

University of Groningen

The effect of temperature on sex determination

Feldmeyer, Barbara Vanessa

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2009

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Feldmeyer, B. V. (2009). *The effect of temperature on sex determination*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Temperatur ist das Ergebnis von Molekülbewegungen sie und nimmt zu, wenn sich die Moleküle schneller bewegen. Da Organismen zu einem Großteil aus Molekülen bestehen, hat dieses einfache Prinzip wichtige Auswirkungen auf allen Ebenen biologischer Organisation. Von einfachen chemischen Reaktionsraten über einzelne Organismen, bis hin zu gesamten Ökosystemen, sind alle auf die eine oder andere Weise von Temperatur beeinflusst (Johnston & Benett 1996). Diese Doktorarbeit beschäftigt sich mit einem speziellen Einfluss von Temperatur, nämlich dem Einfluss von Temperatur auf die Geschlechtsbestimmung bei Tieren.

In vielen kaltblütigen Arten, wie z.B. vielen Reptilien und Fischen, wird das Geschlecht eines Individuums während der Embryogenese durch Temperatur bestimmt, indem manche Temperaturen zu Weibchen-, und andere zu Männchenentwicklung führen. Dies wird temperaturabhängige Geschlechtsbestimmung genannt (“temperature dependent sex determination“, TSD). Bei Schildkröten zum Beispiel führen hohe Inkubationstemperaturen zu Weibchen, und niedere Temperaturen zu Männchen. Bei Krokodilen findet man das gegenteilige Muster, hier resultieren hohe Temperaturen in Männchen-, und niedere Temperaturen in Weibchenentwicklung. Im Gegensatz dazu wird in den meisten anderen Organismen, wie z.B. Säugern und Vögeln das Geschlecht eines Individuums durch seinen Genotyp bestimmt. Dieses System wird genetische Geschlechtsbestimmung genannt (genetic sex determination, GSD). Neue Studien an der molekularen Grundlage der Geschlechtsbestimmung haben gezeigt, dass die Dichotomie von GSD und TSD möglicherweise nicht so ausgeprägt ist, wie bisher angenommen. Die zugrunde liegenden Gennetzwerke sind sich relativ ähnlich und kleine Änderungen können ein GSD- in ein TSD-System konvertieren und umgekehrt. Zusätzlich werden immer mehr Arten entdeckt, in denen sowohl Gene als auch Temperatur die Geschlechterentwicklung beeinflussen, und in denen mehrere Geschlechtsbestimmungssysteme innerhalb einer Art koexistieren. Phylogenetische Analysen liefern starke Hinweise, dass mehrere Wechsel zwischen GSD und TSD, in beide Richtungen, erfolgten. Letztlich folgt die geographische Verteilung von Geschlechtsbestimmungsmechanismen auch Temperaturgradienten, TSD ist hauptsächlich auf wärmere Regionen des Globus begrenzt und verschiedene GSD Typen folgen auch manchmal einem geographischen Gradienten. Wir sind

noch immer weit davon entfernt, diese evolutionären und geographischen Muster vollständig zu verstehen, und es ist das Ziel dieser Arbeit, uns diesem Verständnis ein Stück näher zu bringen.

Im Allgemeinen können die Effekte von Temperatur auf die Geschlechtsbestimmung in zwei Kategorien unterteilt werden. Auf der einen Seite kann man Temperatur als proximaten Auslöser ansehen, der Organismen direkt beeinflusst, wie z.B. bei TSD. Auf der anderen Seite kann man Temperatur als ultimatzen Einfluss ansehen, der die selektive Umgebung für die Evolution und den Wechsel verschiedener Geschlechtsbestimmungsmechanismen schafft und dabei auch die geographische Verteilung von Geschlechtsbestimmungssystemen in der Natur beeinflusst. In dieser Arbeit liegt der Hauptschwerpunkt auf der zweiten Kategorie, auf dem ultimatzen Einfluss von Temperatur, der zu Wechseln zwischen verschiedenen Geschlechtsbestimmungssystemen und deren Verteilung führt. Man kann sich jedoch nicht richtig mit ultimatzen Fragen befassen, ohne nicht auch die zugrunde liegenden proximatzen Mechanismen in Betracht zu ziehen.

Diese Arbeit ist in zwei Teile unterteilt. Im ersten Teil wird anhand eines Modell-Ansatzes auf Fragen zu evolutionären Wechseln zwischen GSD und TSD eingegangen; es werden auch die Bedingungen diskutiert, die die Koexistenz verschiedener Geschlechtsbestimmungssysteme begünstigen. Dieser Teil ist jedoch nicht vollständig realitätsfern, da einige der Modelle mit empirischen Daten des Gefleckten Skinks, *Niveoscincus ocellatus*, parametrisiert sind. Der zweite Teil dieser Arbeit befasst sich mit empirischen Untersuchungen an der Hausfliege, *Musca domestica*, einer global verbreiteten Art mit geographischen Gradienten in der Häufigkeit verschiedener GSD Systeme. Mit Experimenten und Feldarbeit wurden verschiedene Hypothesen zum Ursprung dieser geographischen Verteilung systematisch getestet.

Teil I: Theoretischer Ansatz

Es gibt mehrere Hypothesen zur Evolution von TSD aus GSD (Ewert & Nelson, 1991; Shine, 1999), wobei die bei weitem einflussreichste Hypothese in einem Modell von Charnov und Bull (1977) mit inbegriffen ist. Die Grundidee ist, dass die Fitness von Männchen und Weibchen unterschiedlich von Schwankungen verschiedener Umweltbedingungen beeinflusst wird. Genauer

esagt haben Weibchen unter manchen Bedingungen eine höhere erwartete Fitness als Männchen, während andere Bedingungen Männchen begünstigen. TSD ist ein Mechanismus, der es erlaubt, in Situationen, in denen eine Verschiebung des Geschlechterverhältnisses selektiv bevorzugt ist, diesen flexibel anzupassen. GSD erlaubt eine solche flexible fakultative Verschiebung des Geschlechterverhältnisses nicht so einfach, und ermöglicht TSD damit einen selektiven Vorteil in den oben genannten Fällen. Diese Flexibilität von TSD kann jedoch auch von Nachteil sein, wenn Temperaturschwankungen zwischen den Jahren sehr groß sind. In diesen Fällen können Jahre mit Extremtemperaturen eine große Verschiebung des Geschlechterverhältnisses unter den Nachkommen hervorrufen, und dadurch (beinahe) zum Aussterben der Population führen. In Arten mit langer Lebenserwartung ist dies weniger ein Problem, da sich die Fluktuationen über die Lebensdauer hinweg ausgleichen.

In **Kapitel 2** wird ein Modell präsentiert, in dem keine umweltabhängigen geschlechtsspezifischen Fitnesseffekte angenommen werden, sondern das auf Selektion der nicht-fakultativen Verschiebung des Geschlechterverhältnisses durch lokale Verwandtenkonkurrenz basiert. Die Theorie zum Geschlechterverhältnis sagt voraus, dass das sich am meisten verbreitende Geschlecht überproduziert werden sollte, da es am unwahrscheinlichsten mit Verwandten über Ressourcen und Raum konkurriert. Die Grundidee ist, dass unter diesen Bedingungen TSD wahrscheinlich evolviert, da es eine nicht-fakultative Verschiebung des Geschlechterverhältnisses erlaubt und damit einen Vorteil gegenüber GSD hat. In diesem Modell wurde die Stärke der Umweltschwankungen und der Lebenserwartung systematisch verändert, um das Zusammenspiel und die Wichtigkeit der verschiedenen Faktoren zu verstehen. Beginnend mit einer GSD Population wurde untersucht, ob und unter welchen Bedingungen TSD eventuell evolviert. Fünf verschiedene Ergebnisse wurden erhalten: (i) der ursprüngliche GSD Zustand war stabil; (ii) TSD evolvierte und breitete sich aus; (iii) ein neuer GSD Typ evolvierte auf einem zweiten Locus; (iv) GSD und TSD koexistierten stabil; (v) mehrere koexistierende GSD Systeme evolvierten. Wie aus früheren Arbeiten bekannt, evolvierte TSD leichter, wenn Umweltfluktuationen gering waren und die Lebenserwartung groß. In den Simulationen waren schnelle evolutionäre

Wechsel zwischen GSD und TSD häufig, sogar ohne die Annahme von temperaturabhängiger geschlechtsspezifischer Fitness. Sie bieten dadurch eine neue, zusätzliche Erklärung für die Evolution von TSD. Eine weitere wichtige Einsicht des Modells ist, dass mehrere Geschlechtsbestimmungssysteme aus identischen Anfangsbedingungen evolvieren können, gesteuert von Zufallsfaktoren wie genetischer Drift.

Obwohl konzeptionelle Modelle, wie in Kapitel 2, wichtig sind, um allgemeine Einsichten in die Evolution von TSD zu gewinnen, sind spezifischere Modelle - zugeschnitten auf spezifische Arten - nötig, um diese Einsichten zu testen. Die meisten Arten sind ungeeignet, um Hypothesen über die Evolution von TSD zu testen, da sie nur ein Geschlechtsbestimmungssystem besitzen. Der Gefleckte Skink *Niveoscincus ocellatus* ist eine Ausnahme, da sowohl GSD- als auch TSD Populationen innerhalb dieser Art in unterschiedlichen geographischen Regionen vorkommen. Darüber hinaus hat sich eine große Menge an Wissen über den Lebenszyklus dieser Art über die Jahre angesammelt. Weibchen der TSD Population, die am Anfang der Brutsaison geboren werden, haben eine höhere Wahrscheinlichkeit ein Jahr früher zu reproduzieren, als Weibchen die später geboren werden. In der GSD Population unterscheidet sich die Wahrscheinlichkeit früher zu brüten zwischen früh- und spätgeborenen Weibchen auch, jedoch in geringerem Ausmaß. In beiden Populationen ist die Fitness der Männchen unabhängig vom Geburtenzeitraum. Obwohl früh- und spätgeborene Weibchen in der GSD Population Fitnessunterschiede haben, führen wahrscheinlich hohe Temperaturfluktuationen in ihrem Verbreitungsgebiet zu einem selektiven Vorteil von GSD. In **Kapitel 3** wurden Modelle parametrisiert mit Skinklebenszyklusdaten (life history) und Klimadaten genutzt, um vorherzusagen, welches Geschlechtsbestimmungssystem in den verschiedenen Skinkpopulationen evolvieren würde. Die Ergebnisse zeigen, dass das Modell basierend auf lokaler Temperaturvariation und Demographie der Skinks, die Geschlechtsbestimmungssysteme richtig vorhersagt.

Drei Hauptschlussfolgerungen können aus diesem theoretischen Teil der Arbeit gezogen werden. Erstens: Selektion auf ein nicht-fakultativ verschobenes Geschlechterverhältnis kann zu Wechseln zwischen GSD und TSD führen,

sogar ohne die Annahme von temperaturabhängigen geschlechtsspezifischen Fitnesseffekten. Diese Ergebnisse könnten eine neue Erklärung für die Evolution von TSD darstellen und könnten erklären, warum einige Studien in bestimmten TSD Arten scheiterten, geschlechtsspezifische Fitnesseffekte zu finden. Zweitens: Die Simulationen resultierten nicht nur in einem Wechsel von GSD zu TSD, sondern auch in Koexistenz von verschiedenen GSD Systemen und Koexistenz von GSD und TSD, und bieten somit eine mögliche Erklärung für die beobachteten Fälle von Koexistenz. Drittens: Ein evolutionäres Modell auf eine bestimmte Art zu zuschneiden, kann nützlich sein, um Vorhersagen über die Evolution von Geschlechtsbestimmungssystemen bei dieser Art zu treffen.

Teil II: Empirischer Ansatz

Im zweiten Teil dieser Arbeit war das Ziel, den Einfluss von Temperaturvariation auf die Verteilung von Geschlechtsbestimmungsfaktoren durch eine Reihe von Experimenten und einer statistischen Analyse zu untersuchen. Bei der Hausfliege sind Weibchen die “Grundeinstellung” in der sexuellen Entwicklung, da alle Individuen den Weibchenbestimmungsfaktor F tragen. Individuen, die einen zusätzlichen Männchenbestimmungsfaktor M tragen, der F blockiert, werden Männchen. Beim sogenannten Standard XY System, das in höheren Breiten und größeren Höhen am häufigsten ist, befindet sich M auf dem Y- Chromosom. In Populationen niedriger Breiten und Höhen kann der M Faktor auf jedem, oder sogar mehreren, der fünf Autosomen gefunden werden. In Populationen mit autosomalem M Faktor besitzen die Weibchen oftmals eine mutierte Form des F Faktors, F^D , der unempfindlich gegenüber M ist.

Was führt zu dieser Verteilung? Der offensichtlichste Faktor, der mit Breitengraden und Höhe variiert, ist die Temperatur. Dies brachte einige Autoren zu der Annahme, dass die Verteilung der Geschlechtsbestimmungsfaktoren der Hausfliege irgendwie durch Temperatur verursacht wird (Franco *et al.*, 1982; Çakir & Kence, 1996). Inwieweit dies tatsächlich zutrifft, ist das Thema dieses Teils der Arbeit.

Eine einfache Hypothese, die die Verteilung von Geschlechtsbestimmungsfaktoren erklären könnte, ist, dass Temperatur die Fitness der Fliegen beeinflusst, abhängig von ihren Geschlechtsbestimmungsfaktoren. Deshalb war das Ziel von **Kapitel 4** experimentell zu untersuchen, ob Hausfliegen mit autosomalem M oder F^D größere Fitness bei hohen Temperaturen haben, als Standard XY Fliegen. Um herauszufinden, ob sich autosomale M Faktoren in einer Standard XY Population ausbreiten können, wurden Männchen mit M Faktoren auf den Autosomen II und III unter verschiedenen Temperaturen in Standard XY Populationen eingebracht und ihre Häufigkeit über mehrere Generationen verfolgt. Die Ergebnisse waren nicht so geradlinig wie erwartet. Obwohl M auf Autosom II Y verdrängte, erhöhte sich die Häufigkeit von M auf Autosom III nicht, und es konnte kein Effekt von Temperatur festgestellt werden. Um die Fitness von Weibchen mit und ohne F^D zu vergleichen, wurden mehrere Fitnessparameter bei verschiedenen Temperaturen untersucht. Es gab große Unterschiede zwischen den Populationen, aber wie bereits in den Experimenten mit Männchen, wurde kein Einfluss von Temperatur festgestellt.

Im vorherigen Kapitel zeigte keiner der untersuchten Fitnessparameter einen Einfluss von Temperatur. In **Kapitel 5** war das Ziel einen weiteren Fitnessaspekt zu untersuchen, die Häufigkeit von Zwittern (Individuen mit geringer Fitness, die sowohl männliche als auch weibliche Charakteristika besitzen) bei Nachkommen. Es ist berichtet worden, dass die Häufigkeit von Hausfliegenzwittern im Winter zunimmt (Milani, 1967), was zur Hypothese führte, dass deren Häufigkeit mit kalten Temperaturen zunimmt. Darum wurden Intra- und Interpopulationskreuzungen mit Standard XY und autosomalen M Populationen mit unterschiedlicher Häufigkeit von F^D durchgeführt und diese über mehrere Temperaturen verteilt. Von jeder dieser Kreuzungen wurden die Nachkommen nach Zwittercharakteristika untersucht. Bei keiner der Temperaturbehandlungen konnte ein Effekt von Temperatur auf die Häufigkeit von Zwittern festgestellt werden. Das Geschlechterverhältnis in einigen der Populationen zeigte jedoch einen Einfluss von Temperatur. Dies deutet darauf hin, dass die Geschlechtsentwicklung eventuell von Temperatur beeinflusst sein könnte, aber weitere Experimente sind nötig, um dies genauer zu untersuchen.

Eine weitere Möglichkeit neben Kurzzeitstudien im Labor, um die Dynamiken von, und Selektion auf Hausfliegengeschlechtsbestimmungs-

faktoren zu studieren, ist es, Langzeitveränderungen in freier Natur zu untersuchen. Autosomale M Faktoren wurden zum ersten Mal vor 50 Jahren beschrieben, und es wurde damals angenommen, dass sie sich nordwärts ausbreiten und das Standard XY System verdrängen. **Kapitel 6** berichtet über das Sammeln von Hausfliegenpopulationen in Europa, die vor 25 Jahren bereits studiert worden waren (Franco *et al.* 1982), um zu untersuchen, wie und ob sich diese Verteilung über die Jahre hinweg verändert hat. Im Gegensatz zu früheren Vorhersagen konnte keine klare Veränderung der Verbreitung von autosomalem M im Vergleich mit der Verbreitung vor 25 Jahren festgestellt werden. Dies deutet darauf hin, dass autosomale M Faktoren keinen allumfassenden Fitnessvorteil gegenüber dem Standard M Faktor haben, da sie diesen ansonsten komplett verdrängt hätten. Die scheinbare Stabilität des Gradienten deutet eher darauf hin, dass XY im Norden einen Vorteil hat, während autosomale M Faktoren im Süden einen Vorteil zu haben scheinen.

Für **Kapitel 7** war das Ziel die Behauptung zu untersuchen, dass die geographische Verteilung der Hausfliegengeschlechtsbestimmungsfaktoren durch Temperaturvariation bedingt ist. Falls dies tatsächlich der Fall ist, würde man ein ähnliches Verteilungsmuster in der südlichen im Vergleich mit der nördlichen Hemisphäre erwarten. Dafür wurden Proben von mehreren Stellen in Südafrika und Tansania gesammelt. Die Ergebnisse zeigen, dass sich das gezeigte Verteilungsmuster der nördlichen Hemisphäre im Süden wiederholt, mit mehr autosomalen M und F^D Faktoren zum Äquator hin oder bei niederen Höhen.

Nicht nur Temperatur, sondern auch andere Klimavariablen ändern sich systematisch entlang von Breiten- und Höhengradienten. Heutzutage sind Klimadatenbanken öffentlich zugänglich, die es ermöglichen, global Daten von zahlreichen Klimafaktoren zu erhalten. Anhand der neu erworbenen Daten über die Häufigkeit von Geschlechtsbestimmungsfaktoren in der südlichen Hemisphäre plus Daten aus bereits publizierten Studien und Daten einiger Klimavariablen wurde eine Metaanalyse durchgeführt, um zu testen welche Klimavariablen die Verteilung der Geschlechtsbestimmungsfaktoren am besten erklären kann (können). Die Ergebnisse zeigen, dass Saisonalität, gemessen als Stärke von Temperaturschwankungen, die Verteilung der Männchenbestimmungsfaktoren besser erklären kann als Durchschnitts-

temperatur; d.h. autosomale M Faktoren sind in Gegenden mit geringeren saisonalen Temperaturschwankungen häufiger. Für Weibchenbestimmungsfaktoren auf der anderen Seite erklärt eine Kombination aus Luftfeuchtigkeit und Jahresmitteltemperatur die Verbreitung am besten, also geringe Luftfeuchtigkeit und hohe Jahresmitteltemperaturen sind mit der Häufigkeit von F^D Faktoren positiv korreliert.

In **Kapitel 8** war das Ziel die vorhandenen molekularen Werkzeuge für Hausfliegenstudien zu erweitern, indem neue Mikrosatelliten entwickelt wurden und eine „Linkage Map“ erstellt wurde. Die Marker ordnen sich in fünf „linkage groups“ an, die den fünf Autosomen der Hausfliege entsprechen, keiner der Marker war auf dem X oder Y Chromosom lokalisiert.

Die Theorie über Geschlechtschromosomenevolution sagt voraus, dass die Rekombinationsraten auf Chromosomen, die Geschlechtschromosomfunktion übernehmen, geringer werden sollten. Dies beginnt an der Position des Geschlechtsbestimmungsgens und breitet sich später über das gesamte Chromosom aus. Der Grund dafür ist, dass sich Gene z.B. auf dem Y Chromosom ansammeln, die für Männchen von Vorteil sind, für Weibchen jedoch von Nachteil. Geringere Rekombinationsraten verhindern, dass diese Gene in Weibchen gelangen. Für die Hausfliege bedeutet dies, dass auch die Rekombinationsraten von Autosomen mit M - oder F - Faktoren im Vergleich mit Autosomen ohne Geschlechtsbestimmungsfaktoren verminderte Rekombinationsraten zeigen sollten. Um diese Vorhersage zu testen, wurden Rekombinationsraten von Autosomen mit und ohne Geschlechtsbestimmungsfaktor verglichen. Die Position der Marker auf den spezifischen Autosomen wurde auf den Ergebnissen der „linkage“ Analyse basiert. Eine statistische Analyse zeigte signifikant geringere Rekombinationsraten von Autosomen mit Geschlechtsbestimmungsfaktoren, im Einklang mit theoretischen Erwartungen.

Können wir jetzt anhand unserer Ergebnisse der Fliegenexperimente behaupten, dass wir die geographische Verteilung der Geschlechtsbestimmungsfaktoren und die Rolle von Temperatur verstehen? Auf der einen Seite weisen die Ergebnisse, dass die Verteilung der Geschlechtsbestimmungsfaktoren auf der südlichen Hemisphäre dem gleichen Muster folgen wie im Norden, auf eine Rolle von Temperatur in der Gestaltung der Gradienten hin. Auf der anderen

Seite gelang es in unseren Experimenten nicht, einen Einfluss von Temperatur auf die Fitness von Hausfliegen nachzuweisen. Hinsichtlich unserer Ergebnisse der nachfolgenden Metaanalyse, die darauf hindeutet, dass nicht alleinig Temperatur, sondern eher Saisonalität oder die Kombination aus Luftfeuchtigkeit und Jahresmitteltemperatur für die graduelle Verteilung der Geschlechtsbestimmungsfaktoren verantwortlich sind, ist dies wohl nicht zu überraschend. Ob die Korrelation der Metaanalyse einen kausalen Effekt widerspiegelt, bleibt Untersuchungsgegenstand zukünftiger Experimente.