

Zur Bedeutung endosymbiotischer Bakterien in der Entomologie

Wolfgang ARTHOFER*

Abstract

Wolbachia and other maternally inherited bacterial endosymbionts alter the biology of their hosts and manipulate host reproduction to foster their own spread. Here, the state of endosymbiont research is reviewed. Crossing incompatibilities, parthenogenesis, and populations with distorted sex ratio are symptomatic of endosymbiont infection. Recently, applications of *Wolbachia* in medicine and biocontrol have emerged.

Key words: *Wolbachia*, endosymbiont, reproductive parasite, phenotype, incompatibility, sex ratio distorter.

Zusammenfassung

Wolbachia und andere maternal vererbte, bakterielle Endosymbionten greifen in die Biologie ihrer Wirte ein und verändern deren Reproduktion, um die eigene Ausbreitung zu forcieren. Hier wird der aktuelle Stand der Endosymbiontenforschung zusammengefasst. Kreuzungs-Inkompatibilitäten, das Auftreten von Parthenogenese und ungleiche Geschlechterproportionen in einer Population können Hinweise auf Endosymbionten-Infektionen sein. In jüngster Zeit sind auch erste Anwendungen von *Wolbachia* in der Medizin und im biologischen Pflanzenschutz entwickelt worden.

Einleitung

Im Juni 2014 war Innsbruck der Austragungsort der 8. Internationalen *Wolbachia*-Konferenz (siehe ARTHOFER & al. 2014). Aus diesem Anlass bietet der folgende Artikel eine kurze Übersicht über die Interaktionen von *Wolbachia* und anderen Endosymbionten mit ihren Arthropoden- und Nematoden-Wirten, stellt einige wichtige Ergebnisse der aktuellen Forschung vor und veranschaulicht, warum Grundkenntnisse der Endosymbionten-Biologie für jeden Entomologen bedeutsam sind.

Seit jeher leben Metazoen in enger Beziehung mit Bakterien. Die Natur dieser Beziehungen deckt das gesamte Spektrum von Parasitismus bis Mutualismus ab. Während die meisten dieser Assoziationen auf die externen wie internen tierischen Körperoberflächen beschränkt sind – man denke nur an die Haut- und Darmflora – und Bakterien dort ebenso leicht erworben wie auch wieder an die Umwelt abgegeben werden können, gibt es einige Gruppen von Bakterien, die das Innere der Wirtszelle als Habitat nutzen. Der intrazelluläre Lebensstil führt zwangsläufig zu einer engen Koevolution der involvierten Organismen; das bekannteste Beispiel dafür ist der endosymbiotische Erwerb der Mitochondrien, ehemals freilebender Proteobakterien, die zu Organellen evolvierten, an der Basis der Eukaryoten (GRAY & al. 2001).

* Dr. Wolfgang ARTHOFER, AG Molekulare Ökologie, Institut für Ökologie, Universität Innsbruck, Technikerstrasse 25, 6020 Innsbruck, Österreich (Austria).
E-Mail: wolfgang.arthofer@uibk.ac.at

Die Arthropoden, und damit auch die Insekten, beherbergen eine Reihe endosymbiotischer Bakterien unterschiedlichster Abstammung und Funktion. Einige von ihnen werden vertikal über das Cytoplasma der Eizelle an die nächste Generation weitergegeben und beeinflussen die Reproduktion ihres Wirts, um die eigene Ausbreitung zu maximieren. Derartige Endosymbionten werden als reproduktive Parasiten bezeichnet (WERREN & al. 1995) und finden sich hauptsächlich in den Gattungen *Wolbachia*, *Cardinium* und *Spiroplasma*. Der Einfluss dieser Endosymbionten auf die Biologie ihres Wirts ist zum Teil erheblich, was sie zu einem wichtigen Studienobjekt der Entomologie, Mikro- und Molekularbiologie macht.

Wolbachia

Erstbeschreibung, Taxonomie, Nachweis

Die ersten Beschreibungen *Rickettsia*-ähnlicher Strukturen in Insektengewebe wurden lichtmikroskopisch erbracht und datieren in die 20er-Jahre des vergangenen Jahrhunderts (HERTIG & WOLBACH 1924). Gut 10 Jahre später erfolgte die formelle Beschreibung der Art *Wolbachia pipientis* HERTIG, 1936 (Alphaproteobacteria, Rickettsiales). Dem Genus gehören nominell noch zwei weitere Arten an: *Wolbachia melophagi* NÖLLER, 1917 zeigt genetisch größere Ähnlichkeit mit *Bartonella* als mit *Wolbachia* (DWORKIN & FALKOW 2006), und *Wolbachia persica* SUITOR & WEISS, 1961 gehört auf Basis genetischer Daten vermutlich zum Genus *Francisella* (FORSMAN & al. 1994). Auf der Internationalen *Wolbachia*-Konferenz 2004 wurde beschlossen, alle Bakterienstämme mit naher phylogenetischer Verwandtschaft zu *Wolbachia pipientis* unter ebendiesen Artnamen zu stellen und bis auf weiteres keine neuen Arten zu errichten (LO & al. 2007). Stattdessen wird *Wolbachia pipientis* in mehrere Supergruppen unterteilt. Einzelne Stämme werden zumeist mit einem aus dem Artnamen des Wirts abgeleiteten Kürzel mit einem vorangestellten, kursiven „w“ bezeichnet, z. B. wMel für *Wolbachia pipientis* aus *Drosophila melanogaster* MEIGEN, 1830.

Der umständliche mikroskopische Nachweis sowie die Tatsache, dass *Wolbachia* als strikt intrazelluläres Bakterium nicht auf künstlichen Nährmedien kultivierbar ist, ließen das Interesse an der neuen Bakterienart rasch wieder schwinden, und die *Wolbachia*-Forschung stagnierte für mehrere Jahrzehnte. Erst 1971 – inzwischen hatte die Elektronenmikroskopie breiten Einzug in der Mikrobiologie gefunden – wurde *Wolbachia* als möglicher Faktor der Kreuzungsinkompatibilität bei *Culex pipiens* identifiziert (YEN & BARR 1971). Die Elektronenmikroskopie war allerdings nicht geeignet, verschiedene *Wolbachia*-Stämme zu unterscheiden, eine Einschränkung, die erst durch die Einführung molekularbiologischer Methoden überwunden werden konnte.

Die Charakterisierung von *Wolbachia*-Stämmen erfolgt heute mittels Multilocus Sequence Typing (MLST) basierend auf der Sequenz von fünf bakteriellen Genen (BALDO & al. 2006), der diagnostische Nachweis zumeist mittels PCR entweder der MLST-Gene, des Oberflächenproteingens *wsp* (BRAIG & al. 1998), oder des Multicopy-Gens IS5 (ITURBE-ORMAETXE & al. 2005). Eine besondere Herausforderung stellen

♂ ♀ nicht infiziert ♂ ♀ infiziert

	♀	♀
♂	○	●
♂	X	●

Abb 1: Unidirektionale cytoplasmatische Inkompatibilität. *Wolbachia* modifiziert die Spermien infizierter Männchen. Weibchen, die mit demselben *Wolbachia*-Stamm infiziert sind, können diese Modifikation rückgängig machen und die Spermien „retten“. In Populationen mit einer hohen Zahl infizierter Männchen haben infizierte Weibchen einen reproduktiven Vorteil. / *Unidirectional cytoplasmic incompatibility. Wolbachia* modifies the sperm of infected males. Females infected with the same *Wolbachia* strain are able to remove the modification and rescue the sperm. In populations with large numbers of infected males, infected females gain reproductive advantage.

Niedrigtiter-Infektionen dar, bei denen die Kopienzahl des Endosymbionten auf Werte nahe der PCR-Nachweisgrenze absinkt (ARTHOFER & al. 2009a).

Wirte

Wolbachia wurde bisher in zahlreichen Arthropoden (Supergruppen A, B, F; Supergruppe E ausschließlich in Springschwänzen, H ausschließlich in Termiten) sowie in Filarien (Supergruppen C, D), einer Überfamilie der Nematoden, nachgewiesen. Während *Wolbachia* in Arthropoden zumeist als reproduktiver Parasit in Erscheinung tritt, ist die Wirkung bei Filarien immer mutualistisch (WERREN & al. 2008). Versuche, die Zahl der infizierten Arten abzuschätzen, wurden wiederholt bei Insekten unternommen (JEYAPRAKASH & HOY 2000, WERREN & WINDSOR 2000, HILGENBOECKER & al. 2008). Gegenwärtig geht man davon aus, dass etwa 40 % aller Insektenarten mit *Wolbachia* infiziert sind (ZUG & HAMMERSTEIN 2012). Ist eine Spezies mit *Wolbachia* infiziert, bedeutet das allerdings nicht, dass alle Individuen dieser Spezies den Endosymbionten tragen; Infektionsfrequenzen zwischen 3 % und 100 % der Individuen sind bekannt (ARTHOFER & al. 2009a).

Phänotypen

Trotz der hohen Zahl befallener Insektenarten verläuft eine *Wolbachia*-Infektion in vielen Fällen asymptomatisch. Dennoch hat *Wolbachia* faszinierende Strategien entwickelt, um seine – in der Regel maternale – Ausbreitung innerhalb einer Arthropoden-Art zu maximieren. Der meistverbreitete unter den reproduktiven Phänotypen ist die Cytoplasmatische Inkompatibilität (CI): *Wolbachia* modifiziert die Spermien der befallenen Männchen, die dadurch nicht mehr in der Lage sind, eine Eizelle zu befruchten. Weibchen, die mit demselben *Wolbachia*-Stamm infiziert sind, können diese Modifikation rückgängig machen und so Nachkommen produzieren (Abb. 1). In einer Population, in der nicht alle Individuen infiziert sind, haben infizierte Weibchen einen klaren reproduktiven Vorteil: Sie können mit jedem Männchen der Population Nachkommen hervorbringen, während die nicht infizierten Weibchen darauf angewiesen sind, einen ebenfalls nicht infizierten Partner zu finden. Ab einer gewissen Infektionshäufigkeit

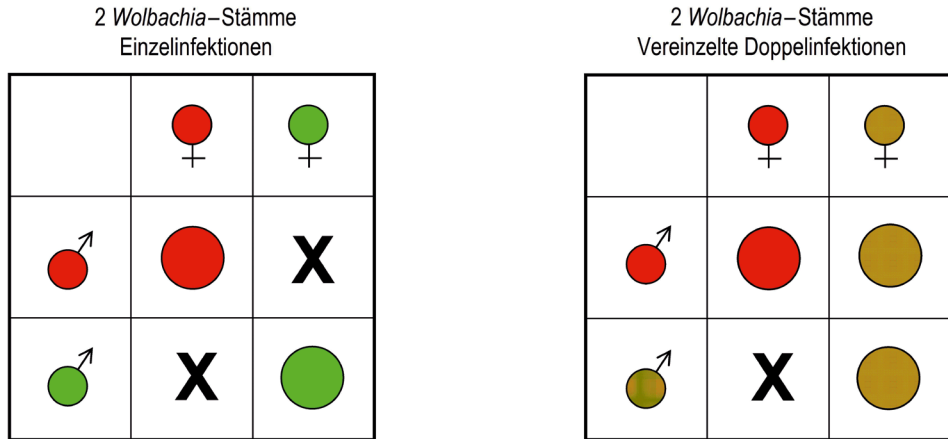


Abb. 2: Beispiele für cytoplasmische Inkompatibilität bei Auftreten mehrerer *Wolbachia*-Stämme. Die Komplexität der Kreuzungs-Inkompatibilitäten nimmt mit der Zahl der in der Population vorhandenen Stämme rasch zu. Die bidirektionale Inkompatibilität (links) könnte eine Rolle bei der Artbildung haben. / *Examples of cytoplasmic incompatibility when more than one Wolbachia strain is present. The complexity of crossing incompatibilities quickly increases with the number of strains present in a population. Bidirectional incompatibility (left panel) is considered as a co-factor in speciation.*

führt CI zu einer raschen Fixierung von *Wolbachia* in der Population (TURELLI & al. 1992). Sind in einer Population mehrere CI-auslösende Stämme gleichzeitig präsent, können entsprechend komplexere Muster der Kreuzungsinkompatibilität beobachtet werden (Abb. 2). Der molekulare Mechanismus der CI ist bis heute nicht vollständig geklärt (POINSOT & al. 2003).

Die Möglichkeit, die modifizierten Spermien zu „retten“ ist tatsächlich streng abhängig vom *Wolbachia*-Stamm. Ein prominentes Beispiel dafür ist die *Wolbachia*-Infektion der Kirschfruchtfliege *Rhagoletis cerasi* (LINNAEUS, 1758), in der schon früh eine geographische Kreuzungsbarriere beschrieben wurde (BOLLER & al. 1976). Da allerdings *Wolbachia*-Partikel in allen Individuen beider geographischer Komplexe nachgewiesen wurden (BLÜMEL & al. 1991), wurde *Wolbachia* als Verursacher der Inkompatibilität zunächst ausgeschlossen. Erst Sequenzanalysen bestätigten das Vorhandensein zweier, geographisch unterschiedlich verteilter Endosymbiontenstämme *wCer1* und *wCer2*, mit letzterem als Verursacher der Inkompatibilität (RIEGLER & STAUFFER 2002). Spätere Untersuchungen zeigten, dass *R. cerasi* bis zu fünf verschiedene *Wolbachia*-Stämme beherbergt (ARTHOFFER & al. 2009b).

In Arthropoden mit arrhenotoker Geschlechtsdetermination – Männchen entwickeln sich aus unbefruchteten, Weibchen aus befruchteten Eizellen – kann *Wolbachia*-induzierte Parthenogenese beobachtet werden: Die Anaphase der ersten embryonalen Zellteilung läuft irregulär ab und führt zur Bildung eines diploiden anstelle von zwei haploiden Kernen. Die weitere Entwicklung des Embryos erfolgt dann ohne weitere Besonderheiten, allerdings, in Folge des nun diploiden Kerns, zu einem weiblichen

Organismus. Dieser Phänotyp wurde bisher bei Milben, Thripsen und Hautflüglern nachgewiesen (STOUTHAMER & KAZMER 1994).

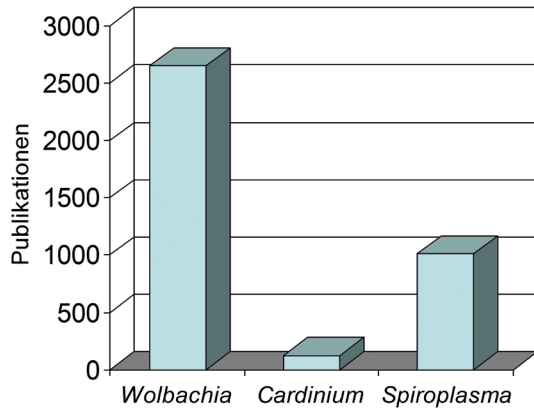
Eine weitere Möglichkeit, Männchen – aus der Sicht von *Wolbachia* evolutionäre Sackgassen – weitgehend zu eliminieren, ist die Feminisierung. Sie basiert auf einem Eingriff in das Hormonsystem während der Embryonalentwicklung; aus männlichen Embryonen entwickeln sich funktionale Weibchen, die aber, im Gegensatz zur oben beschriebenen Parthenogenese, einen männlichen Genotyp aufweisen. Die *Wolbachia*-induzierte Feminisierung wurde erstmals bei Isopoden beschrieben, tritt aber auch bei einigen Insektenarten auf (WERREN & al. 2008). Der Phänotyp des male killing führt zum Absterben der männlichen Embryos, meist in einer frühen Entwicklungsphase. Die überlebenden weiblichen Nachkommen sind damit einem geringeren Konkurrenzdruck um Ressourcen ausgesetzt. Male killing wird heute als eine letale Ausprägung der Feminisierung betrachtet (KAGEYAMA & TRAUT 2004). Im Gegensatz zur induzierten Parthenogenese sind für die Phänotypen Feminisierung und male killing befruchtete Eizellen erforderlich. Eine komplette Fixierung des Endosymbionten, verbunden mit dem Verlust jeglicher männlicher Nachkommen, würde unmittelbar das Aussterben des Wirts bedingen. Eine Reihe selektiver Faktoren muss hier also sicherstellen, dass ein geringer Anteil an Männchen erhalten bleibt und die Aufgabe der Befruchtung wahrnimmt (JIGGINS 2003). Da die drei letztgenannten Phänotypen, Parthenogenese, Feminisierung und male killing, im Gegensatz zur CI, zu einer weitgehenden Eliminierung der Männchen aus der Population führen, hat sich in der Fachliteratur die Bezeichnung „sex ratio distorters“ für derartige Endosymbiontenstämme durchgesetzt.

Während *Wolbachia* bei Filarien immer mutualistisch und in manchen Fällen sogar essentiell ist (MCGARRY & al. 2004), wurden mutualistische Phänotypen bei Arthropoden erst kürzlich und hauptsächlich bei *Drosophila* beschrieben. Hier schützt *Wolbachia* vor gewissen Virusinfektionen (HEDGES & al. 2008) bzw. stellt Nährstoffe für den Wirt bereit (BROWNLIE & al. 2009).

Cardinium* und *Spiroplasma

Wolbachia ist nicht der einzige reproduktive Parasit, der Arthropoden befällt. Zwei weitere prominente Vertreter dieser Gruppe sind *Candidatus Cardinium hertigii* (Bacteria: Bacteroidetes) (ZCHORI-FEIN & al. 2004), im Folgenden *Cardinium* genannt, sowie verschiedene Arten aus dem Genus *Spiroplasma* (Bacteria: Mollicutes) (GASPARICH 2002). *Cardinium* ist ein nicht kultivierbares Bakterium, das vor etwas über zehn Jahren bei systematischen Untersuchungen von 16S-DNA erstmals nachgewiesen werden konnte und bei seinen Wirten CI, Parthenogenese und Feminisierung hervorrufen kann (ZCHORI-FEIN & al. 2001). Das Genus *Spiroplasma* zeichnet sich durch ein sehr breites Wirtsspektrum aus: Diese Bakterien wurden als Endosymbionten in Pflanzen, Arthropoden und Wirbeltieren nachgewiesen (BOVÉ 1997) und sind bekannte Pflanzenpathogene. Als reproduktive Parasiten von Insekten lösen sie vor allem male killing aus (MONTENEGRO & al. 2000, POOL & al. 2006).

Abb. 3: Vergleich der Publikationszahlen zu verschiedenen Endosymbionten. Die Forschung an Nicht-*Wolbachia*-Endosymbionten ist im Vergleich zu *Wolbachia* nach wie vor unterrepräsentiert (Web of Science Core Collection, abgefragt 26. September 2014). / *Published items on various endosymbionts. Non-Wolbachia research is still underrepresented compared with Wolbachia (Web of Science Core Collection, retrieved 26 September 2014).*



Zurzeit stehen relativ wenige Daten zur Verbreitung von *Cardinium* und *Spiroplasma* zur Verfügung. Eine initiale Studie mit 99 Insekten- und Milbenarten ergab eine *Cardinium*-Infektionsrate von 6%; in derselben Probe wurde eine Rate von 24% für *Wolbachia* ermittelt (ZCHORI-FEIN & PERLMAN 2004). Für *Spiroplasma* fehlen derartige Studien, was nicht zuletzt auf die heterogene Struktur seiner Assoziation mit Insekten zurückzuführen ist: Außer als intrazelluläre, reproduktive Parasiten sind diese Bakterien auch häufig als Teil der physiologischen Darmflora zu finden (GASPARICH 2002). Betrachtet man die Zahl der Publikationen zu den verschiedenen Bakterien (Abb. 3; Web of Science Core Collection, abgefragt 26. September 2014) ist klar zu erkennen, dass die Forschung an Nicht-*Wolbachia*-Endosymbionten noch in den Kinderschuhen steckt. Größere systematische Studien werden wahrscheinlich höhere Infektionsraten und weitere Phänotypen aufzeigen.

Auswirkungen auf Biologie und Populationsstruktur

Reproduktive Parasiten beeinflussen die Biologie und Populationsstruktur ihrer Wirte so, dass dies für die entomologische Forschung unmittelbar von Bedeutung sein kann. In der Folge werden einige Beispiele dafür vorgestellt.

Auffälligkeiten im Geschlechterverhältnis

Populationen mit starkem Weibchenüberschuss oder gar völlig fehlenden Männchen gelten zumeist als ein Hinweis auf das Vorliegen von Parthenogenese. Hier sollte eine Endosymbionten-Infektion immer in Erwägung gezogen werden. Auch ohne molekularbiologische Diagnostik ist es möglich, erste Rückschlüsse auf das Vorliegen einer Infektion zu ziehen: Endosymbionten-induzierte Parthenogenese ist nur bei Arthropoden mit arrhenotoker Geschlechtsdetermination möglich. In allen anderen Fällen ist – falls tatsächlich eine Infektion vorliegt – von Feminisierung und/oder male killing auszugehen. Da bei diesen beiden Phänotypen eine Befruchtung der Eizellen erforderlich ist, müssen Männchen entweder in geringer Zahl in der Population selbst oder in nahegelegenen Nachbarpopulationen vorhanden sein. Geographische

Parthenogenese (HÖRANDL 2009) ist in solchen Systemen eine naheliegende alternative Erklärung, und eine endgültige Entscheidung wird zumeist nur durch eine molekulargenetische Untersuchung möglich sein. Ein Hinweis auf male killing können Gelege sein, bei denen nur etwa die Hälfte der Eier geschlüpft ist.

Reproduktive Isolation in scheinbar homogenen Populationen

Während unidirektionale CI zumeist nicht ausreicht, eine komplette reproduktive Isolation auszulösen und nuklearen Genfluss zu unterbinden, kann die Präsenz von zwei CI-Erregern in der selben Population eine unsichtbare, aber nahezu perfekte Kreuzungsbarriere bilden (TURELLI 1994, SHOEMAKER & al. 1999, ROKAS 2000). Umfangreiche Studien, ob die durch *Wolbachia* induzierte reproduktive Isolation sogar ausreichen könnte, um schlussendlich zur Entstehung neuer Arten beizutragen, wurden vor allem in Laborversuchen mit *Nasonia* durchgeführt (BORDENSTEIN & WERREN 2007). Die bisherigen Ergebnisse können dahingehend interpretiert werden, dass reproduktive Endosymbionten alleine eher keine Artbildung auslösen können, zusammen mit anderen Co-Faktoren aber durchaus wesentlichen evolutiven Einfluss haben (BORDENSTEIN & WERREN 2007).

Erst kürzlich wurde im *Drosophila paulistorum*-Artenkomplex ein weiterer, von *Wolbachia* ausgelöster, Inkompatibilitätsfaktor vorgestellt: Neben der postzygotischen CI besteht hier auch eine präzygotische Isolation, da *Wolbachia*-infizierte Weibchen ausschließlich Männchen akzeptieren, die mit dem selben Endosymbionten-Stamm infiziert sind. Auf diesen Mechanismus wird die Herausbildung von mindestens sechs Arten in statu nascendi bei *D. paulistorum* DOBZHANSKY & PAVAN, 1949 zurückgeführt, die jeweils durch ihre *Wolbachia*-Fauna charakterisiert sind. Da in diesem Artenkomplex auch eine hohe *Wolbachia*-Dichte im Antennengewebe nachgewiesen werden konnte, erscheint es derzeit wahrscheinlich, dass *Wolbachia* hier direkt das Pheromonsystem des Wirts manipuliert (MILLER & al. 2010).

Auswirkungen auf die genetische Diversität

Wolbachia und andere CI-auslösende Endosymbionten werden, ebenso wie die mitochondriale DNA (mtDNA), in der Regel maternal weitergegeben. Dieses Faktum erfährt dadurch besondere Bedeutung, dass in den letzten zwei Jahrzehnten mtDNA als einfach zu sequenzierender und zumindest vermeintlich zuverlässiger phylogenetischer Marker etabliert wurde und breite Anwendung findet (AVISE & al. 1987).

Wenn ein neuer Endosymbionten-Stamm sich mittels CI in einer Population ausbreitet, breiten sich die mtDNA-Haplotypen der ersten infizierten Weibchen als „Hitchhiker“ ebenso aus (HURST & JIGGINS 2005). Ein Phylogenetiker, der nur die mtDNA-Daten ohne Kenntnis der Infektion untersucht, würde eine solche, genetisch wenig diverse Population als vergleichsweise jung interpretieren, einen Gründereffekt oder einen kürzlich durchlaufenen Flaschenhals annehmen. Erst eine umfassende Endosymbionten-Diagnostik würde in diesem Fall die tatsächliche Geschichte der Population enthüllen.

Auch das umgekehrte Szenario ist denkbar: In einer großen, mit mehreren CI-Erregern infizierten Population können tiefe mtDNA-Strukturen erhalten bleiben, obwohl die Population hinsichtlich ihrer nuklearen DNA panmiktisch erscheint. Solche Widersprüche in der Phylogenie mitochondrialer und nuklearer Loci sollten in jedem Falle Anlass für eine Endosymbionten-Diagnostik sein.

Potentielle Anwendungen reproduktiver Parasiten

Waren *Wolbachia* und andere reproduktive Parasiten noch vor wenigen Jahren kuriose Nischenfälle der Grundlagenforschung, hat sich dieses Bild mittlerweile deutlich gewandelt. Drei Beispiele zeigen Anwendungsmöglichkeiten von *Wolbachia* im landwirtschaftlichen und medizinischen Bereich, die kurz vor der Praxisreife stehen.

Bereits in den 1960er Jahren wurde die Sterile Insect Technique (SIT) entwickelt: Männchen eines Schadinsekts werden in großer Zahl gezüchtet, durch radioaktive Bestrahlung sterilisiert und dann in Befallsgebieten freigelassen. Dort konkurrieren sie mit den fertilen Männchen der natürlichen Population und führen, sofern das Verhältnis steriler zu fertiler Männchen einen Grenzwert überschreitet, zu einem raschen Zusammenbruch der Population (KLASSEN & CURTIS 2005). Die SIT wird unter anderem bei Moskitos der Gattungen *Anopheles* und *Aedes* angewendet (NOLAN & al. 2011, OLIVA & al. 2012). Ein vergleichbares, *Wolbachia*-basiertes System ist die Incompatible Insect Technique (IIT): In diesem Falle werden große Mengen von Männchen, die mit einem in der natürlichen Population nicht vorkommenden *Wolbachia*-Stamm infiziert sind, freigelassen. Die resultierende CI kann dann ebenfalls zum Zusammenbruch der Population führen; da der *Wolbachia*-Stamm ausschließlich maternal weitergegeben werden kann, kommt es durch die infizierten Männchen auch zu keiner weiteren Freisetzung oder Vermehrung des Endosymbionten. Versuche zur IIT wurden beispielsweise mit der Mittelmeerfruchtfliege *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN, 1824) durchgeführt (ZABALOU & al. 2004, 2009).

Bei einem Screening nach Genmutationen wurde als Zufallsfund der *Wolbachia*-Stamm *wMelPop* entdeckt, der die Lebenserwartung seines Wirts *Drosophila melanogaster* deutlich verkürzt (MIN & BENZER 1997). Diese Verkürzung beruht auf einer massiven, intrazellulären *Wolbachia*-Proliferation in den adulten Fliegen; schlussendlich füllt *Wolbachia* die Wirtszellen komplett aus, verdrängt alle anderen zellulären Strukturen und führt so zum Tod. Da diese Proliferation erst im adulten Tier und zu einem Zeitpunkt, wo dieses bereits Nachkommen hervorgebracht hat, eintritt, wird die Populationsgröße nur minimal beeinflusst – es fehlen lediglich die hohen Altersklassen. Eine unmittelbare Nutzung von *wMelPop* bietet sich bei krankheitsübertragenden Moskitos an, die sich zuerst selbst durch eine Blutmahlzeit mit einem Pathogen infizieren und dieses erst gegen Ende ihres Lebens an neue, menschliche Wirte weitergeben können. Zwei bedeutende Krankheiten mit derartigem Übertragungsweg sind Malaria und Denguefieber, und derzeit laufende Studien deuten darauf hin, dass *wMelPop* sehr gut geeignet ist, den Infektionsweg zu unterbrechen (HOFFMANN & al. 2011, HUGHES & al. 2011, HUGHES & BRITTON 2013).

Eine völlig andere Rolle spielt *Wolbachia* bei der Behandlung von zwei durch Filarien verursachten Erkrankungen, der Flussblindheit (Onchozerkose) und der lymphatischen Filariose (TAYLOR & al. 2010). Flussblindheit ist derzeit weltweit für etwa 500.000 Fälle kompletter Erblindung verantwortlich, Filariosen betreffen etwa 120 Millionen Menschen in 83, vorwiegend tropischen Staaten. Die Filarien, die diese Krankheiten auslösen, sind ihrerseits von einem mutualistischen *Wolbachia*-Stamm abhängig. Die Behandlung der Krankheiten mit klassischen Antihelminthika ist aus mehreren Gründen problematisch: Die Medikamente müssen über lange Zeiträume eingenommen werden, haben zahlreiche Nebenwirkungen, führen selten zu einer kompletten Heilung, dafür aber zu Resistenzen bei den Filarien. Ein völlig neuer Behandlungsansatz ist, anstelle der Filarien selbst, deren Symbionten zu bekämpfen. *Wolbachia* kann mit Antibiotika der Tetracyclin-Gruppe einfach und effizient eliminiert werden, und der Verlust der *Wolbachia* führt nach kurzer Zeit auch zum Absterben der Filarien (TAMAROZZI & al. 2011). In großangelegten Feldversuchen wurden mittlerweile über 17.000 Erkrankte erfolgreich mit Doxycyclin behandelt (<http://www.a-wol.com/>).

Schlussfolgerungen

Wolbachia und andere reproduktiv wirksame Endosymbionten befallen zumindest 40% aller Insektenarten, sowie andere Arthropoden und Nematoden. Sie greifen bisweilen massiv in die Biologie ihres Wirts ein, verändern mitunter die genetische Struktur von Populationen, das Verhalten der Wirte und das Geschlechterverhältnis. Jeder Entomologe sollte daher mit den wichtigsten von Endosymbionten hervorgerufenen Effekten vertraut sein; wenn eine entomologische Untersuchung Verdachtsmomente bietet, die auf eine Infektion hindeuten, sollte eine entsprechende Diagnostik durchgeführt werden. In jedem Falle ist eine *Wolbachia*-Diagnostik erforderlich, wenn Phylogenien auf der Basis von mtDNA erstellt werden.

Darüber hinaus hat sich *Wolbachia* in den letzten Jahren von einem interessanten Nischenphänomen der Evolutionsbiologie zu einem bedeutenden Organismus mit großem Anwendungspotential in der Medizin und im biologischen Pflanzenschutz entwickelt. Weitere, bedeutende Anwendungen sind in der nahen Zukunft zu erwarten.

Danksagung

Ich bedanke mich bei Birgit C. Schlick-Steiner und Florian M. Steiner für Durchsicht und kritische Diskussion des Manuskripts.

Literatur

- ARTHOFFER, W., RIEGLER, M., AVTZIS, D.N. & STAUFFER, C. 2009a: Evidence for low-titre infections in insect symbiosis: *Wolbachia* in the bark beetle *Pityogenes chalcographus* (Coleoptera, Scolytinae). – Environmental Microbiology 11: 1923–1933.
- ARTHOFFER, W., RIEGLER, M., SCHNEIDER, D., KRAMMER, M., MILLER, W.J. & STAUFFER, C. 2009b: Hidden *Wolbachia* diversity in field populations of the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* (Diptera, Tephritidae). – Molecular Ecology 18: 3816–3830.

- ARTHOFFER, W., SCHLICK-STEINER, B.C. & STEINER, F.M. 2014: Bericht zur WOLBACHIA 2014: 8th International Wolbachia Conference, 6.–11. Juni 2014, Igls, Innsbruck. – Beiträge zur Entomofaunistik 15: 194–202.
- AVISE, J.C., ARNOLD, J., BALL, R.M., BERMINGHAM, E., LAMB, T., NEIGEL, J.E., REEB, C.A. & SAUNDERS, N.C. 1987: Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. – Annual Review of Ecology and Systematics 18: 489–522.
- BALDO, L., DUNNING HOTOPP, J.C., JOLLEY, K.A., BORDENSTEIN, S.R., BIBER, S.A., CHOUDHURY, R.R., HAYASHI, C., MAIDEN, M.C.J., TETTELIN, H. & WERREN, J.H. 2006: Multilocus Sequence Typing System for the endosymbiont *Wolbachia pipientis*. – Applied and Environmental Microbiology 72: 7098–7110.
- BLÜMEL, S., KECK, M., NOWOTNY, N., FIEDLER, W. & RUSS, K. 1991: Detection and therapy of Rickettsia-like-organisms (RLOs) in ovaries of the European cherry fruit fly (*Rhagoletis cerasi* L., Tephritidae): an evaluation of their influence on the unidirectional crossing sterility. – Pflanzenschutzberichte 52: 41–47.
- BOLLER, E.F., RUSS, K., VALLO, V. & BUSH, G.L. 1976: Incompatible races of European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* (Diptera: Tephritidae), their origin and potential use in biological control. – Entomologia Experimentalis et Applicata 20: 237–247.
- BORDENSTEIN, S.R. & WERREN, J.H. 2007: Bidirectional incompatibility among divergent *Wolbachia* and incompatibility level differences among closely related *Wolbachia* in *Nasonia*. – Heredity 99: 278–287.
- BOVÉ, J.M. 1997: Spiroplasmas: infectious agents of plants, arthropods and vertebrates. – Wiener Klinische Wochenschrift 109: 604–612.
- BRAIG, H.R., ZHOU, W., DOBSON, S.L. & O'NEILL, S.L. 1998: Cloning and characterization of a gene encoding the major surface protein of the bacterial endosymbiont *Wolbachia pipientis*. – Journal of Bacteriology 180: 2373–2378.
- BROWNLIE, J.C., CASS, B.N., RIEGLER, M., WITSENBURG, J.J., ITURBE-ORMAETXE, I., MCGRAW, E.A. & O'NEILL, S.L. 2009: Evidence for metabolic provisioning by a common invertebrate endosymbiont, *Wolbachia pipientis*, during periods of nutritional stress. – PLoS Pathogens 5: e1000368.
- DWORKIN, M. & FALKOW, S. 2006: The Prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria. – Springer Science & Business Media, 965 pp.
- FORSMAN, M., SANDSTRÖM, G. & SJÖSTEDT, A. 1994: Analysis of 16S ribosomal DNA sequences of *Francisella* strains and utilization for determination of the phylogeny of the genus and for identification of strains by PCR. – International Journal of Systematic Bacteriology 44: 38–46.
- GASPARICH, G.E. 2002: Spiroplasmas: evolution, adaptation and diversity. – Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library 7: d619–640.
- GRAY, M.W., BURGER, G. & LANG, B.F. 2001: The origin and early evolution of mitochondria. – Genome Biology 2: reviews1018.1–reviews1018.5.
- HEDGES, L.M., BROWNLIE, J.C., O'NEILL, S.L. & JOHNSON, K.N. 2008: *Wolbachia* and virus protection in insects. – Science 322: 702.
- HERTIG, M. & WOLBACH, S.B. 1924: Studies on *Rickettsia*-like micro-organisms in insects. – The Journal of Medical Research 44: 329–374.
- HILGENBOECKER, K., HAMMERSTEIN, P., SCHLATTMANN, P., TELSCHOW, A. & WERREN, J.H. 2008: How many species are infected with *Wolbachia*? A statistical analysis of current data. – FEMS Microbiology Letters 281: 215–220.
- HOFFMANN, A.A., MONTGOMERY, B.L., POPOVICI, J., ITURBE-ORMAETXE, I., JOHNSON, P.H., MUZZI, F., GREENFIELD, M., DURKAN, M., LEONG, Y.S., DONG, Y., COOK, H., AXFORD, J., CALLAHAN, A.G., KENNY, N., OMODEI, C., MCGRAW, E.A., RYAN, P.A., RITCHIE, S.A., TURELLI, M. & O'NEILL, S.L. 2011: Successful establishment of *Wolbachia* in *Aedes* populations to suppress dengue transmission. – Nature 476: 454–457.

- HÖRANDL, E. 2009: Geographical parthenogenesis: opportunities for asexuality. In: *Lost sex*. – Springer, Dordrecht, pp. 161–186.
- HUGHES, G.L., KOGA, R., XUE, P., FUKATSU, T. & RASGON, J.L. 2011: *Wolbachia* infections are virulent and inhibit the human Malaria parasite *Plasmodium falciparum* in *Anopheles gambiae*. – *PLoS Pathogens* 7: e1002043.
- HUGHES, H. & BRITTON, N.F. 2013: Modelling the use of *Wolbachia* to control Dengue fever transmission. – *Bulletin of Mathematical Biology* 75: 796–818.
- HURST, G.D. & JIGGINS, F.M. 2005: Problems with mitochondrial DNA as a marker in population, phylogeographic and phylogenetic studies: the effects of inherited symbionts. – *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272: 1525–1534.
- ITURBE-ORMAETXE, I., BURKE, G.R., RIEGLER, M. & O'NEILL, S.L. 2005: Distribution, expression, and motif variability of ankyrin domain genes in *Wolbachia pipientis*. – *Journal of Bacteriology* 187: 5136–5145.
- JEYAPRAKASH, A. & HOY, M.A. 2000: Long PCR improves *Wolbachia* DNA amplification: *wsp* sequences found in 76% of sixty-three arthropod species. – *Insect Molecular Biology* 9: 393–405.
- JIGGINS, F.M. 2003: Male-killing *Wolbachia* and mitochondrial DNA: selective sweeps, hybrid introgression and parasite population dynamics. – *Genetics* 164: 5–12.
- KAGEYAMA, D. & TRAUT, W. 2004: Opposite sex-specific effects of *Wolbachia* and interference with the sex determination of its host *Ostrinia scapularis*. – *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 271: 251–258.
- KLASSEN, W. & CURTIS, C.F. 2005: History of the Sterile Insect Technique. In: DYCK, V.A., HENDRICH, J. & ROBINSON, A.S. (Eds.): *Sterile Insect Technique*. – Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg, pp. 3–36.
- LO, N., PARASKEVOPOULOS, C., BOURTZIS, K., O'NEILL, S.L., WERREN, J.H., BORDENSTEIN, S.R. & BANDI, C. 2007: Taxonomic status of the intracellular bacterium *Wolbachia pipientis*. – *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57: 654–657.
- MCGARRY, H.F., EGERTON, G.L. & TAYLOR, M.J. 2004: Population dynamics of *Wolbachia* bacterial endosymbionts in *Brugia malayi*. – *Molecular and Biochemical Parasitology* 135: 57–67.
- MILLER, W.J., EHRLMAN, L. & SCHNEIDER, D. 2010: Infectious speciation revisited: impact of symbiont-depletion on female fitness and mating behavior of *Drosophila paulistorum*. – *PLoS Pathogens* 6: e1001214.
- MIN, K.T. & BENZER, S. 1997: *Wolbachia*, normally a symbiont of *Drosophila*, can be virulent, causing degeneration and early death. – *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94: 10792–10796.
- MONTENEGRO, H., SOUZA, W.N., SILVA LEITE, D. DA & KLACZKO, L.B. 2000: Male-killing selfish cytoplasmic element causes sex-ratio distortion in *Drosophila melanogaster*. – *Heredity* 85: 465–470.
- NOLAN, T., PAPANATHANOS, P., WINDBICHLER, N., MAGNUSSON, K., BENTON, J., CATTERUCCIA, F. & CRISANTI, A. 2011: Developing transgenic *Anopheles* mosquitoes for the sterile insect technique. – *Genetica* 139: 33–39.
- OLIVA, C.F., JACQUET, M., GILLES, J., LEMPERIERE, G., MAQUART, P.-O., QUILICI, S., SCHOONEMAN, F., VREYSEN, M.J.B. & BOYER, S. 2012: The Sterile Insect Technique for controlling populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) on Reunion Island: mating vigour of sterilized males. – *PLoS ONE* 7: e49414.
- POINSOT, D., CHARLAT, S. & MERÇOT, H. 2003: On the mechanism of *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility: confronting the models with the facts. – *BioEssays* 25: 259–265.
- POOL, J.E., WONG, A. & AQUADRO, C.F. 2006: Finding of male-killing *Spiroplasma* infecting *Drosophila melanogaster* in Africa implies transatlantic migration of this endosymbiont. – *Heredity* 97: 27–32.

- RIEGLER, M. & STAUFFER, C. 2002: *Wolbachia* infections and superinfections in cytoplasmically incompatible populations of the European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* (Diptera, Tephritidae). – *Molecular Ecology* 11: 2425–2434.
- ROKAS 2000: *Wolbachia* as a speciation agent. – *Trends in Ecology & Evolution* 15: 44–45.
- SHOEMAKER, D.D., KATJU, V. & JAENIKE, J. 1999: *Wolbachia* and the evolution of reproductive isolation between *Drosophila recens* and *Drosophila subquinaria*. – *Evolution* 53: 1157.
- STOUTHAMER, R. & KAZMER, D.J. 1994: Cytogenetics of microbe-associated parthenogenesis and its consequences for gene flow in *Trichogramma* wasps. – *Heredity* 73: 317–327.
- TAMAROZZI, F., HALLIDAY, A., GENTIL, K., HOERAUF, A., PEARLMAN, E. & TAYLOR, M.J. 2011: Onchocerciasis: the role of *Wolbachia* bacterial endosymbionts in parasite biology, disease pathogenesis, and treatment. – *Clinical Microbiology Reviews* 24: 459–468.
- TAYLOR, M.J., HOERAUF, A. & BOCKARIE, M. 2010: Lymphatic filariasis and onchocerciasis. – *The Lancet* 376: 1175–1185.
- TURELLI, M. 1994: Evolution of incompatibility-inducing microbes and their hosts. – *Evolution* 48: 1500–1513.
- TURELLI, M., HOFFMANN, A.A. & MCKECHNIE, S.W. 1992: Dynamics of cytoplasmic incompatibility and mtDNA variation in natural *Drosophila simulans* populations. – *Genetics* 132: 713–723.
- WERREN, J.H., BALDO, L. & CLARK, M.E. 2008: *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. – *Nature Reviews Microbiology* 6: 741–751.
- WERREN, J.H. & WINDSOR, D.M. 2000: *Wolbachia* infection frequencies in insects: evidence of a global equilibrium? – *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267: 1277–1285.
- WERREN, J.H., ZHANG, W. & GUO, L.R. 1995: Evolution and phylogeny of *Wolbachia*: reproductive parasites of arthropods. – *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 261: 55–63.
- YEN, J.H. & BARR, A.R. 1971: New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens* L. – *Nature* 232: 657–658.
- ZABALOU, S., APOSTOLAKI, A., LIVADARAS, I., FRANZ, G., ROBINSON, A.S., SAVAKIS, C. & BOURTZIS, K. 2009: Incompatible insect technique: incompatible males from a *Ceratitidis capitata* genetic sexing strain. – *Entomologia Experimentalis et Applicata* 132: 232–240.
- ZABALOU, S., RIEGLER, M., THEODORAKOPOULOU, M., STAUFFER, C., SAVAKIS, C. & BOURTZIS, K. 2004: *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility as a means for insect pest population control. – *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 15042–15045.
- ZCHORI-FEIN, E., GOTTLIEB, Y., KELLY, S.E., BROWN, J.K., WILSON, J.M., KARR, T.L. & HUNTER, M.S. 2001: A newly discovered bacterium associated with parthenogenesis and a change in host selection behavior in parasitoid wasps. – *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 12555–12560.
- ZCHORI-FEIN, E. & PERLMAN, S.J. 2004: Distribution of the bacterial symbiont *Cardinium* in arthropods. – *Molecular Ecology* 13: 2009–2016.
- ZCHORI-FEIN, E., PERLMAN, S.J., KELLY, S.E., KATZIR, N. & HUNTER, M.S. 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.
- ZUG, R. & HAMMERSTEIN, P. 2012: Still a host of hosts for *Wolbachia*: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected. – *PLoS ONE* 7: e38544.