

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/19031> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Reumer, Barbara Merel

**Title:** Co-evolution between parthenogenesis-inducing Wolbachia and its hosts

**Date:** 2012-05-30

# Nederlandse samenvatting

*Dit hoofdstuk is gebaseerd op de algemene introductie (hoofdstuk 1) en algemene discussie (hoofdstuk 8) van dit proefschrift. Om de leesbaarheid te verhogen zijn alle literatuurverwijzingen weggelaten. Aan het einde van dit hoofdstuk is een verklarende woordenlijst toegevoegd.*

## Seksuele en aseksuele voortplanting

Binnen de eukaryoten<sup>1</sup> is seksuele voortplanting<sup>2</sup> de meest voorkomende manier van voortplanting. Er zijn veel theorieën die het succes van seksuele voortplanting proberen te verklaren. Deze theorieën zijn onder te verdelen in twee grote groepen: de mutatietheorieën en de ecologietheorieën. In de mutatietheorieën wordt uitgelegd dat seksuele recombinitie<sup>3</sup> kan zorgen voor de afvoer van schadelijke mutaties<sup>4</sup> uit het DNA, terwijl bij aseksuele voortplanting<sup>5</sup> mutaties, inclusief schadelijke, zich kunnen ophopen in het DNA. In de ecologietheorieën wordt uitgelegd dat organismen die zich seksueel voortplanten zich sneller kunnen aanpassen dan aseksuele organismen wanneer ze te maken krijgen met andere organismen, zoals parasieten, predatoren en concurrenten. Al deze theorieën hebben de overkoepelende gedachte dat seksuele voortplanting kan zorgen voor snellere aanpassing aan een complexe omgeving dan aseksuele voortplanting. Bovendien zal seksuele voortplanting op de lange termijn voordeliger zijn dan aseksuele voortplanting.

Seksuele voortplanting brengt echter ook een aantal kosten met zich mee. Aangezien de fitnessnadelen<sup>6</sup> van seksuele voortplanting zo groot zijn, is het eigenlijk opmerkelijk dat de meeste eukaryoten zich seksueel voortplanten. Deze fitnessnadelen van seksuele voortplanting (en dus fitnessvoordelen van aseksuele voortplanting) worden beschreven in een theorie die 'de tweevoudige kosten van seksuele voortplanting' wordt genoemd. Op populatieniveau gezien: omdat een aseksueel vrouwtje alleen maar dochters produceert (door zichzelf te klonen), zal al haar nageslacht ook weer bijdragen aan de generatie daarna (in theorie zal ieder individu ook weer minimaal één individu in de volgende generatie produceren). Daarentegen zal slechts de helft van het nageslacht (bij een 50/50 sekse ratio) van een seksueel vrouwtje bijdragen aan de generatie daarna (er zijn telkens twee individuen nodig, een mannetje en een vrouwtje, om één individu in de volgende generatie te kunnen produceren). Omdat er dus minder individuen nodig zijn om net zoveel nageslacht te produceren in de volgende generatie, kan een aseksuele populatie sneller groeien dan een seksuele

populatie. Wanneer deze twee populaties in competitie zouden zijn, zal de aseksuele populatie de seksuele populatie wegconcurreren omdat hij sneller kan groeien. Op genniveau<sup>7</sup> gezien: een aseksueel vrouwtje geeft al haar DNA door aan de volgende generatie, terwijl een seksueel vrouwtje slechts de helft van haar DNA doorgeeft aan haar nageslacht. Een aseksueel vrouwtje heeft daarom een hogere fitness dan een seksueel vrouwtje en een grotere verwantschap tussen moeder en nageslacht zal zorgen voor selectie<sup>8</sup> ten gunste van aseksuele voortplanting.

Aan de hand van de voor- en nadelen van seksuele en aseksuele voortplanting, kan worden voorspeld dat in simpele omgevingen zonder veel interacties met andere organismen en de omgeving, en/of op de korte termijn, aseksuele voortplanting voordeliger zal zijn. In complexe omgevingen met veel interacties, en/of op de lange termijn, zal echter seksuele voortplanting voordeliger zijn. Ondanks dat seksuele voortplanting de meest voorkomende manier van voortplanting is, zal aseksuele voortplanting waarschijnlijk relatief vaak voorkomen in simpele omgevingen. Dit idee wordt ondersteund door een aantal recente studies aan invertebraten<sup>9</sup>. Deze studies laten zien dat aseksuele soorten en populaties relatief vaker voorkomen in landbouwgebieden en andere door mensen verstoorde gebieden en minder vaak in natuurlijke gebieden. Omdat er vaak weinig soorten voorkomen in door mensen verstoorte gebieden worden deze gebieden als simpel beschouwd. In natuurlijke gebieden zijn vaak veel ingewikkelde interacties tussen organismen en tussen organismen en de omgeving, waardoor deze gebieden als complex worden beschouwd.

In invertebraten wordt aseksuele voortplanting vaak veroorzaakt door een infectie met micro-organismen, zoals de bacteriën *Wolbachia*, *Cardinium* en *Rickettsia*. In dit proefschrift beperk ik me tot het micro-organisme *Wolbachia*.

### ***Wolbachia***

*Wolbachia* is een intracellulaire, symbiotische<sup>10</sup> bacterie, behorend tot de orde Rickettsiales binnen de klasse  $\alpha$ -Proteobacteria. *Wolbachia* infecteert een groot aantal verschillende arthropoden, zoals insecten, spinnen, mijten, schorpioenen en pissebedden, maar *Wolbachia* is ook gevonden in rondwormen. De typesoort voor het geslacht *Wolbachia* is *Wolbachia pipientis*, die voor het eerst beschreven is in de mug *Culex pipiens* in 1936 door Hertig. Het geslacht *Wolbachia* kan worden onderverdeeld in zes, en waarschijnlijk acht, grote supergroepen (A-H). *Wolbachia* van supergroep C en D zijn alleen bekend in rondwormen. De andere supergroepen worden voornamelijk gevonden in arthropoden, waarin supergroep A en B het meeste voorkomen. Het wordt geschat dat 66% van alle insectensoorten (gedeeltelijk) is geïnfecteerd met *Wolbachia*. Verschillende insectensoorten zijn met meerdere *Wolbachia* soorten geïnfecteerd, die zelfs uit verschillende supergroepen afkomstig kunnen zijn.

*Wolbachia* wordt via de moeder overgedragen, omdat een spermacel te klein is om de bacterie te kunnen huisvesten. Daarom is verticale overdracht (van moeder

op dochter) de belangrijkste overdrachtsmethode van *Wolbachia* binnen bestaande gastheren<sup>11</sup>. Maar omdat de stambomen van de verschillende soorten *Wolbachia* en hun gastheren niet overeenkomen, komt horizontale overdracht van *Wolbachia* tussen gastheren waarschijnlijk ook vaak voor. In verschillende experimenten is het gelukt om *Wolbachia* horizontaal over te brengen, zowel tussen individuen binnen één gastheersoort als tussen verschillende gastheersoorten. Bovendien laat een recent veldonderzoek aan een sluipwespssoort zien dat horizontale overdracht ook voorkomt binnen een gastheersoort tijdens de eerste fase na de initiële besmetting met *Wolbachia*. Het lijkt er dus op dat horizontale overdracht van *Wolbachia* niet alleen een rol speelt in de verspreiding van *Wolbachia* tussen gastheersoorten, maar ook tussen individuen binnen nieuw geïnfekteerde soorten.

Omdat *Wolbachia* wordt overdragen van moeder op dochter, heeft *Wolbachia* er voordeel bij wanneer zijn gastheer meer vrouwen dan mannen produceert. Om zijn eigen overdracht naar de volgende generatie te verbeteren, is *Wolbachia* in staat om verschillende veranderingen te veroorzaken in het voortplantingsmechanisme van zijn gastheer, zoals cytoplasmatische incompatibiliteit, feminisatie, mannending en parthenogenese<sup>12</sup>.

Cytoplasmatische incompatibiliteit (CI) is het meest voorkomende effect van een *Wolbachia*-infectie. CI door *Wolbachia* is beschreven in mijten, pissebedden en veel insectenordes, zoals de Coleoptera (kevers), Diptera (vliegen, muggen), Hemiptera (wantsen, bladluizen, cicaden), Hymenoptera (mieren, hommels, bijen, wespen), Lepidoptera (vlinders) en Orthoptera (krekels, sprinkhanen). CI is een verandering in het voortplantingsmechanisme dat zorgt voor incompatibiliteit tussen sperma- en eicellen. CI-*Wolbachia* past de spermacellen van geïnfekteerde mannetjes tijdens de aanmaak van sperma op zo'n manier aan dat er uit eitjes die met deze spermacellen worden bevrucht geen embryo kan ontwikkelen. Eitjes van vrouwtjes die geïnfecteerd zijn met CI-*Wolbachia* hebben een reddingsmechanisme dat die verandering van het sperma ongedaan kan maken, waardoor er wel een embryo kan ontwikkelen. Wanneer het juiste reddingsmechanisme niet aanwezig is in het eitje, bijvoorbeeld omdat het vrouwtje niet geïnfecteerd is met *Wolbachia* of omdat ze met een andere soort *Wolbachia* is geïnfecteerd dan het mannetje, dan zijn sperma en eitje incompatibel. Als de verandering van het sperma niet ongedaan wordt gemaakt, dan loopt de vorming van de mannelijke en vrouwelijke pronuclei niet in fase met elkaar tijdens de eerste mitotische<sup>13</sup> deling in het embryo. In diploïde<sup>14</sup> soorten zal dit leiden tot de dood van het embryo, terwijl in haplodiploïde<sup>15</sup> soorten zich alleen mannelijk nageslacht zal ontwikkelen.

Feminisatie door *Wolbachia* is gevonden in pissebedden en de insectenordes Hemiptera en Lepidoptera. Bij door *Wolbachia* geïnduceerde feminisatie ontwikkelen genetische mannetjes zich tot functionele vrouwtjes, bijvoorbeeld door de onderdrukking van mannelijke hormonen.

Mannending door *Wolbachia* is beschreven in pseudoschorpioenen en de in-

sectenordes Coleoptera, Diptera en Lepidoptera. Met *Wolbachia* geïnfecteerde mannetjes worden gedood tijdens hun ontwikkeling als embryo's, zodat de vrouwelijke embryo's meer nutriënten ter beschikking hebben.

Parthenogenese-inducerende (PI) *Wolbachia* is tot nu toe alleen beschreven in haplodiploïde soorten, zoals tripsen, mijten en Hymenoptera. In ongeïnfecteerde haplodiploïde organismen ontwikkelen bevruchte eitjes zich tot diploïde dochters en onbevruchte eitjes tot haploïde zonen. Deze vorm van seksuele voortplanting wordt ook wel arrhenotokie genoemd. PI-*Wolbachia* zorgt ervoor dat haploïde eitjes diploïd worden door de verdeling van de homologe chromosomen te verstoren tijdens de eerste mitotische deling na de meiose<sup>16</sup>, zodat diploïde dochters zich kunnen ontwikkelen uit onbevruchte eitjes. Deze vorm van asexuele voortplanting wordt ook wel thelytokie genoemd.

In dit proefschrift beperk ik me tot parthenogenese-inducerende *Wolbachia* in Hymenoptera. Ik heb de dynamica, oorzaken en gevolgen van door *Wolbachia* geïnduceerde parthenogenese bestudeerd in twee soorten sluipwespen, *Tetrastichus coeruleus* en *Asobara japonica*.

### **Gevolgen van door *Wolbachia* geïnduceerde parthenogenese**

In de meeste gevallen van door *Wolbachia* geïnduceerde parthenogenese is de infectie gefixeerd en bestaat de hele populatie uit vrouwtjes die zich parthenogenetisch voortplanten. In de afwezigheid van mannetjes en seksuele voortplanting, worden genen die betrokken zijn bij seksuele voortplanting niet meer actief in stand gehouden door selectie. Ophoping van mutaties of selectie tegen het in stand houden van kostbare seksuele eigenschappen kan leiden tot de beschadiging of het verlies van deze genen. Omdat mannelijke eigenschappen niet tot uiting komen in asexuele populaties, zullen deze eigenschappen waarschijnlijk door mutaties beschadigen en verdwijnen. Vrouwelijke seksuele eigenschappen, die wel tot uiting komen maar niet worden gebruikt, kunnen daarnaast ook worden weggeselecteerd als ze kostbaar zijn om in stand te houden. Bovendien kunnen vrouwtjes hun vermogen om zich seksueel voort te planten ook verliezen door zogenaamde 'functionele maagdelijkheidsmutaties', die zich tegelijk met de *Wolbachia*-infectie door een populatie kunnen verspreiden. Mutaties die er voor zorgen dat vrouwtjes geen eitjes meer bevruchten, zullen een selectief voordeel hebben in de aanwezigheid van vrouwtjes die geïnfecteerd zijn met PI-*Wolbachia*. Vrouwtjes met zulke maagdelijkheidsmutaties zullen meer zonen produceren die vervolgens meer paringsmogelijkheden hebben door de verhoogde productie van dochters door met PI-*Wolbachia* geïnfecteerde vrouwtjes. Maagdelijkheidsmutaties kunnen ontstaan tijdens de eerste fase na de initiële besmetting met PI-*Wolbachia* en ze kunnen invloed hebben op vrouwelijke eigenschappen die betrokken zijn bij seksuele voortplanting, zoals bijvoorbeeld de paring en de bevruchting van haar eitjes. Ophoping van mutaties en selectie tegen het in stand houden van kostbare eigenschappen ontstaan na een langere periode van parthenogenetische

voortplanting en kunnen van invloed zijn op alle mogelijke eigenschappen, zowel mannelijke als vrouwelijke, die betrokken zijn bij seksuele voortplanting, zoals bijvoorbeeld baltsgedrag en feromoonaanmaak.

Wanneer zulke beschadigingen of verlies van genen die betrokken zijn bij seksuele voortplanting gedurende een lange tijd kunnen ontstaan en evolueren, kunnen asek-suele soorten of populaties na verloop van tijd niet meer in staat zijn tot seksuele voortplanting. Veel soorten insecten die populaties hebben met alleen vrouwtjes vertonen beschadiging of verlies van vrouwelijke seksuele eigenschappen.

### ***Tetrastichus coeruleus***

*Tetrastichus coeruleus* (Hymenoptera: Eulophidae) parasiteert de kever *Crioceris asparagi* (het aspergehaantje). *T. coeruleus* vrouwtjes leggen hun eitjes, meerdere tegelijk, in de eitjes van *C. asparagi*. Uit zo'n eitje wordt vervolgens gewoon een larve van *C. asparagi* geboren. Wanneer deze larve zich verpopt, komen de eitjes van *T. coeruleus* uit en eten de keverlarve van binnen uit op. Uit de pop van *C. asparagi* komt vervolgens geen kever, maar een aantal sluipwespen. *T. coeruleus* voedt zich als adult ook met de inhoud van de eitjes van *C. asparagi*. *T. coeruleus* is synovigeen, wat betekent dat vrouwtjes gedurende (bijna) heel hun leven nieuwe eitjes aanmaken.

De kever *C. asparagi* leeft op de asperge (*Asparagus officinalis*). Aspergeplanten groeien op zandgronden, zoals duingebieden langs de kust, maar ook als monocultuur op landbouwgronden. *A. officinalis* is inheems in West-Azië, Europa en Noord-Afrika en wordt al duizenden jaren gebruikt als consumptiegewas. *C. asparagi* staat bekend als plaagsoort in de aspergeteelt en de sluipwesp *T. coeruleus* kan mogelijk gebruikt worden als biologisch bestrijdingsmiddel tegen deze kevers. *A. officinalis* is geïntroduceerd in de Verenigde Staten voor de teelt van asperges en in 1859 werd *C. asparagi* voor het eerst waargenomen in het noordoosten van de Verenigde Staten. Later, waarschijnlijk al in 1863, maar zeker in 1909, werd ook *T. coeruleus* waargenomen. Bovendien zag men dat deze sluipwesp de populatie aspergehaantjes onder controle hield door zich met eitjes van deze kevers te voeden en er haar eigen eitjes in te leggen. Er werden echter alleen vrouwtjes van *T. coeruleus* gevonden, zowel wanneer ze in het veld werden gevangen als wanneer ze voor meerdere generaties in het lab werden gekweekt. Dit wijst erop dat de populaties van *T. coeruleus* in het noordoosten van de Verenigde Staten zich parthenogenetisch voortplanten. Eerder onderzoek in ons lab vond ook aanwijzingen dat een aantal Nederlandse populaties van *T. coeruleus* geïnfecteerd zijn met *Wolbachia* die parthenogenese veroorzaakt.

### ***Asobara japonica***

*Asobara japonica* (Hymenoptera: Braconidae) parasiteert verschillende soorten fruitvliegen. *A. japonica* vrouwtjes leggen hun eitjes, één per keer, in de larven van fruitvliegen. *A. japonica* komt voor in Japan. Populaties van *A. japonica* op de grote hoofdeilanden van Japan hebben scheve geslachtsverdelingen met voornamelijk vrouwtjes (92.7% - 99.2% vrouwtjes). De populaties van *A. japonica* op de kleine subtropische zuidelijke eilanden van Japan hebben gelijke verhoudingen mannetjes en vrouwtjes. De populaties op de hoofdeilanden zijn geïnfecteerd met parthenogenese-inducerende *Wolbachia*, terwijl de populaties op de kleinere zuidelijke eilanden niet zijn geïnfecteerd.

### ***Wolbachia* in *T. coeruleus* en *A. japonica***

Het interessante is dat zowel *T. coeruleus* als *A. japonica* populaties hebben die geïnfecteerd zijn met *Wolbachia* en populaties die niet geïnfecteerd zijn. In beide soorten planten de populaties die met *Wolbachia* zijn geïnfecteerd zich voort via parthenogenese, terwijl de ongeïnfecteerde populaties zich seksueel voortplanten. Ook wordt in beide soorten regelmatig een kleine hoeveelheid mannen geproduceerd in de zich normaal gesproken parthenogenetisch voortplantende populaties.

Er zijn slechts een paar andere sluipwespsoorten bekend die zowel seksuele als parthenogenetische populaties hebben. In de sluipwespen *Apoanagyrus diversicornis*, *Telenomus nawai* en *Leptopilina clavipes* komen met PI-*Wolbachia* geïnfecteerde en ongeïnfecteerde populaties allopatrisch<sup>17</sup> voor. Gemengde populaties van met PI-*Wolbachia* geïnfecteerde en ongeïnfecteerde individuen zijn slechts bekend van een aantal soorten *Trichogramma* sluipwespen. In de meeste gevallen van door *Wolbachia* geïnduceerde parthenogenese is de infectie gefixeerd en bestaat de hele populatie uit vrouwtjes die zich parthenogenetisch voortplanten.

In dit proefschrift bestudeer ik de dynamica van met *Wolbachia* geïnfecteerde en ongeïnfecteerde populaties van *T. coeruleus* en *A. japonica*. Daarnaast heb ik de productie van mannetjes in zich normaal gesproken parthenogenetisch voortplantende populaties onderzocht.

### **Overzicht proefschrift**

In dit proefschrift bestudeer ik door *Wolbachia* geïnduceerde parthenogenese in twee soorten sluipwespen, *Tetrastichus coeruleus* (hoofdstuk 2, 3, 4 & 5) en *Asobara japonica* (hoofdstuk 6 & 7). Ik heb de populatiegenetica van geïnfecteerde en ongeïnfecteerde populaties van beide soorten bestudeerd aan de hand van nucleair<sup>18</sup> en mitochondriaal<sup>19</sup> DNA, om meer te weten te komen over de populatiedynamica en de verspreiding van de *Wolbachia*-infectie door de populaties na de initiële besmetting (hoofdstuk 3 & 6). Ik heb de verschillen tussen geïnfecteerde en ongeïnfecteerde

populaties onderzocht, met betrekking tot de frequentie van de *Wolbachia*-infectie, het voortplantingsmechanisme, de ecologie en de levensloopeigenschappen<sup>20</sup> (hoofdstuk 2 & 4). Verder heb ik de gevolgen van een PI-*Wolbachia*-infectie onderzocht, door te kijken naar de seksuele functionaliteit van *T. coeruleus* vrouwtjes en *A. japonica* mannetjes (hoofdstuk 5 & 7).

## Resultaten en discussie

De populatiegenetica laat zien dat er tussen gastheersoorten verschillende scenario's kunnen zijn waarmee een parthenogenese-inducerende *Wolbachia*-infectie zich kan verspreiden. Een recent onderzoek aan de met PI-*Wolbachia* geïnfecteerde sluipwesp *Leptopilina clavipes* was het eerste dat liet zien dat horizontale overdracht van *Wolbachia* een belangrijke rol speelt in de verspreiding van *Wolbachia* tussen individuen en populaties binnen een nieuwe gastheersoort. Seksuele voortplanting tijdens de eerste fase na de initiële besmetting met *Wolbachia* zou de variatie in het nucleair DNA van *L. clavipes* kunnen verklaren, maar niet de variatie in het mitochondriaal DNA. Net als in *L. clavipes* laat de variatie in het mitochondriaal DNA van *A. japonica* zien dat, na de initiële besmetting, de *Wolbachia*-infectie zich via horizontale overdracht (naast de normale verticale overdracht) heeft verspreid door de populaties van *A. japonica*. Ik heb helaas geen informatie over het nucleair DNA van *A. japonica*. Er is echter geen variatie te zien in het mitochondriaal DNA van *T. coeruleus*. Dat wijst erop dat de *Wolbachia*-infectie zich, na de initiële besmetting, enkel via verticale overdracht heeft verspreid door de populaties van *T. coeruleus*, en niet via horizontale overdracht. De variatie in het nucleair DNA van *T. coeruleus* doet vermoeden dat vrouwtjes hebben gepaard met mannetjes tijdens de eerste fase na de initiële besmetting met *Wolbachia* toen er nog mannetjes aanwezig waren. Mogelijk doen ze dat nog steeds af en toe, alhoewel mannetjes slechts zelden voorkomen in de parthenogenetische populaties. In geen van de drie genoemde sluipwespen is variatie gevonden in het DNA van *Wolbachia*. Daarom kunnen we concluderen dat alle drie de soorten geïnfecteerd zijn geraakt met een enkele soort *Wolbachia* die zich vervolgens op verschillende manieren door de populaties heeft verspreid.

Zowel *T. coeruleus* als *A. japonica* hebben populaties die geïnfecteerd zijn met *Wolbachia* en populaties die niet geïnfecteerd zijn. De reden voor dit verschil in infectiefrequentie tussen populaties lijkt te verschillen tussen de twee soorten. Nieuwe bacteriële infecties kunnen zich razendsnel verspreiden in gastheerpopulaties. Er zijn invasies gerapporteerd van de bacteriën *Wolbachia* in de fruitvlieg *Drosophila simulans* in California en *Rickettsia* in de wittevlieg *Bemisia tabaci* in Arizona waarbij de infectiefrequentie van 0% naar bijna complete fixatie ging in minder dan 100 generaties. Wanneer echter de gastheerpopulaties allopatrisch voorkomen kan de verspreiding van een bacterie minder makkelijk gaan. Net als *T. coeruleus* en *A. japonica* heeft de sluipwesp *L. clavipes* ook met *Wolbachia* geïnfecteerde en ongeïnfecteerde populaties. Geïnfecteerde populaties komen voor in Noord-Europa,



terwijl in Spanje ongeïnfecteerde populaties voorkomen. In het gebied tussen de Pyreneeën en het Centraal-Massief in Frankrijk worden echter geen populaties van *L. clavipes* gevonden. Dit gebied lijkt op te treden als geografische barrière tussen de geïnfecteerde en ongeïnfecteerde populaties, waardoor er geen migratie tussen de populaties kan plaatsvinden. Er lijkt ook een geografische barrière aanwezig te zijn tussen de geïnfecteerde en ongeïnfecteerde populaties van *A. japonica*. Met *Wolbachia* geïnfecteerde populaties van *A. japonica* komen voor op de twee grote Japanse hoofdeilanden, terwijl ongeïnfecteerde populaties op de kleine zuidelijke eilanden van Japan voorkomen. De geografische afstand tussen de eilanden is waarschijnlijk te groot voor *Wolbachia* om de zuidelijke eilanden te invaderen. Daarentegen komen de geïnfecteerde en ongeïnfecteerde populaties van *T. coeruleus* in Nederland relatief dicht bij elkaar voor. Ze komen echter in verschillende habitats voor: met *Wolbachia* geïnfecteerde populaties van *T. coeruleus* komen voor in de Nederlandse duingebieden, terwijl ongeïnfecteerde populaties op aspergevelden voorkomen. De populatiegenetica van *T. coeruleus* laat zien dat er wel af en toe migratie is van de ongeïnfecteerde naar de geïnfecteerde populaties, maar niet andersom. Dit zou kunnen verklaren waarom de *Wolbachia*-infectie tot nu toe (nog) niet voorkomt op de Nederlandse aspergevelden.

Verschillende habitats kunnen echter ook selecteren voor verschillende infectiefrequenties van *Wolbachia* of voor verschillende voortplantingsmechanismen. Door twee populaties van *T. coeruleus* met elkaar te vergelijken die verschillen in habitat, *Wolbachia*-infectie en voortplantingsmechanisme, heb ik een aantal verschillen gevonden in levensloopeigenschappen. Een ongeïnfecteerde seksuele populatie van een aspergeveld in Brabant en een met *Wolbachia* geïnfecteerde parthenogenetische populatie van het duingebied Meijndel verschilden in legselgrootte (aantal wespen per aspergehaantje), vrouwelijke levensduur, gewicht van een vrouwtje en samenstelling van de nutriëntreserves van een vrouwtje. De twee populaties lijken verschillende levensloopstrategieën te hebben. De vrouwtjes uit Brabant lijken meer te investeren in overleving, lichaamsgrootte en legselgrootte, terwijl de vrouwtjes uit Meijndel actiever lijken te zijn. Om echter te bepalen of en hoe deze verschillen in levensloopeigenschappen te maken hebben met de verschillen in habitat, *Wolbachia*-infectie en voortplantingsmechanisme, moeten er meer populaties van *T. coeruleus* onderzocht worden op deze levensloopeigenschappen. Hierdoor zouden we uiteindelijk het relatief dicht bij elkaar voorkomen van met *Wolbachia* geïnfecteerde en ongeïnfecteerde populaties van *T. coeruleus* beter kunnen begrijpen.

In de meeste gevallen van door *Wolbachia* geïnduceerde parthenogenese is de infectie gefixeerd en bestaat de hele populatie uit vrouwtjes die zich parthenogenetisch voortplanten. Echter zowel in *T. coeruleus* als in *A. japonica* worden regelmatig enkele mannetjes geproduceerd in de parthenogenetische populaties. In *A. japonica* lijkt deze productie van mannetjes een bijproduct te zijn van de nog niet complete aanpassing van *Wolbachia* aan zijn gastheer, omdat de infectie in *A. japonica* nog

relatief jong is. Aan de hand van mitochondriaal DNA heb ik vastgesteld dat de *Wolbachia*-infectie in *T. coeruleus* ouder is dan die in *A. japonica*. Daarom hebben *Wolbachia* en *T. coeruleus* langer de tijd gehad om zich aan elkaar aan te passen. De productie van mannetjes in parthenogenetische populaties van *T. coeruleus* moet dus waarschijnlijk op een andere manier worden verklaard.

Meer dan de helft van de mannetjes die door geïnfecteerde *A. japonica* vrouwtjes worden geproduceerd zijn ook geïnfecteerd met *Wolbachia*. De *Wolbachia* in deze mannetjes blijkt van precies dezelfde soort *Wolbachia* te zijn als die in *A. japonica* vrouwtjes parthenogenese veroorzaakt. Deze parthenogenese-inducerende *Wolbachia* lijkt cytoplasmatische incompatibiliteit te veroorzaken wanneer deze zich in mannetjes bevindt. Geen van de mannetjes die door geïnfecteerde *T. coeruleus* vrouwtjes worden geproduceerd zijn geïnfecteerd met *Wolbachia*.

Behalve het effect dat een PI-*Wolbachia*-infectie kan hebben op geïnfecteerde mannetjes, kan de infectie ook verstrekende gevolgen hebben voor vrouwtjes. In de meeste gevallen van door *Wolbachia* geïnduceerde parthenogenese is de infectie gefixeerd en bestaat de hele populatie uit vrouwtjes. In de afwezigheid van mannetjes en seksuele voortplanting, worden genen die betrokken zijn bij seksuele voortplanting niet meer actief in stand gehouden door selectie. Ophoping van neutrale mutaties of selectie tegen het in stand houden van kostbare seksuele eigenschappen kan leiden tot de beschadiging of het verlies van deze genen. Daarnaast kunnen vrouwtjes het vermogen om zich seksueel voort te planten verliezen door zogenaamde 'functionele maagdelijkheidsmutaties'. Veel soorten insecten die populaties hebben met alleen vrouwtjes vertonen beschadiging of verlies van seksuele eigenschappen, zoals de aantrekkelijkheid van vrouwtjes, het openstaan van vrouwtjes voor paring en de morfologie van geslachtsorganen. In *T. coeruleus* heb ik gevonden dat paring of spermaopslag ten koste gaat van de levensduur van een vrouwtje. Selectie tegen het in stand houden van kostbare seksuele eigenschappen lijkt ervoor gezorgd te hebben dat parthenogenetische vrouwtjes minder graag willen paren. Bovendien zien hun spermathecae<sup>21</sup> er anders uit dan die van seksuele vrouwtjes. Spermathecae van seksuele vrouwtjes zijn mooi rond, terwijl die van parthenogenetische vrouwtjes uitgerekt zijn en allerlei uitstulpingen kunnen vertonen. Seksuele en parthenogenetische vrouwtjes zijn echter wel even aantrekkelijk voor mannetjes. Hoewel parthenogenetische vrouwtjes van *T. coeruleus* nooit met mannetjes paarden tijdens paringsexperimenten in het lab, heb ik wel aanwijzingen gevonden dat er af en toe paringen in het veld plaatsvinden tussen mannetjes en vrouwtjes van parthenogenetische populaties. Door dit sporadische contact tussen mannetjes en vrouwtjes, zijn vrouwtjes nog steeds blootgesteld aan de kosten die een paring met zich meebrengt door de manipulatie van mannetjes. De aanpassingen van vrouwtjes tegen deze manipulaties blijven dus evolueren. Ik kan echter niet uitsluiten dat de bereidwilligheid van parthenogenetische vrouwtjes om te paren en haar spermathecae ook beschadigd kunnen zijn geraakt door functionele maagdelijkheidsmutaties of

ophoping van neutrale mutaties. *A. japonica* vrouwtjes van parthenogenetische populaties die van hun *Wolbachia*-infectie zijn genezen door middel van antibiotica, zijn niet in staat tot seksuele voortplanting. *A. japonica* mannetjes vertonen ook nooit baltsgedrag naar vrouwtjes van parthenogenetische populaties; parthenogenetische vrouwtjes zijn dus niet aantrekkelijk voor mannetjes. Omdat de *Wolbachia*-infectie in *A. japonica* nog relatief jong is lijken deze eigenschappen beschadigd te zijn geraakt door functionele maagdelijkheidsmutaties of sterke selectie tegen het in stand houden van kostbare eigenschappen en niet door ophoping van neutrale mutaties.

Door een vergelijking te maken tussen populaties die zijn geïnfecteerd met parthenogenese-inducerende *Wolbachia* en zich dus asexueel voortplanten en populaties die niet zijn geïnfecteerd en zich dus seksueel voortplanten, kunnen we meer te weten komen over de evolutie van seksuele voortplanting. De gevolgen van asexuele voortplanting op zowel genetisch als fenotypisch niveau kunnen bestudeerd worden door individuen van met PI-*Wolbachia* geïnfecteerde en ongeïnfecteerde populaties met elkaar te vergelijken. Verder kunnen de eigenschappen die betrokken zijn bij seksuele voortplanting en de snelheden van beschadiging of verlies van deze eigenschappen worden bestudeerd door gastheersoorten die verschillen in leeftijd van de PI-*Wolbachia*-infectie met elkaar te vergelijken.

De afwezigheid van migratie tussen met *Wolbachia* geïnfecteerde en ongeïnfecteerde populaties door geografische of ecologische barrières, samen met de voortdurende co-evolutie tussen *Wolbachia* en zijn gastheer, en de beschadiging of het verlies van genen die niet langer worden gebruikt, kunnen leiden tot steeds grotere verschillen tussen populaties. In theorie zouden deze verschillen uiteindelijk kunnen leiden tot soortsvorming tussen met *Wolbachia* geïnfecteerde en ongeïnfecteerde populaties.

<sup>1</sup> De eukaryoten vormen één van de drie domeinen van het leven. In tegenstelling tot prokaryoten, bevatten de cellen van eukaryoten een celkern. In deze celkern ligt het DNA opgeslagen, dat van het cytoplasma wordt gescheiden door een membraan. De andere twee domeinen, Archaea en Bacteria, behoren tot de prokaryoten en hebben cellen zonder celkern. Het DNA zweeft dan los door de cel.

<sup>2</sup> Bij seksuele voortplanting wordt het DNA van twee individuen van een soort gecombineerd in een nieuw individu in de volgende generatie. Vaak wordt het DNA van twee verschillende seksen of geslachten gecombineerd door de versmelting van een eicel en een spermacel.

<sup>3</sup> Bij recombinatie wordt het erfelijk materiaal (de genen<sup>7</sup>) van de ouders herschikt, zodat het nieuwe individu een andere combinatie van genen heeft dan zijn ouders.

<sup>4</sup> Een mutatie is een verandering in het DNA van een organisme. Mutaties kunnen gunstig, neutraal of schadelijk zijn.

<sup>5</sup> Bij asexuele voortplanting is slechts één ouder betrokken. Het DNA van deze ouder wordt in zijn geheel overgebracht naar een nieuw individu in de volgende generatie.

<sup>6</sup> Met de fitness van een gen<sup>7</sup> of individu wordt de relatieve toename van het aantal kopieën van dat gen of het aantal nakomelingen van dat individu in de volgende generatie ten opzichte van andere genen of individuen bedoeld. Als een individu relatief veel nakomelingen krijgt ten opzichte van andere individuen, dan is zijn fitness hoog.

<sup>7</sup> Genen zijn de eenheden van erfelijk materiaal in het DNA. Genetica is de wetenschap die erfelijkheid beschrijft, waarbij de genen worden bestudeerd.

<sup>8</sup> Natuurlijke selectie zorgt ervoor dat individuen die het beste aan hun omgeving zijn aangepast de meeste kans hebben om te overleven en meer nakomelingen zullen krijgen dan minder goed aangepaste individuen. Natuurlijke selectie is het mechanisme achter evolutie.

<sup>9</sup> Invertebraten zijn alle dieren zonder wervelkolom.

<sup>10</sup> Symbiose is het samenleven van twee verschillende organismen. Symbiose kan gunstig (mutualisme) zijn voor beide partners (de symbionten), maar het kan ook voordelig zijn voor slechts één van beide partners. In het laatste geval kan de symbiose voor de tweede partner neutraal (commensalisme) of schadelijk (parasitisme) zijn. Ook kan symbiose noodzakelijk zijn voor de overleving van één of beide partners (obligaat mutualisme).

<sup>11</sup> Een gastheer is een organisme waarin een ander organisme leeft. Bij symbiose is de gastheer de grootste van de partners en huisvest hij de tweede partner.

<sup>12</sup> Parthenogenese of maagdelijke voortplanting is een vorm van asexuele voortplanting. Vrouwtjes die zich parthenogenetisch voortplanten kunnen nakomelingen krijgen zonder daarbij een mannetje nodig te hebben. De nakomelingen komen dan uit onbevuchte eieren.

<sup>13</sup> Mitose of kerndeling is onderdeel van de celcyclus. Voor de mitose wordt het DNA in een cel eerst verdubbeld. Tijdens de mitose worden de twee identieke DNA-kopieën vervolgens uit elkaar gehaald en verdeeld over twee nieuwe cellen die ontstaan door deling van de oude cel.

<sup>14</sup> In eukaryoten is het DNA onderverdeeld in kleinere stukjes die chromosomen worden genoemd. Bij diploïde organismen hebben alle individuen, zowel mannetjes als vrouwtjes, twee sets chromosomen. Eén set is afkomstig van de vader en één set is afkomstig van de moeder. Een eicel en een zaadcel moeten versmelten om nageslacht te produceren.

<sup>15</sup> Bij haplodiploïde organismen hebben alleen de vrouwtjes twee sets chromosomen; één set van de vader en één set van de moeder. Mannetjes hebben slechts één set chromosomen, afkomstig van hun moeder. Een vrouwtje hoeft niet te paren om nageslacht te produceren. Bevruchte eitjes hebben twee sets chromosomen, zijn dus diploïd en ontwikkelen zich tot dochters. Onbevruchte eitjes hebben slechts één set chromosomen, zijn dus haploïd en ontwikkelen zich tot zonen.

<sup>16</sup> Bij de meiose of reductiedeling worden de geslachtcellen, eicellen en zaadcellen, gevormd. In tegenstelling tot bij de mitose, worden bij de meiose de twee homologe chromosoomsets die iedere diploïde cel bevat uit elkaar gehaald en verdeeld over twee nieuwe cellen die ontstaan door deling van de oude cel. De nieuwe cellen bevatten ieder slechts één set chromosomen en zijn dus haploïd.

<sup>17</sup> Allopatrische populaties zijn geografisch van elkaar gescheiden, waardoor er geen contact is tussen de populaties. Sympatrische populaties komen in hetzelfde gebied voor en staan dus met elkaar in contact.

<sup>18</sup> Nucleair DNA is het DNA van een organisme dat zich in de celkern (de nucleus) bevindt. Nucleair DNA wordt zowel via de vader als via de moeder overgeërfd.

<sup>19</sup> Mitochondriaal DNA is het DNA dat zich in de mitochondriën van een cel bevindt. Mitochondriën zijn celorganellen die voor de energiehuishouding van een cel zorgen. Mitochondriaal DNA wordt alleen via de moeder overgeërfd.

<sup>20</sup> Levensloopeigenschappen zijn betrokken bij de belangrijke gebeurtenissen in het leven van een organisme, zoals voortplanting en overleving. Belangrijke levensloopeigenschappen zijn bijvoorbeeld levensduur, aantal en grootte van de nakomelingen, lichaamsgrootte, ontwikkelingsduur, leeftijd waarop een organisme volwassen is en verder alle eigenschappen die bij de levensloop betrokken zijn.

<sup>21</sup> Spermathecae zijn de organen van een vrouwtje waarin ze het sperma van een mannetje opslaat na een paring.