

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.

Samenvatting en Conclusies

Temperatuur wordt veroorzaakt door de bewegingen van moleculen; naarmate moleculen sneller of langzamer bewegen neemt de temperatuur toe of af. Omdat ieder organisme nu eenmaal uit moleculen bestaat heeft dit simpele principe invloed op ieder biologisch organisatieniveau. Van eenvoudige chemische reactiesnelheden, via individuele organismen tot hele ecosystemen: ieder niveau wordt in meer of mindere mate door temperatuur beïnvloed (Johnston & Bennet, 1996). In deze dissertatie draait het om een specifieke invloed van temperatuur, namelijk effecten van temperatuur op de seksuele ontwikkeling van dieren.

In veel koudbloedige diersoorten, zoals reptielen en vissen, wordt het geslacht van een individu bepaald door de invloed van temperatuur gedurende de vroege embryonale ontwikkeling, waarbij bepaalde temperaturen tot vrouwelijke en andere juist tot mannelijke ontwikkeling leiden. Een dergelijke vorm van geslachtsbepaling wordt ook wel temperatuurafhankelijke sexe determinatie genoemd (TSD). In schildpadden bijvoorbeeld, leiden hoge temperaturen tot vrouwelijke ontwikkeling en lage temperaturen tot mannelijke ontwikkeling. In krokodillen vindt juist het tegenovergestelde plaats, waarbij hoge temperaturen leiden tot mannelijke en lage temperaturen juist tot vrouwelijke ontwikkeling leiden. Bij de meeste andere organismen vindt echter een andere manier van geslachtsbepaling plaats, zoals bij vogels en zoogdieren, waar het genotype van het individu bepaalt of deze een man of een vrouw wordt. Een dergelijk systeem wordt genetische geslachtsbepaling genoemd en aangeduid met GSD (genetische sexe determinatie). Recent onderzoek naar de moleculaire mechanismen van geslachtsbepaling heeft aangetoond dat het verschil tussen deze beide vormen van geslachtsbepaling (GSD versus TSD) niet zo scherp is als voorheen werd aangenomen. De netwerken van genen die ten grondslag liggen aan de geslachtsbepaling verschillen slechts in geringe mate tussen TSD en GSD en bovendien blijken kleine genetische veranderingen al in staat te zijn om een overgang teweeg te brengen van TSD naar GSD en andersom. Phylogenetische analyses wijzen er bovendien sterk op dat overgangen tussen TSD en GSD meermaals en in beide richtingen hebben plaatsgevonden. Tenslotte blijkt ook dat de geografische verspreiding van geslachtsbepalingsmechanismen afhankelijk is van temperatuurgradiënten: TSD wordt voornamelijk gevonden in de warmere streken en ook sommige typen van GSD

zijn gebonden aan een geografisch verspreidingspatroon. Deze evolutionaire en geografische patronen worden op dit moment nog nauwelijks begrepen; het doel van deze dissertatie is dan ook om mechanismen die dergelijke patronen veroorzaken beter te leren begrijpen.

In het algemeen kunnen de effecten van temperatuur op geslachtsbepaling worden verdeeld in twee categorieën: aan de ene kant kan temperatuur gezien worden als een proximaat effect, een omgevingsvariabele die organismen direct beïnvloedt en daarom dus ook een rol speelt in hun geslachtsbepaling. Aan de andere kant kan temperatuur gezien worden als een ultieme, evolutionaire oorzaak van geslachtsbepaling, omdat temperatuur de selectieve voorwaarden voor de evolutie van - en de transitities tussen - de verschillende geslachtsbepalingsmechanismen biedt en daarmee dus ook een rol speelt in de geografische verspreiding van geslachtsbepalingssystemen.

In deze dissertatie wordt vooral de tweede, ultieme, categorie van effecten behandeld, waarbij de nadruk ligt op effecten van temperatuur die leiden tot veranderingen tussen geslachtsbepalingsmechanismen en hun verspreidingspatronen. Maar uiteindelijk kunnen dergelijke ultieme vraagstukken niet worden opgelost zonder daarin ook de proximate mechanismen te betrekken.

Deze dissertatie bestaat uit twee delen. In het eerste deel worden met behulp van modellen vragen behandeld die betrekking hebben op de evolutionaire transitities tussen TSD en GSD en de voorwaarden die kunnen leiden tot coëxistentie van verschillende geslachtsbepalingsmechanismen. Het gebruik van modellen staat echter niet los van de realiteit, omdat sommige modellen geparametriseerd zijn met empirische gegevens van de skink *Niveoscinus ocellatus*. Het tweede deel van deze dissertatie richt zich op empirisch onderzoek aan de huisvlieg, *Musca domestica*. De laatste is een cosmopolitische soort waarvan de frequenties van verschillende genetische geslachtsbepalingsmechanismen systematisch variëren volgens een geografisch patroon. Zowel experimenten als veldwerk zijn gebruikt om een reeks hypothesen te testen die betrekking hebben op de oorzaak van deze geografische verdeling.

Deel 1: Theoretisch gedeelte

Er zijn verschillende hypothesen die de evolutie van TSD uit GSD proberen te verklaren (Ewert & Nelson, 1991; Shine 1999), maar verreweg de meest invloedrijke hypothese wordt omvat door het model van Charnov en Bull (1977). Het basisidee is dat de fitness van mannetjes en vrouwtjes verschillend wordt beïnvloed door variatie in de omgeving. Om preciezer te zijn, onder sommige omstandigheden hebben vrouwtjes een hogere verwachte fitness dan mannetjes, terwijl andere omstandigheden juist meer tot voordeel zijn van mannetjes. TSD vormt dan een flexibel mechanisme waarmee de seksratio kan worden aangepast in situaties waar oververtegenwoordiging van één van beide geslachten selectief voordelig is. Dergelijke flexibele seksratio aanpassingen zijn veel lastiger te bewerkstelligen met GSD, wat TSD een selectief voordeel geeft in zulke gevallen. Desondanks kan juist deze flexibiliteit van TSD ook weer een nadeel betekenen, wanneer fluctuaties in de temperatuur tussen de jaren groot genoeg zijn. In dat geval kunnen jaren met extreme temperaturen leiden tot overproductie van nakomelingen van een bepaalde sexe, wat weer tot gevolg heeft dat een populatie (bijna) kan uitsterven. Dit probleem is minder van toepassing op lang levende soorten, waarbij fluctuaties de neiging hebben elkaar op te heffen bezien over de volledige levensduur van een individu.

In **hoofdstuk 2** wordt een model gepresenteerd dat geen omgevingsafhankelijke en sex-specifieke effecten veronderstelt, maar dat is gebaseerd op selectie voor niet-facultatieve seksratios, die door lokale verwantencompetitie afwijken van 1:1. Seksratio theorie voorspelt dan een overproductie van het geslacht dat het meest onderhevig is aan dispersie, omdat het voor de hand ligt dat juist individuen van dit geslacht het minste concurreren met verwante individuen om voedsel en ruimte. Het basisidee is dat onder deze omstandigheden TSD makkelijker kan evolueren, omdat juist dit geslachtsbepalingsmechanisme facultatieve seksratios kan bewerkstelligen en daarmee een voordeel biedt ten opzichte van GSD. In dit model werden de sterkte van de omgevingsfluctuaties en de lengte van de levensduur systematisch gevarieerd om zo de interactie en het belang van de verschillende factoren te begrijpen. In een beginpopulatie die volledig uit GSD individuen bestond, werd onderzocht of en onder welke omstandigheden TSD zou kunnen evolueren. Er werden vijf verschillende

uitkomsten gevonden: (i) de beginpopulatie met GSD was stabiel tegen invasie van TSD; (ii) TSD evolueerde en verdreef GSD uit de populatie; (iii) een nieuw type GSD evolueerde op een tweede genlocus; (iv) stabiele coëxistentie van GSD en TSD; (v) verschillende coëxisterende GSD systemen evolueerden tezamen. In navolging van eerder onderzoek werd gevonden dat TSD gemakkelijker kon evolueren wanneer de omgevingsfluctuaties klein waren en de levensduur lang was. In de simulaties vonden snelle overgangen tussen GSD en TSD vaak plaats, zelfs zonder de aanname van temperatuur en sexe afhankelijke fitnessverschillen, hetgeen een nieuwe, aanvullende verklaring voor de evolutie van TSD biedt. Een ander belangrijk inzicht dat voortkomt uit dit model is dat verschillende geslachtsbepalingsmechanismen kunnen evolueren vanuit identieke begincondities, waarvoor wellicht toevalsprocessen zoals genetische drift verantwoordelijk zijn.

Hoewel conceptuele modellen zoals in hoofdstuk 2 belangrijk zijn om algemene inzichten over de evolutie van TSD te verschaffen, zijn specifieke modellen die zich toelagen op bepaalde soorten nodig om deze inzichten daadwerkelijk te testen. De meeste soorten zijn ongeschikt om hypothesen over de evolutie van TSD mee te testen, omdat ze slechts één geslachtsbepalingsmechanisme bezitten. De skink *Niveoscincus ocellatus* is wat dit betreft een uitzondering, omdat er zowel GSD- als TSD-populaties van deze soort bestaan, verspreid over verschillende geografische regio's. Daarbij komt ook het feit dat er de afgelopen jaren een grote hoeveelheid gegevens over de levensloop van deze soort zijn verzameld. Vrouwtjes in de TSD-populatie die zijn geboren in een vroeg stadium gedurende het broedseizoen hebben een grotere kans om al een jaar eerder tot reproductie te komen dan vrouwtjes die later tijdens het broedseizoen worden geboren. Ook in de GSD-populatie verschilt deze kans om al eerder te reproduceren tussen vroeg- en laatgeboren vrouwtjes, maar in mindere mate. In beide populaties is de fitness van mannetjes onafhankelijk van hun geboortedatum. Terwijl vroeg- en laatgeboren vrouwtjes in de GSD populatie dus ook fitnessverschillen vertonen, kunnen juist grote temperatuursfluctuaties in hun verspreidingsgebied hebben geleid tot een selectief voordeel van GSD. In **hoofdstuk 3** zijn modellen, geparametriseerd zijn met gegevens van zowel de levensloop van deze skinkensoort als klimaatdata, gebruikt om te voorspellen welk geslachtsbepalingssysteem zou evolueren in de verschillende populaties. De resultaten laten zien dat het model

het geslachtsbepalingssysteem correct voorspelt voor iedere populatie, wanneer het model gebaseerd is op de lokale variatie in de temperatuur en de demographie van deze skink.

Drie belangrijke conclusies kunnen worden getrokken uit dit theoretische gedeelte van de dissertatie. Als eerste kan selectie voor niet-facultatieve seksratios al leiden tot overgangen tussen GSD en TSD, zelfs zonder de aanname van temperatuur en sexe afhankelijke fitnessseffecten. Deze resultaten geven een nieuwe verklaring voor de evolutie van TSD en kunnen wellicht verklaren waarom verschillende studies geen sex afhankelijke fitnessseffecten konden vinden bij bepaalde soorten. Ten tweede, laten simulaties zien dat naast snelle overgangen tussen GSD en TSD, evolutie van geslachtsbepalingssystemen ook kan uitmonden in een vorm van GSD welke bestaat uit verschillende onderliggende genetische factoren of in een stabiele coëxistentie tussen GSD en TSD. Hiermee is er dus een mogelijke verklaring gevonden voor de empirische waarneming van het bestaan van verschillende geslachtsbepalingsfactoren binnen één populatie. Als derde kan geconcludeerd worden dat het nuttig is om dergelijke evolutionaire modellen af te stemmen op een specifieke soort, omdat hiermee voorspellingen gemaakt kunnen worden over de evolutie van geslachtsbepalingsmechanismen binnen deze soort.

Deel II: Empirische Benadering

Het hoofddoel van het tweede deel van het proefschrift was het bestuderen van het effect van variatie in temperatuur op de geografische verdeling van sexe-bepalende (SD) factoren in de huisvlieg, met behulp van een serie experimenten en statistische analyses. Het standaardgeslacht van een huisvlieg is vrouwelijk, aangezien alle individuen de vrouw-bepalende factor F in zich dragen. Individuen die hiernaast in het bezit zijn van een man-bepalende factor M , die de functie van F onderdrukt, in zich dragen worden mannetjes. In het zogenaamde standaard XY-systeem, wat het meeste op hoge breedtegraden en ver boven zeeniveau voorkomt, bevindt M zich op het Y-chromosoom. In populaties die zich dicht bij zeeniveau of op een lagere breedtegraad bevinden kan de M factor op een of meer van de vijf autosomen liggen. In populaties met autosomale M -factoren zijn vrouwtjes vaak in het bezit van een gemuteerde versie van F , de F^D factor, die ongevoelig voor M is.

Wat verklaart echter deze clines? De meest voor de hand liggende factor die varieert met de breedtegraad is temperatuur. Dit leidde enkele auteurs er toe om te suggereren dat de ruimtelijke verdeling van SD-factoren op de een of andere manier door variatie in temperatuur veroorzaakt wordt (Franco *et al.*, 1982; Cakir & Kence, 1996); in hoeverre dit het geval is is waar dit deel van het proefschrift over gaat.

Een eenvoudige hypothese om de distributie van SD-factoren te verklaren is het feit dat de temperatuur de fitness van vliegen beïnvloedt, op een manier die van hun SD-factoren afhangt. Het doel van **hoofdstuk 4** was daarom om middels experimenten te onderzoeken of huisvliegen met autosomaal M of F^D in vergelijking met standaard XY-vliegen een hogere fitness hebben bij hogere temperaturen. Om te bepalen of een invasie van autosomale M -factoren in een standaard XY-populatie mogelijk zou zijn werden enkele mannetjes met de M factor op autosomen II en III in standaard XY-populaties geïntroduceerd, onder verschillende temperaturen. Hun frequentie werd daarna over meerdere generaties gevolgd. De resultaten waren echter minder eenduidig dan verwacht. Hoewel M op autosoom II het Y-chromosoom verving, nam M op autosoom III niet in frequentie toe, en er werd geen effect van de temperatuur gemeten. Om de fitness van vrouwtjes met en zonder F^D te bepalen werden enkele fitnessparameters van vrouwtjesvliegen met beide mogelijke SD-factoren gemeten, bij verschillende temperaturen. Er was een aanzienlijke variatie tussen de verschillende populaties, maar ook hier, net als in het mannetjes-experiment, werd hier geen effect van de temperatuur op de resultaten gevonden.

In het voorgaande hoofdstuk toonde geen van de onderzochte fitnessparameters een effect van de temperatuur aan. Het doel in **hoofdstuk 5** was om nog een fitness-component, namelijk de frequentie van intersekse (individuen met een lage fitness die zowel mannelijke als vrouwelijke eigenschappen hebben) in het nageslacht. Er is eerder gepubliceerd dat de frequentie van intersekse in de huisvlieg toeneemt bij koude temperaturen. Hierom werden er intra- en inter-populatie kruisingen gedaan voor populaties met standaard XY-systeem zowel als autosomaal- M populaties met verschillende frequenties van F^D , voor verschillende temperaturen. Voor iedere kruising werd het nageslacht onderzocht op intersekse-eigenschappen. Er werd geen effect van de

temperatuur op de frequentie van intersekse aangetroffen. De sekseraties van de populaties werden echter beïnvloed door de temperatuur bij enkele van de experimenten. Dit suggereert dat seksuele ontwikkeling mogelijk beïnvloed wordt door de temperatuur, maar meer experimenten zijn nodig om dit nader te onderzoeken.

Een andere manier om de dynamica van, en selectie over, SD-factoren in de huisvlieg te onderzoeken naast laboratoriumonderzoek is het onderzoeken van veranderingen over de lange termijn in de patronen van de distributies in het wild. Er werd voor het eerst zo'n 50 jaar geleden melding gemaakt van autosomale M -factoren, en de hypothese werd geopperd dat zij zich in noordelijke richting aan het verspreiden waren, en het standaard XY-systeem vervingen. **hoofdstuk 6** doet verslag van het verzamelen van huisvliegen uit populaties op een reeks plaatsen in Europa, die 25 jaar geleden ook bestudeerd werden (Franco *et al.* 1982), om zo te onderzoeken of, en op welke wijze, de verdeling in de loop der jaren veranderd is. In tegenstelling tot de vroeger gedane voorspellingen werd er echter geen duidelijke verandering gevonden in de verdeling van autosomale M -factoren in vergelijking met 25 jaar geleden. Dit leidt tot de conclusie dat autosomale M -factoren geen uniform voordeel over de standaard M -factor hebben, aangezien zij deze laatste anders geheel verdrongen zouden hebben. De ogenschijnlijke stabiliteit van de cline wekt de suggestie op dat het XY-systeem in het noorden een voordeel heeft, terwijl autosomale M -factoren in het zuiden in het voordeel lijken te zijn.

Het doel van **hoofdstuk 7** was het verder onderzoeken van het idee dat de geografische distributie van SD-factoren in de huisvlieg door temperatuurvariatie veroorzaakt wordt. Als dit inderdaad het geval is zou men verwachten vergelijkbare patronen in de verspreiding op het zuidelijk halfrond te vinden. Hierom werden steekproeven verzameld uit meerdere locaties in Zuid-Afrika en Tanzania. De resultaten tonen aan dat de huisvliegpopulaties op het zuidelijk halfrond hetzelfde patroon herhalen dat eerder op het noordelijk halfrond aangetroffen werd, er werden namelijk hogere frequenties van autosomale M - en F^D -factoren aangetroffen naarmate men dichterbij de evenaar kwam, of dichterbij zeeniveau.

Naast de temperatuur veranderen nog enkele andere klimaatsvariabelen mee met de breedtegraad en hoogte. Klimaatsdatabases zijn tegenwoordig

publiekelijk toegankelijk, wat het mogelijk maakt data te verkrijgen over een aantal klimaatsfactoren op wereldschaal. Met behulp van de nieuw-verzamelde data over frequenties van SD-factoren op het zuidelijk halfrond, samen met data uit eerder gepubliceerde onderzoeken werd een meta-analyse gedaan om te onderzoeken welke klimaatsvariabele de clinale verdeling van de SD-factoren het beste verklaart. De resultaten tonen aan dat de seizoensgebondenheid van de mate waarin de temperatuur varieert, en niet zozeer de gemiddelde temperatuur, de beste verklaring is voor de verdeling van de mannelijke SD-factor, in de zin dat de autosomale *M*-factoren meer voorkomen in plaatsen waar er minder temperatuurfluctuaties tussen de seizoenen zijn. Voor de verdeling van de vrouwelijke SD-factoren echter is de combinatie van vochtigheidsgraad en gemiddelde temperatuur (over het hele jaar gemeten) de beste verklarende factor. Een lage vochtigheidsgraad en hoge gemiddelde temperatuur zijn namelijk positief gecorreleerd met de frequentie van F^D .

Het hoofddoel van **hoofdstuk 8** was om de beschikbare moleculaire methoden ter bestudering van de huisvlieg uit te breiden door nieuwe microsateliet merkers te ontwikkelen en een “linkage map” of koppelingskaart te construeren. De merkers werden naar vijf koppelingsgroepen gesplitst die overeen kwamen met vijf autosomen van de huisvlieg, maar geen van de merkers lag op het X- of Y-chromosoom.

De theorieën over de evolutie van het geslachtschromosoom voorspellen dat op chromosomen die de functie van een geslachtschromosoom aannemen de mate van recombinatie langs het chromosoom zou moeten afnemen, beginnend bij de locatie van het geslachtsbepalende gen. Dit is omdat, bijvoorbeeld, op het Y-chromosoom zich genen opstapelen die gunstig zijn voor mannetjes maar nadelig voor vrouwtjes. Een afname in de mate van recombinatie voorkomt dat deze genen in vrouwtjes terechtkomen. Hieruit volgt dat voor de huisvlieg de mate van recombinatie op de autosomen die de *M*- of F^D -factor bevatten ook lager zou moeten zijn dan op de autosomen zonder. Om deze voorspelling te toetsen werden de mate van recombinatie van autosomen met en zonder SD-factor vergeleken, door een van de merkers van het specifieke autosoom in kwestie te gebruiken die gevonden was in de koppelingsanalyse. Een statistische analyse toonde een significante afname aan in de mate van

recombinatie op autosomen met SD-factoren, wat overeenkomt met de verwachtingen die voortvloeien uit de theorie.

Kunnen wij nu, gezien onze resultaten uit huisvliegexperimenten, de uitspraak doen dat wij de geografische verdeling van de SD-factoren, en de rol die de temperatuur hierbij speelt, begrijpen? Enerzijds wijst het gevonden resultaat dat de verdeling van SD-factoren in het zuidelijk halfrond vergelijkbaar is met de patronen die op het noordelijk halfrond worden aangetroffen erop dat er een rol van de temperatuur is in de vorming van deze clines. Anderszijds hebben geen van de laboratoriumexperimenten een effect van de temperatuur op de fitness van huisvliegen met verschillende SD-factoren aan kunnen tonen. Dit laatste is wellicht echter niet zo verassend vanuit het perspectief van de meta-analyse die op de experimenten volgde, die suggereerde dat het niet zozeer de temperatuur is maar de seizoensgebonden temperatuurvariatie of de combinatie van vochtigheidsgraad en temperatuur is die verantwoordelijk is voor de clinale distributie van SD-factoren. Of de correlaties die in de meta-analyse gevonden werden daadwerkelijk een causaal effect weerspiegelen is nader te onderzoeken in toekomstige experimenten.