

Bananfluer og stress

- evolution i ugunstige miljøer

Hvordan tilpasser arter sig ugunstige miljøer? Studier af bananfluer kaster nyt lys over denne fundamentale proces i naturen.

Af Jesper Givskov Sørensen, Jesper Dahlgaard og Volker Loeschcke

■ Det er farligt at være til. Hvad enten det drejer sig om bakterier, planter eller dyr, er alle organismers overlevelse og formering til stadighed truet af f.eks. rovdyr, sygdomme og fødekonskurrenter. Derudover skal en organisme for at overleve kunne klare de påvirkninger, det omgivende miljø udsætter den for. Dette er f.eks. temperatur, luftfugtighed, kemiske stoffer som sprøjtegifte, UV- og radioaktiv stråling eller tungmetaller. Mange af disse faktorer forekommer naturligt, men flere og flere skyldes menneskelig aktivitet. Derfor er der en stigende interesse for, hvordan organismer i evolutionær forstand tilpas-

ser sig sådanne ugunstige forhold.

I vores forskningsgruppe er vi primært interesseret i, hvordan organismer reagerer på og tilpasser sig forskellige temperaturer – en problemstilling, som bl.a. er aktuell set i lyset af den globale opvarmning.

Vi arbejder konkret med bananfluer, som vi kan eksperimentere med i laboratoriet, ligesom vi kan studere karakteristika hos naturlige populationer. Vores mål er at forstå betydningen af de adfærdsmæssige, fysiologiske og molekylære mekanismer, der tillader bananfluearter at overleve under variable og til tider ugunstige betingelser.

Temperaturens betydning

Hvis et individs succes (eksempelvis overlevelse eller antal afkom) betragtes i forhold til temperaturen (eller en anden miljøfaktor), forventes en kurve som i figur 1. Omkring en bestemt temperatur er levebetingelserne gode, og succesen maksimal (grønt område). Udsættes organismen for en lavere eller højere temperatur, har det en markant indvirkning på succesen, selv om fortsat eksistens, i hvert fald for en tid, stadig er mulig. Vi siger, at organismen er under *stress* (rødt område). Uden for et vist temperaturområde er eksistens slet ikke mulig (sort område).

Er der arvelig variation mellem individer, vil de bedst tilpassede, der er i det grønne område, have større succes og får flere afkom, og populationen udvikler sig mod bedre tilpasning til det pågældende miljø. Denne proces afspejler evolutionær tilpasning.

Et specielt forhold ved temperatur er den store variation, der forekommer, ikke kun mellem levesteder, men også inden for levesteder. Temperaturen kan veksle betydeligt i løbet af både døgnet og over året, hvilket udgør en speciel tilpasmæssig udfordring, da organismen skal kunne tåle et bredt temperaturspektrum.

I lighed med temperaturen kan andre miljøstressfaktorer udgøre

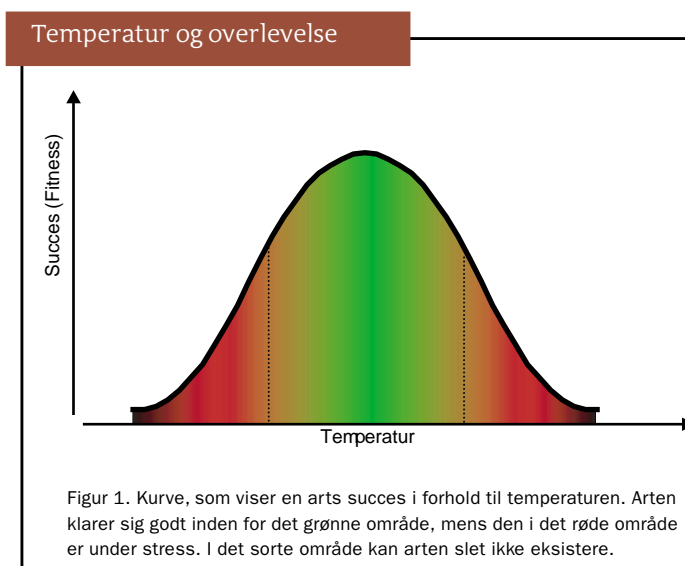
en trussel for den enkelte organismes trivsel. Vore studier af tilpasning til temperaturstress kan derfor i høj grad have betydning for forståelsen af andre miljøstressfaktorerens effekt på organismers trivsel.

Organismens respons på stress

Når en organisme har mindre succes under ugunstige forhold som f.eks. høj temperatur, skyldes det bl.a., at der opstår skader på organismen – især på proteiner i cellerne. Skaderne medfører nedsat funktionsdygtighed af cellen, og kræver tid og energi til oprydning. Resultatet for individet kan bl.a. være nedsat formering, nedsat modstandsdygtighed over for sygdomme og i værste fald død. Lykkes det ikke for et individ, at formere sig er det i principet "genetisk dødt". Derfor må man forvente, at den naturlige udvælgelse vil favorisere mekanismer, der nedsætter de skadelige effekter af ugunstige miljøfaktorer, så disse mekanismer spredes i populationerne. Sådanne mekanismer er udbredte, og har muliggjort, at selv de mest ekstreme miljøer på jorden er beboet af liv.

Tre typer af respons

Der findes i hovedtræk tre forskellige kategorier af respons, som alle tjener til at begrænse, eller helt at undgå, de negative



konsekvenser af høje temperaturer.

I. Dyr kan ofte ved deres adfærd regulere, hvilke temperaturer de udsættes for. De kan f.eks. opholde sig i skyggen og være inaktive i varme perioder midt på dagen, eller de kan henlægge aktiviteten til mere gunstige områder.

II. Mange dyr har fysiske tilpasninger, f.eks. graden af behåring eller størrelsen af ører, som kan være med til at holde på kropsvarmen (koldt miljø) eller komme af med overskudskropsvarme (varmt miljø). Graden af pigmentering er også med til at bestemme, hvor meget af solens energi en organisme absorberer. Dette kan have stor betydning, eksempelvis for insekter i relativt kølige miljøer, der skal opretholde en højere kropstemperatur end omgivelsernes for at

kunne flyve.

III. En organisme kan også reagere på en temperaturpåvirkning ved hjælp af fysiologiske eller molekylære mekanismer. Et vigtigt eksempel på dette er en gruppe af proteiner, kaldet *varmechok-proteiner*, som dannes, når en organisme udsættes for høje temperaturer eller andre stressfaktorer. Varme-chok-proteinerne modvirker nogle af de molekylære skader, som høje temperaturer kan forårsage (se Boks 1), og organismen bliver altså i stand til at opretholde cellernes og dermed kroppens funktioner, samtidig med at den kan forblive i det pågældende miljø.

Akklimatisering

En fordel ved varmechok-proteiner er, at mængden kan reguleres op og ned afhængig af miljø-



Foto: Volker Loeschke

Bananfluer af arten *Drosophila buzzatii* indsamles i Argentina. Fluerne lever udelukkende i figenkaktus af slægten *Opuntia*.

Varme-chok-proteiner og deres funktion

Det primære produkt af gener er proteiner, der er bygget op af kæder af aminosyrer. Den 3-dimensionelle struktur eller foldningen af proteiner er afgørende for, at disse kan varetage deres funktioner i cellerne. Ændring i temperatur (og mange andre faktorer) har betydning for stabiliteten af den foldede struktur, hvilket forklarer temperaturens rolle som potentiel "stressfaktor". Ved stigende temperatur falder stabiliteten, og proteinet kan ligefrem begynde at "folde sig ud" og derved miste sin funktion. Udfoldede proteiner bindes let til hinanden i svært opløselige aggregater, og tabes dermed for cellen, der, hvis den overlever, må bruge tid og energi på at producere nye proteiner. Er skaderne for omfattende, vil cellen ikke kunne overleve. Dør for mange celler, kan dette true organismens overlevelse.

En lang række af varmechok-proteiner produceres, efter at organismen udsættes for stress, f.eks. ekstreme miljøfaktorer som høj temperatur. Nogle af disse

varmechok-proteiner, bl.a. Hsp70, produceres meget hurtigt, efter at ødelagte proteiner optræder i cellen som følge af stresset. Hsp70 kan afværge nogle af de skadelige effekter på cellens andre proteiner og øge hastigheden, hvorved cellen vender tilbage til normal tilstand. Cellens normale funktioner ophører, mens stresset står på, man kan sige, at cellen overgår til en "undtagelsestilstand", hvor de samlede ressourcer dirigeres i retning af produktionen af varmechok-proteiner. Denne respons kaldes i dag *stress-responsen*, idet den kan fremkaldes af mange forskellige

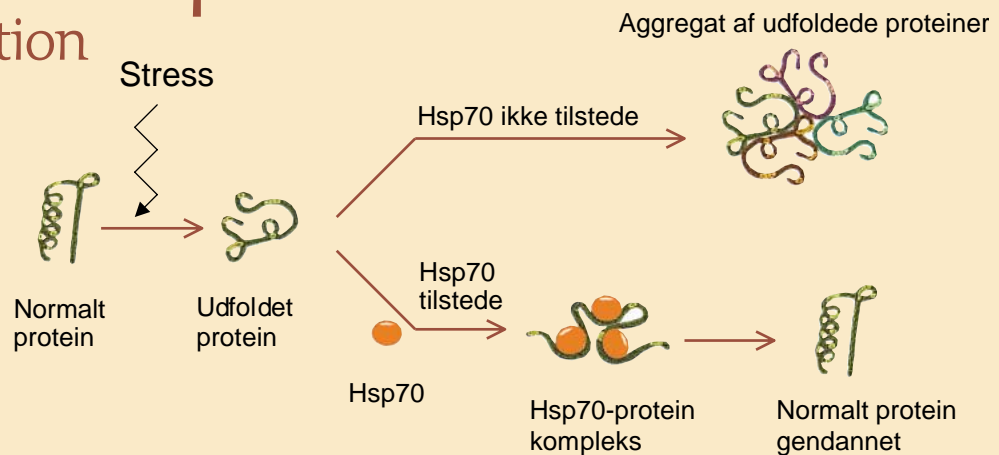
typer af stress – der alle har samme molekylære konsekvenser som varmestress.

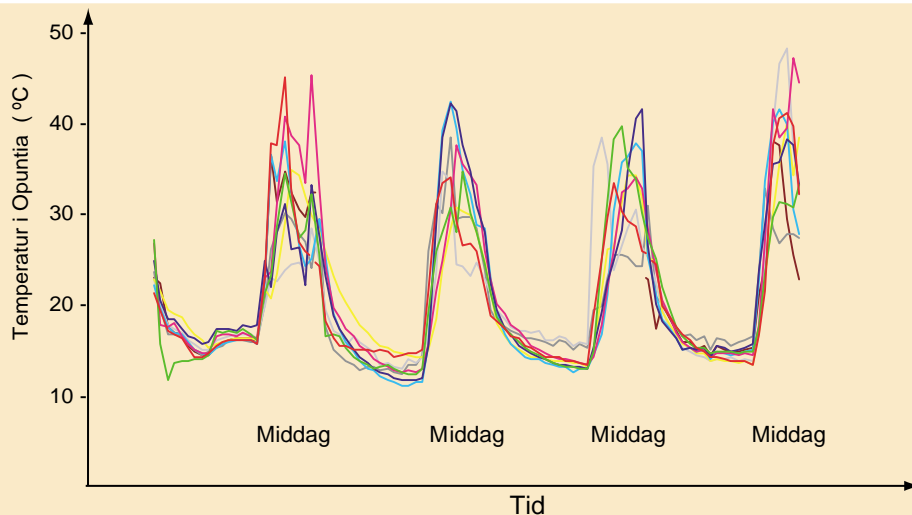
Varme-chok-proteinerne virker ved at binde sig til og fastholde proteiner, der er begyndt at folde sig ud. På denne måde bliver proteinet stabiliseret. Efter stressets ophør frigøres proteinet, og varmechok-proteinet kan assistere i proteinets genfoldning, hvorved den normale funktion genetableres. Således sparer cellen både tid og energi, da den ikke skal gendanne alle proteinerne fra nye. Varme-chok-proteiner

kan øge chancen for at overleve et varmechok betragteligt.

Under normale forhold er varmechok-proteinet Hsp70 mere til skade end gavn, idet det f.eks. binder sig til nyligt producerede proteiner, og blokerer disse proteiners normale funktion (se figuren).

På engelsk kaldes denne type af proteiner i øvrigt for *chaperones* (hvilket på dansk betyder anstands dame) pga. deres molekylære funktion, der forhindrer "upassende forbindelser" mellem cellens proteiner.





Figur 2. Temperaturen målt over 4 døgn i figenkaktuser, hvor bananfluer blev udklækket. Fluerne overlever daglige temperaturchok på 40° - 50° C.

forholdene. En stressfaktor i miljøet kan altså ændre på organismens egenskaber, hvilket simpelthen svarer til, at individet vænner sig til de nye forhold.

Det er i mange tilfælde blevet observeret, at en organisme, der for nylig har været udsat for et mildt stress, har øget chance for at overleve et senere potentielt dødeligt stress. Dette fænomen kaldes *akklimatisering*, og det involverer drastiske fysiologiske ændringer i cellerne, herunder aktiveringen af varmechok-proteiner. Mange typer af stress i

miljøet udløser disse responsmekanismer, heriblandt varme-stress. Det tager kun få minutter at aktivere de hurtigste af disse akklimatiseringsmekanismer, og pga. den korte responstid er beskyttelsen opnået via akklimatisering særlig vigtig i variable miljøer, hvor stressfaktorerne er uforudsigelige.

Beskyttelse har omkostninger

En grundhypotese i evolutionsbiologien er, at de strategier, der er fremherskende i naturen, er

blandt de bedste af de for tiden tilgængelige strategier. Når nu alle miljøer er potentielt ugunstige – hvorfor så ikke sikre sig og være godt beskyttet hele tiden, f.eks. gennem en kontinuerlig produktion af varmechok-proteiner? Det gælder for alle biologiske processer, at de har omkostninger, ofte i form af energiforbrug. De enkelte individer har kun en vis mængde energi til rådighed, og denne skal fordeles mellem egen vækst, overlevelse (herunder stresstolerance) og formering. Der skal altså ske en afvejning af investeringen i disse faktorer, for at skabe den optimale balance mellem fordele og ulemper (man kan populært sagt ikke både blæse og have mel i munden!). På denne måde repræsenterer ethvert miljø en speciel udfordring, som udelukker eksistensen af visse arter, eller som kræver en speciel udvikling af bestemte stressresponsmekanismer hos en art, som måske ikke er nødvendig for den samme art i andre miljøer.

Forsøg med bananfluer

Som nævnt studerer vi bananfluer, som er velegnede modelorganismer, da de er forholdsvis lette at holde i laboratoriet og har en kort generationstid (10-14 dage afhængigt af arten). Selvom den er et lille insekt, besidder bananfluen alle tre tidligere nævnte forsvarsmekanis-

mer (adfærdsmæssige, fysiske og fysiologiske/molekylære tilpasninger). En anden fordel er, at der findes arter af bananfluer over næsten hele verden, som er tilpasset mange forskellige miljøer. Ved at sammenligne populationer, der er tilpasset vidt forskellige miljøer, kan vi afsløre de mekanismer, der er ændret i de respektive miljøer, og dette kan fortælle os om den udvikling, der har ført til forskellene i disse mekanismer. Samtidig kan vi indkredse de miljøfaktorer, der i naturen er vigtige, og derfor har stor evolutionær betydning.

Varme-chok-proteiner er nøje reguleret

I laboratoriet har vi bl.a. beskæftiget os med et bestemt varmechok-protein (kaldet Hsp70) og dets rolle for varmetolerance. Når en organisme klarer sig bedre efter akklimatisering, kan dette i flere tilfælde delvis tilskrives mængden af dette protein. Det har samtidig vist sig, at mængden af varmechok-protein, der produceres efter et stress, er meget nøje reguleret. Dette har givet stof til eftertanke, da man umiddelbart skulle tro, at jo mere jo bedre. Via forsøg kunne vi imidlertid konstatere, at varmechok-proteiner har negative effekter på celler under normale forhold (se boks 1). Da organismen har stor fordel af Hsp70 ved miljøstress, men ulemper af det ved normale forhold, drejer det sig altså om at opnå en regulering af proteinet, der sikrer et optimalt niveau.

Ved at udsætte bananfluer i laboratoriet for høje temperaturer dagligt, ligesom i naturen (se figur 2) har vi gennem generationer øget varmetolerancen hos fluerne. I disse populationer, som på denne måde er blevet *selekteret* for varmetolerance, har vi observeret en bemærkelsesværdig nedregulering af varmechok-protein. Med andre ord – efterhånden som de nye, stadig mere varmetolerante generationer af bananfluer udvikler sig, danner disse stadig mindre og mindre varmechok-protein. Andre må være for-

Gener og egenskaber

I disse år kortlægges arvemassen af en række forskellige organismer. Denne nye information har medført nye metoder til studier af evolution. Disse studier forsøger at koble den genetiske information for en organisme med variationen i det, man kalder *fænotypen* – dvs. organismens karakteristika som f.eks. størrelse, opbygning, adfærd mv.

Vi ved, at DNA-koden er grundlaget for opbygningen af de forskellige proteiner, der er byggestenene og drivkraften i organismen. Til gengæld ved vi endnu ikke, hvordan genetiske forskelle mellem individer udmønter sig i forskellige fænotyper.

Bananfluens arvemasse er også blevet kortlagt, men kun i få tilfælde har man identificeret

gener, som er involveret i bestemte egenskaber. Ofte kompliceres sagen i øvrigt af, at en given egenskab kan være bestemt af mange forskellige gener.

I vores forskningsgruppe er vi interesserede i at identificere gener hos bananfluer, som spiller en rolle for deres evne til at tåle temperaturstress. Selvom bananfluen "kun" har ca. 13.600 gener, kan man ikke bare undersøge dem alle fra en ende af. Man bliver nødt til at have en god ide om, hvor man skal starte. Når man har udvalgt sådanne *kandidatgener* kan man så begynde at undersøge, om eller, hvordan de spiller en rolle for evnen til at tåle temperaturstress, samt hvordan variation i DNA-sekvensen imellem populationer er udtryk for evolutionære tilpasninger til specifikke miljøforhold.

svarsmekanismer trådt i stedet for varmechok-proteinet.

Dette skyldes formodentlig, at en unødigt stor mængde af Hsp70, som følge af hyppige temperaturpåvirkninger, påfører organismen et stort tab i form af energi, og nedsætter antallet af afkom. Hermed er grunden lagt for evolution af alternative og mindre kostbare mekanismer, som tillader organismen at fungere ved forøgede temperaturer.

Bananfluer i naturen

Vores forsøg i laboratoriet peger på, at temperatur er en vigtig faktor i evolutionsprocessen. Et godt spørgsmål er derfor, om vores eksperimenter i laboratoriet er relevante for evolutionen under naturlige forhold? De temperaturer, insekter oplever under naturlige forhold, er vanskelige at forudsige. Der kan være stor forskel i temperatur inden for en afstand på få cm – f.eks. på over- og undersiden af et blad. Da vi kun sjældent nøjagtigt ved, hvor insektet opholder sig i løbet af døgn, ved vi således heller ikke, hvor vigtigt et forsvar mod høj temperatur er (i stedet kunne adfærd være afgørende).

I naturen lever både voksne bananfluer og deres larver af gærende eller rådne frugt eller andet organisk materiale. De voksne parrer sig på eller omkring fødekilden, og æg, larve og puppestadier er alle begrænsede til fødekilden. De organiske materialer, der udnyttes, er ofte solbeskinnede, og kan opnå temperaturer langt højere end luftens. Den tætte økologiske tilknytning til fødekilden giver os således mulighed for at anslå de temperaturer, bananfluer udsættes for i naturen (se figur 2).

Argentinske bananfluer viser sammenhængen

I det nordvestlige hjørne af Argentina findes et naturligt "modelsystem" til evolutionære studier af denne type. Inden for få hundrede kilometer, på plateauet op imod Andesbjergene, findes populationer af bananfluearten *Drosophila buzzatii*, der udelukkende lever af figenkaktus af slægten *Opuntia*. Planten fin-



Foto: CRK

Et glasfuld bananfluer i laboratoriet.

des både på den nedre og øvre del af plateauet, fra cirka 500 til 2500 meters højde. Vi har sammenlignet den mængde Hsp70, individer fra populationer i disse to højder producerer. Fluer fra bjergpopulationen, hvor klimaet det meste af året er relativt koldt, har en større mængde af dette protein end fluer fra den varmere lavlandspopulation. Dette resultat svarer nøjagtigt til resultatet af laboratorieforsøget, og fortæller os, at temperaturen er en vigtig faktor for den evolutionære tilpasningsproces til de naturlige miljøer.

Også relevant for danske forhold

Når man snakker om temperaturstress, tænker man nok først på ørkener og arktiske områder, hvor varmen eller kulden er ekstrem. Men også på vore breddegrader forekommer faktorer i miljøet, der kan være stressfulde, hvorfor vores forskning også er relevant for danske forhold. Stress-påvirkninger kan i fremtiden tænkes at blive hyppigere og mere ekstreme,

bl.a. i forbindelse med den globale opvarmning, og i takt med at forekomsten af miljøfremmede stoffer stiger. For bedst muligt at kunne tilrettelægge strategier for miljøbevarelse er det vigtigt at vide, hvordan organismer reagerer på temperaturstigninger, men også hvordan organismer reagerer på flere forskellige stresspåvirkninger, da disse kan tænkes at forstærke hinanden.

I den fragmenterede natur, der i dag findes over store dele af verden, er det ikke realistisk, at populationer kan "følge" klimaet og blot vandre nord- eller sydpå for at finde optimale forhold. Mange organismer er i deres udbredelse begrænsede til reservater, der ikke flytter sig, derfor må disse organismer tilpasse sig for ikke at blive udryddet.

Vi håber at opnå viden om hvilke faktorer der påvirker populationer eller arters chance for at kunne tilpasse sig fremtidens miljøforhold. Denne viden er vigtig for at opnå en bedre forståelse af de processer der bestemmer organismers tilpasning til miljøet. ☺

Om forfatterne:



Jesper Givskov Sørensen er ph.d.-studerende, Jesper Dahlgaard er ph.d. og forskningsadjunkt og Volker Loeschcke er professor, alle ved Afdeling for Genetik og Økologi, Biologisk Institut, Aarhus Universitet Ny Munkegade, Bygning 540, 8000 Aarhus C

Tlf. 8942 3230

Hjemmesider:

www.biology.au.dk/genetic.eco

Læs videre:

Sørensen, J. G., Dahlgaard, J. and Loeschcke, V. (2001) *Genetic variation in thermal tolerance among natural populations of Drosophila buzzatii: Down regulation of Hsp70 expression and variation in heat stress resistance traits. Functional Ecology 15: in press.*