

University of Groningen

## The role of parasites in host speciation

Gobbin, Tiziana P.

DOI:  
[10.33612/diss.168426043](https://doi.org/10.33612/diss.168426043)

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2021

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Gobbin, T. P. (2021). *The role of parasites in host speciation: Testing for parasite-mediated divergent selection at different stages of speciation in cichlid fish*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.168426043>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

The image is a high-contrast, black and white artistic composition. The central focus is a large, elegant, cursive letter 'M' rendered in a bright white color. This letter is superimposed on a dark, textured background that resembles a watercolor splash or ink blot. The background consists of various shades of gray and black, with soft, feathered edges and some darker, more saturated areas, creating a sense of depth and movement. The overall effect is one of sophisticated elegance and artistic expression.

# Nederlandse Samenvatting

Translation by Gerrit Potkamp



## PARASITE-MEDIATED SPECIATION

Soortvorming – het ontstaan van nieuwe soorten – werd meer dan een eeuw geleden door Darwin gedefinieerd als het “mysterie der mysteries”. Sindsdien zijn de mechanismen van soortvorming intensief onderzocht en is veel vooruitgang geboekt. Aanpassingen aan biotische en abiotische factoren kunnen leiden tot soortvorming als een bijproduct, en parasieten kunnen een belangrijke biotische factor voor selectie zijn. Sommige mechanismen blijven echter onderbelicht in het onderzoek naar soortvorming. Die mechanismen achter het begin van divergentie in het bijzonder zijn nog steeds onduidelijk. In deze thesis onderzoek ik wanneer en hoe door parasieten gefaciliteerde selectie bijdraagt tot het proces van soortvorming.

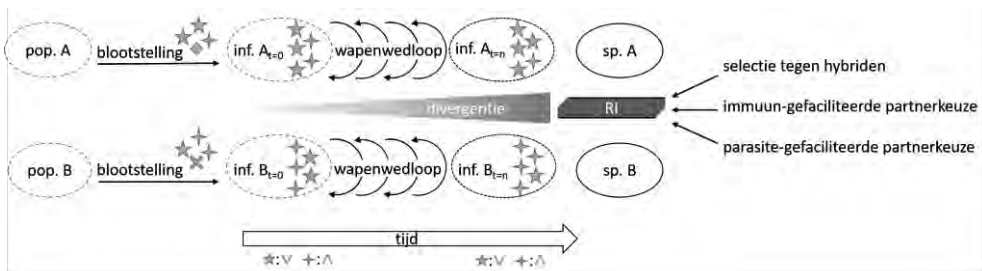
Parasieten vormen een wijdverspreide bron van ecologische selectie (Poulin & Morand, 2000; Schmid-Hempel, 2013), die mogelijk kan functioneren als een aandrijver van soortvorming (Schluter, 1996, 2000b; Rundle & Nosil, 2005; Maan & Seehausen, 2011). Parasieten hebben per definitie een negatief effect op de fitness van hun gastheer (bijvoorbeeld een verminderde groei, reproductie en overleving, Agnew et al., 2000; Lafferty & Kuris, 2009; Segar et al., 2018). Gastheren passen zich aan parasieten aan door het ontwikkelen van resistentie, tolerantie of vermijding van parasieten door aanpassingen in het gedrag van de gastheer. Dit leidt tot een co-evolutionaire dynamiek van aanpassing en tegenaanpassing (Decaestecker et al., 2007).

Gastheerpopulaties die verschillende ecologische niches bezetten kunnen worden blootgesteld aan verschillende aantallen en soorten parasieten, wat mogelijk kan leiden tot verschillen in door parasieten-gefaciliteerde selectiedruk (Knudsen et al., 2004; Pegg et al., 2015; Hablützel et al., 2017; Hayward et al., 2017), zelfs in sympatrie. Dit kan ervoor zorgen dat gastheerpopulaties verschillende adaptaties ontwikkelen tegen de lokale dreigingen van parasieten. Deze adaptieve reacties kunnen leiden tot een steeds verder differentiërend patroon van infectie door parasieten tussen verschillende gastheerpopulaties. De door parasieten gefaciliteerde selectie treedt doorlopend op in dezelfde richting als deze verschillen over de tijd standhouden, en bevordert op deze manier divergentie tussen gastheren. Stochastische en frequentie-afhankelijke fluctuaties over de tijd in de dichtheden van parasieten kunnen variatie in de sterkte van parasiet-gefaciliteerde selectie veroorzaken, maar divergentie wordt bevorderd zolang de richting van selectie wordt behouden (**Fig. 10.1**).

Verschillen als deze, stabiel over de tijd, kunnen leiden tot genetische differentiatie tussen gastheerpopulaties, en kunnen uiteindelijk reproductieve isolatie tussen populaties stimuleren en versterken (Hamilton & Zuk, 1982; Landry et al., 2001; Nosil et al., 2005; Maan et al., 2008; Eizaguirre et al., 2011). Bovendien, reproductieve isolatie kan worden versterkt door selectie tegen hybriden en immigranten (met een hogere graad van infectie), immuun-gefaciliteerde partnerkeuze (in andere woorden, een keuze voor partners die lokaal adaptieve immuniteit

bieden) of parasiet-gefaciliteerde partnerkeuze (een keuze voor gezonde partners). Als alternatief kan divergente, door parasieten gefaciliteerde selectie gastheerdifferentiatie versterken wanneer een bepaald niveau van reproductieve isolatie is bereikt door andere mechanismen (Haldane, 1949; Price et al., 1986; Karvonen & Seehausen, 2012).

De studie naar parasiet-gefaciliteerde soortvorming kan problematisch zijn vanwege de tweezijdige aard van de interactie tussen gastheer en parasiet – men moet bepalen welke van de twee de diversificatie drijft – en vanwege de betrokkenheid van andere ecologische factoren – men moet de effecten van parasieten onderscheiden van andere mogelijke drijvers van diversificatie. Gastheerpopulaties in een vroeg stadium van soortvorming zijn daarom een goed modelsysteem. In deze thesis maak ik gebruik van de jonge, adaptieve radiatie van cichlide vissen in het Victoriameer om de rol van parasieten in de soortvorming van gastheren te onderzoeken.



**Figuur 10.1**

Parasiet-gefaciliteerde soortvorming. Twee kruisende gastheerpopulaties bezetten twee verschillende ecologische niches (A en B) en worden blootgesteld aan verschillende aantallen en soorten parasieten (symbolen), wat leidt tot twee verschillende patronen van infectie. Elke gastheerpopulatie ontwikkelt aanpassingen tegen de lokale parasieten, deelnemend aan een wapenwedloop tussen gastheer en parasiet. De richt van verschillen in infectie blijft consistent over de tijd, ondanks verschillen in totale hoeveelheid ( $\star$  hoger in populatie A dan in B,  $\dagger$  lager in A dan in B). Divergentie in de verdediging tegen parasieten leidt tot reproductieve isolatie (RI) tussen gastheerpopulaties – die kunnen worden versterkt door selectie tegen hybriden en immigranten, en/of immuun-gefaciliteerde en/of parasiet-gefaciliteerde partnerkeuze – resulterend in twee verschillende gastheersoorten.

## CICHLIDEN UIT HET VICTORIAMEER EN HUN PARASIETEN

De adaptieve radiatie van cichliden in het Victoriameer is bijzonder geschikt voor het bestuderen van parasiet-gefaciliteerde soortvorming vanwege haar jonge leeftijd, ecologische diversiteit tussen soorten en relatief zwakke genetische differentiatie. Het meer vulde zich slechts 14.600 jaar geleden opnieuw met water na duizenden jaren te hebben droog gestaan (Johnson et al., 1996; Stager & Johnson, 2008). Na kolonisatie van twee lijnes van rivier-cichliden vormde zich een zwerm van hybriden in het meer (Seehausen et al., 2003; Meier et al., 2017a) die de genetische variatie verschafte voor het faciliteren van de snelle adaptieve soortvorming

(Seehausen, 2004; Salzburger, 2018). De meeste Victoria cichliden onstonden dus *in situ* na de droge periode (Johnson et al., 2000; Stager & Johnson, 2008; Wagner et al., 2013; Meier et al., 2017a). In het Victoriameer, leden van deze radiatie komen samen voor met oude, ver verwante lijnen die niet *in situ* ontstonden na de kolonisatie van het meer: *Astatoreochromis alluaudi* (Pellegrin, 1904), *Pseudocrenilabrus multicolor* (Schöller, 1903), *Oreochromis variabilis* (Boulenger, 1906) en *Oreochromis esculentus* (Graham, 1928). Deze soorten bieden een nuttig vergelijkingsmateriaal in het bestuderen van de vraag waarom binnen sommige takken nieuwe soorten ontstonden en binnen andere niet.

Voorgaande studies suggereren dat parasiet-gefaciliteerde soortvorming een rol zou kunnen spelen in cichliden, vanwege hun hoge diversiteit in ecologische niches (Fryer & Iles, 1972; Wagner et al., 2012a), een hoge potentie voor overdracht van ziektes vanwege hoge dichtheden van vissen (Ribbink et al., 1983; Fenton et al., 2002), associatie tussen parasitisme en seksuele signalen (Taylor et al., 1998; Maan et al., 2006b) en snelle evolutie in MHC genen (Blais et al., 2007). Er zijn bovendien aanwijzingen voor co-evolutie tussen cichliden uit het Tanganyika-meer en hun monogeneane kieuwparasieten (Vanhove et al., 2015).

Daarnaast herbergt het Victoriameer meerdere voorbeelden van soortvorming in verschillende stadia, waardoor kan worden onderzocht wanneer – in het proces van soortvorming – verschillen in infectie ontstaan. De blauwe *Pundamilia pundamilia* (Seehausen et al., 1998) en de rode *Pundamilia nyererei* (Witte-Maas and Witte, 1985) zijn twee nauwverwante cichliden die samen voorkomen in de rotsige habitats van het zuidoostelijke deel van het meer. Op sommige locaties kruisten deze twee soorten en vormden daarna opnieuw vergelijkbare blauwe en rode varianten (Meier et al., 2017b; Meier et al., 2018). De verschillende blauwe en rode vormen variëren over de verschillende locaties in de mate van genetische differentiatie (Seehausen et al., 2008; Meier et al., 2017b; Meier et al., 2018), morfologische differentiatie (van Rijssel et al., 2018a), differentiatie in visuele adaptatie (Carleton et al., 2005; Seehausen et al., 2008; Wright et al., 2019), en in de frequentie van hybridisatie (Seehausen, 1996a; Seehausen et al., 2008; Meier et al., 2017b; Meier et al., 2018). Variatie in deze kenmerken is geassocieerd met de helderheid van het water.

Parasieten leven ten koste van hun gastheren, en daarmee de fitness van hun gastheren. De levenscyclus van een parasiet is afhankelijk van van één of meerdere gastheersoorten (waarbij reproductieve, volwassen parasieten de laatste gastheer infecteren) en kan ook vrijlevende stadia bevatten (vaak eieren of larven). Cichliden zijn gastheer voor vele macro-parasitaire taxa: monogeneanen (kieuwparasieten met een directe levenscyclus, sommige genera infecteren het spijsverteringskanaal of de blaas), copepoden (kieuw- of huidparasieten met een directe levenscyclus), bivalven (kieuw- of huidparasieten met een directe levenscyclus), nematoden (endoparasieten, waarbij vissen vaak een intermediaire gastheer zijn), trematoden (zuigwormen, endoparasieten met tenminste twee intermediaire gastheren). Monogeneanen

zijn van groot belang in het bestuderen van gastheer-parasiet interacties vanwege hun hoge gastheerspecificiteit. De kieuwparasiet *Cichlidogyrus* in het bijzonder is een goede kandidaat voor het bevorderen van soortvorming in de gastheer, die vanwege het hoge aantal soorten, die morfologisch van elkaar verschillen, een hoge gastheerspecificiteit laat zien (Pariselle et al., 2003; Vanhove & Huyse, 2015; Vanhove et al., 2015). Daarom heb ik *Cichlidogyrus* geïdentificeerd tot soortniveau.

## DEZE THESIS

In deze thesis onderzoek ik of parasieten bijdragen aan soortvorming in gastheren in cichliden uit het Victoriameer of deze soortvorming aandrijven. Met dit doel heb ik de infectie door macroparasieten geanalyseerd in een grote gemeenschap van 17 sympatrische, geradieerde cichlidensoorten en twee soorten die takken waarbinnen geen soortvorming heeft plaatsgevonden vertegenwoordigen (**hoofdstukken 2 en 5**), als ook de verschillen in infectie tussen vier varianten van blauwe en rode *Pundamilia*-paren die variëren in hun mate van genetische differentiatie (**hoofdstukken 3 en 4**). Vissen waren geïnfecteerd door vijf genera kieuwparasieten (*Cichlidogyrus* spp., *Gyrodactylus sturmbaueri*, *Lamproglana monodi*, *Ergasilus lamellifer*, glochidia-larven van tweekleppigen) en twee endoparasieten in de buikholte (rondwormen, zuigwormen). *Cichlidogyrus* van het Victoriameer zijn grotendeels onbekend, ondanks het feit dat het goede kandidaten zijn voor het bevorderen van soortvorming in cichliden. Daarom heb ik deze parasieten morfologisch geïdentificeerd tot het soortniveau. Infectiepatronen zijn geanalyseerd op het niveau van parasitaire genera voor twee bemonsteringsjaren (2010 en 2014) en binnen het geslacht *Cichlidogyrus* voor één bemonsteringsjaar (2014).

### Verschillen in infectie op het niveau van geslacht van parasieten

In **hoofdstukken 2 en 3** testte ik twee voorwaarden voor parasiet-gefaciliteerde soortvorming: *i*) verschillen in infectie tussen soorten en *ii*) consistentie in de richting van parasiet-gefaciliteerde selectie over de tijd (Karvonen & Seehausen, 2012). Zeventien sympatrische gastheersoorten van Makobe en vier paren van blauwe en rode vormen van *Pundamilia* van vier lokaties verschilden in parasitaire infecties, zowel wat betreft de aantallen parasieten als de diversiteit van parasieten, consistent met divergente parasiet-gefaciliteerde selectie. Deze verschillen waren grotendeels consistent tussen de twee bemonsteringsjaren binnen alle bemonsterde soorten van de radiatie en binnen reproductief geïsoleerde zustersoorten, en ondersteunen de voorwaarde voor parasiet-gefaciliteerde soortvorming van consistentie over de tijd.



In **hoofdstuk 3** onderzocht ik of verschillen in infectie tussen blauwe en rode soorten *Pundamilia*, afkomstig van vier lokaties, co-variëren met de mate van genetische of geografische afstand tussen de soorten. Sympatrische blauwe en rode *Pundamilia* verschilden zelfs bij weinig genetische differentiatie in infectieprofielen, maar deze verschillen waren alleen statistisch significant in het meest gedifferentieerde soorten-paar. Vergelijkingen van alle soorten-paren (sympatrisch en allopatrisch) onthulden dat de mate van verschil in de gemeenschap van parasieten toenam met toenemende genetische afstand binnen paren, rekening houdend met geografische afstand tussen eilanden. Deze resultaten suggereren dat soortverschillen in infectie afhangen van de mate van genetische differentiatie tussen gastheren: verschillen in infectie stapelen zich op met toenemende genetische divergentie tussen gastheren, in plaats van dat de verschillen voorafgaan aan genetische divergentie. Parasieten kunnen dus bijdragen aan differentiatie tussen gastheersoorten maar drijven het proces niet. De positieve correlatie tussen differentiatie in infectie en genetische differentiatie op het niveau van het geslacht van de parasieten was te zien in beide bemonsteringsjaren, en ondersteunt dus de consistentie van parasiet-gefaciliteerde selectie over de tijd.

Hoewel de intensiteit van sommige parasieten geassocieerd was met waterdiepte, kon de variatie in infectie tussen gastheersoorten verklaard worden door waterdiepte en trofische specialisatie alleen (**hoofdstukken 2 en 3**). Dit suggereert dat andere intrinsieke soorteigenschappen (zoals immuniteit en genetische vatbaarheid) ook een rol spelen. In **hoofdstuk 4** onderzocht ik de bijdrage van intrinsieke eigenschappen van gastheren aan de variatie in infecties, door infectie te onderzoeken onder laboratoriumomstandigheden met een uniforme blootstelling aan parasieten. Ik vergeleek infectiepatronen tussen wild-gevangen een eerste-generatie, in het laboratorium gekweekte, gastheren behorend tot één van de *Pundamilia*-paren uit hoofdstuk 3, alsmede in laboratorium-gekweekte interspecieke hybride gastheren. Zowel het voorkomen als de hoeveelheid van drie van de meest voorkomende ectoparasieten was vergelijkbaar tussen het laboratorium en het veld. Zoals beschreven in hoofdstuk 3 verschilden de twee soorten in infectie in het wild, echter was dit onder laboratoriumomstandigheden, waar vissen sommige soort-specifieke ecologische eigenschappen (zoals diepte en dieet-voorkeur) niet tot expressie kunnen brengen, niet het geval. Dit duidt erop dat variatie in infectie vooral door extrinsieke effecten wordt veroorzaakt, in plaats van genetisch gebaseerde soortverschillen in immuniteit. Het is onwaarschijnlijk dat verschillen in immuun-eigenschappen al in vroege stadia van soortvorming ontwikkelen, aangezien dit *Pundamilia*-paar genetisch slechts zwak is gedifferentieerd, wat consistent is met een bijdrage van parasieten aan de divergentie van *Pundamilia*.

Hybriden verschilden niet in infectie van beide ouder-soorten (allen eerste generatie laboratorium-gekweekt, **hoofdstuk 4**), inconsistent met het scenario een lagere fitness in hybriden die parasiet-gefaciliteerde soortvorming zou kunnen bevorderen. Hybriden zijn ondanks dat echter zeldzaam in het veld, waarschijnlijk vanwege soort-assortatieve paring. Het

de afwezigheid van een een lagere fitness in hybriden suggereert dat assortative paring wordt gedreven door andere ecologische factoren.

De twee *Pundamilia* soorten zijn in het wild vanwege scheiding over waterdiepte aangepast aan verschillende visuele omgevingen: blauwe vormen bewonen een omgeving met een breed lichtspectrum, terwijl rode vormen leven in een omgeving met een rood-verschoven spectrum. Deze twee visuele omgevingen werden in laboratorium nagebootst. Wanneer de gasheren opgroeien in de niet-natuurlijke omgeving is hun overlevingskans lager (Maan et al., 2017), en zou infectie door parasieten hoger kunnen zijn. Dit was echter niet waargenomen: infectie door parasieten verschilde niet tussen natuurlijke en niet-natuurlijke licht, wat suggereert dat een visuele 'mismatch' in lichtomgeving de vatbaarheid van gasheren voor parasieten niet verhoogt.

### **Verschillen in infectie op het niveau binnen het geslacht *Cichlidogryus***

De samenstelling van de gemeenschap van *Cichlidogryus* morfosoorten was vergelijkbaar tussen de bemonsterde soorten die deel uitmaken van Victoriameer-radiatie (**hoofdstuk 2**). Dit ondersteunt de idee dat *Cichlidogryus* een rol speelt in de diversificatie van gasheren niet, omdat in dat geval gedivergeerde radiatieleden soort-specifieke resistentie zouden hebben ontwikkeld die leidt tot divergentie in infectie. De samenstelling van de *Cichlidogryus* morfosoorten-gemeenschap verschilde daarentegen wel tussen de drie grote lijnen van gasheren – de radiatie-tak en de twee oudere takken vertegenwoordigd door *A. alluaudi* en *Ps. multicolor*. Morfosoorten die de ene tak infecteerden, infecteerden zelden de andere takken, ondanks dat de gasheren volledig sympatrisch zijn, wat een gelegenheid voor gastheerspecialisatie suggereert (hoewel radiatie-soorten momenteel geen verschillende bronnen voor *Cichlidogryus*-morfosoorten vertegenwoordigen).

Er was geen geleidelijke toename in de mate van ongelijkheid in de gemeenschap van *Cichlidogryus* met toenemende mate van genetische differentiatie van de *Pundamilia*-paren (**hoofdstuk 3**). De samenstelling van de *Cichlidogryus* gemeenschap verschilde alleen in het reproductief geïsoleerde *Pundamilia*-paar van Makobe. Dit duidt erop dat *Cichlidogryus* de differentiatie in *Pundamilia* niet drijft, en suggereert dat verschillen in infectie ontstaan wanneer gasheren al een bepaalde mate van divergentie hebben bereikt, in plaats van dat *Cichlidogryus* een rol speelt in de vroege stadia van gastheer diversificatie. Bij elkaar genomen wijzen deze resultaten erop dat morfosoorten van *Cichlidogryus* niet bijdragen aan gastheer differentiatie.

### **Geen geografisch patroon in verschillen in infectie van soorten**

De kans om geïnfecteerd te raken en de aantallen parasieten die gasheren infecteerden verschilde tussen locaties. De hoogste infectieniveaus door nematoden (die vaak door vogels worden overgedragen) werden bijvoorbeeld waargenomen rond het eiland Makobe, waar grote

populaties aalscholvers en zilverreigers te vinden zijn. In moerassige locaties met weinig vissoorten en individuen waren de hoeveelheden parasieten over het algemeen laag vergeleken met rotsige eiland met relatief grote cichlidenpopulaties. Ondanks zulke geografische variatie in infectieniveaus waren verschillen in infectie tussen soorten consistent over de verschillende locaties (**hoofdstukken 2 en 3**). Dit patroon was te zien voor losse parasieten (bijvoorbeeld, rode vormen van *Pundamilia* huisvesten consistent meer *L. monodi* en *E. lamillifer* dan de blauwe varianten), maar ook op het niveau van de samenstelling van de hele gemeenschap van parasieten (een toename in geografische afstand tussen populaties viel niet samen met een toename in ongelijkheid van de gemeenschap van parasieten). Het ontbreken van een geografisch patroon in verschillen in infectie van sympatrische soorten zou een scenario van parasiet-gefaciliteerde van divergentie kunnen ondersteunen, omdat differentiatie in infectie het gevolg kan zijn van intrinsieke eigenschappen van de gastheer (inclusief resistentie).

### **Segregatie van parasiet-microhabitats**

In **hoofdstuk 5** analyseerde ik de verspreiding van de microhabitats van parasieten over de kieuwen, om te beoordelen of dit een andere as van divergentie in infectie zou kunnen uitmaken. De twee meest voorkomende ectoparasiet taxa (*Cichlidogyrus* spp., *L. monodi*) en de *Cichlidogyrus* (*C. nyanza*, *C. furu*)-morfosoorten hadden niet-random microhabitat-distributies die verschilden tussen de gastheersoorten, wat suggereert dat de interactie van dezelfde parasiet met zijn gastheer zou kunnen verschillen tussen verschillende gastheersoorten. Dit zou een gelegenheid kunnen bieden voor parasiet-gefaciliteerde gastheerdifferentiatie. De selectie van microhabitat vertegenwoordigd een andere as van heterogeniteit in infecties die meer verschillen zou kunnen blootleggen dan tellingen van parasieten. Het is daarom nuttig dat deze factor in toekomstige studies wordt meegenomen. De verhoudingen tussen verschillende parasieten verschilden niet tussen gastheersoorten. Dit zou in monogeneanen verklaard kunnen worden door toenemende paringskansen (aangezien zij op de gastheer reproduceren), in roeipootkreeftjes door de blootstelling van eieren aan water (aangezien de meeste roeipootkreeftjes op zo'n manier zijn bevestigd dat legsels buiten de kieuwfilamenten zijn blootgesteld).

### **Dynamiek binnen gastheerparasieten**

In **hoofdstuk 5** observeerde ik positieve correlaties tussen de hoeveelheid ectoparasitaire taxa en negatieve correlaties tussen morfosoorten van *Cichlidogyrus*. Positieve relaties kunnen op verschillende manieren worden uitgelegd: *i*) het zijn ware synergetische interacties, mogelijk vanwege de overeenkomst in de antigenen van parasieten die de uitbuiting van immunomodulatie door andere parasieten mogelijk maken; *ii*) ze zijn het gevolg van de associatie met dezelfde ecologische specialisatie van de gastheer. Negatieve relaties zouden veroorzaakt kunnen worden door competitie, mogelijk gerelateerd aan de fylogenetische

verwantschap van parasieten of aan de overeenkomsten in benodigde bronnen. De richting en mate van parasitaire interacties verschilde niet tussen gastheren, wat erop wijst dat intrinsieke eigenschappen van gastheersoorten geen invloed hebben op de relaties tussen parasieten, wat inconsistent is met gastheer specificiteit.

Ik heb ook de verschillen tussen gastheersoorten in reproductieve activiteit van roeipootkreeftjes onderzocht (gemeten in de proportie van legsel-dragende vrouwtjes), en vond geen verschillen tussen wild-gevangen soorten (**hoofdstuk 5**) en tussen de twee lab-gekweekte soorten van *Pundamilia* en hun interspecifieke hybriden (**hoofdstuk 4**). Dit wijst op het ontbreken van gastheerspecificiteit in de reproductieve activiteit van roeipootkreeftjes, hoewel roeipootkreeftjes variëren in zowel aantallen als het algemeen voorkomen van infecties.

## CONCLUSIE

In deze thesis vond ik ondersteuning voor een bijdrage van parasieten in divergentie tussen gastheren, maar niet in het initiëren van deze divergentie. Ten eerste, parasieten zijn niet-random verspreid op tenminste drie niveaus – kieuw-microhabitat, gastheersoort, gastheertak – wijzend op gastheer specialisatie en een mogelijkheid voor heterogene, parasiet-gefaciliteerde selectie. Ten tweede, soortverschillen in infectie waren consistent over de tijd, in lijn met de voorwaarden voor parasiet-gefaciliteerde soortvorming. Ten derde, wanneer gastheersoorten beginnen te divergeren in ecologie, begint ook de opstapeling van verschillen in hun gemeenschap van parasieten, wat erop wijst dat de differentiatie in infectie een bijproduct is van divergentie, in plaats van het tegenovergestelde.

