



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).

Deutsche Zusammenfassung

Bei Menschen werden, durchschnittlich gesehen, gleich viel Jungen wie Mädchen geboren. Dies ist vermutlich eine logische Folge Mendelscher Vererbung. Frauen haben zwei X-Chromosomen (auch Geschlechtschromosomen genannt) und Männer haben ein X- und ein Y-Chromosom. Laut Mendelscher Vererbungslehre ist die Wahrscheinlichkeit der Geburt eines Mädchens 50% und die eines Jungen ebenfalls 50%. In natürlichen Populationen zweihäusiger Pflanzen, also mit Arten getrenntgeschlechtlichen Individuen, variiert das Verhältnis weiblicher und männlicher Pflanzen oft stark. Es ist beobachtet worden, dass eine Population aus mehr männlichen als weiblichen Individuen besteht, aber es kann auch sein dass die Anzahl weiblicher Pflanzen überwiegt. Eine oft gebräuchliche Erklärung für dieses Phänomen ist, dass das Geschlechterverhältnis (hier definiert als der Anteil männlicher Nachkommen) zur Zeit der Samenbildung höchstwahrscheinlich 0.5 ist, dass sich jedoch das Verhältnis weiblicher und männlicher Pflanzen im Laufe ihrer Entwicklung verändert. Eine Erklärung für das Vorkommen von Populationen mit einem Überschuss an Männchen ist zum Beispiel, dass Weibchen eine große Menge an Energie aufwenden müssen um Samen zu bilden. Dadurch erfahren sie eine höhere Sterberate im Gegensatz zu den Männchen. Allerdings kann bei anderen Arten wiederum die Sterberate der Männchen höher sein, weil weibliche Pflanzen mehr Biomasse bilden und dadurch nach und nach die männlichen Pflanzen aus der Population verdrängen. Neue Studien berichten jedoch, dass das Geschlechterverhältnis bereits zur Zeit der Samenbildung stark von einem 1:1 Verhältnis abweichen kann und dass es vermutlich abhängig ist von der Kombination der elterlichen Pflanzen. Um dieses Phänomen genauer zu untersuchen ist es nötig zu wissen, wie das Geschlecht einer Pflanze einer gegebenen Art bestimmt wird. Untersuchungen dieser Art sind wichtig für die Produktion zwei-

häusiger Gemüse- (zum Beispiel Spinat) und Obstsorten (zum Beispiel Kiwi und Papaya). Der Besitzer einer Kiwiplantage ist sehr daran interessiert vor allem weibliche Pflanzen heranzuziehen, denn es sind gerade mal eine Handvoll männlicher Individuen nötig, um die Weibchen zu bestäuben, so dass diese Früchte bilden können. Ebenso sind solche Studien notwendig um natürliche Populationen verwalten zu können. Eine Population in der mehr weibliche als männliche Pflanzen vorkommen, wie es zum Beispiel bei der Kriechweide in den Dünen beobachtet wurde, sorgt für schnelleren Bewuchs im Vergleich zu einer Population die, wie beim Sanddorn, vor allem aus männlichen Pflanzen besteht.

In meiner Doktorarbeit untersuche ich die Mechanismen die möglicherweise zur Variation im Geschlechterverhältnis bei der Brennessel (*Urtica dioica*) beigetragen haben. Wir haben diese Art als Modelnpflanze für unsere Untersuchungen gewählt weil Brennesseln einfach, mit geringer Sterblichkeit, und in kürzester Zeit zu blühenden Pflanzen herangezogen werden können. Dies macht es außerdem möglich, eine große Anzahl an Nachkommen aufzuziehen, sodass schon geringe Abweichungen im Geschlechterverhältnis festgestellt werden können. Darüber hinaus lässt sich die Art gut durch Stecklinge vermehren. Die Stecklinge können in Gewebekultur gehalten werden und bei Bedarf kann dann ein und dieselbe Pflanze (Genotyp) mehrfach in verschiedenen Kreuzungen gebraucht werden. Diese Eigenschaft bietet einen großen Vorteil bei der Durchführung genetischer Studien.

VARIATION IM GESCHLECHTERVERHÄLTNIS

Obwohl bei der Brennessel die Anzahl der weiblichen und männlichen Pflanzen in unserem Untersuchungsgebiet in den Dünen von Meijendel ungefähr gleich ist, variiert das Geschlechterverhältnis der Nachkommen von einzelnen weiblichen Eltern sehr stark. Wir haben die Samen von 33 weiblichen Brennesselpflanzen in unserer natürlichen Population in den Dünen gesammelt. Weil die weiblichen Eltern durch den Wind bestäubt waren, ist es sehr gut möglich dass an ein und derselben Pflanze Samen unterschiedlicher väterlicher Herkunft gebildet wurden. Samen, die von einer weiblichen Pflanze abstammen gehören zu einer 'Familie'. Das Geschlechterverhältnis zwischen diesen Familien variierte zwischen 5% männlicher

Nachkommen bis zu 76% und war signifikant verschieden (KAPITEL 2). In 14 von diesen 33 Familien haben wir eine signifikante Abweichung vom 1:1 Verhältnis festgestellt.

In einem weiteren Schritt haben wir das Geschlechterverhältnis in 26 weiteren natürlichen Brennesselpopulationen bestimmt. Die Anzahl der Sprossachsen männlicher Individuen variierte zwischen 7% und 82% (KAPITEL 3). Da unsere Feldstudie eine große Anzahl Pflanzen umfasste, ist die Wahrscheinlichkeit sehr gering dass die Abweichungen von einem 1:1 Geschlechterverhältnis ein Zufallsprodukt sind. Um festzustellen ob diese Abweichungen tatsächlich erst zu einem späteren Zeitpunkt im Lebenszyklus aufgetreten waren, haben wir Wachstums- und Sterberate beider Geschlechter untersucht. Zum Beispiel können Unterschiede in der Anzahl der gebildeten Sprossachsen der Grund sein, warum wir unterschiedlich viel weibliche und männliche Pflanzen wahrgenommen haben. Tatsächlich aber fanden wir keine nennenswerten Unterschiede zwischen den Geschlechtern im Bezug auf diese Eigenschaften. So konnten wir während einer Periode von 3 aufeinander folgenden Jahren keinen Unterschied in der Anzahl der gebildeten Sprossachsen zwischen weiblichen und männlichen Individuen messen. Dasselbe gilt auch für die Sterblichkeitsrate. Ähnliche Resultate waren zu verzeichnen, als wir weibliche und männliche Pflanzen unter besser kontrollierbaren Bedingungen in einer Klimakammer untersuchten: beide Geschlechter bildeten annähernd gleich viel Sprossachsen und Rhizome aus. Daraus lässt sich schließen dass es bei der Brennessel keinen deutlichen Geschlechtsdimorphismus gibt. Mit anderen Worten, weibliche und männliche Pflanzen sind im vegetativen Zustand (also vor der Blütebildung) nicht voneinander zu unterscheiden. Unsere Feldstudie deutet damit an, dass die Abweichung des Geschlechterverhältnisses in den untersuchten Populationen allem Anschein nach schon bei der Bildung der Samen vorhanden ist.

GESCHLECHTSBESTIMMUNG

Als erstes haben wir untersucht ob und inwiefern verschiedene Umweltfaktoren Einfluss auf die Geschlechtsbestimmung der weiblichen und männlichen Pflanzen ausüben (KAPITEL 4), so etwa ob das Geschlechterverhältnis der Nachkommen bei der Brennessel abhängig ist vom Nährstoffgehalt des Bodens, in dem die elterlichen

Pflanzen sich befanden. Des weiteren haben wir untersucht, ob die Ausprägung des Geschlechts abhängig ist von den Umweltbedingungen unter denen die Pflanzen aufwachsen oder aber, ob weibliche Individuen nach einer Hormonbehandlung in Männchen umgewandelt werden können und umgekehrt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen legten jedoch nahe, dass sowohl das Geschlechterverhältnis der Nachkommen als auch das Geschlecht (bestimmter) weiblicher und männlicher Pflanzen unabhängig von der Umwelt bestimmt werden und somit stabil sind. Diese Eigenschaft ist sehr wertvoll im Hinblick auf die Durchführung genetischer Studien zum Zwecke der Geschlechtsbestimmung.

Demgegenüber variierte die Anzahl der weiblichen und männlichen Blüten auf den einhäusigen Pflanzen unter verschiedenen Umweltbedingungen. So nahm der Anteil der männlichen Blüten unter Verabreichung zusätzlicher Nährstoffe enorm zu. Ein solcher Fund deutet sehr stark darauf hin, dass einhäusige Individuen unbeständige männliche Pflanzen sind, welche hin und wieder auch weibliche Blüten und infolgedessen Samen bilden.

Die Ergebnisse, die aus den Kapiteln 3 und 4 hervorgehen lassen vermuten, dass vor allem genetische (und weniger umweltbedingte) Faktoren bei der Geschlechtsbestimmung und der Variation im Geschlechterverhältnis eine Rolle spielen. In KAPITEL 5 analysierten wir anhand einer Reihe von Kreuzungen welche Faktoren festlegen, ob eine Pflanze weiblich, männlich oder einhäusig ist. Gibt es so wie beim Menschen und den meisten Tierarten ein homogametisches Geschlecht (XX), welches eine einzige Sorte Keimzellen produziert und ein heterogametisches Geschlecht (XY), welches zwei verschiedene Typen Keimzellen produziert? Wieviel Gene sind bei der Bestimmung des Geschlechts beteiligt?

Um die Anzahl der gebildeten Keimzellen bei den weiblichen und männlichen Pflanzen festzustellen, werden jene Individuen geselbstet (durch sich selbst bestäubt). Bei einigen zweihäusigen Arten ist es gelungen das Geschlecht durch die Behandlung mit (Pflanzen-)Hormonen zu verändern und so zum Beispiel eine weibliche Pflanze in eine männliche umzuwandeln. Jedoch ist es uns nicht gelungen, diese Methode erfolgreich bei der Brennessel anzuwenden. Deshalb haben wir auf einhäusige Brennesselpflanzen zurückgegriffen, die sowohl weibliche als auch männliche Blüten pro-

duzieren. Nach Selbstung produzierten diese weibliche und männliche (plus einhäusige) Nachkommen im Verhältnis 1:3. Die einhäusigen Pflanzen produzierten eindeutig mehr als eine Sorte Keimzellen. Darüber hinaus lassen die Ergebnisse der Selbstungen den Schluss zu, dass männliche Pflanzen mit dem Genotyp YY lebensfähig sind. In einem zweiten Schritt kreuzten wir einhäusige Individuen mit männlichen Pflanzen einerseits und weiblichen Pflanzen andererseits. Unter der Annahme dass einhäusige Pflanzen vom Genotyp XY (plus einem zusätzlicher Faktor), männliche Individuen XY und weibliche Individuen vom Genotyp XX sind, erwarteten wir beim ersten Kreuzungstyp XX:XY:YY in einen Verhältnis von 1:2:1 und beim zweiten Kreuzungstyp XX:XY:YY in einen Verhältnis von 1:2:0. Während wir also beim ersten Kreuzungstyp 75% männliche (inklusive einhäusige) Nachkommen erwarten, sind es beim zweiten nur 50%. Tatsächlich erhielten wir annähernd 70% männliche und einhäusige Pflanzen beim ersten Kreuzungstyp. Aus der zweiten Sorte Kreuzungen gingen jedoch beinahe 90% weibliche Pflanzen hervor. Dieses Ergebnis weicht nahezu völlig von unseren Erwartungen ab. Wir müssen deshalb schlussfolgern, dass der weibliche Faktor, von der zweihäusigen Pflanze dominant gegenüber dem männlichen Faktor von der einhäusigen Pflanze vererbt wird. Wir haben ebenfalls probiert die Resultate aus den verschiedenen Kreuzungen an andere genetische Modelle anzupassen. Leider waren die Bemühungen nicht sehr erfolgreich, denn diese Modelle konnten unsere Ergebnisse nicht besser erklären. Unsere Untersuchungen deuten stark darauf hin dass weibliche Pflanzen der Brennnessel vom Genotyp XX und männliche vom Genotyp XY sind. Laut Literaturangaben ist dies tatsächlich auch der allgemeine Fall bei zweihäusigen Pflanzenarten. Die Ergebnisse aus den verschiedenen Kreuzungen lassen aber auch erkennen, dass das Geschlecht durch das Zusammenspiel mehrerer Gene bestimmt wird. Dass dies der Fall ist, wird ganz offensichtlich wenn wir normale weibliche und männliche Pflanzen miteinander kreuzen. Wird das Geschlecht der Pflanzen allein durch das XX/XY-System bestimmt, dann erwarten wir nach Mendel 50% Weibchen und 50% Männchen. Im Gegensatz dazu ergaben Kreuzungen dieser Art oftmals ein Geschlechterverhältnis, welches stark vom üblichen 1:1 Verhältnis abwich. Sind es jedoch beispielsweise die mütterlichen Pflanzen,

welche durch aktive Selektion von X- und Y-Pollen das Geschlechterverhältnis der Nachkommen bestimmen, dann ist eine Geschlechtsbestimmung nach dem XX/XY-System möglich. Ebenso ist aber ein Zusammenspiel mehrerer Mechanismen vorstellbar.

Zusammenfassend lässt sich sagen dass die Ergebnisse aus Kapitel 5 andeuten, dass weibliche Pflanzen der Brennnessel nur eine Sorte Keimzellen produzieren, während männlich Pflanzen zwei verschiedene Sorten Keimzellen produzieren. Dies ist ein System, wie es bei der Mehrzahl der zweihäusigen Pflanzenarten üblich ist. Wir haben aber auch gesehen, dass die Bestimmung des Geschlechts sich nicht einfach nur aus dieser Zweiteilung ergibt, sondern komplexere Ursachen hat.

In KAPITEL 6 haben wir versucht, die gefundenen Ergebnisse aus den Kreuzungen mit Hilfe karyologischer und molekularer Analysen zu untermauern. Morphologisch unterscheidbare Geschlechtschromosomen, so wie sie in manchen anderen zweihäusigen Arten beschrieben worden, haben wir bei der Brennnessel nicht finden können. Für die molekulare Analyse gebrauchten wir mehr als 70 weibliche und männliche Nachkommen, die alle aus derselben Kreuzung hervorgingen. Die elterlichen Pflanzen schlossen wir ebenso in die Analyse ein. Von insgesamt 14 Primern, die wir getestet haben, zeigte keiner einen Marker an der zu 100% an ein Geschlecht gekoppelt war. Dagegen fanden wir insgesamt 7 Marker, welche signifikant mit der Bestimmung des Geschlechts zusammenhängen. Mit Hilfe einer Diskriminantenanalyse, die nur vier dieser Marker in die Analyse einschloss, konnte das Geschlecht von insgesamt 72% der Nachkommen genau vorhergesagt werden. Die genetische Karte, die dabei entstand, ist nicht vollständig. So haben wir zum Beispiel für 20% der insgesamt 52 Chromosomen keinen Marker gefunden, und die Mehrzahl der Chromosomen enthält lediglich einen Marker. Es ist durchaus möglich, dass es einen Marker gibt der, wie es die Ergebnisse aus den Kreuzungen in Kapitel 5 andeuteten, sehr stark an das Geschlecht gekoppelt ist, den wir aber noch nicht gefunden haben. Schlussfolgernd bleibt festzuhalten, dass die Ergebnisse der molekularen Analyse, ebenso wie die Resultate aus den Kreuzungen, ein Zusammenspiel mehrerer Gene bei der Geschlechterbestimmung nahe legen.

VERERBUNG DES GESCHLECHTERVERHÄLTNISES

Um zu verstehen, welche Mechanismen zu einem ungleichen Geschlechterverhältnis in den Nachkommen führen, haben wir Pflanzen aus Familien mit unterschiedlichem Verhältnis weiblicher und männlicher Nachkommen gekreuzt (KAPITEL 7). Wir stellten fest, dass der weibliche Elter in großem Maße verantwortlich ist für das Geschlechterverhältnis der Nachkommen. Hingegen scheint der männliche Elter keinerlei Einfluss zu haben. Wir kreuzten weibliche und männliche Brennnesselpflanzen wechselseitig, indem wir ein Weibchen aus Familie A mit einem Männchen aus Familie B kreuzten und auf der anderen Seite ein Weibchen aus Familie B mit einer männlichen Pflanze aus Familie A. Die Ergebnisse der reziproken Kreuzungen zwischen den Familien unterschieden sich sehr: das Geschlechterverhältnis der Nachkommen glich in starkem Maße dem der Familie der weiblichen Pflanze, aber nicht so sehr dem der Familie der väterlichen Pflanze. Sicherlich sind aber weitere Untersuchungen notwendig, denn die Kreuzungen umfassten eine weit größere Anzahl weiblicher Eltern. Möglicherweise würden unsere Ergebnisse auch einen merklichen Einfluss der männlichen Eltern auf das Geschlechterverhältnis der Nachkommen zeigen, sobald wir die Anzahl der väterlichen Pflanzen erhöhen würden.

Damit weichen unsere Entdeckungen bei der Brennnessel sehr stark von denen bei der Weißen Lichtnelke (*Silene latifolia*) ab. Die Weiße Lichtnelke ist ebenfalls eine zweihäusige Pflanzenart. Bei keiner anderen Art sind so viele Untersuchungen des Geschlechterverhältnisses gemacht wurden. Dabei zeigten die Ergebnisse aus den Kreuzungen, dass das Geschlechterverhältnis der Nachkommen in starkem Maße vom männlichen Elter abhängig war. Als verantwortlicher Mechanismus wurde 'meiotic drive' angegeben. Dieser führt dazu, dass die Anzahl der weiblichen und männlichen Keimzellen, die normalerweise bei der Meiose im Gleichgewicht zueinander stehen, im Ungleichgewicht sind. Dadurch werden mehr Pollenkörner gebildet, die nach der Befruchtung der Eizelle zur Bildung vorwiegend weiblicher oder männlicher Nachkommen führen. Dies scheint aber nicht der Fall bei der Brennnessel zu sein. Ebenfalls können wir ein gerichtetes Abstoßen weiblicher oder männlicher Embryonen (selective embryo abortion) als Ursache für das Ungleichgewicht im Geschlechterverhältnis ausschließen, denn

das Verhältnis von Samenanlage und Samen war generell hoch und unterschied sich nicht wesentlich zwischen den verschiedenen Familien. Es sind aber noch andere Mechanismen vorstellbar. Zum Beispiel kann der mütterliche Elter zwischen X- und Y-Pollen selektieren, oder aber auf eine noch subtilere Art und Weise, zwischen Pollen mit unterschiedlicher Ladung weiblicher und männlicher Geschlechtsgene. Des Weiteren kann das Geschlecht eines Individuums auch durch cytoplasmatische Gene bestimmt werden. Wird das Geschlecht durch mehrere Kerngene bestimmt und stellt es eine diskrete Eigenschaft (Weibchen/Männchen) dar, die über einen Schwellenwert durch eine quantitativ zugrunde liegende Skala vererbt wird, erwartet man, dass beide Elternteile gleichmäßig an der Vererbung des Geschlechterverhältnisses teilhaben. In diesem Fall geht man davon aus, dass reziproke Kreuzungen zwischen einem Weibchen aus Familie A und einem Männchen aus Familie B und umgekehrt, durchschnittlich dasselbe Resultat ergeben. Da die nicht der Fall ist, müssen wir annehmen, dass ein weiterer Faktor von Belang ist. Möglicherweise ist es ein mitochondriales Gen oder ein Chloroplasten-Gen. Solche cytoplasmatischen Gene werden in der Regel nur über den weiblichen Elter an die Nachkommen weitergegeben. Laut Literaturangaben scheint das auch bei der Brennessel der Fall zu sein. Die Anwesenheit eines solchen Genes, welches nur über den weiblichen Elter an die Nachkommen vererbt wird, kann in der Tat die überraschenden Ergebnisse aus Kapitel 6 erklären.

Vor allem in letzter Zeit ist das Interesse an der Rolle genetischer Konflikte (zum Beispiel zwischen Kerngenen und cytoplasmatischen Genen) bei der Geschlechtsbestimmung gestiegen. Das Auftreten solcher Konflikte ist womöglich auch der Grund warum die Bestimmung und Vererbung des Geschlechts oftmals so komplex ist. Das Phänomen des genetischen Konflikts ist vor allem bei Tierarten gut untersucht worden. Im Pflanzenreich ist dieses Phänomen vor allem bei gynodioezischen Arten untersucht worden, wobei weibliche Pflanzen zusammen mit zwittrigen Individuen innerhalb derselben Population vorkommen. Normalerweise sorgen Kerngene dafür, dass sämtliche genetischen Eigenschaften beider Eltern zu gleichen Teilen an die Nachkommen vererbt werden. Cytoplasmatische Gene dagegen werden meist nur über den weiblichen Elter an die folgende Generation vererbt. Mit anderen Worten: eine Eigenschaft, wie zum

Beispiel männliche Sterilität, wird mit dem Samen weitergegeben, aber nicht mit dem Pollen. Dadurch werden mehr weibliche als männliche Nachkommen produziert. Besteht innerhalb einer Population ein selektiver Vorteil für diese Eigenschaft, dann nimmt die Anzahl der männlichen Individuen dramatisch ab. Die Interessen von Kerngenen und cytoplasmatischen Genen sind entgegengestellt. Bei zweihäusigen Pflanzen besteht dieser Konflikt in der Produktion von weiblichen und männlichen Nachkommen. Kerngene sorgen dafür, dass das Geschlechterverhältnis der Nachkommen zu gleichen Teilen aus Weibchen und Männchen besteht. Dagegen sorgen cytoplasmatische Gene in der Regel für eine Erhöhung der Anzahl der weiblichen Individuen. Weil das Geschlechterverhältnis bei der Brennnessel allem Anschein nach eine Eigenschaft ist, die vor allem über den weiblichen Elter vererbt wird, nehmen wir an, dass dies auf den Einfluss cytoplasmatischer Gene zurückzuführen ist. Das Auftreten einer solchen Wirkungsweise bei der Brennnessel würde dann auch einen Grossteil der Variation im Geschlechterverhältnis, wie wir bereits zu Beginn zeigten, erklären.