



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Sex ratio variation and sex determination in *Urtica dioica*

Glawe, G.A.

Citation

Glawe, G. A. (2006, October 5). *Sex ratio variation and sex determination in Urtica dioica*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4583>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4583>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlandse samenvatting

Bij mensen is er gemiddeld één jongen op één meisje. Wellicht is dit het logische gevolg is van Mendelse overerving. Vrouwen hebben het genotype XX, mannen het genotype XY en een kruising tussen de twee levert altijd weer 50% XX en 50% XY op. In populaties van tweehuizige planten, soorten met aparte mannelijke en vrouwelijke individuen, is de geslachtsverhouding (seks ratio) van de bloeiende planten vaak scheef. Meestal zijn er meer mannelijke dan vrouwelijke planten maar het kan ook andersom zijn. De traditionele verklaring hiervoor is dat de seks ratio (fractie mannen) in de zaden weliswaar 0.5 is maar dat deze ratio later in het leven scheef trekt, bijvoorbeeld doordat vrouwelijke planten meer energie investeren in reproductie en daardoor hogere sterfte hebben of doordat een paar mannelijke planten slechter overleven. Recent is echter gevonden dat de seks ratio in de zaden al helemaal scheef kan zitten en ook sterk afhangt van het genotype van de ouders. Om dit te begrijpen moeten we preciezer weten hoe het geslacht van een plant wordt bepaald. Dit onderzoek is relevant voor de voedselproductie. Een kweker van bijvoorbeeld papaja wil liefst de vrouwelijke planten opkweken en maar een paar mannelijke overhouden voor de bestuiving. Het onderzoek aan de seks ratio is ook van belang voor het beheer van natuurlijke populaties. Een populatie met een overschot aan vrouwelijke planten, zoals, bijvoorbeeld, bij de kruipwilg in het duin werd gevonden, groeit harder dan een populatie met vooral mannelijke planten, zoals bij de duindoorn. In mijn proefschrift bestudeer ik de seks ratio variatie bij een heel algemene, tweehuizige plantensoort, de grote brandnetel (*Urtica dioica*). Wij kozen deze soort als model omdat brandnetels makkelijk, met weinig sterfte, en in een korte periode gekweekt kunnen worden van zaad tot bloeiende plant. Hierdoor is het ook mogelijk grote aantallen nakomelingen op te kweken en nauwkeurig afwijkingen van een seks ratio van 0.5 vast te stellen. Ook

NEDERLANDSE SAMENVATTING

is de soort goed te stekken. De stekken kunnen in weefselcultuur worden bewaard, waardoor hetzelfde genotype meerdere malen in experimenten kan worden gebruikt, wat een groot voordeel is voor genetische studies.

VARIATIE IN SEKS RATIO

Ondanks het feit dat er gemiddeld ongeveer 50% mannelijke en 50% vrouwelijke planten van *U. dioica* voorkomen in de duinen van Meijndel is er behoorlijke variatie tussen families in de seks ratio van de zaden. We verzamelden zaden van 33 vrouwelijke planten van *U. dioica* in het duin. Deze vrouwelijke planten waren door de wind bestoven en er waren dus mogelijk meer vaders bij de bestuiving betrokken. Een zaadmonster van een moederplant noemen we een 'familie'. De seks ratio van de families varieerde tussen 5% en 76% mannelijke planten (Hoofdstuk 2). De seks ratio was zeer significant verschillend tussen families en in 14 van de 33 families was er een significante afwijking van 50%.

Vervolgens hebben we in een groot aantal natuurlijke populaties de seks ratio bestudeerd. Het percentage mannelijke stengels varieerde tussen 7% en 82% (Hoofdstuk 3). Omdat we grote aantallen individuen telden is het onwaarschijnlijk dat deze afwijkingen van 50% door toeval komen. We zijn eerst nagegaan of volwassen planten verschillen in groei en overleving. Zulke verschillen kunnen bijdragen aan de hoeveelheden mannelijke en vrouwelijke stengels die je uiteindelijk telt in het veld. Er blijken geen verschillen te zijn tussen mannelijke en vrouwelijke planten: in een tuin was, gedurende een periode van drie jaar, de overleving en het aantal stengels van mannen en vrouwen gelijk. Ook onder gecontroleerde omstandigheden in een groeikamer maakten mannen en vrouwen evenveel stengels en wortelstokken. Er is bij *U. dioica* dus geen seksueel dimorfisme, er zijn geen andere planteigenschappen aan het geslacht van de plant gekoppeld. De seks ratio van de bloeistengels in het veld hangt waarschijnlijk samen met de seks ratio van de zaden die ter plekke worden geproduceerd.

MECHANISME VAN GESLACHTSBEPALING

Allereerst onderzochten we of milieufactoren het geslacht van planten konden veranderen (Hoofdstuk 4). Meer specifiek analyseerden we of 1) de beschikbaarheid van voedingsstoffen voor een ouder-

plant de seks ratio van de nakomelingen beïnvloedt, 2) of de condities waaronder planten opgroeien mede hun sekse bepaalt, en 3) of je na de bloei het geslacht van een plant nog kon veranderen door de plant aan extreme omstandigheden bloot te stellen, door toevoeging van hormonen of door planten te kloneren. Het lukte ons niet om het geslacht van mannelijke of vrouwelijke planten te veranderen. Dit is een goed uitgangspunt voor de genetische studie.

Daarentegen was de geslachtsexpressie van eenhuizige planten wel te veranderen. De fractie mannelijke bloemen nam toe naarmate planten meer voedingsstoffen kregen. Dit suggereert dat eenhuizige planten instabiele mannen zijn die af en toe wat zaden produceren.

Uit de combinatie van resultaten in hoofdstuk 3 en 4 blijkt dat genetische factoren ten grondslag liggen aan de seks ratio variatie bij *U. dioca*. In hoofdstuk 5 maakten we een aantal kruisingen om te achterhalen wat nu precies bepaalt of een plant mannelijk, vrouwelijk, dan wel eenhuizig is. Is er een geslacht, zoals XX bij de mens, dat maar één type gameet maakt en is er een geslacht, zoals XY bij de mens, dat twee typen gameten maakt? Zijn er nog meer genen bij de geslachtsbepaling betrokken?

Of een plant één of meer typen gameten maakt kan worden onderzocht door die plant met het eigen pollen te bestuiven. Bij een aantal tweehuizige soorten kan dit door het geslacht van een aantal bloemen te veranderen, bijvoorbeeld door toepassing van plantenhormonen. Omdat het geslacht van planten echter zo stabiel is bij de grote brandnetel kunnen we deze methode niet toepassen. We gebruikten daarom eenhuizige planten. Als deze planten zelfbestoven werden produceerden ze meestal vrouwelijke nakomelingen en mannelijke plus eenhuizige nakomelingen in een verhouding van 1:3. De eenhuizige planten produceren dus meer dan één type gameet en de kruisingen suggereren dat YY mannen levenskrachtig zijn. We maakten kruisingen tussen eenhuizige planten aan de ene kant en 1) mannen of 2) vrouwen aan de andere kant. Onder de eenvoudige hypothese dat eenhuizige planten XY (plus een nog onbekende factor) zijn, mannen XY en vrouwen XX, verwacht je bij kruising 1 $XX:XY:YY=1:2:1$ en bij kruising 2 $XX:XY:YY=1:1:0$. Bij kruising 1 ontstaan 75% mannen (eenhuizigen inclusief) en bij kruising 2 maar 50%. Kruising 1 leverde zo'n 70% mannen plus eenhuizigen op. Kruising 2 leverde, geheel in tegenstelling tot de verwachting, ongeveer 87.5% vrouwelijke planten

op. Uit kruising 2 moeten we concluderen dat de vrouwelijke factor uit de tweehuizige plant dominant is over de mannelijke factor uit het eenhuizige systeem. We probeerden meerder genetische modellen te fitten op onze data maar geen van deze modellen was geheel bevredigend. Er zijn aanwijzingen dat de aanduiding van mannetjes als XY en vrouwtjes als XX, zoals in de literatuur voor de meeste tweehuizige plantensoorten gebruikelijk is, in grote lijnen wel correct is, maar dat er bij de grote brandnetel toch meer genen bij de geslachtsbepaling zijn betrokken. Een verdere aanwijzing voor meer genen zijn de kruisingen waarbij één man met één vrouw werd gekruist (in hoofdstuk 2 analyseerden we de seks ratio van de nakomelingen van vrouwelijke planten die in het veld door meer mannetjes konden worden bestoven). Met XX en XY geslachtsbepaling horen deze kruisingen 50% mannen op te leveren. De geslachtsverhouding in de nakomelingen was echter vaak scheef. Het is mogelijk dat sommige vrouwelijke planten X pollen selecteren boven Y pollen (of andersom). Het is ook mogelijk, en zelfs waarschijnlijk, dat meer genen bij de geslachtsbepaling betrokken zijn. Deze twee verklaringen sluiten elkaar niet uit. Samenvattend suggereren de resultaten uit hoofdstuk 5 dat, in het tweehuizige systeem, mannen twee typen gameten produceren en vrouwen maar één type, maar ook dat de geslachtsbepaling ingewikkelder is dan deze eenvoudige tweedeling.

In hoofdstuk 6 onderzoeken we de conclusies uit hoofdstuk 5 nader. Onder de microscoop zijn geen geslachtschromosomen te zien waarin mannen en vrouwen duidelijk verschillen. We maakten een kruising tussen één man en één vrouw en analyseerden ouders en nakomelingen wat betreft een aantal moleculaire merkers. Geen van de primers die we testten leverde een merker op die 100% gekoppeld was met het geslacht. Zeven merkers waren significant met het geslacht van de plant geassocieerd. In een discriminantanalyse werd het geslacht van 72% van de planten goed voorspeld, op grond van een viertal merkers. De genetische kaart die we maakten is niet compleet. We hebben geen merkers voor 20% van de 52 chromosomen en op de meeste chromosomen is er maar één merker. Het is daarom niet uit te sluiten dat er een merker is die sterk gekoppeld is aan geslacht, zoals de resultaten in hoofdstuk 5 suggereerden, maar die we nog niet hebben gevonden. We kunnen echter wel concluderen dat blijkbaar meer genen bij de geslachtsbepaling betrokken zijn.

OVERERVING VAN DE SEKS RATIO

Om de mechanismen die leiden tot een scheve seks ratio beter te begrijpen, maakten we kruisingen tussen planten uit families die sterk verschilden in seks ratio (Hoofdstuk 7). De seks ratio erft over via de vrouwelijke ouder. De mannelijke ouder lijkt geen effect te hebben op de seks ratio van zijn nakomelingen. We maakten reciproke kruisingen, bijvoorbeeld tussen man 1 uit familie A en vrouw 1 uit familie B en tussen vrouw 1 uit A en man 1 uit B. Deze reciproke kruisingen leverden andere resultaten op. De seks ratio van de nakomelingen lijkt op de seks ratio in de familie van de moeder maar niet op die in de familie van de vader. Verder onderzoek is hier wellicht nodig omdat we maar drie mannelijke genotypen in onze kruisingen gebruikten. Die verschilden niet, maar misschien dat een bredere selectie wel mannen oplevert die de seks ratio van hun nakomelingen beïnvloeden. Onze resultaten wijken op dit punt opvallend af van de resultaten voor koekoeksbloemen. *Silene latifolia* en *S. dioica* zijn tweehuizige soorten waarvan de seks ratio zeer goed bestudeerd is. In deze soorten bleek de seks ratio van de nakomelingen vooral afhankelijk van de vader. Het onderliggende mechanisme bij *Silene* is waarschijnlijk meiotic drive, waardoor het X dan wel het Y chromosoom vaker voorkomt in het stuifmeel. Naast meiotic drive kunnen we ook selectieve abortus van embryo's uitsluiten als oorzaak van de scheve seks ratio bij *U. dioica*. Het aantal zaden per ovulum was hoog en verschilde niet tussen families met verschillende seks ratio. Twee mechanismen blijven mogelijk. Ten eerste kan de moederplant mogelijk selecteren tussen X- en Y-pollen of, meer subtiel, tussen pollenkorrels die verschillen in de hoeveelheid 'mannelijke genen' die ze bevatten. Ten tweede, wordt het geslacht van planten wellicht mede door cytoplasmatische genen bepaald. Als het geslacht geheel door meerdere kerngenen wordt bepaald en een discrete eigenschap (man/vrouw) is die via een drempelwaarde door een kwantitatieve onderliggende eigenschap wordt bepaald, dan verwacht je dat beide ouders in gelijke mate bijdragen aan de seks ratio van de nakomelingen. In dit geval kan een reciproke kruising tussen man 1 uit A en vrouw 1 uit B en tussen vrouw 1 uit A en man 1 uit B wel eens toevallig een ander resultaat opleveren, maar gemiddeld genomen, zullen reciproke kruisingen het zelfde resultaat opleveren. Dit is niet het geval, er moet dus nog een andere factor een rol spelen. Mogelijk is dit een gen dat ligt op het

DNA van het mitochondrion of van de chloroplast. Zulke cytoplasmatische genen worden meestal alleen door de moeder doorgegeven en op grond van de literatuur is dit ook in *U. dioica* het meest waarschijnlijk. Een vrouwelijke factor op het cytoplasma die bijdraagt aan de geslachtsbepaling, maar dan alleen via de moeder, kan dus mogelijk de verrassende resultaten uit Hoofdstuk 6 verklaren.

Er is recent veel aandacht voor de rol van genetische conflicten bij de geslachtsbepaling van dieren. Zulke conflicten zijn er misschien de oorzaak van dat de geslachtsbepaling zelden eenvoudig is. In het plantenrijk is genetisch conflict vooral bestudeerd bij soorten met gynodioecie, d.w.z. vrouwelijke en tweeslachtige planten komen voor binnen dezelfde populatie. Kerngenen worden geselecteerd voor een uitgebalanceerde verhouding van stuifmeel en zaden. Cytoplasmatische genen worden meestal alleen via de zaden doorgegeven, niet via het stuifmeel. Een cytoplasma dat leidt tot zoveel mogelijk zaden heeft een selectief voordeel. De belangen van genen in de kern en in het cytoplasma botsen. Bij tweehuizige planten zit het conflict in de verhouding tussen zonen en dochters: de meeste kerngenen worden doorgegeven bij een bepaalde verhouding van zonen en dochters, terwijl de meeste cytoplasmatische genen worden doorgegeven bij 100% dochters (een zoon is voor de cytoplasmatische genen een doodlopende weg). De overerving van de seks ratio via de moeder suggereerde bij *U. dioica* een invloed van het cytoplasma op de seks ratio. Het lijkt ons aannemelijk dat dit eeuwigdurende conflict bijdraagt aan de handhaving van de grote variatie in de seks ratio tussen families, zoals wij voor *U. dioica* documenteerden.