

University of Groningen

## Genetics of arrhenotokous and thelytokous reproduction in *Venturia canescens* (Hymenoptera)

Mateo Leach, Irene Victoria

**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:*

2009

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

*Citation for published version (APA):*

Mateo Leach, I. V. (2009). *Genetics of arrhenotokous and thelytokous reproduction in Venturia canescens (Hymenoptera)*. s.n.

### 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.*

## **Resumen y conclusiones**

El desarrollo del huevo sin fecundación se produce en todos los himenópteros (abejas, avispas y hormigas entre otros). La mayoría de las especies de himenópteros se reproducen por arrenotoquia o reproducción sexual (los machos son haploides y las hembras diploides) en la cual los machos se desarrollan partenogénicamente a partir de huevos haploides no fecundados. Sin embargo bajo telioquia (reproducción asexual), los huevos no fecundados dan lugar a hembras, lo cual requiere mecanismos citológicos que mantengan o reestablezcan el número diploide de cromosomas. La mayoría de himenópteros que se reproducen asexualmente tienen una forma de partenogénesis que implica la fusión de dos productos meióticos (automixis) para reestablecer el número diploide de cromosomas en el huevo. Este proceso puede ocurrir de tres formas diferentes: fusión terminal, fusión central y duplicación gamética, las cuales tienen consecuencias severas en el nivel de heterocigosidad de la siguiente generación (Suomalainen *et al.*, 1987; Beukeboom & Zwaan 2005). Apomixis es menos común en los himenópteros: la descendencia sexual se produce de forma mitótica y es genéticamente idéntica a la madre.

La reproducción sexual puede clasificarse en dos categorías, según su causa: puede ser inducida por bacterias o puede estar genéticamente determinada. Se conocen varios tipos de bacterias que pueden inducir alteraciones reproductivas en los himenópteros como son la telioquia o partenogénesis (reproducción asexual), la incompatibilidad citoplasmática, la muerte de machos infectados y la feminización. *Wolbachia* ha sido el más estudiado de estos microorganismos (e.g. O'Neill *et al.*, 1997; Stouthamer *et al.*, 1999), pero un número creciente de estudios demuestran que *Cardinium* y bacterias del orden *Rickettsia* también inducen las mismas alteraciones reproductivas (e.g. Hagimori *et al.*, 2006; Perlman *et al.*, 2006). El mecanismo citológico por el cual *Wolbachia* restaura el número diploide de cromosomas es duplicación gamética (e.g. Stouthamer & Kazmer, 1994; Pannebakker *et al.*, 2004), pero hay algunas excepciones (Weeks & Breeuwer, 2001). Aunque *Cardinium* y *Rickettsia* inducen los mismos fenotipos que *Wolbachia*, los mecanismos citológicos que reestablecen la diploidía son aparentemente distintos (Adachi-Hagimori *et al.*, 2008).

La reproducción asexual con base genética se da en algunas especies de himenópteros, pero poco se sabe sobre su regulación genética. Una excepción es la abeja del cabo (*Apis mellifera capensis*) en la cual se ha descubierto recientemente que el gen *thelytoky* (*th*) actúa como un factor de transcripción (Lattorff *et al.*, 2007). Actualmente se necesita más información sobre la base genética de la reproducción asexual para poder entender mejor la dinámica evolutiva de la partenogénesis y de la paradoja del doble coste del sexo (o de la reproducción sexual).

La reproducción asexual en los himenópteros puede tener consecuencias importantes para la composición genética de los individuos y para la variación genética en las poblaciones. A pesar de la variedad de mecanismos citológicos, todas las formas de automixia (o fusión de dos células sexuales de una misma hembra) aumentan el nivel de homocigosidad a nivel individual y de población. Sin

embargo, sólo nos encontramos al principio de comprender la interacción entre las consecuencias genéticas de los mecanismos citológicos de la reproducción asexual y de los procesos a nivel de población que dan forma a la variación genética de las poblaciones asexuales. Todo esto requiere estudios de genética de poblaciones más detallados con una selección más amplia de especies asexuales.

La avispa parasitoide *Venturia canescens* es un ejemplo de especie con reproducción asexual, aunque también presenta individuos sexuales. Estudios anteriores en esta especie han revelado diferencias básicas en los rasgos de historia de vida entre individuos sexuales y asexuales los cuales favorecen su coexistencia (Schneider *et al.*, 2002). Sin embargo, los aspectos genéticos de la reproducción asexual no se han tenido en cuenta, los cuales son cruciales para entender la evolución y perseverancia de la reproducción asexual en esta especie.

Beukeboom y Pijnacker (2000) ya demostraron que la reproducción asexual en *V. canescens* no está inducida por *Wolbachia*. En el **Capítulo II** confirmé este resultado y también demuestro que ningún otro endosimbionte procariótico está implicado. La cura con antibióticos y altas temperaturas de líneas asexuales cambiando con la amplificación específica del ADN de *Wolbachia* y general de procariotas aportan una evidencia clara de la ausencia de endosimbiontes procarióticos en los ovarios de *V. canescens*. He verificado la presencia del pequeño virus ARN (VcSRV; Reineke & Asgari, 2005) en avispas sexuales y asexuales. El VcSRV está presente en los dos tipos de avispas, lo cual indica que no está estrictamente relacionado con el tipo de reproducción asexual en *V. canescens*. También comento las posibles trampas que encierran los experimentos que intentan demostrar la ausencia de endosimbiontes. En este capítulo concluyo que (probablemente) la reproducción asexual en esta especie no está causada por endosimbiontes, sino que tiene una base genética. Estos resultados forman la base del estudio que presento en el **Capítulo VI**.

En el **Capítulo III** informo del desarrollo de 56 microsatélites para ambos modos reproductivos. Estos marcadores genéticos fueron evaluados en hembras sexuales y asexuales, abasteciéndome de cierta información inicial sobre la estructura genética de los dos tipos de individuos. Las hembras asexuales son más homocigóticas que las sexuales, lo cual es consistente con el mecanismo de restauración de la diploidía que ocurre en las hembras asexuales de *V. canescens* (automixia con fusión central, Beukeboom & Pijnacker, 2000).

Este conjunto de marcadores hizo posible la construcción del primer mapa genético para esta especie, el cual está formado por 29 microsatélites y 19 AFLPs (Capítulo IV). El mapa tiene una resolución de 11 grupos (linkage group), el cual es el número haploide de cromosomas de *V. canescens* ( $N=11$ ), pero el mapa no está saturado y más marcadores serían necesarios para mejorar su resolución. He localizado en el mapa dos genes importantes para *V. canescens*: el gen Virus Like Particle (*vlp*) en un extremo del grupo II y el locus de determinación sexual (*csd*) en el grupo IV. Virus Like Particles (o partículas similares a virus) han sido muy bien descritas en esta especie y el polimorfismo que presenta uno de sus genes ha sido

frecuentemente usado como marcador molecular en varios estudios. He podido confirmar la hipótesis de Malmberg *et al.* (2000) sobre la localización de *vlp* en el mapa: *vlp* es más homocigótico en las poblaciones asexuales que en las sexuales debido a que se espera que los loci situados en los extremos de los cromosomas se vuelvan más homocigóticos a lo largo de las generaciones bajo el tipo de automixia que se da en *V. canescens*. El locus *csd* está asociado al marcador *Vcan071*, pero se necesita un mapa más detallado para poder localizar y aislar este gen. El mapa actual proporciona un punto de inicio para estudios genéticos más detallados en esta especie, como por ejemplo la localización de caracteres cuantitativos (QTL) de comportamiento e historia de vida.

El resultado sin éxito de los experimentos de introgresión en dichos cruces entre machos sexuales y hembras asexuales no resultaron en descendencia híbrida, me hizo reconsiderar los resultados de Schneider *et al.* (2002; 2003). ¿Ocurren frecuentemente los eventos de reproducción sexual esporádica que describen? ¿A qué nivel están relacionadas las poblaciones sexuales y asexuales? ¿Con qué frecuencia surgen individuos asexuales a partir de poblaciones sexuales?

Afortunadamente, tuve acceso a muestras de avispa de las mismas poblaciones que las estudiadas en Schneider *et al.* (2002) y extendí este estudio con algunos individuos recogidos de nuevo. He llevado a cabo un estudio de la diversidad genética similar al de Schneider *et al.* (2002), pero esta vez usando microsatélites y la secuencia del gen *COI* mitocondrial. En el **Capítulo V**, demuestro que la variación genética de los individuos asexuales es menor que la de los sexuales. Como ya he mencionado anteriormente, esto se debe al proceso de homogeneización genómica. También encuentro una clara segregación de los dos modos reproductivos respecto a los marcadores nucleares y mitocondriales, lo cual indica que el flujo genético sugerido por Schneider *et al.* (2002) no ocurre tan a menudo en condiciones naturales. Ésto es consistente con mis resultados de que los cruces entre los dos tipos reproductivos no producen fácilmente descendencia híbrida bajo condiciones de laboratorio. La inconsistencia entre los resultados de los dos estudios puede deberse a los marcadores usados: los AFLPs de Schneider *et al.* (2002; 2003) son marcadores dominantes que pueden sobreestimar semejanzas entre los dos tipos reproductivos debido a fragmentos no homólogos de igual tamaño en contraposición con los microsatélites usados en el estudio que aquí presento. Además, es sabido que el genotipado con AFLPs genera artefactos reproducibles que pueden ser confundidos con bandas reales. Las secuencias mitocondriales dan información más precisa de los haplotipos que los RFLPs usados en el estudio de Schneider. Mis resultados sugieren que hay que ser cauteloso cuando se usan AFLPs para estudios de genética de poblaciones.

Los resultados que presento en el **Capítulo V** indican que hay un solo clon asexual con poca relación genética con los individuos sexuales. Parece ahora claro que el intercambio genético entre individuos de distinto tipo reproductivo es muy poco frecuente.

En el **Capítulo VII** presento un estudio que compara valor reproductivo entre hembras de los dos tipos reproductivos. He observado que las avispas asexuales invierten más en producir huevos y en superparasitar mientras que las avispas sexuales diseminan la producción de huevos durante un periodo más amplio (siendo más longevas). Estos resultados son consistentes con información disponible sobre los rasgos de historia de vida de los dos tipos reproductivos (Capítulo VI en Schneider, 2003). Las avispas asexuales se encuentran generalmente en ambientes ricos, por ejemplo, panaderías, con una alta densidad de huéspedes (referencias en Schneider *et al.*, 2002), mientras que las avispas sexuales están más adaptadas a las condiciones naturales con menos abundancia de huéspedes y distancias de desplazamiento más largas (Driessen *et al.*, 1995).

Considerando todos estos resultados en el contexto de las teorías de la evolución del sexo (**Capítulo I**), podemos concluir que las poblaciones sexuales y asexuales en *V. canescens* son genéticamente distintas. Probablemente la reproducción asexual surge de la sexual como un evento esporádico y el intercambio genético entre los dos tipos es poco común. Los individuos sexuales y asexuales ocupan nichos distintos y explotan distintos recursos y por ello no son competidores directos en condiciones naturales. Esto explica la aparente coexistencia de los dos tipos reproductivos en condiciones naturales.

¿Son las avispas sexuales y asexuales tan distintas que deberíamos considerarlas como dos especies distintas? No lo creo así. Si pertenecieran a distintas especies sería difícil explicar por qué dos avispas sexuales tienen el mismo haplotipo mitocondrial que las asexuales (**Capítulo V**) y también los escasos eventos de flujo genético entre los dos tipos de avispas.

Beukeboom y Pijnacker (2000) observaron un patrón distinto de segregación cromosómica entre huevos sexuales y asexuales no fecundados. Comparamos ARN y proteínas entre estos dos tipos de huevos para tener una idea más clara del control genético del reestablecimiento de la diploidía en los huevos asexuales. En el **Capítulo VI** presento la descripción de posibles transcritos y proteínas relacionados con el desarrollo de huevos sexuales y asexuales. En los ovarios de las hembras sexuales se expresan más productos, lo cual indica que en este tipo reproductivo se requiere procesos más complejos y más productos génicos que para el desarrollo asexual, como puede ser el procesamiento del núcleo del espermatóide tras la fecundación. Las hembras asexuales no fertilizan sus huevos, o lo hacen sólo raramente tras aparearse con machos sexuales. Al parecer, en la mayoría de los casos, han perdido esta función debido a la acumulación de mutaciones (e.g. Carson *et al.*, 1982; Pannebakker *et al.*, 2005). He encontrado varios genes y proteínas que muestran un patrón de expresión de presencia-ausencia entre los dos tipos reproductivos. Es difícil de determinar la función exacta de estos genes y proteínas en el contexto del reestablecimiento de la diploidía, fecundación o cualquier otro proceso que pueda ser distinto entre los dos tipos de reproducción. VLP2, tubulina y actina son los candidatos más probables. Estas tres proteínas

están relacioandas con estructuras microtubulares o con procesos mediados por microtúbulos, así como con la formación y orientación del huso mitótico, lo cual es consistente con las observaciones de Beukeboom y Pijnacker (2000). Nos encontramos sólo al principio de esclarecer la regulación genética de la reproducción partenogenética y estudios funcionales más detallados son necesarios para poder caracterizar la función de supuestos genes y proteínas en el contexto del reestablecimiento de la diploidía y la (ausencia de) fecundación. La sigente generación de técnicas genómicas, incluyendo la disponibilidad de secuencias de genomas completos de un mayor número de especies ayudará a lograr esta meta.

