

Components of reproductive isolation between two closely related *Silene* species (Caryophyllaceae)

Doctoral Thesis

Author(s):

Rahmé, Joelle

Publication date:

2009

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-006079317>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

**Components of reproductive isolation between two closely
related *Silene* species (Caryophyllaceae)**

A dissertation submitted to the
ETH ZURICH

for the degree of
DOCTOR OF SCIENCES

presented by

Joelle Rahmé

Master of Science in
Behaviour, Ecology and Evolution
born March 31st, 1982
citizen of Lebanon

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Alex Widmer, examiner
Dr. Sophie Karrenberg, co-examiner
Prof. Dr. Jaboury Ghazoul, co-examiner

2009

Summary

In closely related species of plants, reproductive barriers may be incomplete and hybrids are commonly observed in natural populations. Several reproductive barriers may exist between species, acting before and/or after mating and zygote formation. Pre-mating reproductive barriers include geographical and ecological differentiation as well as divergent flowering times. Moreover, pollinators reacting to different floral traits (i.e. shape, colour and scent) can act as agents of pre-mating reproductive isolation. After mating, but before zygote formation, conspecific pollen advantage may take place, thus reducing the production of hybrid seeds, when heterospecific and conspecific pollen compete. Post-zygotic barriers, such as selective seed abortion, hybrid sterility or inviability of the hybrids to the parental habitat may then act in addition at later stages.

Silene dioica and *S. latifolia* are two closely related species known to hybridize when they come in secondary contact. Gene flow between these two species is extensive, but early-generation hybrids are rarely found in natural populations. In my thesis, I focused on three potential reproductive barriers to hybridization: flowering time and flower colour acting prior to mating, and pollen competition acting after mating.

As a first step (Chapter I), I present my study on interspecific pollen competition. In a hand pollination experiment with conspecific, heterospecific and 50:50 mixed pollinations in the two species, pollination treatments did not significantly affect seed set and seed weight. However, molecular determination of siring success after mixed pollinations showed that fewer than expected hybrids were produced in *S. latifolia*, but not in *S. dioica*. This constitutes an asymmetric post-mating reproductive barrier and shows that pollen competition can be an effective barrier to hybridization between closely related species. However, this barrier likely acts in concert with other reproductive barriers in our system.

In a second step, I investigated inheritance and ecological consequences of anthocyanin-deficiency in the naturally occurring white-flowered morph of the otherwise red-flowered campion *Silene dioica* (L.) (Chapter II). I found that anthocyanin deficiency in *S. dioica* likely is caused by more than two recessive mutations since the different crosses we performed generally produced fewer white-flowered plants than expected for one or two recessive mutations. I also performed hand pollination experiments, observations on pollen analogue transfer between morphs, and snail feeding experiments on the two morphs. Our results suggest that the white morph does not suffer from strong negative ecological consequences in terms of reproductive output or snail herbivory and thus may not be selected against. Instead, assortative mating within morphs or recurrent mutations in the anthocyanin pathway could be responsible for the rare but persistent occurrence of this morph in natural populations.

In a last step, after the results of pollen competition in chapter I and the assortative mating observed when plants that differed only by flower colour were in equal frequencies in experimental arrays in chapter II, I studied flowering phenology in an experimental contact site between *S. dioica* and *S. latifolia* and assessed hybrid formation at two points in time (Chapter III). *Silene dioica* started to flower first but flowering of both species overlapped considerably. We found no difference in the frequency of hybrid offspring produced

between the early and peak flowering periods. However, both species produced fewer hybrids than expected under random mating given the frequency of heterospecific flowering males in the population, but *Silene latifolia* produced more hybrid offspring than *S. dioica*, even though pollen competition strongly reduces hybrid production in *S. latifolia* and not in *S. dioica* (chapter I). The realized difference in hybrid production in our experimental contact site could be due to a higher pollinator constancy on the earlier flowering species, *S. dioica*, that is already abundant while numbers of the second-flowering species, *S. latifolia*, are still low.

This thesis shows that pollen competition and flowering phenology are effective reproductive barriers and that they may act together, one reducing gene flow only in the direction where matings are frequent, while the second barrier reduces matings in the other direction.

Résumé

Chez les espèces de plantes étroitement liées, les barrières reproductives peuvent être incomplètes et l'apparition d'hybrides est fréquemment constatée dans les populations naturelles. Plusieurs barrières reproductives peuvent exister entre les espèces, agissant avant et/ou après la pollinisation et la formation du zygote. Parmi les barrières pré-pollinisation figurent les variations géographiques et écologiques ainsi que les divergences de périodes de floraison. En outre, les pollinisateurs réagissant aux différents traits floraux (par exemple la forme, la couleur et l'odeur) peuvent agir comme des agents d'isolement reproductif pré-pollinisation. Une fois la pollinisation ayant eu lieu -mais avant la formation du zygote- un avantage du pollen conspécifique peut survenir lorsque celui-ci est en compétition avec le pollen hétérosécifique, réduisant ainsi la production de graines hybrides. Les barrières post-zygotiques tels que l'avortement sélectif des graines, la stérilité hybride ou la non-viabilité des hybrides dans l'habitat parental peuvent agir aux stades suivants.

Silene dioica et *S. latifolia* sont deux espèces proches, connues pour s'hybrider lorsqu'elles entrent en contact secondaire. Le flux de gènes entre ces deux espèces est extensif, pourtant on trouve rarement des hybrides de première génération dans les populations naturelles. Dans ma thèse, je me suis concentrée sur trois barrières reproductives potentielles: le temps de floraison et la couleur de la fleur prenant place avant la pollinisation ainsi que la compétition entre pollen après la pollinisation.

Dans un premier temps (Chapitre I), je présente mon étude sur la compétition intersécifique entre pollen. Dans une expérience de pollinisation manuelle avec du pollen conspécifique, hétérosécifique, ainsi qu'avec un mélange des deux à 50 :50, les traitements de pollinisation n'ont pas affecté de manière significative la formation des graines ou leur poids. Toutefois, suite à la pollinisation mixte, la détermination moléculaire de l'espèce paternelle a montré que moins d'hybrides que prévu ont été produits dans *S. latifolia*, mais pas dans *S. dioica*. Cela constitue une barrière reproductrice asymétrique post-pollinisation et montre que la compétition entre pollen peut constituer une barrière efficace à l'hybridation entre des espèces étroitement apparentées. Cependant, dans notre système, cette barrière agit combinée à d'autres barrières reproductives.

Dans un deuxième temps, j'ai étudié l'héritabilité et les conséquences écologiques de la déficience en anthocyanine dans *S. dioica*. Celle-ci porte normalement des fleurs rouges, mais des morphes à fleurs blanches déficients en anthocyanine surviennent naturellement (Chapitre II). J'ai trouvé que la déficience en anthocyanine dans *S. dioica* était probablement due à plus de deux mutations récessives, puisque les différents croisements effectués ont généralement produit moins de plantes à fleurs blanches qu'attendu pour une ou deux mutations récessives. J'ai également effectué des expériences de pollinisation manuelle, des observations sur le transfert d'un analogue au pollen entre les morphes, ainsi qu'une expérience sur l'herbivorie des escargots sur les deux morphes. Nos résultats suggèrent que le morphe

à fleurs blanches ne souffre pas de fortes conséquences écologiques négatives en termes de résultat de reproduction ou d'herbivorie des escargots et ne pourrait donc pas être sélectionné contre. Au lieu de cela, les pollinisations assortatives au sein des morphes ou la récurrence des mutations dans la voie de biosynthèse de l'anthocyanine pourraient être responsables de l'apparition rare -mais persistante- de ce morphe dans les populations naturelles.

Dans un dernier temps, suite aux résultats de la compétition entre pollen dans le chapitre I et les pollinisations assortatives observées quand des plantes qui ne diffèrent que par la couleur des fleurs étaient à fréquences égales dans des allées expérimentales dans le chapitre II, j'ai étudié la phénologie de floraison dans un site de contact expérimental entre *S. dioica* et *S. latifolia* et évalué la formation d'hybrides en deux points temporels (chapitre III). *Silene dioica* a commencé à fleurir la première, mais les périodes de floraison des deux espèces se recouvraient considérablement. Je n'ai trouvé aucune différence dans la fréquence des hybrides produits entre la période précoce et celle du pic de floraison. Néanmoins, les deux espèces ont produit moins d'hybrides que prévu en cas de pollinisation aléatoire, étant donné la fréquence des mâles hétérospécifiques fleurissant dans la population. Or, *S. latifolia* a produit plus d'hybrides que n'a produit *S. dioica*, bien que la compétition entre pollen réduit fortement la production d'hybrides dans *S. latifolia* et non dans *S. dioica* (Chapitre I). La différence en production d'hybrides réalisée dans notre site de contact expérimental pourrait être causée par une fidélité supérieure des pollinisateurs envers *S. dioica* qui, étant la première espèce à fleurir, est déjà abondante, alors que les nombres de *S. latifolia*, la deuxième espèce à fleurir, sont encore bas.

Cette thèse montre que la compétition entre pollen ainsi que la phénologie de floraison sont d'efficaces barrières reproductives qui peuvent agir ensemble, l'une réduisant le flux de gènes dans la direction où les pollinisations sont fréquentes, et l'autre les réduisant dans la direction opposée.