Fortpflanzungsrate schon von undifferenzierten Zellgruppen hoch sind, ist der zweite Schritt hin zur Mehrzelligkeit weniger wahrscheinlich, da die Zellgruppen bereits beide Eigenschaften optimiert haben. Unter diesen Bedingungen



▲ **Abb. 1:** Konzeptueller Rahmen zur Evolution von Mehrzelligkeit von einzelligen Vorläufern. **A**, Der erste Übergang führt zu einem Wachstum in Aggregaten, in denen die Zellen des Aggregats z. B. durch eine extrazelluläre Matrix (grau) zusammengehalten wird. Beim zweiten Übergang differenzieren sich die Zellen innerhalb des Aggregats in mehreren Schritten in Somazellen, die den Körper darstellen und die Überlebensfähigkeit des Individuums sicherstellen (dunkelgrüne Zellen), und Keimzellen, die die Fortpflanzung des Individuums sicherstellen (orange Zelle). **B**, Voraussichtliche Verteilung der Merkmale Reproduktion und Überleben von Zellgruppen (1. Übergang), die den 2. Übergang ermöglichen kann: Zellgruppen haben eine höhere Überlebensfähigkeit, aber eine niedrigere Fortpflanzungsrate. Wenn der erste Übergang die Fortpflanzungsrate, aber nicht die Überlebensfähigkeit erhöht, wird vorhergesagt, dass die Selektion nur schnell wachsende Einzelzellen hervorbringt, aber weitere Schritte in Richtung mehrzelliges Leben werden nicht vorhergesagt.

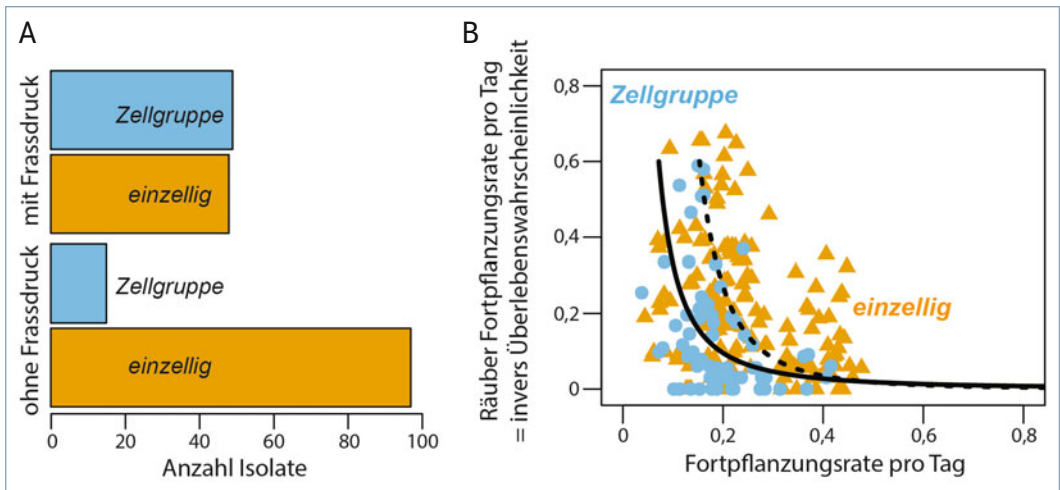
ist die Selektion zur Differenzierung in Keimzellen, die die Fortpflanzung der Zellgruppe gewährleisten, und in Zellen des Somas, die das Überleben sichern, nur schwach. Diese Vorhersage wurde noch nicht getestet, und diese entscheidenden evolutionären Übergänge sind sowohl auf ökologischer als auch auf genetischer Ebene kaum verstanden.

In unserer Studie haben wir die Entwicklung von Zellgruppen aus einzelligen Vorläufern der Grünalge *Chlamydomonas reinhardtii* untersucht [7]. Insbesondere haben wir die Hypothese getestet, ob der erste Schritt in Richtung Mehrzelligkeit zu einer Erhöhung der Überlebenswahrscheinlichkeit auf Kosten der Fortpflanzung führt.

Zusätzlich haben wir möglichen genomischen Veränderungen in *C. reinhardtii* untersucht, die mit dem Überleben und der Fortpflanzung zusammenhängen könnten. Wir nutzten experimentelle Evolution und haben zehn genetisch unterschiedliche einzellige *C. reinhardtii*-Stämme in Parallelkulturen und in Gegenwart und Abwesenheit eines planktischen Fraßfeindes (Rädertier *Brachionus calyciflorus*) wachsen lassen. Nach ca. 500 Generationen haben wir die phänotypische Variation (Zellgruppen, Überlebenswahrscheinlichkeit, Fortpflanzungsrate) von *C. reinhardtii*-Isolaten aus den verschiedenen Ansätzen untersucht. Da die Versuchsansätze mit zehn verschiedenen Stämmen gestartet wurden, konnten wir die evolutionäre intraspezifische Merkmalsvielfalt untersuchen, ohne die Selektion auf einen Genotyp zu beschränken.

Merkmalsverteilung von Zellgruppen

Nach ca. 500 Generationen konnten wir beobachten, dass die einzellige *C. reinhardtii*, wenn sie einer kontinuierlichen Selektion durch Fraß durch einen Räuber ausgesetzt ist, deutlich häufiger in Zellgruppen wächst als die *C. reinhardtii* aus den Ansätzen ohne Fraß (**Abb. 2A**). Die Zellen einer Gruppe waren in eine extrazelluläre Matrix eingebettet und das Wachstum in Zellgruppen reduziert den Fraß durch den Räuber und die Entwicklung von Zellgruppen erhöht damit die Überlebenswahrscheinlichkeit. Eine



▲ **Abb. 2:** Evolutionäre Anpassungen an Fraßdruck. **A**, Häufigkeit von Zellgruppen von Algenisolaten nach 500 Generationen in An- und Abwesenheit von Fraßdruck. **B**, Überlebenswahrscheinlichkeit und Fortpflanzungsrate der Isolate, die unter Fraßdruck gewachsen sind. Zellgruppen zeigen eine signifikante Assoziation zwischen erhöhter Überlebenswahrscheinlichkeit (gemessen als Wachstum des Räubers [5]) und Fortpflanzungsrate. Dieser Zusammenhang ist nicht signifikant für einzellige Isolate (auf der Grundlage einer nichtlinearen Modellierung der Daten nach einer Power Law-Funktion).

erhöhte Überlebenswahrscheinlichkeit war außerdem mit einer geringen Fortpflanzungsrate assoziiert. Diese Assoziation war allerdings nur für solche Zellgruppen signifikant, die sich unter dem Selektionsdruck des Räubers entwickelt haben (**Abb. 2B**). Damit konnten wir zeigen, dass die Evolution von Zellgruppen tatsächlich dem vorhergesagten Muster folgt [6, 8], wenn einzellige Vorläufer unter konstantem Fraßdruck wachsen und dass die Wahrscheinlichkeit dieses Muster zu beobachten unabhängig von den Genotypen des Vorläufers ist.

Wiederholte genomische Änderung

Weiterhin haben wir untersucht, inwieweit sich die festgestellten phänotypischen Veränderungen auch in den Genomen der einzelnen Linien nach 500 Generationen manifestiert haben. Veränderungen im genetischen Code finden immer statt und sind stochastisch, aber die Fixierung im Genom folgt der Selektion, dem entscheidenden Prozess der Evolution. In unserem Experiment sind also viele individuelle Veränderungen im genetischen Code zu erwarten, *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) und kleine Indels, von denen aber nur sehr wenige in allen Zelllinien der Versuchsserie fixiert sein dürften. Um die genomischen Veränderungen (hiernach Varianten) zu identifizieren, die möglicherweise an den phänotypischen Veränderungen beteiligt sind, haben wir die gesamten Genome von neun Paaren isolierter Algenklone sequenziert. Die *C. reinhardtii*-

Paare wuchsen entweder als Zellgruppen und stammten aus den Ansätzen mit konstantem Fraßdruck, oder sie wuchsen als Einzelzellen und stammten aus den Ansätzen ohne Räuber. Wir identifizierten Positionen entlang des Genoms, die im Vergleich zum Referenzgenom Varianten enthielten. Wir fanden eine ähnliche Gesamtzahl von Varianten für Zellgruppen (156.872 ± 84.970 für alle 9 Isolate) und für einzelne Zellen (154.314 ± 47.240).

Eine größere Anzahl dieser Varianten wurde in Zellgruppen identifiziert (181) als solche, die nur in einzelnen Zellen (83) vorkamen. 59 Varianten in Zellgruppen befanden sich in gencodierenden Regionen (Einzelzellen: 23), 24 davon führten zu Aminosäureänderungen (Einzelzellen: 12), ein Indikator für positive Selektion. Fünf der gemeinsamen Varianten mit Aminosäureänderungen aus den isolierten Zellgruppen befanden sich innerhalb des *DUF3707*-Gens (Cre01.g049826, Cre06.g290676). Dieses Gen gehört zur Familie der Pherophorine, bei denen es sich um Glykoproteine der extrazellulären Matrix handelt. Weitere Varianten wurden für Genen gefunden, die für andere Glykoproteine (Cre10.g431050), für Proteine, die an der Exkretion beteiligt sind (Cre06.g290676) codieren, und für eine 5'-Region, die Gene für extrazelluläre Matrixproteine reguliert (Cre12.g522650). Mutationen in Genen, die für Proteine im Zusammenhang mit der Nährstoffaufnahme (Cre12.g491600) und der zytosolischen Viskosität

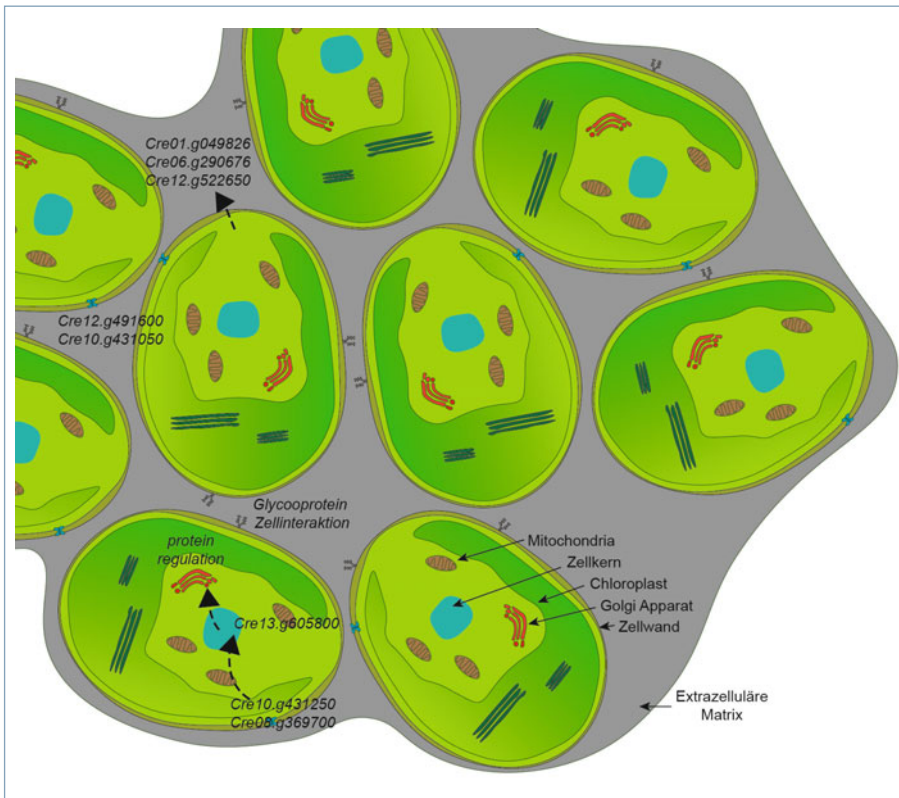


Abb. 3: Graphisches Modell der genomischen und morphologischen Veränderungen in Zellgruppen. Die Zellen einer Gruppe sind in eine extrazelluläre Matrix (grau) eingebettet, die die Zellen nach Zellteilungen zusammenhält. Prozesse, die von den nur in Zellclustern beobachteten, genomischen Veränderungen (Gen-IDs) betroffen sind, werden für verschiedene Zellen angegeben. Gestrichelte Pfeile: Fluss von Informationen und Metaboliten.

(Cre06.g266300) codieren, sowie in 3'-Regionen von Genen, die an der Stressreaktion auf CO₂-Stress beteiligt sind (Cre10.g452800), sind mögliche Reaktionen auf die Kosten des Wachstums in Zellgruppen. Die größere Zelldichte und die erhöhte Viskosität der extrazellulären Matrix beeinflusst die Verfügbarkeit und Aufnahme von Nährstoffen in Zellgruppe als auch den Gasaustausch (wichtig für Respiration und Photosynthese). Alle anderen Varianten mit vorhergesagten Aminosäureänderungen wurden in Genen, 3'- oder 5'-Regionen gefunden, die an der Protein- und Transkriptionsregulierung beteiligt sind, aber diese Funktionen waren nicht ausschließlich auf Varianten in Isolaten beschränkt, die in Zellgruppen wachsen.

Die unter Fraßdruck entwickelten Zellgruppen wiesen einzigartige genomische Variationen auf (Abb. 3), die wahrscheinlich dazu beitragen, die Zellen nach der Zellteilung zusammenzuhalten, was auf eine konsistente selektive Reaktion auf der Genomebene schließen lässt. Dieser relativ hohe

Grad an Wiederholbarkeit und die geringe Anzahl von Generationen in unseren Experimenten lassen auf einen gewissen Determinismus der phänotypischen und genomischen Reaktion von *C. reinhardtii* auf den Raubdruck schließen. ■

AUTOREN



Lutz Becks

1998–2004 Biologiestudium an der Universität zu Köln und anschließender Promotion an der Universität zu Köln unter Anleitung von Prof. Dr. H. Arndt. 2006–2008 Postdoc an der Cornell University, USA. 2008–2010 Postdoc an der University of Toronto, Kanada. 2010–2011 Postdoc an der Universität zu Köln 2011–2018 Gruppenleiter am Max-Planck-Institut für Evolutionsbiologie (Emmy-Noether Programm und Heisenberg Programm der DFG). Seit 2018 Professor am Limnologischen Institut der Universität Konstanz.



Uwe John

1991–1998 Biologiestudium an der Universität Hannover. 1998–2002 Promotion an der Universität Bremen und unter Anleitung von Prof. Dr. L. Medlin und Prof. Dr. V. Smetacek. 2002–2005 Postdoc von am Alfred-Wegener-Institut Helmholtz Zentrum für Polar- und Meeresforschung (AWI), Bremerhaven. Ab 2005 Leiter der Arbeitsgruppe Öko-Evolutionäre Genomik und Molekular Ökologie am AWI. Seit 2017 Gründungsmitglied des Helmholtz Institutes für Funktionelle Marine Biodiversität (HIFMB).

Literatur

- [1] Shelton DE, Michod RE (2014) Group Selection and Group Adaptation During a Major Evolutionary Transition: Insights from the Evolution of Multicellularity in the Volvocine Algae. *Biol Theory* 9: 452–469
- [2] Boraas ME, Seale DB, Boxhorn JE (1998) Phagotrophy by a flagellate selects for colonial prey: A possible origin of multicellularity. *Evol Ecol* 12:153–164
- [3] Niklas KJ (2014) The evolutionary-developmental origins of multicellularity. *Am J Bot* 101: 6–25
- [4] Sathé S, Durand PM (2016) Cellular aggregation in *Chlamydomonas* (Chlorophyceae) is chimaeric and depends on traits like cell size and motility. *Eur J Phycol* 51: 129–138
- [5] Becks L, Ellner SP, Jones LE et al. (2010) Reduction of adaptive genetic diversity radically alters eco-evolutionary community dynamics. *Ecol Lett* 13: 989–997
- [6] Michod RE (2006) The group covariance effect and fitness trade-offs during evolutionary transitions in individuality. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 9113–9117
- [7] Bernardes JP, John U, Woltermann N et al. (2021) The evolution of convex trade-offs enables the transition towards multicellularity. *Nat Commun* 12: 4222
- [8] Michod RE, Viostat Y, Solari C.A et al. (2006) Life-history evolution and the origin of multicellularity. *J Theor Biol* 239: 257–272

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadressen:

Prof. Dr. Lutz Becks
 Universität Konstanz
 Limnologisches Institut
 Aquatic Ecology and Evolution Group
 Mainaustraße 252
 D-78464 Konstanz
lutz.becks@uni-konstanz.de

Dr. Uwe John
 Alfred-Wegener-Institut
 Helmholtz-Zentrum für Polar- und Meeresforschung
 Am Handelshafen 12
 D-27570 Bremerhaven
uwe.john@awi.de