

Oorzaak en gevolg van haploïde vrouwtjes bij *Brevipalpus*-mijten

Tom Groot

TREFWOORDEN

endosymbiont, horizontale transmissie, asexuele voortplanting, genetische diversiteit, mitochondriaal DNA, fylogenie

Entomologische Berichten 67 (5): 165-169

Een groep nauw verwante *Brevipalpus*-soorten heeft een unieke positie in het dierenrijk: bij deze mijtensorten zijn zowel de mannetjes als de vrouwtjes haploïd. Deze uitzonderlijke situatie wordt veroorzaakt door een infectie met *Cardinium*-symbionten. Deze bacteriën feminiseren onbevuchte haploïde eieren die anders tot mannetjes zouden uitgroeien. In één soort is de haploïde staat van de vrouwtjes niet het gevolg van een symbiont, maar vermoedelijk een genetische eigenschap van de mijten zelf. Dat onbevuchte eieren vrouwelijke dieren opleveren heeft tot gevolg dat deze mijten asexueel voortplanten. Hierdoor zijn er maar beperkte mogelijkheden voor het ontstaan van genetische variatie. Toch blijken *Brevipalpus*-populaties genetisch tamelijk divers. Een mogelijke verklaring voor de gevonden genetische variatie is, dat de mijten zich sporadisch toch seksueel voortplanten. Een andere manier waarop genetische variatie kan ontstaan is door horizontale overdracht van de symbiont aan seksuele dieren. De symbiont is evolutionair gezien een parasiet van de mijten: op korte termijn geeft hij zijn gastheer een groot fitnessvoordeel, maar op de lange termijn zal de gastheer als gevolg van de infectie uitsterven.

Inleiding

Bij dieren hebben vrouwtjes in de regel twee of meer kopieën van elk chromosoom: zij zijn meestal diploïd (twee kopieën), enkele zijn polyploïd (meer dan twee kopieën). Voor mannetjes van de meeste soorten geldt hetzelfde. Er is echter een behoorlijk aantal uitzonderingen: haploïde mannetjes (met maar een kopie) zijn in de evolutie maar liefst zeventien keer ontstaan (Otto & Jarne 2001). Ook bij dergelijke soorten zijn de vrouwtjes diploïd; deze worden dan ook aangeduid als haplo-diploïd. Dat vrouwtjes altijd polyploïd zijn is vaak een argument voor de superioriteit van de polydiploïde staat. Zo zou di- of ployploïdie voordelig zijn, omdat een tweede kopie van het genoom eventuele schadelijke mutaties kan maskeren. Maar zijn vrouwtjes wel altijd di- of polyploïd? Er is een uitzondering op de regel: bij mijten van het geslacht *Brevipalpus* zijn ook de vrouwtjes haploïd.

Al begin jaren 80 van de vorige eeuw vermoedde men dat vrouwtjes van *B. obovatus* Donadieu haploïd zijn, omdat zij evenveel chromosomen hebben als mannetjes, namelijk slechts twee (Pijnacker et al. 1981). Het heeft nog twintig jaar geduurd voordat onomstotelijk bewezen was dat deze twee chromosomen in vrouwtjes van de verwante *B. phoenicis* (Geijskes) twee verschillende chromosomen zijn, elk met slechts één kopie en niet twee kopieën van hetzelfde (homologe) chromosoom. Hiermee was het bewijs geleverd dat deze vrouwtjes werkelijk haploïd zijn (Weeks et al. 2001). Weeks et al. (2001) toonden ook aan dat deze uitzonderlijke situatie veroorzaakt wordt door een tot dusver onbekende intracellulaire bacterie. Deze bacterie, die later de naam *Cardinium* gekregen heeft (Zchori-Fein et al. 2004), wordt via de eieren van moeder op dochter doorgegeven. Mannelijke dieren kunnen de bacterie niet doorgeven en vormen dus een doodlopend spoor voor de bacterie. Om te voorkomen dat de bacterie in een mannetje terecht komt, zorgt de bacterie ervoor dat het ei waarin het zich bevindt altijd ontwikkelt tot

een vrouwtje, ongeacht het genetisch bepaalde geslacht. Het oorspronkelijke (zonder het effect van de infectie) voortplantingsmechanisme van de mijten is haplo-diploïdie en dus zijn het de haploïde mannetjes die worden gefeminiseerd tot haploïde vrouwtjes. De bacterie maakt dus volledig functionele vrouwtjes van wat genetisch mannetjes zijn. Deze ontdekkingen van Weeks et al. (2001) hebben geleid tot een vervolgprijs om de effecten van deze opmerkelijke manier van voortplanten op de evolutie van de mijten te bestuderen. Dit artikel geeft een overzicht van de resultaten van dat project.

Variatie in voortplantingsmechanisme

Het gevolg van het feminiseren van genetische mannetjes tot haploïde vrouwtjes door de *Cardinium*-bacteriën is dat *B. phoenicis* zich asexueel voortplant. Immers, de gefeminiseerde dieren produceren onbevuchte eieren die op hun beurt ook weer gefeminiseerd worden. Verscheidene nauw verwante *Brevipalpus*-soorten zijn ook asexueel. Wordt de aseksualiteit bij deze soorten door dezelfde bacteriën veroorzaakt? In totaal zijn vier asexuele *Brevipalpus* soorten onderzocht (zie kader 1). In drie daarvan, *B. phoenicis*, *B. obovatus* en *B. californicus* (Banks), wordt de aseksualiteit inderdaad veroorzaakt door *Cardinium*-bacteriën (tabel 1). Dit is aangetoond door de mijten te behandelen met een antibioticum dat de bacteriën doodt: hierdoor worden de haploïde individuen niet langer gefeminiseerd, met als gevolg dat ze zich tot mannetjes ontwikkelen. De vierde soort produceerde geen mannetjes na behandeling met antibioticum. Deze soort bleek dan ook niet geïnfecteerd met *Cardinium* en de aseksualiteit is waarschijnlijk een genetische eigenschap van de mijt zelf (Groot & Breeuwer 2006). Opmerkelijk is dat deze soort, net als de geïnfecteerde soorten, haploïde vrouwtjes heeft. Mogelijk is deze soort in het verleden ook geïnfecteerd geweest en

Tabel 1. Cladogram van de vier onderzochte aseksuele *Brevipalpus*-soorten op basis van mitochondriaal DNA (COI-sequenties). De tabel laat zien dat wat op basis van morfologie beschreven is als *B. phoenicis* op basis van genetica en infectiestatus als twee verschillende groepen beschreven kan worden.

Cladogram of the four asexual *Brevipalpus*-species studied, based on mitochondrial DNA (COI-sequences). The table shows that what has been described as *B. phoenicis* based on morphology, makes up two different groups based on genetics and infection status.

cladogram op basis van mitochondriaal DNA	genetische soort	morfologische soort	<i>Cardinium</i> -geïnfecteerd
	<i>B. phoenicis</i>	<i>B. phoenicis</i>	ja
	<i>Brevipalpus</i> sp.	<i>B. phoenicis</i>	nee
	<i>B. obovatus</i>	<i>B. obovatus</i>	ja
	<i>B. californicus</i>	<i>B. californicus</i>	ja

zijn de genen van de symbiont die verantwoordelijk zijn voor de feminisatie in het genoom van de gastheer terechtgekomen. Een dergelijke overdracht van genetisch materiaal van symbiont- naar gastheergenoom is eerder gezien bij onder andere *Wolbachia*-bacteriën (Kondo *et al.* 2002) en mitochondriën (Ben-sasson *et al.* 2001).

Genetische variatie

Een belangrijk gevolg van de aseksuele manier van voortplanten is dat er minder genetische variatie tussen individuen is. In

Kader 1. Taxonomie

De taxonomie van *Brevipalpus*-mijten is zeer complex. Enerzijds wordt dit veroorzaakt door het formaat ($1/4$ mm), wat het moeilijk maakt om morfologische verschillen te onderscheiden. Anderzijds komt dit doordat *Brevipalpus*-mijten vaak aseksueel zijn, waardoor het biologisch soortconcept (individuen behoren tot een soort wanneer zij samen vruchtbare nakomelingen kunnen produceren) niet toepasbaar is. De drie meest algemene aseksuele soorten zijn *B. phoenicis* (Geijskes), *B. obovatus* Donnadieu en *B. californicus* (Banks). De morfologische verschillen tussen deze soorten zijn echter klein, terwijl de intraspecifieke variatie vaak aanzienlijk is (Welbourne *et al.* 2003). Tijdens dit project is aangetoond dat alleen de morfologische kenmerken, waar de soorten oorspronkelijk op beschreven zijn, niet voldoende zijn om de soorten te onderscheiden. Op basis van DNA-kenmerken zijn er vier duidelijke groepen te herkennen die als soorten gekenmerkt zouden kunnen worden. *Brevipalpus obovatus* en *B. californicus* zijn zowel morfologisch als genetisch als soorten te herkennen, maar wat op basis van morfologie beschreven is als *B. phoenicis* valt op basis van genetische kenmerken in twee groepen uiteen (tabel 1). De eerste groep is de 'echte' *B. phoenicis*, de tweede is een tot dusver onbeschreven soort (*Brevipalpus* sp.). Deze lijkt op basis van mitochondriaal DNA het meest op *B. obovatus*. Een duidelijk verschil is echter dat *B. obovatus* wel geïnfecteerd is met *Cardinium* terwijl de nieuwe soort dat niet is.

Dit werk heeft ook laten zien waarom er vaak melding gemaakt wordt van intraspecifieke variatie. In de meeste morfologische studies wordt aangenomen dat alle individuen in een populatie tot dezelfde soort behoren. Deze aanname blijkt echter niet correct: zes van de 22 geteste populaties bevatten meer dan een soort. Dit punt verdient bijzondere aandacht wanneer soorten beschreven worden. Nieuwe beschrijvingen zouden bij voorkeur gebaseerd moeten zijn op kweekpopulaties die allemaal van een enkel individu afstammen (iso-female lijnen). Zodoende zijn er voldoende dieren beschikbaar, die gegarandeerd genetisch identiek zijn, voor zowel morfologisch als genetisch onderzoek.

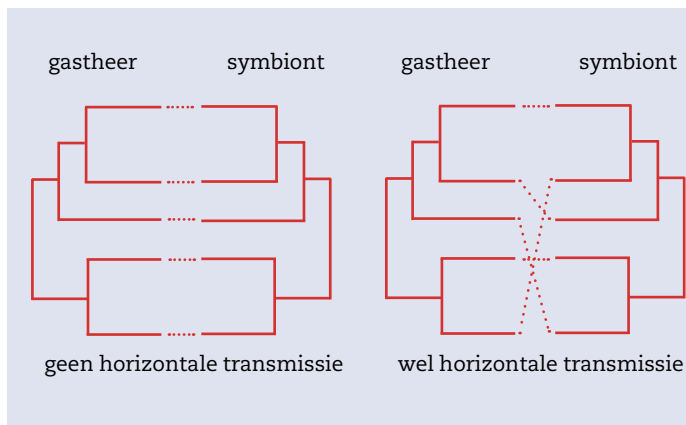
aseksuele soorten kunnen nieuwe eigenschappen alleen ontstaan door mutaties die de al bestaande genotypen veranderen. In seksuele soorten ontstaan nieuwe eigenschappen in principe op dezelfde manier, maar daar bovenop zorgt recombinatie voor meer variatie, omdat de bestaande eigenschappen op verschillende manieren worden gecombineerd. Deze verhoogde mate van variatie zorgt ervoor dat natuurlijke selectie efficiënter kan werken en een soort zich dus gemakkelijker kan aanpassen aan veranderende omstandigheden. Men zou dus kunnen verwachten dat de aseksuele *Brevipalpus*-soorten relatief weinig variabel zijn en zich slecht kunnen aanpassen.

In de praktijk blijkt dit laatste echter nogal mee te vallen. De dieren lijken zich juist heel gemakkelijk aan verschillende omstandigheden aan te passen. Elk van de soorten komt wereldwijd voor in alle (sub)tropische gebieden en elke soort is bekend van vele honderden waardplantsoorten (Childers *et al.* 2003). Dat wil overigens niet zeggen dat alle individuen van een soort op al die honderden waardplanten kan bestaan. Bepaalde genotypen van *B. phoenicis* komen op slechts een waardplantsoort voor en hebben zich aan die ene soort aangepast (Groot *et al.* 2005). Andere genotypen zijn generalisten die juist op veel verschillende planten gevonden worden. Ook de genetische diversiteit is groter dan men zou verwachten op basis van het aseksuele voortplantingsmechanisme: ruim tweederde van de populaties bestaat uit meer dan een genotype. Deze variatie wordt gevonden door rechtstreeks naar het erfelijk materiaal te kijken (zowel op basis van microsatellietmerkers als op basis van COI-haplotypen).

De centrale vraag is dan: waar komt deze genetische variatie vandaan en hoe kan er nieuwe genetische variatie ontstaan? Naast mutaties die bestaande aseksuele genotypen kunnen veranderen zijn er twee mogelijke manieren waarop geheel nieuwe klonale genotypen kunnen ontstaan. Ten eerste zou de symbiont horizontaal overgedragen kunnen worden naar een seksuele mijt, die daarmee het begin vormt van een nieuwe geïnfekteerde aseksuele lijn. Ten tweede zouden aseksuele mijten zich af en toe nog seksueel kunnen voortplanten wanneer zij paren met soortgelijke mannetjes, die in lage dichtheid in de aseksuele populaties voorkomen, of wanneer zij paren met mannetjes van seksuele populaties van de eigen soort of van verwante soorten.

Horizontale transmissie van de symbiont

Een vergelijking tussen de fylogenie van gastheer en symbiont heeft aangetoond dat de *Cardinium*-bacteriën zo nu en dan horizontaal overgedragen worden (zie kader 2). Deze overdracht vindt plaats zowel tussen als binnen de vier bestudeerde soorten. Bovendien bracht deze vergelijking aan het licht dat *B. obovatus* geïnfecteerd is door twee heel verschillende *Cardinium*-bacteriën, die waarschijnlijk een verschillende herkomst heb-



ben. Het mechanisme waarlangs horizontale transmissie plaatsvindt is onbekend, maar mogelijk gaat het via een gedeelde voedselbron. Tijdens het voeden injecteren de mijten speeksel in de planten. *Cardinium*-bacteriën zijn ook in de speekselklieren van fytofage insecten (*Scaphoideus titanus* Ball) gevonden (Marzorati et al. 2006) en zouden dus met het speeksel in de plant kunnen terechtkomen. Andere individuen zouden de bacteriën vervolgens weer kunnen opnemen wanneer zij van dezelfde plant eten.

Indien horizontale transmissie ook naar seksuele dieren plaatsvindt, zou dit kunnen leiden tot nieuwe asexuele lijnen. Een voorwaarde is dan echter dat er seksuele en asexuele populaties op dezelfde plaats (sympatrisch) voorkomen en deze zijn niet gevonden. Dergelijke populaties zullen in de loop van de evolutie wel bestaan hebben toen *Brevipalpus* pas geïnfecteerd raakte en de infectie nog niet gefixeerd was. Het is denkbaar dat in die periode een groot aantal asexuele lijnen is ontstaan door horizontale transmissie van de symbiont. Dit zou de huidige genetische diversiteit kunnen verklaren.

Het vermogen tot horizontale transmissie heeft nog twee belangrijke consequenties. Ten eerste kan de symbiont zich ontwikkelen tot een parasiet van zijn gastheer. In zijn streven een zo hoog mogelijke fitness te bereiken kan de symbiont schadelijk zijn voor zijn gastheer. Zou de gastheer hierdoor uitsterven, dan stelt de horizontale transmissie de symbiont in staat een

Kader 2. Testen voor horizontale transmissie

Veel insecten en mijten hebben bacteriële symbionten. Deze symbionten worden doorgaans vertikaal (van moeder op kind) overgedragen. Om te onderzoeken of de symbiont zo nu en dan ook horizontaal (tussen onverwante individuen) overgedragen wordt, kan men de fylogenie van gastheer en symbiont vergelijken (zie schema). Wanneer er geen horizontale transmissie plaatsvindt zal er co-kladogenese optreden. Op de momenten dat de stamboom (fylogenie) van de gastheer een splitsing laat zien, zal de stamboom van de symbiont dezelfde splitsing te zien geven. Anderszijds wijzen verschillen tussen beide stambomen er op dat er horizontale transmissie heeft plaatsgevonden. Deze methode is veelvuldig toegepast op een groot aantal soorten. Een bekend voorbeeld waarbij geen horizontale transmissie is aangetoond is van bladluizen en hun *Buchnera*-symbionten (Moran & Baumann 1994). Een studie waarbij wel horizontale transmissie is aangetoond, is die naar verschillende insectensoorten en hun *Wolbachia*-symbionten (Werren et al. 1995).

Het voorkomen van horizontale transmissie is belangrijk bij het bepalen van de relatie tussen gastheer en symbiont. Indien er geen horizontale transmissie plaatsvindt dan is het evolutionaire lot van de symbiont gelijk aan dat van zijn gastheer. De symbiont kan zijn fitness alleen verhogen als de fitness van zijn gastheer verbetert en dus is een mutualistische interactie te verwachten. Wanneer er wel horizontale transmissie plaatsvindt kan de symbiont ook zijn fitness verhogen op manieren die schadelijk zijn voor de gastheer en kan de symbiont zich ontwikkelen tot een parasiet.

andere gastheer te bereiken. Een tweede consequentie is dat horizontale transmissie kan leiden tot gastheren die geïnfecteerd zijn met twee of meer verschillende symbionten. Dit geeft de symbionten de mogelijkheid onderling genetisch materiaal uit te wisselen, resulterend in weer nieuwe symbionten.

Af en toe seksuele voortplanting

Seksuele voortplanting leidt tot nieuwe genotypen. Verschillende studies hebben aangetoond dat ook wanneer voortplanting



1 Voorbeeld van typisch mannelijk gedrag: een *Brevipalpus phoenicis*-mannetje ligt te wachten bovenop een vrouwtje dat aan haar laatste vervelling bezig is en op het punt staat volwassen te worden. Door op deze manier een vrouwtje te bewaken weet hij zeker dat hij de eerste is die met haar kan paren. Foto: Jan van Arkel
Example of typical male guarding behaviour: a male *B. phoenicis* on top of a female in her last moulting stage, next to a cast skin. By guarding the pre-adult female, he ensures to be the first to mate with her.

slechts af en toe seksueel is dit al een groot evolutionair voordeel oplevert ten opzichte van volledig asexuele voortplanting (zie bijvoorbeeld Hurst & Peck 1996). Asexuele vrouwtjes van *B. phoenicis* en *B. californicus* produceren kleine aantallen zonen. Zonen worden uitsluitend geproduceerd door heel jonge vrouwtjes. Waarschijnlijk is het aantal bacteriën in de jong-volwassen dieren nog niet groot genoeg om alle eieren van (voldoende) bacteriën te voorzien om ze succesvol te feminiseren. De resulterende mannetjes gedragen zich als functionele mannetjes (figuur 1) en copuleren veelvuldig met asexuele vrouwtjes. Kruisingsexperimenten tussen twee nauwverwante stammen in het lab toonden aan dat deze copulaties niet tot bevruchte eieren leiden; genetische ouderschapsanalyses toonde aan dat alle nakomelingen genetisch identiek waren aan hun moeders. Indien deze experimenten representatief zijn, dan moet de conclusie zijn dat er geen seksuele voortplanting plaats vindt.

Een mogelijke verklaring voor het feit dat de eieren niet worden bevrucht na paring met een mannetje zou kunnen zijn dat de vrouwtjes een mutatie dragen die eibevruchting voorkomt. Bij asexuele vrouwtjes heeft een dergelijke mutatie een sterk selectief voordeel, omdat zij verhindert dat het genoom waarin hij zit verdund wordt. Wanneer een vrouwtje een bevrucht ei produceert, verdunt ze haar genoom door het te fuseren met het genoom van haar partner. In haar dochters vindt reductie plaats en dus gaan de genen van het vrouwtjes met 50% kans door naar haar kleindochter. Indien een vrouwtje haar ei niet bevrucht, gaan haar genen met 100% kans door naar haar kleindochter. Een gen dat eibevruchting voorkomt heeft dus een verdund fitness, elke keer dat het een bevruchting voorkomt. Zodoende is het waarschijnlijk dat in een asexuele populatie de mogelijkheid tot seksuele voortplanting snel verloren gaat. Dit lijkt in tegenspraak met het feit dat seksuele voortplanting, zelfs als het maar af en toe gebeurt, een groot voordeel heeft. Deze tegenspraak is het gevolg van de termijn waarop de verschillende processen werken: een mutatie die seksuele voortplanting voorkomt geeft direct een fitnessvoordeel, terwijl recombinitie door seksuele voortplanting vooral op de lange termijn voordeel geeft.

Het lijkt ook niet erg waarschijnlijk dat vrouwtjes van de onderzochte *Brevipalpus*-soorten met mannetjes van seksuele populaties of van verwante seksuele soorten paren. Er zijn namelijk geen seksuele populaties van deze soorten bekend. Ook zijn er geen andere nauw verwante seksuele soorten gevonden. Daarbij zouden kruisingen met mannetjes van andere soorten een duidelijk genetisch effect hebben, omdat dan vreemd nucleair DNA opgenomen wordt in het genoom. Voor dergelijke introgressie is geen bewijs gevonden.

De afwezigheid van seksuele reproductie voor een langere periode kan getoetst worden met behulp van een techniek waarbij merkers voor het DNA uit mitochondriën vergeleken worden met merkers voor DNA uit de celkern, oftewel door het fylogenetische signaal van het mitochondriale DNA te vergelijken

met dat van het nucleaire DNA. Indien reproductie strikt asexueel is, erven beide typen merkers via de moeder over en zullen ze overeenkomstige genetische relaties tussen verschillende individuen laten zien (maternale overerving). Indien er ook seksuele voortplanting plaatsvindt, dan erft alleen het mitochondriale DNA maternaal over, terwijl het nucleaire een combinatie is van maternaal en paternaal DNA. Als gevolg hiervan zullen bij seksuele voortplanting de mitochondriale en nucleaire merkers verschillende genetische relaties tussen individuen opleveren. Een dergelijke vergelijking bij deze groep mijten laat zien dat asexualiteit is ontstaan nadat de vier soorten gedifferentieerd waren. De analyses per soort toonden aan dat *B. californicus* en *Brevipalpus* sp. al geruime tijd strikt asexueel zijn. Er was wel bewijs voor recente recombinitie in *B. phoenicis* en *B. obovatus*. Mogelijk planten deze twee soorten zich nog steeds af en toe seksueel voort. Dit zou dan wel in tegenspraak zijn met de resultaten van de hierboven beschreven kruisingsexperimenten. Mogelijk zijn deze laboratoriumproeven niet representatief voor wat er in werkelijkheid gebeurt. Een andere verklaring voor de recente recombinitie in *B. phoenicis* en *B. obovatus* zou kunnen zijn dat deze soorten pas betrekkelijk kort geleden asexueel geworden zijn.

Evolutionair perspectief op de relatie tussen gastheer en symbiont

Wanneer een symbiont de eerste mijt in een seksuele populatie infecteert, ondervindt hij een groot fitnessvoordeel: de mijt wordt asexueel, hoeft niet langer te investeren in de productie van zonen en haar nakomelingen zullen dus spoedig de hele populatie overnemen. In dit opzicht zou men de symbiont als een mutualist kunnen zien: het 'gelukkige' genotype dat als eerste geïnfecteerd raakt concurreert alle ongeïnfecteerde uit de groep. In het begin kan er nog genetische variatie ontstaan: de symbiont wordt mogelijk horizontaal overgedragen naar nog ongeïnfecteerde dieren, of geïnfecteerde dieren kunnen zich af en toe nog seksueel voortplanten. Op termijn zullen deze mogelijkheden echter verloren gaan, want alle ongeïnfecteerde dieren raken geïnfecteerd of worden weggeconcentreerd en de asexuele dieren krijgen te maken met mutaties die de eibevruchting voorkomen. Uiteindelijk zijn de soorten dan volledig asexueel en kunnen alleen door mutaties nog nieuwe genotypen ontstaan. Op een enkele uitzondering na hebben asexuele diersoorten een beperkte levensduur. Zij zijn slecht in staat om zich aan te passen aan veranderingen in hun omgeving en schadelijke mutaties hopen zich op in hun genoom. Het is waarschijnlijk dat ook de asexuele *Brevipalpus*-soorten op evolutionaire tijdschaal niet lang zullen overleven. Daarom kan de *Cardinium*-symbiont van *Brevipalpus* toch als een parasiet beschouwd worden. Hoewel de symbiont op korte termijn een groot fitnessvoordeel oplevert, veroorzaakt hij dat de gastheer op lange termijn uitsterft.

Literatuur

- Bensasson D, Zhang D-X, Hartl DL & Hewitt GM 2001. Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witnesses. *Trends in Ecology and Evolution* 16: 314-321.
- Childers CC, Rodrigues JCV & Welbourn WC 2003. Host plants of *Brevipalpus californicus*, *B. obovatus*, and *B. phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) and their potential involvement in the spread of viral diseases vectored by these mites. *Experimental and Applied Acarology* 30: 29-105
- Groot TVM & Breeuwer JAJ 2006. *Cardinium* symbionts induce haploid thelytoky in most clones of three closely related *Brevipalpus* species. *Experimental and Applied Acarology* 39: 257-271.
- Groot TVM, Janssen A, Pallini A & Breeuwer JAJ 2005. Adaptation in the asexual false spider mite *Brevipalpus phoenicis*: evidence for frozen niche variation. *Experimental and Applied Acarology* 36: 165-176.
- Hurst LD & Peck JR 1996. Recent advances in understanding of the evolution and maintenance of sex. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 46-52.
- Kondo N, Nikoh N, Ljichi N, Shimada M & Fukatsu T 2002. Genome fragment of *Wolbachia* endosymbiont transferred to X chromosome of host insect. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99: 14280-14285.
- Marzorati M, Alma A, Sacchi L, Pajoro M, Palermo S, Brusetti L, Raddadi N, Balloi A, Tedeschi R, Clementi E, Corona S, Quaglin F, Bianco PA, Beninati T, Bandi C & Daffonchio D 2006. A novel *Bacteroidetes* symbiont is localized in *Scaphoideus titanus* the insect vector of flavescence dorée in *Vitis vinifera*. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 1467-1475.
- Moran NA & Baumann P 1994. Phylogenetics of cytoplasmically inherited microorganisms of arthropods. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 15-20.

- Otto SP & Jarne P 2001. Haploids: hapless or happening? *Science* 292: 2441-2443.
- Pijnacker LP, Ferwerda MA & Helle W 1981. Cytological investigations on the female and male reproductive system of the parthenogenetic privet mite *Brevipalpus obovatus* Donnadieu (Phytotipalpidae, Acari). *Acarologia* 22: 157-163.
- Weeks AR, Marec F & Breeuwer JAJ 2001. A mite species that consists entirely of haploid females. *Science* 292: 2479-2482.
- Welbourn WC, Ochoa R, Kane EC & Erbe EF 2003. Morphological observations on *Brevipalpus phoenicis* (Acari: Tenuipalpidae) including comparisons with *B. californicus* and *B. obovatus*. *Experimental and Applied Acarology* 30: 107-133.
- Werren JH, Zhang W & Guo LR 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London, series B* 261: 55-71.
- Zchori-Fein E, Perlman SJ, Kelly SE, Katzir N & Hunter MS 2004. Characterization of a *Bacteroidetes* symbiont in *Encarsia* wasps (Hymenoptera: Aphelinidae): proposal of '*Candidatus Cardinium hertigii*'. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54: 961-968.

Ontvangen 19 oktober 2006, geaccepteerd 19 juli 2007.

Summary

Cause and consequence of haploid females in *Brevipalpus* mites

A group of closely related *Brevipalpus* mites is characterized by a unique feature: they are the only known animal species with haploid females. This situation is caused by an infection with intracellular *Cardinium* bacteria. These bacteria feminize haploid males, thereby ensuring that they can be vertically transmitted to the next generation. This article summarizes the main results of a study into the causes and consequences of this unique mode of reproduction. Four haploid species were studied. Three were indeed infected and feminized by *Cardinium* symbionts. In the fourth species the feminization appeared to be a genetic trait of the mite itself. A consequence of the haploid individuals becoming female is that reproduction is asexual. Because of the asexual reproduction genetic variation was expected to be low, but nevertheless ample genetic variation was found. One way that genetic variation could be generated is through occasional sex. This appeared unlikely because no sexual populations have been found, and mating experiments with males produced from asexual females failed to produce hybrid offspring. The more likely cause for failure of these matings is that mutations that prevent egg-fertilization have a large fitness advantage in asexual populations. Another way to produce new clonal genotypes would be the horizontal transfer of the symbiont to uninfected sexual mites. Although no sexual mites were found, evidence was found for horizontal transfer. Therefore, this mechanism may have produced genetic variation when not all mite populations were yet infected. An experiment that compared the phylogenetic signal from mitochondrial and nuclear genetic markers showed that two species have reproduced strictly clonally for quite some time. In the other two species evidence was found for sexual reproduction in the relatively recent past. It is argued that the *Cardinium* symbiont is a parasite of its *Brevipalpus* host. It does give a short-term advantage when the infection is established, but in the long run it will drive its host extinct.



Tom Groot

Universiteit van Amsterdam
IBED – Evolutionaire Biologie
Postbus 94062
1090 GB Amsterdam
tvmgroot@science.uva.nl