

Aktuelle Beiträge

Molekulare Grundlagen der Evolution

Von ULRICH KULL, Stuttgart

Die Lehre von der Evolution der Organismen ist eine der grundlegenden Theorien der Biologie. Evolution ist jede Veränderung des Genpools einer Population von Lebewesen. Diese Veränderung kommt zustande durch Mutationen. Mutationen sind Zufallsereignisse auf der Ebene der Gene. Wirken sie sich im Phänotypus aus, so führt dies in der Regel zu unterschiedlicher Selektion. Die Vorgänge von Segregation und Rekombination liefern dauernd neue Allelenkombinationen und so die Verschiedenheit der Genotypen, deren Phänotypen durch die Selektion ausgelesen werden. Eine Population unterliegt also einem zeitlichen genetischen Wandel, der sich auch in morphologisch-anatomischen Merkmalen ausdrückt. Ungleich wichtiger für die Evolution sind Vorgänge der Isolation von Populationen. Dadurch kommt es zu einer unterschiedlichen Veränderung der nunmehr getrennten Genpools und so schließlich zur Entstehung zweier getrennter Arten. Inwieweit sich Mutationen ohne positiven Selektionswert in einer Population durchsetzen können, hängt vom Zufall und der Populationsgröße ab (Allelendrift oder Gendrift). In sehr kleinen Populationen können sogar schwach nachteilige Mutationen erhalten bleiben. Der Extremfall kleiner Populationen liegt vor, wenn der Neuaufbau einer isolierten Population von wenigen Gründerindividuen ausgeht. Der Evolutionsvorgang wird also bestimmt durch die Größen Mutationsrate, Selektionsdruck, Populationsgröße und gegebenenfalls Wanderung und Wanderungsfähigkeit von Populationen. In der heute von den Biologen weitgehend akzeptierten neodarwinistischen — oder besser synthetischen — Theorie der Evolution werden die Größen der Mutationsrate und das Wirksamwerden des Zufalls in kleinen Populationen als weniger wichtig für den Evolutionsvorgang insgesamt angesehen als die anderen Größen.

Was ist Molekulare Evolution?

Die Etablierung der Molekularbiologie in den letzten 20 Jahren führte zu der Erkenntnis, daß der Evolutionsvorgang eine molekulare Basis hat und mußte somit zwangsläufig die Frage aufwerfen, wie diese molekularen Grundlagen aussehen. Unter dem Begriff „molekulare Evolution“ wird allerdings immer noch durchaus Verschiedenes verstanden, so die Entstehung von Biomolekülen und ersten Zellen und der hierzu erforderlichen Molekülwechselwirkungen (vgl. KULL 1972), die Aufstellung von phylogenetischen Schemata („Stammbäumen“) aufgrund der Strukturuntersuchung von Proteinen, und schließlich die Untersuchung der moleku-

laren Mechanismen des Evolutionsprozesses. Diese Ausführungen behandeln den letztgenannten Themenkreis, wobei natürlich die molekularen phylogenetischen Schemata zur Erkennung von Gesetzmäßigkeiten herangezogen werden müssen. Dagegen sind in diesem Zusammenhang die konkreten Aussagen über Abstammungsverhältnis einzelner Taxa, die in den mit molekular-biologischen Methoden gewonnenen Stammbäumen niedergelegt sind, unwichtig.

Das Ziel einer molekularen Theorie der Evolution ist die Übersetzung der Evolutionstheorie in die Sprache der Molekularbiologie. — Von diesem Ziel sind wir noch weit entfernt; außerdem ist es nicht sicher, ob eine solche Übersetzung immer rationell sein wird (vgl. MOHR 1975). Als Beispiel einer solchen Übersetzung sei der Begriff der „ökologischen Nische“ betrachtet. Einer Einnischung müssen Mutationen zugrunde liegen, die zu Veränderungen der Funktion oder Regulation von Proteinen führen. Schon geringe Veränderungen an einem Enzym können unterschiedliche Einnischung verursachen und so eine Grundlage für eine divergente Evolution liefern. So findet man z. B. viele Süßwasserschnecken im gleichen Lebensraum, jedoch sind sie infolge einer unterschiedlichen Ausbildung von Verdauungsenzymen, besonders ihrer Cellulasen, an unterschiedliche Hauptnahrung angepaßt (CALOW u. CALOW 1975). An dieser physiologischen Einnischung ist gut zu erkennen, daß ihr eine „molekulare Nischenbildung“ entsprechen muß.

Daß schon geringe Veränderungen im Stoffwechsel sich auf die Morphologie auswirken können, möge ein Beispiel aus der Gruppe der Lebermoose zeigen (BASILE 1974). Durch Hemmung der Synthese des hydroxyprolinreichen Zellwandproteins mit Hilfe spezifischer Inhibitoren gelang es, verschiedene Arten beblätterter Lebermoose morphologisch so zu verändern, daß Phänokopien anderer Taxa entstanden. Da man weiß, daß der Gehalt an hydroxyprolinreichem Protein bei verschiedenen Lebermoosgattungen unterschiedlich ist, darf man annehmen, daß die unterschiedliche Gestalt vor allem durch zeitliche Veränderungen der Genaktivität, das heißt durch Mutation(en) im Regulationsbereich, verursacht wird.

Mit den molekularen Grundlagen der Evolutionsprozesse begann man sich zu beschäftigen, seit die Grundtatsachen der Molekularbiologie bekannt wurden. Die erste Monographie zum Thema erschien 1959 (ANFINSEN). Jedoch war schon vorher von Genetikern auf diese Möglichkeiten hingewiesen worden, so schrieb KIHARA bereits 1947: „Die Geschichte der Erde ist in den Schichten der Erdkruste aufgezeichnet, die Geschichte aller Organismen ist in ihren Chromosomen eingeschrieben“ (übersetzt, zitiert nach KIMURA u. OHTA 1974). Die Möglichkeit, Phylogenie mit Hilfe molekularbiologischer Daten zu betreiben, wurde von PAULING und ZUCKERKANDL erstmals 1962 dargelegt (Zusammenfassung bei ZUCKERKANDL u. PAULING 1965). Das derzeit meistdiskutierte Problem der molekularen Evolutionstheorie ist der Anteil des Zufalls, das heißt neutraler Mutationen und „ungerichteter Selektion“, am Evolutionsvorgang. Während die synthetische Theorie die Selektion als wichtigsten Evolutionsfaktor

tor ansieht und somit der Notwendigkeit der Anpassung des Phänotyps die entscheidende Rolle zuschreibt, findet die Molekularbiologie einen erheblichen Anteil zufallsfixierter neutraler Mutationen, deren Beitrag zum Evolutionsvorgang unklar ist.

Molekularbiologische Grundlagen

Die genetische Substanz der Zelle sind Desoxyribonucleinsäure-(DNA-) Moleküle, in deren Nucleotidabfolge die genetische Information enthalten ist. Diese DNA-Moleküle werden identisch redupliziert, so daß die Weitergabe der Information bei der Zellteilung gewährleistet ist. Die Information der DNA-Moleküle ist als solche für die Zelle nicht „anwendbar“, sie wird in einem Übersetzungsmechanismus in eine Form gebracht, die dann bestimmte Vorgänge auslösen kann. Diese Funktionselemente des Zellgeschehens sind die Proteine, die als Katalysatoren nahezu aller Stoffwechselforgänge wirksam und auch bei deren Regulation führend beteiligt sind. Bei der Informations-Übersetzung wird zunächst an der DNA eine Ribonucleinsäure (RNA) als genaue Kopie gebildet (Transkription). Die Hauptmasse der DNA ist bei allen kernhaltigen Organismen (Eukaryonten, das sind alle Lebewesen außer Bakterien und Blaualgen) im Chromatin des Zellkerns lokalisiert. Die RNA kann den Kern verlassen und dient im Cytoplasma als Matrize für die Synthese von Proteinen. Bei dieser Translation an den Ribosomen wird die Nucleotidabfolge der messenger-RNA (mRNA) in eine bestimmte Aminosäuresequenz übersetzt. Durch letztere ist die räumliche Struktur des Proteins eindeutig festgelegt. Die Raumstruktur wiederum gestattet nur bestimmte Wechselwirkungen mit anderen Molekülen und legt so Funktion und Spezifität des Proteinmoleküls fest. Die Aminosäuresequenz der Proteine ist somit der erste Ausdruck des Phänotyps, allerdings, wie wir noch sehen werden, kein vollständiger.

Je drei Nucleotide der mRNA bestimmen beim Translationsvorgang den Einbau einer Aminosäure in die entstehende Peptidkette. Man spricht daher von einem Triplett-Code. Da vier verschiedene Nucleotide die Nucleinsäuren aufbauen, gibt es $4^3 = 64$ verschiedene Triplets, die als Codewörter fungieren. Diesen stehen aber nur 20 zu codierende Aminosäuren gegenüber. Es gibt also für eine Aminosäure häufig mehrere Codewörter (Degeneration des Codes). In vielen Fällen ist dabei durch die Nucleotide an erster und zweiter Stelle die Aminosäure festgelegt und das dritte Nucleotid des Triplets somit beliebig.

Bei den Eukaryonten wird die mRNA nicht direkt, sondern in Form einer sehr viel größeren Vorstufe (prä-mRNA) an der DNA im Kern synthetisiert. Es folgt dann eine mehrstufige, im einzelnen komplizierte „Reifung“, die Processing genannt wird und sich auch nach dem Transport ins Cytoplasma dort fortsetzt. Dabei bleibt die RNA stets an Proteine gebunden; freie mRNA tritt bei Eukaryonten daher nie auf. Das Processing unterliegt sicher einer Regulation; so können z. B. mRNA-Protein-Partikel im Cytoplasma inaktiv vorliegen („inaktive Informosomen“) und in

einem späteren ontogenetischen Stadium der Zelle aktiv werden. Eine solche Regulation muß ihrerseits genetisch festgelegt sein. Mutationen können daher auch ein derartiges Regulationssystem betreffen.

Mutationen

Veränderungen der Nucleotidsequenz der DNA nennt man Mutationen. Sie sind die Ursache aller vererbaren Veränderungen. Durch Rekombinationsvorgänge werden sie im Genpool verbreitet und immer wieder neu kombiniert. Die DNA der Eukaryonten, die während der Mitose in Form der Chromosomen in identifizierbaren Einheiten erkennbar wird, enthält neben der Information für den Aufbau aller Proteine des Organismus noch eine große Zahl anderer Nucleotidsequenzen. Man bezeichnet die Teile der Nucleotidabfolge, die Information für die Proteinsynthese enthalten, als Strukturgene. Zwischen den Strukturgenen können sich Sequenzen befinden, die zwar transkribiert werden, aber während des Processing der RNA in dieser dem Abbau unterliegen und somit nicht zur Translation gelangen. Diese Sequenzen können bei der Regulation der Genablesung (RNA-Synthese) oder des Processing mitwirken oder auch nur funktionslose Füllstücke (spacer) sein. Mutationen in diesen DNA-Bereichen werden sich je nach der Funktion unterschiedlich auswirken. Natürlich kann es auch regulatorische Sequenzen in der DNA geben, die nicht transkribiert werden. Als regulatorisch bezeichnet man alle Sequenzen der DNA, die das zeitliche Muster der Genaktivität bzw. der Proteinsynthese beeinflussen. Daß Veränderungen der Regulation sich auf Ontogenese und Morphologie stark auswirken können, geht aus dem erwähnten Lebermoos-Beispiel hervor. Aus diesem Grunde ergeben auch die Strukturen aller Proteine eines Organismus zusammen kein isomorphes molekulares Bild des Phänotyps. Hierzu gehört auch das zeitliche Muster aller Regulationen, oder, in Computersprache ausgedrückt: das Programm oder die software.

Neben der bisher besprochenen Gliederung der DNA nach ihrer Funktion kann man auch aufgrund der Struktur verschiedene DNA-Bereiche unterscheiden. Bei Eukaryonten enthält die DNA nämlich sich häufig wiederholende Sequenzabschnitte. Bei Säugern macht diese repetitive DNA vielfach etwa 30 % der gesamten DNA-Menge der Zelle aus. Sie tritt in hochrepetitiven (etwa 10^6 mal wiederholten) und in mäßig repetitiven (in der Regel 10^2 - bis 10^4 mal wiederholten) Sequenzen auf. Die mäßig repetitiven Sequenzen werden großenteils transkribiert; sie dürften zumindest teilweise regulatorische Funktion haben. Die hochrepetitive DNA wird nicht transkribiert und hat wohl vor allem Bedeutung für die Struktur der Chromosomen. Sie ist in den Bereichen der Centromeren und der Chromosomenenden angereichert und dort in den heterochromatischen Regionen zu erkennen. Bestimmte Mutationen in diesen „genetisch leeren“ Sequenzen können zur Veränderung der Chromosomenstruktur (Translokationen, Fusionen) führen; ein Vorgang, der bei der Speziation eine beträchtliche Rolle spielt. Die nichtrepetitiven DNA-Abschnitte

enthalten die Strukturgene, daneben aber auch spacer-Regionen und funktionslos gewordene Nucleotidsequenzen (siehe unten).

Neben den Regulationsmechanismen an Transkription, Processing und Translation, die genetisch außerhalb der Strukturgene festgelegt sind, gibt es Regulationsvorgänge, die an Proteinen angreifen. Solche Regulationen der Proteinaktivität (zumeist Enzymaktivität) sind durch die Raumstruktur und damit die Aminosäuresequenz des betreffenden Proteins bestimmt und haben ihre genetische Basis somit innerhalb der Strukturgene. Deren Mutationen können bei regulierbaren Proteinen also nicht nur die Funktion, sondern auch die Regulationsfähigkeit betreffen.

Welcher Art sind nun die Mutationen, die Strukturgene ebenso wie Kontrollbereiche verändern? Durch Verlust oder Einschub von Nucleotiden kommt es zu Rastermutationen, die zu einer Veränderung der Ableseung der Triplets (des Leserasters, daher der Name) führen. Sofern nicht eine Verschiebung um genau drei Nucleotide erfolgt, ist die gesamte Aminosäuresequenz eines Proteins vom Ort der Mutation an verändert; das Protein wird in der Regel seine Funktion nicht mehr erfüllen können. Derartige Rastermutanten sind daher stark nachteilig und werden durch die Selektion beseitigt. Häufiger als Rastermutationen sind Austausch einzelner Nucleotide. Oft wird dadurch das Codewort so verändert, daß bei der Proteinsynthese an Stelle einer bestimmten Aminosäure eine andere eingebaut wird. Man spricht von Fehlsinn-Mutationen. Infolge der Degeneration des Codes kann aber auch der Fall eintreten (besonders häufig, wenn das dritte Nucleotid des Triplets betroffen ist), daß trotz Mutation dieselbe Aminosäure eingebaut wird und die Mutation im Protein somit nicht in Erscheinung tritt. Solche Gleichsinn-Mutationen können sich aber auf die Geschwindigkeit der Synthese des betreffenden Proteins und damit die Zahl der Proteinmoleküle in der Zelle auswirken. Schließlich besteht die Möglichkeit, daß der Austausch eines Nucleotids zur Bildung eines Codewortes führt, das den Abbruch der Proteinsynthese anzeigt. Dadurch wird die Bildung des betreffenden Proteins überhaupt verhindert. Diese Mutationen heißen Unsinn-Mutationen.

Die verschiedenen erwähnten Mutationsformen können jede Nucleotidsequenz in der DNA betreffen. Ihre Auswirkungen werden in der Regel in Strukturgenen tiefgreifend sein als in Kontrollbereichen; in funktionslosen Sequenzabschnitten werden sie keinerlei unmittelbare Effekte haben.

Mutationen können aber auch größere Abschnitte der Nucleotidsequenz betreffen. Verluste von ganzen Abschnitten bedeuten meist einen Informationsverlust, sei es bei Strukturgenen, sei es von Kontrollelementen. Sie sind daher in der Regel sehr nachteilig, oft letal. Umlagerungen von Abschnitten führen häufig zu veränderter Regulation, da die umgelagerten Strukturgene mit anderen Regulationselementen verknüpft werden. Dies ist für die Evolution offenbar von großer Bedeutung. Veränderte Regulation kann dazu führen, daß bestimmte Gene während der Ontogenese nicht mehr aktiv werden. Dies ist die Ursache der Neotenie. Dadurch können Strukturgene funktionslos werden. Auch Verdoppelungen

(Duplikationen) von größeren Nucleotidsequenzen, seien es Gengruppen, einzelne Gene oder nur Teile von Genen, sind in der Evolution sehr wichtig. Sie sind die Quelle für die Vermehrung der genetischen Information, das heißt die Entstehung neuer Strukturgene oder Kontrollelemente. Natürlich können auch ganze Chromosomensätze verdoppelt werden (Polyploidie) oder einzelne Chromosomen in einem überzähligen Exemplar auftreten (Trisomie, Spezialfall der Aneuploidie). Im letzteren Fall kommt es allerdings meist zu Problemen bei der Regulation der Genaktivität; die Trisomie wirkt sich somit selektiv nachteilig aus.

Mutation und Selektion

Sofern im Genom für eine wichtige Funktion nur ein Gen vorhanden ist, wird jede Mutation, die dessen Funktionsfähigkeit vermindert, schädlich sein. Solche Mutationen mit negativem Selektionseffekt können bei der Speziation nicht wirksam werden. Man nennt sie daher verbotene Mutationen. So sind z. B. alle Mutationen, die beim Menschen Erbkrankheiten verursachen, verbotene Mutationen. Nahezu immer sind Raster- und Unsinn-Mutationen verboten. Bei Fehlsinn-Mutationen hängt es von ihrem Ort ab, ob sie verboten oder durch die Selektion tolerierbar sind. Im Bereich des aktiven Zentrums oder anderer strukturell sehr wichtiger Bereiche (z. B. Cystein-Reste, die Schwefelbrücken bilden) der Proteine sind Aminosäureaustausche zumeist verboten, in anderen Molekülteilen hingegen von der Art des Austausches abhängig. Werden Aminosäuren ähnlicher chemischer Eigenschaften gegeneinander ausgewechselt, so ist dies vielfach tolerierbar.

In Einzelfällen können sogar verbotene Mutationen vom Organismus toleriert werden. So kann das Unwirksamwerden des Enzyms Tyrosinase durch eine Mutation bei Säugetieren eine Aufhellung der Fellfärbung hervorrufen, die unter bestimmten Umweltbedingungen Selektionsvorteil hat. Da die Tyrosinase im Stoffwechsel keine Funktion außer der Produktion von Eumelanin hat, tritt eine negative Wirkung dieser eigentlich verbotenen Mutation nicht ein.

Tolerierbar sind alle Mutationen, welche die Wirksamkeit eines Proteins oder, wenn Kontrollbereiche betroffen sind, die Regulation seiner Bildung nicht beeinflussen oder sie verbessern. Wenn kein Einfluß festzustellen ist, handelt es sich um neutrale Mutationen, auf welche die Selektion zunächst keinerlei Wirkung hat. Sie werden dem Zufall entsprechend fixiert. Neutrale Mutationen sind vielfach die Gleichsinn-Mutationen. Aus den Ausführungen geht aber hervor, daß auch ein Teil der Fehlsinn-Mutationen zumindest in erster Näherung neutral ist. Zu den tolerierbaren Mutationen gehören natürlich auch die vorteilhaften Mutationen, ohne die eine Evolution gar nicht stattfinden könnte.

Echte Rückmutationen, bei denen die ursprüngliche Nucleotidsequenz durch eine zweite Mutation wiederhergestellt wird, sind außerordentlich unwahrscheinlich. Hingegen ist es durchaus möglich, daß durch eine erneute Mutation der ursprüngliche Zustand phänotypisch wieder erreicht

wird. Dies ist insbesondere dann möglich, wenn die Mutationen in Kontrollbereichen stattfinden, wobei zunächst eine Inaktivierung von Strukturgenen, später deren erneute Reaktivierung erfolgt. Derartige scheinbare Rückmutationen spielen vermutlich für das Vorkommen des Farbsehens bei Säugern eine Rolle (OHNO 1970).

Besonders herauszustellen in unserem Kontext sind Mutationen, die ihrerseits die Mutationsrate erhöhen und so zur Zunahme der Evolutionsgeschwindigkeit Anlaß geben können. Solche Mutationen müssen entweder die DNA-Reparaturenzyme oder das Replikationssystem betreffen. Ersteres dürfte für die Evolution von geringer Bedeutung sein, da eine Verschlechterung der Funktion der Reparaturenzyme in aller Regel selektiv stark nachteilig sein wird. Hingegen muß dies nach theoretischen Erwägungen bei einer Veränderung der Effizienz der Replikationsenzyme nicht immer der Fall sein. Ebenso wie Mutationen in den Strukturgenen der DNA-Replikation eine generelle Bedeutung für die Evolution haben können, gilt dies auch für Mutationen, die bestimmte regulatorische Gene betreffen, so z. B. diejenigen, die das Processing der RNA festlegen.

Die klassische Evolutionstheorie lehrt, daß alle Veränderungen der Information im Genpool einer Population durch Mutationen zustande kommen. Die Mutationsrate ist damit begrenzender Faktor der Evolution. Seither wurde der molekulare Aspekt dieses Teils der Evolutionstheorie betrachtet. Es gibt neuerdings aber Anhaltspunkte, daß ein weiterer Faktor bei der Veränderung des Informationsgehaltes mitwirken kann.

Gentransfer durch Viren

Die meisten, wahrscheinlich sogar alle Arten höherer Organismen können von Viren befallen sein, die ihrerseits genetische Information enthalten. Diese kann auch in ein Chromosom eingebaut werden und wird dann bei der DNA-Replikation vermehrt wie die Gene der Zelle; man spricht von Virogenen. Diese sind bei höheren Tieren allgemein verbreitet. Eine Vervielfachung eingebauter Virogene im Chromosom ist ebenfalls nachgewiesen. Virogene sind in vielen Fällen über zahlreiche Generationen hinweg nicht infektiös. Werden sie es, gleichgültig nach welcher Zeit, wieder, so können sie ihrerseits Gene der vorhergehenden Wirtszelle „mitnehmen“. Es kommt zu einem Vorgang, welcher der Transduktion durch Phagen bei Bakterien entspricht; die Gene werden auf andere Individuen übertragen, wo sie dann in der Regel doppelt vorhanden sein werden. Können dieselben Viren mehrere Arten von Wirtsorganismen befallen, so ist eine Genübertragung auf andere Arten möglich. Dadurch können diese genetische Information in Form ganzer Gene erhalten, die sie vorher nicht besessen haben.

Bis vor kurzem gab es nur wenige direkte Hinweise auf einen derartigen Vorgang. Von BENVENISTE und TODARO (1974) ist nun gezeigt worden, daß die Virogene der C-Typ-Viren, die man in zahlreichen Primaten (auch beim Menschen) nachgewiesen hat, in einigen Katzenarten ebenfalls vorkommen. Sie treten auf bei der Hauskatze, der Europäischen

Wildkatze sowie *Felis margarita* und *F. chaus*, dagegen nicht bei den anderen untersuchten *Felis*-Arten und zahlreichen weiteren Feliden. Offenbar hat ein Virus-Transfer von einem Primaten (wahrscheinlich des Pavian-Typs) auf die gemeinsame Stammform der vier erwähnten Katzenarten stattgefunden. Der Vorgang dürfte weniger als 10 Millionen Jahre zurückliegen. Eine Übertragung von Wirtsgenen ist in diesem Fall allerdings nicht nachgewiesen. — Von zahlreichen Viren ist bekannt, daß sie vielerlei Wirte befallen können. So tritt das Mosaikvirus der Luzerne in rund 40 Dicotylen-Arten aus mindestens 11 verschiedenen Familien auf.

Die Selektion wirkt nicht allein auf die phänotypisch in Erscheinung tretenden Gene, sondern auf das ganze Zell-Virus-Nucleinsäure-System, soweit es im Phänotyp zum Ausdruck kommt. Die Evolution hängt also in noch unbekanntem Maße von der Zahl und Art der Virogene und der durch Viren erfolgenden Transduktion von Struktur- und Kontrollgenen ab (REANNEY 1974).

Unter Annahme solcher Vorgänge ließe sich auch der Streit zwischen „klassischer“ Systematik und Chemotaxonomie bezüglich der Gliederung der Gruppe der Caryophyllidae (Beiträge in BENDZ u. SANTESSON 1974) schlichten. Experimentelle Befunde liegen hierzu allerdings noch nicht vor. Die Caryophyllidae sind gekennzeichnet durch das Vorkommen besonderer stickstoffhaltiger Farbstoffe, der Betalaine. Diese sind als Blütenfarbstoffe offenbar schon in der Stammgruppe der Caryophyllidae an die Stelle der sonst bei Angiospermen verbreiteten Anthocyane getreten. Zwei Familien der Caryophyllidae, die Caryophyllaceen und die Molluginaceen, besitzen nun aber Anthocyane und keine Betalaine. Ein phylogenetisches Schema, das dieser Verteilung der Farbstoffe gerecht würde, ist mit dem Auftreten der verschiedenen systematisch wichtigen blütenmorphologischen und anatomischen Merkmale nicht zu vereinbaren. Es wurde spekuliert, daß das erneute Auftreten der Anthocyane darauf zurückzuführen sei, daß ein einzelnes, vorher blockiertes Gen der Stoffwechselkette der Anthocyan synthese wieder funktionsfähig wurde. Dies ist jedoch sehr unwahrscheinlich; viel eher darf angenommen werden, daß bei den betalainführenden Arten mehrere Gene jener Stoffwechselkette fehlen. Sie sind vermutlich bei der Stammgruppe der Caryophyllidae verloren gegangen. „Ersatz“ für die fehlenden Anthocyane wurden die Betalaine, die wegen ihres Stickstoffgehaltes allerdings weniger vorteilhaft sind, denn Stickstoff ist bei autotrophen höheren Pflanzen in der Regel ein minimumnaher Faktor. Kam es bei der Stammgruppe der Caryophyllaceae und der Molluginaceae zu einer Übertragung der fehlenden Gene der Anthocyan synthese durch Viren, so wurden Anthocyane gebildet und die Betalaine überflüssig; sie verschwanden als weniger gute Anpassung wieder.

Molekulare Evolutionsvorgänge und ihre Untersuchung

Nunmehr soll das Problem erörtert werden, wie man zu Aussagen über die molekularen Evolutionsvorgänge gelangt (FITCH 1973). Der Idealfall wäre die vollständige Untersuchung der Nucleotidsequenzen der DNA der interessierenden Arten. Da schon die Sequenzierung kleinmolekularer Nucleinsäuren einen großen Aufwand erfordert, ist dies methodisch unmöglich. Umfangreichere Untersuchungen an den Nucleinsäuren selbst

sind nur mit Hilfe der Hybridisierungstechnik möglich. Sie erlaubt, identische oder nahezu identische Nucleotidsequenzen hinreichender Länge nachzuweisen. Die Genauigkeit des Verfahrens ist für Fragen der molekularen Evolution oft zu gering. Immerhin gelang es, mit dieser Methode beispielsweise über die Verwandtschaftsverhältnisse von drei *Osmunda*-Arten Aussagen zu machen. Die Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den Daten der numerischen Taxonomie und bestätigen die traditionelle morphologisch-anatomische Systematik (STEIN u. THOMPSON 1975).

Da die Nucleotidsequenzen der Strukturgene durch Transkription und Translation in Aminosäuresequenzen übersetzt werden und für deren Bestimmung heute schon automatisierte Verfahren vorliegen, ist die Sequenzierung von Proteinen heute die wichtigste Basis für Aussagen zur molekularen Evolution. Natürlich können damit nur die DNA-Bereiche erfaßt werden, deren Information in Proteinstrukturen übertragen wird. Neben der Sequenzierung können für weniger genaue Betrachtungen auch andere, mit geringerem Zeitaufwand zu bewältigende Verfahren eingesetzt werden, die Aussagen über Strukturen erlauben. Es sind dies immunologische und elektrophoretische Methoden. Erfolgt in einem Protein durch Fehlsinn-Mutation ein einzelner Aminosäureaustausch, so ist dies in durchschnittlich 40 % der Fälle bei der Elektrophorese des Proteins zu erkennen.

Vergleicht man die Aminosäuresequenzen von Proteinen gleicher Funktion aus verschiedenen Arten, so findet man häufig eine hohe Ähnlichkeit. Durch Untersuchung der Wahrscheinlichkeit einer Zufallsübereinstimmung der Sequenzen läßt sich feststellen, wie hoch signifikant die Annahme eines gemeinsamen Vorfahren-Gens der verschiedenen Sequenzen ist. Proteine mit gemeinsamem Anzestralgen heißen homolog, die vorhandenen Unterschiede werden auf divergente Evolution zurückgeführt. Natürlich kann Ähnlichkeit auch durch eine konvergente Evolution verschiedener Anzestralgene zustande kommen, die Proteine sind dann analog. Sequenzbestimmungen erlauben in der Regel eine Entscheidung zwischen Homologie und Analogie, nicht dagegen die anderen genannten Verfahren, sofern nicht andere Kriterien ergänzend herangezogen werden. Bei den Sequenzvergleichen müssen eventuell aufgetretene Deletionen, Insertionen oder Duplikationen berücksichtigt werden. Ferner muß man stets im Auge behalten, daß sich die Mutationen im Bereich der DNA abspielen: Nicht die Zahl der eingetretenen Aminosäureaustausche, sondern die minimal erforderliche Zahl an Nucleotid-Ersetzungen ergibt den Mutationsabstand. Manche beobachteten Aminosäureaustausche können aufgrund des genetischen Codes nur in zwei Mutationsschritten erreicht worden sein. Der Mutationsabstand zwischen den beiden verglichenen Proteinen ist ein Maß für die genetische Distanz zwischen den Organismen, bezogen auf die untersuchten Proteine. Auch der Mutationsabstand zum vorausgesetzten letzten gemeinsamen Vorfahren kann angegeben werden.

Schon ein oberflächlicher Vergleich homologer Sequenzen zeigt, daß nicht alle Aminosäureaustausche, die auf einfache Fehlsinn-Mutationen zurückgehen,

gleich häufig sind. So tritt eine Ersetzung von Isoleucin gegen Valin sehr oft auf, während es die theoretisch ebenso mögliche Ersetzung von Arginin gegen Cystein nicht gibt. Die letztere führt zu so starken Störungen der Proteinfunktion, daß sie infolge der Selektion sofort verschwindet.

Ist die Zahl der Aminosäureaustausche zwischen zwei Proteinen sehr groß, so ist eine Entscheidung, ob Homologie oder Konvergenz vorliegt, nicht mehr sicher zu treffen. Ein derartiger Fall liegt z. B. vor beim bakteriellen Subtilisin und der Adenylatkinase der Säuger. Die Raumstruktur beider Proteine ist bei sehr verschiedener Aminosäuresequenz ziemlich ähnlich. Da vermutlich aber die Zahl stabiler und funktionell sinnvoller Raumstrukturen nicht beliebig groß ist (möglicherweise sind es nur etliche hundert), kann aus deren Ähnlichkeit allein Homologie nicht erschlossen werden.

Der Begriff Homologie muß für die molekulare Evolution schärfer gefaßt werden, weil er hier sowohl in der genetischen wie auch in der evolutionstheoretischen Bedeutung auftritt (FITCH 1973). So sind die α - und β -Einheiten von Hämoglobin evolutionstheoretisch, aber nicht genetisch homolog. Man bezeichnet homologe Genloci (z. B. des α -Hämoglobins) in verschiedenen Taxa als ortholog; verschiedene Loci im gleichen Taxon, die evolutionsmäßig homolog sind (z. B. α - und β -Hämoglobin), als paralog. Paralogie setzt voraus, daß ein Duplikationsereignis und eine seither getrennte, gegebenenfalls parallele Evolution der Gene stattgefunden hat. (ACHER 1974 verwendet eine abweichende Nomenklatur.) Das Duplikationsereignis ist hierbei die Ursache für die Bildung eines zusätzlichen Gens. Seine Ursache kann nichthomologes Crossover sein. Für die Bildung neuer Gene gibt es neben diesem wichtigsten Mechanismus noch einige andere Möglichkeiten, die in einem mehrstufigen Vorgang natürlich auch zusammen wirksam werden können. Durch orthologes, aber nicht genau konjugiertes Crossover kommt es zu interner Genverlängerung bzw. -verkürzung, das heißt partieller Genduplikation (Insertion) oder -deletion. Solche Ereignisse können an den Lücken erkannt werden, die bei optimaler Homologisierung von orthologen oder paralogenen Proteinen auftreten. Werden z. B. menschliches α - und β -Hämoglobin optimal korreliert, so findet man im α -Hb 3 Lücken, im β -Hb eine Lücke.

Ist ein Terminationssignal (Unsinn-Codewort) von einer Mutation betroffen, so erfolgt Genfusion. Auch bestimmte nichthomologe Crossover-Vorgänge können eine Fusion verursachen. Bei Bakterien ist eine Genfusion (der Tryptophansynthetasen) direkt beobachtet worden, es entsteht dadurch ein Enzym mit zwei Funktionen, für die zwei getrennte aktive Zentren verantwortlich sind.

Die Bildung eines neuen Strukturgens aus DNA, die keine Information trägt, braucht wegen der sehr geringen Wahrscheinlichkeit eines solchen Vorgangs in Überlegungen zur molekularen Evolution nicht einbezogen zu werden. Dagegen besteht die Möglichkeit, daß in repetitiver oder spacer-DNA neue Kontrollelemente ausgebildet werden.

Genduplikationen

Da für die Entstehung neuer, zunächst paraloger Gene die Genduplikation der weitaus wichtigste Vorgang ist (OHNO 1970) muß diese entscheidende Voraussetzung für die Informationszunahme in Organismen (Anagenese) näher betrachtet werden. Eine Genduplikation wurde erstmals 1936 bei Untersuchungen an *Drosophila* gefunden und im molekularen Bereich zuerst 1961 bei Untersuchung von Hämoglobinen nachgewiesen. Mittlerweile sind zahlreiche Fälle recht gut untersucht (Serinproteasen, Hypophysenhormone, Lysozym und Lactalbumin).

Die Genduplikation führt vom Anzestoren zunächst zu einem Paar von Tandem-Genen. Es sind dies identische oder nahezu identische Gene gleicher Funktion. Für das α -Hb der Maus ist das Vorliegen von mehr als 2 Allelen in enger genetischer Kopplung nachgewiesen, offenbar liegen hier Tandem-Gene vor. Dasselbe gilt für die Malatdehydrogenasen der Salmoniden. Auch für γ -Hb des Menschen wird Entsprechendes angenommen. Da die Bildung neuer Proteine von solchen Tandem-Genen ausgeht, kann man sagen, daß das Hämoglobin-System des Menschen sich erkennbar in Evolution befindet.

Die beiden Tandem-Gene werden sich nun den eintretenden Mutationen entsprechend divergent entwickeln. Dadurch entstehen zwei Protein-Varianten gleicher Funktion, aber etwas verschiedener Eigenschaften (Isoenzyme), was beispielsweise eine bessere Anpassung an wechselnde Umweltbedingungen zur Folge haben kann. Fortschreitende Divergenz kann zur allmählichen Funktionsänderung eines der Isoenzyme führen. Es besteht aber andererseits die Möglichkeit, daß durch eine Mutation eines der Gene so verändert wird, daß kein sinnvolles Protein mehr entsteht (z. B. durch Veränderung der Raumstruktur). Da noch ein zweites, funktionsfähiges Gen vorliegt, ist eine solche Mutation nach erfolgter Genduplikation nicht letal. Das nicht gestörte Gen muß die Funktion aufrechterhalten, seine weitere Evolution ist also durch Selektion stark beschränkt, es werden meist nur neutrale Mutationen fixiert. Im funktionslos gewordenen Gen können sich hingegen Mutationen anhäufen, ohne daß die Selektion wirkt. Entsteht durch eine weitere Mutation wieder eine sinnvolle Struktur, so werden die zahlreichen angehäuften Mutationen als Einheit der Selektion unterworfen. Führt dies zur Wiederherstellung der ursprünglichen Spezifität, so entstehen Isoenzyme; kommt eine veränderte Spezifität zustande, so setzt sich die divergente Evolution oft verstärkt fort und es entstehen paraloge Proteine, die eine Proteinfamilie bilden. Je mehr Mutationen während der Funktionslosigkeit des Gens angehäuften werden, um so größer ist die Wahrscheinlichkeit für den letzten Vorgang, gleichzeitig aber auch für das Verschwinden („Aussterben“) des Gens, wenn kein sinnvolles Produkt mehr entsteht. Bei der Untersuchung der rezenten Organismen kann man naturgemäß nur „erfolgreiche“ Gene finden; die ausgestorbenen sind uns unbekannt.

Experimentelle Daten, welche diese Hypothesen direkt bestätigen, wurden bei Untersuchungen an Bakterien gewonnen (RIGBY et al. 1974). *Klebsiella aero-*

genes baut mit Hilfe seiner Ribitdehydrogenase auch Xylit ab, allerdings sehr langsam. Werden die Bakterien auf Xylit als einziger C-Quelle gehalten, so beobachtet man gelegentlich Duplikation des Ribitdehydrogenase-Gens. Dadurch wird mehr Enzym gebildet, der Xylitabbau und damit das Wachstum beschleunigt. Die Duplikation hat also Selektionsvorteil. Ein effektiverer Xylitabbau pro Enzymmolekül kam in diesem Experiment allerdings nicht zustande, ist aber aus einer früheren Untersuchung bekannt. Bei anderen Versuchsreihen mit *Pseudomonas*, das auf unterschiedlichen Nährböden gehalten wurde, konnte bei Verwendung strukturell sehr ähnlicher Substrate die Ausbildung neuer Spezifitäten durch wenige Punktmutationen gezeigt werden. Eine Genduplikation trat nicht ein; die „Anpassung“ des Enzyms erfolgte auch ohne eine zwischenzeitliche Funktionsunfähigkeit.

Bei der Untersuchung der Isoenzyme der Lactatdehydrogenase (LDH) zahlreicher Vertebraten konnten nicht nur Hinweise auf die Evolution der Strukturgene, sondern auch auf die der Regulationssysteme gewonnen werden (MARKERT u. URSPRUNG 1974; MARKERT et al. 1975). Bei Neunaugen gibt es nur eine LDH, welche dem Anzestoren in der Stammgruppe der Vertebraten relativ ähnlich sein dürfte. Bei den Cranioten liegen stets mehrere Isoenzyme vor, streng ortholog zur Neunaugen-LDH ist das Isoenzym A. Bei Teleostiern und Tetrapoden gibt es drei Isoenzyme (A, B, C). Das Isoenzym A hat sich bei verschiedenen Teleostiern (z. B. Salmoniden) durch erneute Duplikation in zwei Tandem-Gene A₁ und A₂ aufgespalten; diese zeigen beginnende Strukturdivergenz. Bei vielen untersuchten Arten werden die Isoenzyme jeweils in den gleichen Zellen während derselben ontogenetischen Phase gebildet, das heißt die Regulation der Genaktivität bleibt gleich. In anderen Fällen folgt der Bildung von Isoenzymen eine Veränderung ihrer Regulation. So ist das LDH-C-Gen der Säuger nur in einer ganz spezifischen Zellsorte, nämlich den primären Spermatozyten, aktiv. Zugleich hat sich auch die Substratspezifität des Isoenzym LDH-C bereits ein wenig verändert. Denkt man sich den letzten Vorgang fortgesetzt, so entsteht schließlich eine Dehydrogenase anderer Spezifität. Auch die Bildung funktionsloser Allele ist bei LDH nachgewiesen (bei manchen Fischen).

Eine Veränderung der Regulationssysteme kann auch dadurch eintreten, daß sich die allosterische Beeinflussbarkeit von Proteinen verändert. Da in vielen Fällen der allosterische Effektor zumindest eine teilweise strukturelle Ähnlichkeit zum Coenzym oder Substrat(en) des Enzyms hat, wird für die Neuentstehung einer solchen Regulierbarkeit vielfach eine partielle Genduplikation als Ursache angesehen. Die Entstehung der Periodizitäten, die man beispielsweise in Kollagen, Seidenfibroin und den Antifrost-Glykoproteinen von Fischen polarer Gewässer vorfindet, wird ebenfalls auf partielle Genduplikationen durch nichthomologes Crossover zurückgeführt.

Eine Verdoppelung von Chromosomenabschnitten, größerer Genomteile oder sogar ganzer Genome wird eine beträchtliche Auswirkung auf die Evolutionsmöglichkeiten haben. Für einzelne Teleostiergruppen (z. B. Salmoniden) ist eine Tetraploidisierung nachgewiesen, für die Entstehung und frühe Evolution der Vertebraten wird sie diskutiert (OHNO 1970).

Auch bei Bakterien haben vermutlich entsprechende Vorgänge stattgefunden; so zeigen ZIPKAS und RILEY (1975), daß das Chromosom von *Escherichia coli* möglicherweise durch zwei aufeinanderfolgende Duplikationen des ursprünglichen Genoms entstanden ist.

Polymorphie

Multiple Allelie, das heißt Variabilität orthologer Proteine innerhalb einer Art, ist die molekulare Basis der Polymorphie. Besonders leicht kann sich Polymorphie entwickeln, wenn innerhalb der Individuen schon ein Satz paraloger Proteine (in der Regel Isoenzyme) vorhanden ist. Polymorphie ist von vielen Enzymen bei zahlreichen Arten bekannt. Wenn man annimmt, daß die bisher bekannten Fälle eine Zufallsauswahl darstellen und daraus den Polymorphiegrad der Strukturgene insgesamt berechnet, so ergibt sich dieser für den Menschen (und ebenso für *Drosophila*) zu mindestens 30 % aller Gene (CLARKE 1975). Bei Arten bzw. Populationen mit starker Inzucht ist der Wert allerdings viel geringer. Die Erhaltung der Polymorphie im Verlauf der Evolution hat mehrere Ursachen (CLARKE 1975; NEI 1975).

Erstens können Heterozygote in der Selektion einen Vorteil haben; das bekannteste Beispiel hierfür ist das Sichelzell-Hämoglobin des Menschen in Malariagebieten.

Zweitens kann eine frequenzabhängige Selektion vorliegen, das heißt, der Selektionsvorteil einer Mutante hängt von ihrer Häufigkeit in der Population ab. Ein Beispiel dafür ist die Alkoholdehydrogenase von *Drosophila*, die in zwei Varianten vorkommt. Durch populationsgenetische Versuche wurde gezeigt, daß jeder der möglichen Phänotypen besser überlebt, wenn er selten ist. Die Fähigkeit der Tiere, bestimmte Nahrungsstoffe zu nutzen, ist bei den verschiedenen Phänotypen etwas unterschiedlich. Ist nun ein Phänotyp in der Population selten, so steht seine bevorzugte Nahrung in größerer Menge zur Verfügung. Eine polymorphe Population hat also größere Nahrungsbreite und kann eine höhere Dichte erreichen als eine genetisch einheitliche Population.

Drittens kann Polymorphie durch direkte Selektionswirkung zustande kommen. Wenn z. B. unterschiedlich temperaturempfindliche orthologe Enzyme vorhanden sind, so kann eine Population sich über einen größeren Klimagradienten hinweg behaupten; sie hat infolge Polymorphie ein umfangreicheres Areal. Unterschiedliche Temperaturempfindlichkeit und Michaelis-Konstanten bestimmter Enzyme ist bei Teilpopulationen von *Typha* festgestellt worden (MCNAUGHTON 1972). Die molekulare Basis der Differenzen ist noch nicht untersucht, liegt jedoch sehr wahrscheinlich in genetischer Polymorphie. Derartige experimentelle Ansätze weisen weit über ihren bisherigen fragmentarischen Status hinaus auf die Möglichkeit einer relativ exakten Evolutionsbiologie, die dann nicht mehr so sehr „feuilletonistischen Charakter“ haben wird, wie man ihn der heutigen Evolutionsökologie rezenter Organismen zu Recht zuschreibt (HENNING 1969, p. 42).

Viertens kann schließlich Polymorphie erhalten werden durch neutrale Mutationen. Dafür sprechen die Polymorphien in Populationen von „lebenden Fossilien“. Untersuchungen hierzu liegen z. B. von *Limulus* und *Lycopodium* vor. Andererseits müßten bei völliger Neutralität die Mutanten in allen Teilpopulationen einer Art zufallsverteilt vorliegen. Untersuchungen an Reliktpopulationen von *Juniperus* (ADAMS 1975) haben dies nicht bestätigt. Auf die hier angedeutete Problematik kommen wir nochmals zurück.

Proteinfamilien

Wie bereits erwähnt, lassen sich homologe (orthologe und paraloge) Proteine zu einer Proteinfamilie zusammenfassen. Zumindest implizite nimmt man an, daß diese auf ein Anzestralgen (Urgen) zurückgeführt werden kann. Auf dieser Basis muß eine systematisch-phylogenetische Klassifizierung der Proteine möglich sein (DAYHOFF et al., 1975). Entsprechend dem Ausmaß der Ähnlichkeit werden vergleichbare Proteine in ein vierstufiges Schema eingeordnet:

1. nahe verwandte Proteine: mit weniger als 5 % Aminosäure-Differenzen.
2. Proteinunterfamilie: mit weniger als 20 % Differenzen.
3. Proteinfamilie: mit weniger als 50 % Differenzen.
4. Proteingroßfamilie: hierzu gehören alle Proteine, deren Ähnlichkeit mit einer Wahrscheinlichkeit von über 99,9 % nicht zufällig ist, wobei die Zahl der übereinstimmenden Aminosäuren auch kleiner als 50 % sein kann.

Aufgrund dieser Kriterien wurden bisher etwa 110 Großfamilien und 180 Familien unterschieden. Proteine einiger Großfamilien sind bei allen darauf untersuchten Arten nachweisbar. Die Gesamtzahl der Großfamilien wird auf unter tausend geschätzt.

Bei sehr starken Veränderungen im Laufe langer Evolution können Großfamilien aus den Aminosäuresequenzen möglicherweise nicht mehr mit hinreichender Signifikanz erschlossen werden. Es wird darüber diskutiert, in welchem Ausmaß die in der Evolution sehr konservative Raumstruktur der Proteine als Kriterium herangezogen werden kann. Hier erscheint also wieder das Konvergenz-Problem. Vergleiche von Raumstrukturen nucleotidbindender Enzyme lassen es möglich erscheinen, daß diese alle eine besondere Art von Großfamilie bilden (ROSSMANN et al. 1974). Die untersuchten verschiedenen NAD-bindenden Dehydrogenasen weisen außerhalb des Bereichs mit dem aktiven Zentrum weitgehend ähnliche Gestalt auf, die mit einigen Abweichungen auch bei der ATP-bindenden Phosphoglyceratkinase wiederkehrt. Die einzelnen Enzyme besitzen alle eine doppelkernige Struktur, ein Molekülteil trägt das aktive Zentrum, der andere die Nucleotid-Bindungsstelle. Es ist daher denkbar, daß die Gene der einzelnen Enzyme durch Fusion zwischen einem Gen mit der Information „Nucleotidbindung“ und dem jeweiligen Gen mit der Information für das aktive Zentrum entstanden sind. Dies wäre eine Bestä-

tigung für die obige Annahme, daß die Genfusion ein wichtiger Mechanismus der molekularen Evolution ist.

Für sieben Enzyme unterschiedlicher Funktion, die alle Pyridoxalphosphat als Coenzym besitzen, wurde nachgewiesen, daß die Reaktion dieses Cofaktors stets dieselbe absolute Stereochemie zeigt. Auch das ist ein Hinweis auf das Vorliegen einer Großfamilie von Enzymen, deren Aminosäuresequenzen aber bisher nicht bekannt sind (DUNATHAN u. VOET 1974).

Genetische Distanz

Die Aufstellung von Proteinfamilien läßt erkennen, daß es möglich sein muß, mit Hilfe molekularbiologischer Daten Aussagen zur Phylogenie und damit Systematik der Organismen zu machen. Grundlage solcher Aussagen ist die Messung der genetischen Distanz. Dies geschieht mit Hilfe der erwähnten Methoden, die uns Aussagen über molekulare Evolutionsvorgänge überhaupt erlauben. Das beste Verfahren ist die Bestimmung der Aminosäuredifferenzen. Es ergibt einen Minimalwert genetischer Distanz, weil Gleichsinn-Mutationen nicht erfaßt werden. Da bisher nur relativ wenige Proteine sequenziert wurden, sind auf dieser Basis allein nur wenige Aussagen möglich. Immunologische und elektrophoretische Methoden sowie Nucleinsäure-Hybridisierung sind bei größeren genetischen Abständen ebenfalls gut anwendbar. Wichtig ist es, möglichst viele Gene der Arten, deren genetischer Abstand gemessen werden soll, heranzuziehen. Nur so erhält man einen gesicherten Durchschnittswert, denn ein einzelnes Gen (Protein) kann zufällig eine besonders starke oder eine besonders geringe Veränderung erlitten haben. Am besten haben sich bisher statistische Methoden bewährt, mit deren Hilfe aus den einzelnen experimentellen Daten Minimal-, Maximal- und Standardabstände berechnet werden (NEI 1975).

Molekulare Phylogenie

Phylogenetische Schemata (Stammbäume) lassen sich aus den genetischen Distanzen erhalten. In den bisherigen Arbeiten wurden dazu in der Regel jeweils einzelne Proteine herangezogen. Das Ergebnis ist eine Phylogenie dieses jeweiligen Proteins in den verschiedenen Taxa, die aufgrund noch zu erörternder Befunde die Phylogenie der Taxa selbst mehr oder weniger genau wiedergibt.

Zur Gewinnung solcher phylogenetischer Schemata gibt es zwei Verfahren, die beide den Methoden der numerischen Taxonomie ähnlich sind und beide auf einer mit Computer durchzuführenden doppelten Minimalisierung beruhen.

Verfahren der Bestimmung der Anzestralsequenzen: Für jede überhaupt mögliche Verknüpfung der Zweige des Stammbaums wird eine Anzestralsequenz so bestimmt, daß die Zahl der notwendigen Aminosäureaustausche (bzw. Mutationen) möglichst gering bleibt. Dann vergleicht man die jeweils insgesamt erforderlichen Aminosäureaustausche für alle verschiedenen Verknüpfungsweisen. Die Verknüpfung mit der geringsten Zahl von Austauschen wird

als bestes phylogenetisches Schema angesehen. Dieses Verfahren liefert nebenbei hypothetische Sequenzen des betreffenden Proteins für die Vorfahren an jedem Divergenzpunkt des Schemas.

Differenzen-Matrix-Verfahren: Es wird eine Matrix der Anzahl der Differenzen zwischen den verschiedenen Sequenzen aufgestellt. Für jedes mögliche Verknüpfungsschema wird die Zahl der Aminosäureaustausche (bzw. Mutationen) berechnet, welche die Matrix am besten erfüllt. Dasjenige Verzweigungsschema, das bei Erfüllung der Matrix die wenigsten Aminosäureaustausche enthält, wird als richtig angesehen.

Phylogenetische Schemata leiden grundsätzlich unter der Tatsache, daß die Zahl der genetischen Ereignisse nicht linear korreliert mit phänotypischen Ereignissen und damit mit den meßbaren Unterschieden der in der Regel polygen bedingten morphologisch begründeten Taxa. Die dadurch mögliche Diskrepanz ist ihrerseits wiederum nicht linear, da die Anzahl nicht mehr feststellbarer genetischer Ereignisse um so größer wird, je größer die genetische Distanz zwischen zwei Taxa ist. Untersucht man polygene Merkmale, so werden die Auswirkungen der Nichtlinearität geringer sein, als bei Untersuchungen von Aminosäuresequenzen. Von der molekularbiologischen Seite wäre der erste Teil dieses Problems nur zu überwinden durch Messung aller Nucleotiddifferenzen der DNA. Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß dieses Verfahren aus methodischen Gründen nicht in Frage kommt.

Für die Aufstellung phylogenetischer Schemata ist es ferner wichtig, daß die zu benutzenden Distanzangaben auf dem Vergleich nachweislich orthologer Gene beruhen. Ein Vergleich zwischen paralogen Genen ist natürlich auch möglich, er liefert eine Phylogenie des Gens, nicht die Artphylogenie. Werden gleichartige Proteine als ortholog angesehen und zum Zweck der Erkennung der Artphylogenie verglichen, obwohl sie tatsächlich paralog sind, so können dadurch erhebliche Fehler ins phylogenetische Schema gelangen. Ein Beispiel sind die Lysozyme von Gans und Huhn, die verschiedene Isoenzyme, also verschiedene Allele darstellen und somit paralog sind. Ihre Benutzung für die Artphylogenie führte zu einer zu großen Distanz der beiden Arten. Sicher sind in manchen anderen Fällen gleichartige Fehler bisher nicht erkannt worden.

Wenn die Korrelation orthologer Aminosäuresequenzen dazu nötigt, bei manchen Arten Deletionen anzunehmen, so führt dies zu einer Unbestimmtheit bei der Konstruktion des einfachsten phylogenetischen Schemas, das heißt, man erhält mehrere unterschiedliche Stammbäume. Es gibt bisher kein Verfahren, zwischen diesen ohne Willkür oder Heranziehung von Daten der „klassischen“ Phylogenie zu entscheiden (FITCH u. YASUNOBU 1975). In manchen Fällen ergeben auch alle möglichen Schemata keine Übereinstimmung mit einem gut begründeten klassisch-phylogenetischen Stammbaum (so z. B. für pflanzliche Ferredoxine). Dann besteht der Verdacht, daß nicht alle verglichenen Sequenzen wirklich ortholog waren.

Sollen daher molekularbiologisch gewonnene Stammbäume eine Kontroverse der klassischen Phylogenie lösen helfen oder eine klassische Theorie umstürzen können, so dürfen sie nie auf das Verhalten nur eines

Strukturgenen gegründet werden. Dieses braucht nämlich die Evolution des Genoms nicht adäquat wiederzugeben. Unabhängig davon ist die weitere Tatsache, daß infolge der unterschiedlichen Evolutionsgeschwindigkeit verschiedener Gene (siehe unten) für verschiedene Fragestellungen ganz verschiedene Gene (bzw. Proteine) herangezogen werden müssen, um zu sinnvollen Aussagen zu gelangen. Gute Antworten auf ein phylogenetisches Problem erhält man also nur, wenn man die für dieses Problem geeigneten Gene benutzt und die für die Daten beste numerische Methode anwendet. Letztere ist aber bei Verwendung einzelner Gene nur mit Hilfe der klassischen Phylogenie auszuwählen. Die molekulare Phylogenie, die auf der Untersuchung einzelner Gene und nicht eines erheblichen Teils des Genoms beruht, kann nur der klassischen Phylogenie zusätzliche Quellen erschließen, nicht sie ersetzen.

Aus der bekannten Phylogenie einzelner orthologer Gene in den verschiedenen Taxa kann man zwei allgemeingültige Regeln ableiten.

1. Mutationen werden innerhalb eines Gens nicht zufallsgemäß fixiert. Jedes Gen besitzt invariable Teile; eine Mutation in diesem Bereich würde die Funktion zerstören und ist daher verboten. Die Nucleotide der variablen Bereiche sind austauschbar, ohne daß es zu einer Funktionsstörung kommen muß. Jedoch zeigen die Daten, daß innerhalb der variablen Bereiche sich Nucleotidsequenzen befinden, die bei näher verwandten Taxa nicht variiert werden. Engt man die Verwandtschaft immer mehr ein, so nimmt die Zahl prinzipiell variabler aber innerhalb der Verwandtschaftsgruppe infolge zusätzlicher Beschränkungen nicht mehr variierbarer Nucleotide zu. Durch Extrapolation auf die genetische Distanz 0 erhält man die Anzahl Codewörter, die in einer gegebenen Art überhaupt evolutiv akzeptable Aminosäureaustausche hervorbringen kann (FITCH 1973). Man nennt sie Covarions (concomitantly variable codons).
2. Mutationen werden innerhalb des Codewortes nicht zufallsfixiert. Wie eine Untersuchung an verschiedenen Proteinen ergab, erfolgte im Verlauf der Evolution eine mehr als zufallsgemäße Ersetzung von Guanin durch Adenosin (bezogen auf die Codewörter der mRNA unter Annahme der G-reicheren Codewörter). Dies könnte zweierlei Ursachen haben. Einmal sind Austausche chemisch gleichartiger Aminosäuren (z. B. Alanin/Threonin, Lysin/Arginin) wahrscheinlicher als andere, die auch durch Austausch eines Nucleotids zustande kommen; daher sind G → A-Ersetzungen bevorzugt. Zum anderen können bestimmte Austausche einen selektiven Vorteil haben, wenn die mRNA eine definierte Sekundärstruktur im translatierten Bereich aufweist. Die Erhaltung dieser Sekundärstruktur hat dann einen Einfluß auf den Selektionswert aller Mutationen der Strukturgene (KLÄMBT 1975). Da die mRNA während des Processing und des Aufenthalts im Cytoplasma stets an Proteine gebunden ist, erhebt sich die Frage, in welchem Ausmaß sie selbst eine definierte Sekundärstruktur besitzt und in welchem Umfang die Informosomenproteine (bzw. im Kern die dortigen Proteine)

die Struktur der Partikel bestimmen. Es ist möglich, daß gerade die dauernde Bindung der mRNA an Proteine eine sonst bestehende selektive Beschränkung, welche die Evolution einengen würde, verhindert.

Die nicht zufällige Fixierung von Mutationen innerhalb eines Codewortes kann aber auch darauf zurückzuführen sein, daß vermutlich in manchen Genen nicht alle Nucleotide gegenüber der nächsten Ersetzung gleich empfindlich sind.

Evolutionenraten

Nach Aufstellung phylogenetischer Schemata ist es möglich, die durchschnittliche Geschwindigkeit der Evolution einzelner Proteine zu berechnen. Man benötigt hierzu mindestens eine gute absolute Datierung der Auftrennung von zwei Taxa, die als Divergenzpunkt im Schema enthalten ist. Diese Datierung muß die Paläontologie liefern. Die Anzahl der fixierten Mutationen in den beiden Taxa seit der Trennung erhält man aus der Zahl beobachteter Austausche und einem Zuschlag für nicht erkannte Mutationen.

Die Angabe der Evolutionsrate kann auf verschiedene Weise erfolgen, z. B. als Zahl der Aminosäureaustausche pro Aminosäure und Zeiteinheit, oder umgekehrt als Angabe der Millionen Jahre, die zur Veränderung einer Aminosäure bezogen auf die Norm von 100 Aminosäuren, erforderlich sind.

Bei genaueren Berechnungen muß das Vorliegen nicht variabler Nucleotidsequenzen berücksichtigt werden. Inkorrekterweise wird bei den Berechnungen angenommen, daß die jeweils folgende Mutation an allen variablen Positionen gleich wahrscheinlich ist. Das Problem könnte gelöst werden, wenn man den Berechnungen die Covarions zugrunde legte. Aber die Covarions sind bei verschiedenen Organismengruppen unterschiedlich, das heißt, durch eingetretene Mutationen wird der Satz von Covarions verändert; und von fossilen Organismen sind Covarions naturgemäß gar nicht bekannt.

Die Evolutionsuhr

Angaben der Evolutionsrate eines Proteins bzw. Gens sind nur sinnvoll, wenn diese Evolutionsrate über einen für die Phylogenie relevanten Zeitraum näherungsweise konstant bleibt („Evolutionsuhr“). Ist dies der Fall, so kann man aus der Zahl der Austausche und der Evolutionsrate berechnen, vor wie langer Zeit eine Anzestralsequenz zweier untersuchter Sequenzen existierte. So kann man Zeitangaben über die Auftrennung von Taxa erhalten, die paläontologisch nicht zugänglich sind.

Da die Austausche jeweils nur in den Covarions auftreten, sollten die Evolutionsraten je Covarion unabhängig vom untersuchten Gen konstant sein, wenn die Annahme der Evolutionsuhr zutrifft. Bisher gibt es für 5 Gene genügend Daten, um die Zahl der Covarions zu bestimmen. Tatsächlich ist bei diesen die Zahl der Aminosäure-verändernden Mutationen

je Covarion und Zeiteinheit konstant (FITCH 1973); die Hypothese der Evolutionsuhr wird also bestätigt. Bei detaillierten Untersuchungen findet man allerdings immer wieder über kürzere Zeiten und bei engen Taxa Abweichungen, die meist nicht erklärt werden können. Ein Beispiel sind die beiden Isoenzyme der Pankreas-Ribonuclease vom Meerschweinchen, die seit der Genduplikation bei einem Vorfahren eine raschere Evolution zeigen, als der normalen Evolutionsrate der Ribonuclease bei Säugern entspricht (VAN DEN BERG u. BEINTEMA 1975). In mehreren Arbeiten wurde nachgewiesen, daß die Evolutionsrate verschiedener Proteine bei den Primaten geringer ist als bei anderen Säugern.

Die Unterschiedlichkeit der Evolutionsraten verschiedener Proteine ist hingegen gut erklärbar, sie hat zwei Ursachen: Einmal gibt es die invariablen Molekülteile. Sind diese sehr umfangreich, so ist nur eine langsame Evolution möglich. Zum anderen erlaubt die notwendige Konservierung der Raumstruktur oft nur bestimmte Aminosäureaustausche. Daher hängt die Evolutionsrate auch davon ab, ob die vorhandene Aminosäuresequenz mehr oder weniger solcher gleichsinnigen Austausche zuläßt (CHIRPICH 1975).

Ein andersartiger Test der Evolutionsuhr (WILSON et al. 1974; MAXSON et al. 1975) führt zu einem weiteren Problemkreis. Die benutzten orthologen Proteine sind hier die bei allen Vertebraten vorhandenen Serumalbumine. Die Annahme der Kontinentaldrift (Plattentektonik) liefert für bestimmte taxonomische Gruppen, selbst wenn Fossilien weitgehend fehlen, Zeitmarken der genetischen Isolierung von Schwestergruppen, wenn diese auf einem anderen Kontinent vorkommen. Vergleicht man die Proteinevolution solcher Schwestergruppen, so kann man daran die Konstanz der Evolutionsrate überprüfen. Solche Untersuchungen wurden ausgeführt an Marsupialiern und Vertretern der Baumfrosch-Unterfamilie Hyliinae. Beide Gruppen besitzen Vertreter in Australien und Amerika und fehlen in Südostasien und in Afrika. Sowohl für die Marsupialier als auch für die Frösche erhält man konstante Evolutionsraten. Mit diesen kann man auch den Zeitpunkt der Faunentrennung von Australien und Amerika bestimmen. Die Marsupialier-Albumin-Uhr liefert 73 Millionen Jahre, die Frosch-Albumin-Uhr 68 Millionen Jahre. Dies ist eine hervorragende Übereinstimmung und paßt auch gut zu der geologisch-geophysikalischen Datierung (Ende Oberkreide).

Zugleich aber zeigte diese Untersuchung etwas anderes. Die Unterfamilie Hyliinae hat etwa dieselbe Evolutionsbreite wie die Überordnung Marsupialia. Die klassische Systematik hat diesen Einheiten aufgrund ihrer unterschiedlichen morphologischen Entwicklung ganz verschiedenen taxonomischen Rang zugebilligt. Diese übliche Klassifizierung ist subjektiv bzw. anthropomorph und aufgrund der genetischen Distanz der untersuchten orthologen Strukturgene objektiv falsch. Die Hyliinae sind eine Gruppe von etwa gleichem taxonomischem Rang wie die Marsupialier. In entsprechender Weise erbrachte eine Untersuchung an den Krallenfroscharten *Xenopus laevis* und *X. muelleri* einen genetischen Abstand, der etwa dem zwischen Pferd und Schaf entspricht. In der seitherigen

Systematik gibt es nur eine Methode, die es ermöglicht, zu ähnlichen Ergebnissen zu kommen bzw. diese zu erklären; dies ist das konsequent-phylogenetische Verfahren von HENNIG (z. B. HENNIG 1969). Es sei schon hier betont, daß die molekulare Phylogenie der Strukturgene die Prinzipien der konsequent-phylogenetischen Systematik voll und ganz stützt.

Evolution der Regulationssysteme

Viele Vogelarten können Bastarde bilden. Von 36 Paaren solcher Arten wurden Proteine (Albumin, Transferrin) untersucht. Bei Anwendung der Albumin-Uhr stellt man fest, daß die Auftrennung heute noch bastardbildender Arten bis zu 22 Millionen Jahre zurückliegt. Bei Fröschen findet man dasselbe; Schwestertaxa, die sich vor 21 Millionen Jahren trennten, können noch bastardieren. Bei Säugern sind bastardierbare Arten in der Regel nicht länger als 2 bis 3 Millionen Jahre getrennt. Anders formuliert: Vögel und Frösche verloren die Fähigkeit zur interspezifischen Bastardbildung etwa zehnmal langsamer als Säuger. Auch die anatomisch-morphologische Evolution verlief bei den Vögeln und Fröschen in den letzten 25 Millionen Jahren erkennbar langsamer als bei den Säugern (PRAGER u. WILSON 1975). Diese Tatsachen müssen eine genetische Grundlage haben. Da die Strukturgene, wie das Beispiel der Marsupialier und Hylinae zeigt, sich gleich rasch entwickelten, muß die Ursache in evolutiven Veränderungen regulatorischer Elemente liegen. Molekulare Evolution spielt sich auch im Bereich der Regulationssysteme ab. Diese haben offenbar bei Säugern eine höhere Evolutionsrate; dies erklärt deren ausgeprägte morphologische Evolution. Regulationssysteme sind gerade für die Bastardbildung wahrscheinlich sehr wichtig; passen sie beim väterlichen und mütterlichen Genom nicht zusammen, so entwickelt sich der Keim nicht.

Veränderungen von Regulationssystemen können zustande kommen, wenn eine größere Anzahl von Genen verlagert wird. Solche Vorgänge sind oft cytologisch an der Veränderung des Bandenmusters gefärbter Chromosomen zu erkennen. Derartige Segmentmutationen, die natürlich auch der Selektion unterliegen, können bei geringer meßbarer genetischer Distanz starke morphologische Veränderungen gegenüber der Schwesterart hervorrufen. Ein Beispiel dafür ist das Paar Schimpanse/Mensch (KING u. WILSON 1975): Die Sequenzuntersuchung von 44 Proteinen ergab, daß die genetische Distanz etwa den bei Schwesterarten einer Gattung üblichen Wert hat. Sie ist nur etwa 25—60mal größer als diejenige zwischen den Menschenrassen.

Die Nucleotiddifferenzen in nichtrepetitiver DNA sind allerdings etwas größer als die Unterschiede der Aminosäuresequenzen. Es liegen entweder Gleichsinn-Mutationen oder Differenzen in Spacern vor.

Der große Unterschied zwischen Mensch und Schimpanse liegt in der Organisationsform des Genoms. Der Mensch hat 46, der Schimpanse 48 Chromosomen. Die Bandenmuster sind an vielen Stellen unterschiedlich;

mindestens 10 größere Inversionen und Translokationen von Chromosomen-Stücken sowie eine Verschmelzung zweier Chromosomen sind beim Menschen erfolgt.

Bei der Veränderung der Kontrollsysteme bleibt die Funktion der Strukturgene völlig gleich, es wird nur das „Programm“ (software) des Organismus verändert. Mutationen von Strukturgenen betreffen hingegen die hardware. Offenbar sind Programmänderungen im Verlauf der Evolution nicht allzu selten. Es gibt bisher aber noch keine adäquate Möglichkeit, sie molekularbiologisch zu erfassen und sie in einem phylogenetischen Schema klar zum Ausdruck zu bringen. In regulatorischen DNA-Bereichen finden auch Genduplikationen statt, die zu einer Anhäufung von Regulationselementen führen können, insbesondere da einzelne auftretende Punktmutationen in solchen reiterierten Sequenzen eine Regulationsfunktion oft nicht beeinträchtigen. Möglicherweise werden in relativ raschen Vorgängen ganze Serien solcher DNA-Sequenzen gebildet (FLORKIN 1974).

Die Diptere *Aedes albopictus* besitzt etwa fünfmal so viel DNA wie *Drosophila melanogaster*. *Aedes* bildet im Vergleich zu *Drosophila* mehr als doppelt so große prä-mRNA-Moleküle (auch bei Kultur isolierter Zellen unter gleichen Bedingungen). Entsprechend stärker ist der Abbau während des Processing der RNA; bei *Drosophila* werden 20% der Transkriptionsprodukte zu mRNA, bei *Aedes* nur wenig mehr als 3%. Der hohe DNA-Gehalt von *Aedes* dürfte zu einem beträchtlichen Teil auf eine Vermehrung repetitiver DNA-Sequenzen zurückzuführen sein, die in diesem Fall weitgehend ohne Aufgabe geblieben sind.

Veränderungen im Regulationssystem können ihre Ursache ferner in unterschiedlicher Effizienz allosterischer Enzymregulation haben. Derartige ist bei der Untersuchung der Enzymologie der Tyrosinbiosynthese von Bakterien, Blaualgen und niederen Pilzen nachgewiesen worden und hängt hier offenbar mit der Anpassung an verschiedene ökologische Nischen zusammen. Für etliche Enzyme des Intermediärstoffwechsels wurde Entsprechendes für verschiedene Organismengruppen von BORRIS (1972) gezeigt.

Ein Regelungsnetz, das eine gewisse Komplexität erreicht hat, leistet äußeren Störungen gegenüber Widerstand, es hat die Tendenz, sich zu erhalten (Homöostase). Dies gilt auch für die Evolution. Wenn ein Regulationssystem sich erst im Aufbau befindet, haben wahrscheinlich mehr Mutationen einen positiven Selektionswert oder sind zumindest neutral. Wenn das System hingegen gut adaptiert ist, sind nur noch wenige Veränderungen möglich. Es ist naheliegend, Zeiten einer erhöhten Evolutionsgeschwindigkeit einzelner größerer Taxa (sogenannte „Typogenese“) mit solchen Vorgängen in Verbindung zu bringen. Denkbar ist es auch, daß Strukturgene infolge veränderter Regulation höhere Evolutionsraten annehmen.

Es gibt offenbar fundamentale Regelungssysteme, die allen Organismen zukommen und schon bei den Prokaryonten in einfacher Form nachzuweisen sind (TOMKINS 1975). Solche Kontrollsysteme verwenden bestimmte „Symbolmoleküle“ als Signalstoffe. Ein wichtiges Beispiel ist das cycli-

sche Adenosinmonophosphat (cAMP), das im Regulationsbereich Kohlenhydrat- und Energiehaushalt wirkt. Die Symbolmoleküle haben sich nach Etablierung der betreffenden Regelungssysteme durch die ganze Evolution hindurch erhalten. Im Verlauf der Anagenese wurden die Regulationsvorgänge komplizierter, dabei haben die Symbolmoleküle ihre spezielle Funktion im Stoffwechsel verändert, nicht aber ihre übergeordnete Funktion.

So ist z. B. cAMP bei Bakterien Aktivator eines Proteins, das seinerseits bei der Regelung des Abbaus von Kohlenhydraten mitwirkt. Bei Wirbeltieren fungiert cAMP als interzellulärer Sekundärermessenger für Hormone, die den Kohlenhydrathaushalt beeinflussen und hat infolge Erweiterung des Regulationssystems noch andere Funktionen. Bei einzelligen Algen ist cAMP an der Regulation der Bewegung und somit am Aufsuchen geeigneter Lichtverhältnisse für eine optimale Photosynthese und damit Kohlenhydratversorgung beteiligt. Bei höheren Pflanzen wurde bisher kein Regulationsmechanismus gefunden, an dem cAMP mitwirkt, es ist insbesondere nicht, wie mehrfach angenommen, als Sekundärermessenger für Hormone wirksam. Andererseits erscheint vom phylogenetischen Standpunkt aus die Annahme, daß cAMP in höheren Pflanzen keine Funktion habe und möglicherweise gar nicht vorkomme, unwahrscheinlich (KULL u. KÜHN 1975). Als Symbolmolekül des Kohlenhydrat- und Energiehaushalts könnte die Funktion bei den ortsfesten höheren Pflanzen im Bereich der Photomorphogenese zu suchen sein. Experimentelle Hinweise hierzu erhielten JANISTYN und DRUMM (1975). Eine generelle Funktion von cAMP wird auch durch das Protein Ubiquitin nahegelegt, das in höheren Pflanzen wie Tieren mit weitgehend gleicher Aminosäuresequenz vorkommt und *in vitro* die Synthese von cAMP aktiviert. Seine biologische Funktion ist unbekannt.

Evolution des molekularbiologischen Apparats

Die Evolution der Mechanismen der DNA-Replikation, der Transkription, des Processing und der Translation ist wegen der Rückwirkungen auf alle molekularen Evolutionsvorgänge von großer Bedeutung. Die grundsätzlichen Abläufe der Vorgänge wurden schon während der Entstehung des Lebens festgelegt, wie etwa die Universalität des genetischen Codes zeigt. Jedoch könnten kleine Veränderungen während des Evolutionsvorgangs, z. B. im Replikationssystem, außerordentliche Effekte haben. Darüber fehlen aus methodischen Gründen bisher Untersuchungen.

Nur zum Bau der Ribosomen lassen sich Aussagen machen. Diese Organellen der Proteinsynthese haben ihre Struktur im Laufe der Evolution erheblich verändert, wobei einige der Komponenten aber ziemlich konstant blieben. Ribosomenproteine sind auch zu genetischen Distanzmessungen herangezogen worden. Dabei wurde festgestellt, daß der Abstand verschiedener Bakteriengruppen zueinander von ähnlicher Größe ist wie der zwischen Pro- und Eukaryonten, daß hingegen innerhalb der Wirbeltiere — offenbar infolge des erreichten hohen Organisationsgrades der Ribosomen — kaum Veränderungen erfolgten (DELAUNAY u. SCHAPIRA 1974; DELAUNAY et al. 1974).

Das Problem der neutralen Mutationen

Die Bedeutung der neutralen Mutationen für den Vorgang der Evolution auf molekularer Ebene ist nicht endgültig klar (KIMURA u. OHTA 1974; THODAY 1975). Um dieses Problem besser zu begreifen, seien die bisher beschriebenen Prinzipien der molekularen Evolution kurz zusammengefaßt: Für jedes Protein ist die Evolutionsrate näherungsweise konstant, solange die Funktion und die Raumstruktur weitgehend erhalten bleiben. Von dieser Aussage gibt es einzelne, nicht sicher begründbare Ausnahmen. Funktionell weniger wichtige Proteine oder Teile von Proteinmolekülen haben höhere Evolutionsraten als die wichtigeren. Austausch gleichartiger Aminosäuren, welche die Struktur und Funktion eines Moleküls weniger stark beeinflussen, sind häufiger als andere. Die Genduplikation ist eine wichtige Voraussetzung für die Entstehung eines Gens neuer Funktion. Durch die Selektion werden nachteilige Mutanten eliminiert, neutrale Mutanten werden zufallsfixiert. Diese Vorgänge sind vermutlich häufiger als die positive Selektion vorteilhafter Mutanten.

Aus diesen Tatsachen schließt nun eine Gruppe der molekularen Evolutionsforscher („Neutralisten“), daß die Selektion vor allem den status quo erhalte und daß neutrale Aminosäureaustausche proportional der Häufigkeit ihres Auftretens fixiert werden, wodurch sich die konstante Evolutionsrate bei gleichbleibender Mutationsrate zwangsläufig ergibt. Der Anteil der Evolution, der durch Zufall und nicht durch Selektion zustande kommt, wird auch „nichtdarwinistische Evolution“ genannt, obwohl er den Gesetzmäßigkeiten des Darwinismus keineswegs widerspricht.

Nun besteht keinerlei Zweifel, daß die Mutationen Zufallsvorgänge sind. Die Allelendrift (Gendrift) führt zu Zufallsveränderungen in der Genfrequenz und kann in kleinen Populationen sogar schwach nachteilige, und um so mehr neutrale Allele erhalten. Demgegenüber ist aber die Selektion ein umweltabhängiger Vorgang, der dem Zufall entgegenwirkt (MONOD 1971) und mit Notwendigkeit zu relativ besser adaptierten Phänotypen führt.

Die Neutralisten sehen Vorgänge der Gendrift als die wichtigsten im Bereich der molekularen Evolution an. Es wird damit dem Zufall eine größere Bedeutung für die Richtung der Evolution zugeschrieben, als der klassische Neodarwinismus annimmt, jedoch keines der Prinzipien der synthetischen Theorie verlassen (OHTA 1974). Die „Selektionisten“ erklären demgegenüber, daß eine nichtdarwinistische Evolution nur eine Evolution des Genpools sei, durch die eine adaptive Veränderung des Phänotyps nicht zustande komme.

Lösungsversuche dieser Kontroverse setzen voraus, daß man den Begriff der neutralen Mutationen nach den Prinzipien des Darwinismus überprüft. Man findet, daß es vier verschiedene Arten neutraler Allele geben kann (THODAY 1975).

1. Streng neutrale Allele: Sie haben keinerlei Einfluß auf die Fitneß und somit auf Adaption und progressive Evolution. Sucht man aber nach

Beispielen für sicher neutrale Allele, so treten alsbald Schwierigkeiten auf. Man wird zunächst die Gleichsinn-Mutationen als streng neutral ansehen. Jedoch besteht hier möglicherweise eine Auswirkung auf die Sekundärstruktur der mRNA. Außerdem sind selbst Gleichsinn-Mutationen rekombinativ nicht völlig gleichwertig. Die Neutralisten sehen auch neutrale Aminosäureaustausche als Ursache der Polymorphie an. Wir haben aber gesehen, daß Polymorphie in zahlreichen Fällen durch Selektion aufrechterhalten wird.

2. Quasi-neutrale Allele: Sie beeinflussen die Fitneß so wenig, daß der Zufall einen viel größeren Einfluß auf ihre Durchsetzung hat als die Selektionswirkung. Solche Allele sind sicher in jeder Population vorhanden, aber von geringerer Bedeutung, da sie im Phänotyp kaum zum Tragen kommen bzw. der geringe Fitneß-Unterschied innerhalb der größeren umweltbedingten Variationsbreite ohne Einfluß ist.
3. Bedingt neutrale Allele: Sie sind als neutrale oder quasi-neutrale Allele entstanden, aber infolge von Veränderungen in der Umwelt (einschließlich der genetischen „Umwelt“ im Genom) nicht mehr neutral. Solche Mutanten sind wahrscheinlich die wichtigste molekulare Grundlage der Präadaption. Zukünftige Umweltveränderungen kann der Organismus nicht vorherplanen. Eine Adaption an nicht Vorhersehbares ist nur möglich als Präadaption; es wird Zufallsvariabilität produziert und in evolutiv unwirksamer Weise gespeichert. So kann die Evolution bei Bedarf auf ein Reservoir vorher neutraler, quasi-neutraler oder sogar schwach nachteiliger Mutanten zurückgreifen. In dieser Annahme scheint die Diskrepanz zwischen Selektionisten und Neutralisten aufgehoben. Allele, die streng neutral bleiben, sind für die Evolution ohne Nutzen, sie sind nur „Rauschen“.
4. Pseudoneutrale Allele: Sie können auf verschiedene Weise durch Selektion entstehen. Hierher gehören ursprünglich nicht neutrale Allele, die durch Veränderung der Umwelt neutral geworden sind.

Neutralisten haben immer wieder erklärt, daß eine selektionistische Theorie die Konstanz der Evolutionsraten nicht erklären könne. Es gibt aber zumindest eine Hypothese (VAN VALEN 1973, 1974), die eine selektionistische Erklärung gibt. Nach einer Figur von LEWIS CARROLL wurde sie vom Autor als Red-Queen-Hypothese bezeichnet (In „Through the Looking Glass“ sagt die Red Queen zu Alice: „Now here, you see, it takes all the running you can do to keep in the same place“). Die Hypothese besagt, daß eine Zunahme der Fitneß einer Art zu einer insgesamt genau so großen Abnahme der Fitneß bei den Arten führt, die in ökologischen Beziehungen mit der erstgenannten Art stehen. Wenn sich alle Arten im Durchschnitt gleich gut behaupten sollen, wie vor den Erfolgsschritten einzelner Arten, so müssen sie alle ihre Fitneß um einen bestimmten Betrag erhöhen. Findet die Zunahme der Fitneß statt, so wirkt sich dies infolge der ökologischen Beziehungen auf weitere Arten aus, der Vorgang setzt sich im Prinzip unendlich fort. Für manche Arten wird die Zunahme der Unwirtlichkeit der Umgebung zu groß, weil sie nicht recht-

zeitig ihre Fitness erhöhen konnten; sie sterben aus. Die mittlere Intensität der Selektion und die Rate adaptiver Evolution in einem gegebenen Anpassungsraum bleiben ziemlich konstant. Will man diese Red-Queen-Hypothese auf die molekulare Evolution anwenden, so muß man die Voraussetzung machen, daß über lange Zeit hinweg die gerichtete Selektion, die auf ein Protein Einfluß nimmt, in positiver Korrelation zur Selektion des Phänotyps insgesamt steht. Diese Annahme ist plausibel. Damit folgt aus der Red-Queen-Hypothese über einen genügend langen Zeitraum gemittelt eine konstante und für jedes Protein spezifische Evolutionsrate. Wenn ein Protein seine Funktion ändert, wird in der Regel auch seine Stellung im Gefüge der Gen-Merkmal-Beziehungen anders und somit die Evolutionsrate einen anderen Wert annehmen. Dasselbe wird bei starken Veränderungen des Anpassungsraums (z. B. der ökologischen Großnische) erfolgen. Wenn verschiedene Arten einer taxonomischen Gruppe nur wenige ökologische Beziehungen untereinander haben, wird der Evolutionsprozeß, den die Red-Queen-Hypothese beschreibt, von geringerer Bedeutung sein. Das hat zur Folge, daß neutrale Mutationen einen größeren Anteil am Evolutionsgeschehen haben und die von der Selektion beherrschte morphologisch-anatomische Evolution somit geringer ist. Als Beispiel dafür werden die Muscheln angeführt. Extremfälle in dieser Richtung sind die sogenannten „lebenden Fossilien“, deren Phänotyp sich im Verlauf geologischer Epochen nicht verändert hat. Im Genotyp müssen sie sich aber von ihren gleichgestalteten Vorfahren zumindest durch eine größere Zahl neutraler Mutationen unterscheiden. Das ist nicht direkt überprüfbar, aber die gefundenen Polymorphien sind ein möglicher indirekter Hinweis.

Im Rahmen der Kontroverse um die neutralen Mutationen ist auch die Tatsache von Wichtigkeit, daß mit Zunahme einer Populationsgröße vorher quasi-neutrale Mutanten durch Zunahme des Selektionsdrucks nachteilig werden können. Die Grenzlinien zwischen quasi-neutralen, schwach nachteiligen und schwach vorteilhaften Mutanten (die zusammen die Hauptmenge aller Mutationen ausmachen) schwanken also in Abhängigkeit von der Populationsgröße. Daher werden sich bei einer gut adaptierten Art neutrale Mutationen weniger gut durchsetzen, als bei einer schlechter adaptierten in einer kleinen Population, wie sie bei der Speziation häufig vorliegt (OHTA 1974).

Neutralistische und selektionistische Erklärungen

Die genetische Distanz zwischen zwei Taxa ist für verschiedene Allele unterschiedlich. Eine große Distanz wird als Folge gerichteter Selektion angesehen, während an anderen Genloci stabilisierende Selektion wirksam sein soll. Die Neutralisten können dem entgegenhalten, daß nach Berechnungen an Modellpopulationen auch die genetische Drift alleine diese Effekte hervorrufen kann (NEI u. TATENO 1975).

Auffallend geringe genetische Distanzen einzelner orthologer Proteine oder die Konstanz der Anordnung ganzer Gengruppen werden als „frozen

accidents“ bezeichnet (OHNO 1973) und als Beweis für die Bedeutung des Zufalls angesehen. Ein Beispiel ist die hohe Konstanz des X-Chromosoms der Säuger. Gene, die bei einer Art auf dem X-Chromosom gefunden wurden, sind mit hoher Wahrscheinlichkeit auch bei allen anderen Arten dort gekoppelt anzutreffen.

Vor kurzem durchgeführte umfangreiche Computer-Simulationen von Evolutionsvorgängen (KOLATA 1975) zeigen, daß viele dieser Ereignisse zufällig sein können. Die verschiedenen Muster des zeitlichen Verhaltens größerer Taxa (MÜLLER 1961) ließen sich alle durch Zufallsgeneration im Computer erhalten. Im molekularen Bereich spricht dies für eine Bedeutung neutraler Mutationen. Sogar das gleichzeitige Aussterben von 20 % aller „Klassen“, und ebenso eine plötzliche „Typogenese“, traten als Zufallereignisse ein. Wieviel mehr Wahrscheinlichkeit haben solche Vorgänge also, wenn noch ein Selektionseffekt durch ökologische Effekte dazu kommt! Große ökologische Veränderungen traten auf der Erde z. B. im Perm mit einer Verringerung der Schelfmeerfläche um etwa 70 % und in der Oberkreide mit einer großen Transgression und nachfolgenden starken Regression ein.

Als Musterfall einer Evolution durch neutrale Mutationen wurde verschiedentlich das Insulin der Säuger angesehen. Die Evolutionsrate ist (außer bei den Hystricomorphen) außerordentlich konstant. Die Untersuchungen von BLUNDELL und WOOD (1975) zeigen jedoch, daß man auch eine selektionistische Erklärung der Insulinevolution geben kann. Die plötzliche Steigerung der Evolutionsrate bei den Hystricomorpha wird auf den relativ seltenen Fall eines Aminosäureaustauschs zurückgeführt, bei dem für einen Funktionsaspekt die Fitneß zu, für einen anderen aber abnimmt. Ein derartiger Vorgang führt entweder zum Aussterben der Population oder zu rascher Evolution des betroffenen Proteins. Für die Evolution der Hämoglobine bei Wirbeltieren wurde von GOODMAN et al. (1975) ebenfalls die Richtigkeit einer selektionistischen Auffassung gezeigt. Wendet man die neutralistische Hypothese auf die Evolution der menschlichen Hämoglobine an, so muß nach populationsgenetischen Berechnungen die menschliche Population zu einem nicht sehr weit zurückliegenden Zeitpunkt auf eine sehr geringe Individuenzahl reduziert gewesen sein. Ein Evolutionsgenetiker hat dies im Spaß als genetischen Nachweis der Sintflut beschrieben.

Von Neutralisten oft nicht berücksichtigt wurde die Tatsache, daß auch relativ geringe Veränderungen der Michaelis-Konstante von Enzymen, wie sie durch manche einzelne Aminosäureaustausche zustande kommen, einen deutlichen Selektionswert haben (CROWLEY 1975).

Wenn es funktionell völlig gleichwertige orthologe Proteine mit Unterschieden in den Aminosäuresequenzen gibt, so spricht dies für die Fixierung neutraler Mutationen. Das Problem steckt aber darin, daß es in der Regel nicht möglich ist, die völlige Gleichwertigkeit nachzuweisen. Immerhin ist es denkbar, eine näherungsweise Gleichwertigkeit zugrunde zu legen und bei Kenntnis vieler Proteinsequenzen zahlreicher verschiedener Allele daraus abzuschätzen, welchen Anteil neutrale oder quasi-neutrale

Mutationen an der Evolution bestimmter Organismengruppen haben.

Solange in einer Stammgruppe die Differenzierung zwischen den Arten gering ist, besteht ein größerer Einfluß des Zufalls auf Erhaltung oder Sterben von Individuen und damit von Mutationen. Die Mutationsrate bleibt auch bei schärferer Selektion gleich, aber letztere sorgt für eine präzisere Auswahl vorteilhafter Mutationen.

Die populationsgenetischen Berechnungen lassen es sicher erscheinen, daß die häufig gemachte Annahme unzutreffend ist, wonach die Mutationsrate stets viel größer sei, als der Bedarf neuer Mutanten für die Evolution einer Art (NEI 1975). Es ist durchaus möglich, daß die Evolutionsgeschwindigkeit einer Population durch die Rate tolerierbarer Mutanten bestimmt wird.

Völlig unklar ist die Frage nach der Bedeutung neutraler Mutationen in regulatorischen DNA-Bereichen. Aufgrund der Annahmen über den Aufbau regulatorischer Sequenzen sollten sie dort sehr viel häufiger sein als in den Strukturgenen. Für Mutationen in Spacern gilt dasselbe.

Evolution extranuklearer Gene

Die Entstehung der Eukaryontenzelle wird in einer gut gestützten Hypothese durch Endosymbiose erklärt (vgl. KULL 1972). Wenn Plastiden und Mitochondrien ursprüngliche Symbionten sind, so ist aufgrund der heutigen Verteilung der Strukturgene zwischen Kern- und Organell-DNA sicher, daß ein Gentransfer zum Kern hin stattfand. Je weitergehend im Verlauf der Evolution der Symbiont als Organell integriert wurde, das heißt, je mehr seine Funktion und damit Struktur spezialisiert wurde, um so weniger Gene mußten im Organellengenom verbleiben, um seine Grundstruktur zu gewährleisten (BOGORAD 1975).

Nun kann natürlich der Gentransfer in verschiedenen Gruppen von Organismen mit getrennter Evolution unterschiedlich nach Zahl und Art der betroffenen Gene abgelaufen sein. Die Mitochondrien und vor allem die Plastiden der Pflanzen könnten in verschiedenen phylogenetischen Gruppen also unterschiedliche Gene enthalten. Das Genverteilungsmuster müßte dann auch Rückschlüsse auf die Phylogenie erlauben. Welche Rolle denkbare „Genverteilungsmutationen“ spielen, ist völlig unbekannt.

Molekulare Evolution und konsequent-phylogenetische Systematik

Die molekulare Evolutionsforschung kann nur von rezenten Organismen ausgehen. Ausgestorbene Arten sind, da ihre Proteine und Nucleinsäuren nicht (oder zumindest nicht unverändert) erhalten blieben, einer Untersuchung nicht zugänglich. In konkrete phylogenetische Schemata auf molekularbiologischer Basis lassen sich daher fossile Formen nicht einordnen. Diese Einschränkung trifft auch für das konsequent-phylogenetische System HENNIGS zu. Reale Fossilien können darin oft nicht untergebracht werden, weil die entscheidenden Merkmale nicht erhalten sind (vgl. HENNIG 1969). (Darüber hinaus bleibt die Rangstellung vieler Fossilien ungeklärt, vgl. ZIEGLER 1972.) Es wurde bereits darauf hinge-

wiesen, daß phylogenetische Schemata auf der Basis von Strukturgenen mit dem konsequent-phylogenetischen System sehr gut korrelieren. Mit den üblichen synthetisch-phylogenetischen Systemen ist eine solche Korrelation nicht zu erreichen.

Das auch für das konsequent-phylogenetische System fundamentale Dichotomie-Schema geht bei den molekularen Stammbäumen in die zur Berechnung erforderlichen Voraussetzungen ein aufgrund der Vorüberlegung, daß in einem gegebenen engen Zeitintervall sich mit hoher Wahrscheinlichkeit nur eine Aufspaltung eines Genpools abspielt. In einer Zeit erhöhter Evolutionsrate kann eine weitere relativ rasch folgen, so daß für den Beobachter, der in die Vergangenheit zurückblickt, eine Radiation daraus wird. Die Argumente von STEPHAN (1975) gegen die generelle Anwendung des Dichotomieschemas sind also falsch.

Probleme treten auf, sobald man auch die evolutiven Veränderungen der Regulationssysteme berücksichtigen will. Während die genetische Distanz, gemessen an Strukturgenen, mit fortlaufender zeitlicher Entfernung vom Zeitpunkt der Trennung der Genpools weitgehend gleichmäßig zunimmt, trifft dies für die Regulationssysteme nicht zu. Vermutlich ist es häufig so, daß durch Segmentmutationen, die Veränderungen der Regulation zur Folge haben, die Genpool-Aufspaltung eingeleitet wird. Dann ist bezüglich der Regulationssysteme eine neue Form neben die weiterbestehende alte getreten. So erhält man ein nicht-dichotomes Schema der Phylogenie (z. B. für das erwähnte Beispiel Mensch und Schimpanse). Dies ist die molekulare Basis des Typusproblems. Es entsteht eine neue Art und daneben existiert die Stammart morphologisch weiter. Sehr rasch wird allerdings zumindest durch neutrale Mutationen der Strukturgene eine genetische Distanz geschaffen. Die Stammart besteht dann nicht mehr, auch wenn eine der beiden Arten noch die Gestalt jener hat. Man könnte einwenden, daß auch ohne die Aufspaltung durch die neutralen Mutationen dieselbe Veränderung zustande gekommen wäre und man dann nicht von einer anderen Art sprechen würde. Das ist richtig, es wäre in diesem Fall gar nicht möglich, eine genetische Distanz gegen eine gleichzeitige Schwesterart zu messen. Solange nicht zwei Punkte (Arten) vorliegen, kann man keine Distanz angeben! Da regulatorische Veränderungen vorwiegend nur Umordnungen der Nucleotidsequenzen sind, gibt es bisher keine Möglichkeit, einen „regulatorischen“ Abstand zu messen. Die molekulare Phylogenie muß sich daher auf die Untersuchung von Strukturgenen beschränken. Diese liefert uns objektive, quantitative Daten. Diese Daten sind phylogenetisch relevant, weil sie von Nucleinsäuren oder Proteinen stammen; das ist der entscheidende Unterschied zu allen phänetisch-numerischen Methoden.

Noch ungeklärt ist die Bedeutung des Gentransfers durch Viren für die Evolution. Theoretisch sind dadurch „Großmutationen“ möglich, wenn auch mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit keine Entstehung neuer Baupläne.

Diese Überlegungen zur molekularen Phylogenie zeigen, daß wir uns von dem überkommenen Typusbegriff lösen müssen. Er ist eine Folge der

dem Menschen angeborenen Gestaltwahrnehmung. Diese Beseitigung des Typusbegriffs in der Systematik durch ein streng logisches und quantitatives Verfahren ist mit HENNIGS konsequent-phylogenetischer Methode erfolgt. Wie diese trägt die quantitative molekulare Phylogenie bei zur Objektivierung und „Entanthropomorphisierung“ unseres Weltbildes (VOLLMER 1975), bei der die systematischen Zweige der Biologie anderen immer noch erheblich nachhinken.

Schrifttum

- Originalarbeiten sind nur aus den letzten Jahren angeführt, die älteren findet man zitiert bei ACHER (1974), DAYHOFF et al. (1975), FIRCH (1973), FLORKIN (1974), NEI (1975), OHNO (1970) und REANNEY (1974).
- Acher, R. (1974): Neue Befunde zur Evolution der Proteine. *Angew. Chemie* 86, 209—221.
- Adams, R. P. (1975): Gene flow versus selection pressure and ancestral differentiation in the composition of species: analysis of populational variation of *Juniperus ashei* Buch. using terpenoid data. *J. Mol. Evol.* 5, 177—185.
- Anfinsen, Chr. B. (1959): *The molecular basis of evolution*. New York.
- Basile, D. V. (1974): A possible role for hydroxyproline-proteins in leafy liverwort phylogeny. *J. Hattori Bot. Lab.* 38, 91—98.
- Bendz, G., and J. Santesson (1974): *Chemistry in Botanical Classification*. Nobel Sympos. 25, Stockholm.
- Benveniste, R. E., and G. J. Todaro (1974): Evolution of C-type viral genes: inheritance of exogenously acquired viral genes. *Nature* 252, 456—459.
- Berg, A. van den, and J. J. Beintema (1975): Non-constant evolution rates in amino acid sequences of guinea pig, chinchilla and coypu pancreatic ribonucleases. *Nature* 253, 207—210.
- Blundell, T. L., and S. P. Wood (1975): Is the evolution of insulin Darwinian or due to selectively neutral mutation? *Nature* 257, 197—203.
- Bogorad, L. (1975): Evolution of organelles and eukaryotic genomes. *Science* 188, 891—898.
- Borriss, R. (1972): Beziehungen zwischen der metabolischen Evolution und den Eigenschaften allosterischer Enzyme. *Biol. Rdsch.* 10, 163—170.
- Calow, P., and J. L. Calow (1975): Cellulase activity and niche separation in freshwater gastropods. *Nature* 255, 478—480.
- Chirpich, Th. P. (1975): Rates of protein evolution: a function of amino acid composition. *Science* 188, 1022—1023.
- Clarke, B. (1975): The causes of biological diversity. *Scient. American* 233 (2), 50—60.
- Crowley, Ph. H. (1975): Natural selection and the Michaelis constant. *J. theor. Biol.* 50, 461—475.
- Dayhoff, M. O., P. J. McLaughlin, W. C. Barker, and L. T. Hunt (1975): Evolution of sequences within protein superfamilies. *Naturwissensch.* 62, 154—161.
- Delaunay, J., et G. Schapira (1974): Evaluation de la distance phylogénique entre espèces prokaryotes à l'aide des protéines ribosomales. *C. R. Acad. Sci. D*, 279, 1777—1779.
- Delaunay, J., F. Creusot, and G. Schapira (1974): Phylogenetic studies on ribosomal proteins. *Biochimie* 56, 1459—1463.

- Dunathan, H. C., and J. G. Voet (1974): Stereochemical evidence for the evolution of pyridoxal-phosphate enzymes of various function from a common ancestor. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 71, 3888—3891.
- Fitch, W. M. (1973): Aspects of molecular evolution. *Ann. Rev. Genetics* 7, 343—380.
- Fitch, W. M., and K. T. Yasunobu (1975): Phylogenies from amino acid sequences aligned with gaps: the problem of gap weighting. *J. Mol. Evol.* 5, 1—24.
- Florkin, M. (1974): Concepts of molecular biosemiotics and of molecular evolution. *Comprehensive Biochemistry* 29 A, 1—123.
- Goodman, M., G. W. Moore, and G. Matsuda (1975): Darwinian evolution in the genealogy of hemoglobin. *Nature* 253, 603—608.
- Hennig, W. (1969): *Die Stammesgeschichte der Insekten*. Frankfurt.
- Janistyn, B., and H. Drumm (1975): Phytochrome-mediated rapid changes of cyclic AMP in mustard seedlings (*Sinapis alba* L.). *Planta* 125, 81—85.
- Kimura, M., and T. Ohta (1974): On some principles governing molecular evolution. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 71, 2848—2852.
- King, M. C., and A. C. Wilson (1975): Evolution at two levels in humans and chimpanzees. *Science* 188, 107—116.
- Klämbt, D. (1975): A model for messenger RNA sequences maximizing secondary structure due to code degeneracy. *J. theor. Biol.* 52, 57—65.
- Kolata, G. B. (1975): Paleobiology: random events over geological time. *Science* 189, 625—626.
- Kull, U. (1972): *Die Entstehung des Lebens*. *Jh. Ges. Naturkde. Württemberg* 127, 90—105.
- Kull, U., and B. Kühn (1975): Influence of zeatin and gibberellin on adenosine-3', 5'-cyclic monophosphate levels of *Impatiens* leaves. *Z. Naturforsch.* 30 c, 69—72.
- Langley, C. H., and W. M. Fitch (1974): An examination of the constancy of the rate of molecular evolution. *J. Mol. Evol.* 3, 161—177.
- Markert, C. L., and H. Ursprung (1974): *Entwicklungsbiologische Genetik*. Stuttgart.
- Markert, C. L., J. B. Shaklee, and G. S. Whitt (1975): Evolution of a gene. *Science* 189, 102—114.
- Maxson, L. R., V. M. Sarich, and A. C. Wilson (1975): Continental drift and the use of albumin as an evolutionary clock. *Nature* 255, 397—400.
- McNaughton, S. I. (1972): Enzymic thermal adaptations: the evolution of homeostasis in plants. *The American Naturalist* 106, 165—172.
- Mohr, H. (1975): *Zur Zielsetzung der Physiologie*. *Naturwiss. Rdsch.* 28, 154—160.
- Monod, J. (1971): *Zufall und Notwendigkeit*. München.
- Müller, A. H. (1961): *Großabläufe der Stammesgeschichte*. Jena.
- Nei, M. (1975): Molecular population genetics and evolution. *Frontiers of Biology*, Vol. 40, Amsterdam.
- Nei, M., and Y. Tatenno (1975): Interlocus variation of genetic distance and the neutral mutation theory. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 72, 2758—2760.
- Ohno, S. (1970): *Evolution by gene duplication*. Berlin—Heidelberg—New York.
- (1973): Ancient linkage groups and frozen accidents. *Nature* 244, 259—262.
- Ohta, T. (1974): Mutational pressure as the main cause of molecular evolution and polymorphism. *Nature* 252, 351—354.

- Prager, E. M., and A. C. Wilson (1975): Slow evolutionary loss of the potential for interspecific hybridization in birds: a manifestation of slow regulatory evolution. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 72, 200—204.
- Reaney, D. C. (1974): Viruses and evolution. *Intern. Rev. Cytol.* 37, 21—52.
- Rigby, P. W. J., B. D. Burleigh, and B. S. Hartley (1974): Gene duplication in experimental enzyme evolution. *Nature* 251, 200—204.
- Rossmann, M. G., D. Moras, and K. W. Olsen (1974): Chemical and biological evolution of a nucleotide-binding protein. *Nature* 250, 194—199.
- Stein, D. B., and W. F. Thompson (1975): DNA hybridization and evolutionary relationships in three *Osmunda* species. *Science* 189, 888—890.
- Stephan, B. (1975): Über die objektive Fassung der höheren Taxa. *Biol. Rdsch.* 13, 152—160.
- Thoday, J. M. (1975): Non-Darwinian „evolution“ and biological progress. *Nature* 255, 675—677.
- Tomkins, G. M. (1975): The metabolic code. *Science* 189, 760—763.
- Valen, L. van (1974): Two modes of evolution. *Nature* 252, 298—300.
- Vollmer, G. (1975): Evolutionäre Erkenntnistheorie. Stuttgart.
- Wilson, A. C., L. R. Maxson, and V. M. Sarich (1974): Two types of molecular evolution. Evidence from studies of interspecific hybridization. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 71, 2843—2847.
- Ziegler, B. (1972): Einführung in die Paläobiologie Teil 1. Allgemeine Paläontologie. Stuttgart.
- Zipkas, D., and M. Riley (1975): Proposal concerning mechanism of evolution of the genome of *Escherichia coli*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 72, 1354—1358.
- Zuckerkindl, E., and L. Pauling (1965): Evolutionary divergence and convergence in proteins. *Evolving Genes and Proteins*, ed. V. Bryson and H. J. Vogel, 97—166.

Anschrift des Verfassers: Dr. U. KULL, Universitätsdozent, Biologisches Institut der Universität, D 7000 Stuttgart 60, Ulmer Straße 227.