

# Muurahaisten sosiaaliparasitismien genomiikka

Robert Helenius

LuK-tutkielma

Biologian tutkinto-ohjelma

Oulun yliopisto

Maaliskuu 2022

Tiivistelmä

Johdanto

Sosiaaliparasitismien tyypit ja terminologia

Parasiittisten lajien suhde isäntiin

Miten parasitismi kehittyy

Sosiaaliparasitismien genomiikka

Ekspression säätely parasiittisissä lajeissa

Geenien valinta ja menetys loisissa

Yhteenveto

Lähdeluettelo

## Tiivistelmä

Sosiaaliparasitismi tarkoittaa lajienvälistä symbioosia, jossa yksi laji hyväksikäyttää toisen lajin sosiaalista käyttäytymistä oman ekolokeronsa toteuttamiseen. Erityisesti muurahaisten sosiaaliparasitismien tutkimuksessa on tehty useita genomiikan näkökulmista kiinnostavia löytöjä viime vuosina. Käsittelen tässä kandidaatin tutkielmassa näihin löytöihin johtaneita tutkimuksia, kokoan niiden päätelmät yhteen ja koitan ehdottaa mahdollisia lisätutkimuksen kohteita.

Fylogeneettisen tutkimuksen avulla, *Formica*-suvun muurahaisten orjuuttavan parasitismien havaittiin olevan kytköksissä useisiin parasitismia edeltäviin adaptaatioihin. Odotusten mukaan, orjuuttamista harjoittavat muurahaiset luokiteltiin monofyleettisiksi. Itsenäisen pesänmuodostuksen menettämisen (ts. tilapäisen parasitismien kehittymisen) löydettiin olevan erityisen tärkeä askel orjuuttamisen evoluutiossa tässä suvussa, mutta myös monipesäisyys, metsästyskäyttäytyminen, territoriaalisuus sekä monikuningattarisuus olivat muodostettujen puiden mukaan todennäköisesti kytköksissä tähän ilmiöön.

*Temnothorax*-suvun orjuuttajissa ja niiden isännissä havaittiin kvantifioitavia muutoksia ns. käyttäytymisfenotyypeissä eri alueiden välillä johtuen geeniekspression muutoksista. Muurahaisten aggressiivisuus vaihteli ryöstöretkien aikana riippuen populaation asuttaman alueen loisten ekologisesta onnistuneisuudesta. Kolmen *Temnothorax*-loisen havaittiin jakavan suuren osan ekspressoituvista geeneistään ryöstöretkien ulkopuolella, todennäköisesti johtuen yhteisestä alkuperästä, mutta muutokset ekspressiokuvioissa olivat ilmeisiä ryöstöretkien aikana orjuuttajien erilaisten ryöstöretkistrategioiden takia. Loisista löydettiin myös erillisessä tutkimuksessa useita jaettuja positiivisen valinnan kohteita sirkadiaanista rytmiä ja kutikulan hiilivetykuvioita säätelevissä geeneissä. Tutkittujen *Temnothorax*-isäntien ryöstöretki-fenotyypit eivät jakaneet yhteisiä ekspressiokohteita.

Tarkastelemalla inkviliinien *Pogonomyrmex*- ja *Vollenhovia*-sukujen loisten genomista konservoitumista, genomisen rappeuman alhaisen määrän takia genotyyppisten muutosten pääteltiin vaikuttaneen vähemmän lajien evoluutioon kuin geeniekspression muutosten. *Acromyrmex*-suvun loisista sen sijaan löydettiin selvempiä geenimenetyksen ja genomisen rappeuman merkkejä, keskittyen hajutunnistusta ja kemiallista kommunikaatiota sääteleviin geeneihin. Rappeuman määrä kuitenkin vaihteli huomattavasti loislajien välillä, ja yhden lajin geenimenetyksiä jopa tasapainotti merkittävä määrä uusia geenejä.

## Johdanto

Pistiäisten *Hymenoptera*-lahko on tunnettu monien tuntomerkkien ohella sille tyypillisestä yhteiskuntajärjestäytymisestä. Yhteiskunta, joka voi koostua yhdestä tai useammasta pesästä, sisältää morfologisesti toisistaan eroavia yksilöitä, kuten steriilejä työläisiä ja hedelmällisiä kuningattaria, jotka ovat kuitenkin osa samaa lajia. Erilaisten yksilöiden tehtävät yhteiskunnassa eroavat toisistaan, ja monipuolisen kommunikaatiokyvyn avulla ne kykenevät yhteistyöhön pesän ylläpidon ja lajin lisääntymisen varmistamiseksi. Tämä epäsymmetrisen yhteistyön järjestelmä, yhdessä päällekkäisten sukupolvien ja aikuisyksilöiden johdolla tapahtuvan jälkeläisten hoidon kanssa, muodostaa aitososiaalisuuden tuntomerkit (Hölldobler & Wilson 1990). Aitososiaalinen käyttäytyminen kuitenkin esittää houkuttelevan ekolokeron sen hyväksi käyttämiseen pystyville loisille, sillä oikein kemiallisesti kommunikoiva parasiitti voi esittää olevansa isäntäyhteiskunnan jäsen ja pystyä näin hyödyntämään isäntälajin sosiaalista käyttäytymistä omiin tarpeisiinsa. Tälle sosiaalisuuden manipulaatiolle perustuu koko sosiaaliparasitismien ilmiö, mikä tekee siitä evolutiivisesti kiehtovan aiheen.

Tämä yksinkertaistettu selitys ei sisällä paljoa yksityiskohtia, sillä sosiaaliparasitismien muodot vaihtelevat hyvin paljon loislajin (ja osittain isäntälajin) mukaan. Siinä missä yksi loinen soluttautuu isäntäpesään ja saa työläiset syöttämään sitä, toinen taistelee tiensä pesän sisään ja ryöstää isäntälajinsa jälkikasvun. Kehittyneitä loisia kuitenkin yhdistää Emeryn säännöksi kutsuttu ilmiö, joka ilmenee loisten läheisenä sukulaisuutena isäntälajiensa kanssa. Monet havainnoistamme sosiaaliparasitismien mekanismeista perustuvat Emeryn sääntöön. Erityisesti muurahaisissa sosiaaliparasitismia aiheuttavat mekanismit ovat yhtä monipuolisia kuin ne ovat mielenkiintoisia, ja näihin mekanismeihin johtaneet evolutiiviset polut sekä geneettiset tekijät ovat kiinnostaneet tutkijoita Darwinin ajoista lähtien.

Tässä kandidaatin tutkielmassa tulemme käsittelemään useita viimeaikaisia löytöjä muurahaisten sosiaaliparasitismien tutkimuksessa, keskittyen erityisesti genomiseen näkökulmaan. Näihin aiheisiin kuuluvat muun muassa orjuuttajamuurahaisten evoluutiohistoriat fylogenetisten puiden avulla selvitettyinä, keskittyen erityisesti orjuuttamiseen johtaviin adaptaatioihin. Myös geenitason evoluutio ja geeniekspression muutokset siirtymässä aitososiaalisuudesta parasitismiin ovat käsittelyn alla, sekä muutokset orjuuttaja-isäntäparien käyttäytymisfenotyypeissä eri parasiittiprevalenssien alueilla. Lopuksi käsittelemme matalasta populaatiokoosta johtuvan genomisen rappeuman läsnäoloa inkviliineissä pesäloisissa.

## Sosiaaliparasitismien tyypit ja terminologia

Muurahaisten sosiaaliparasitismi esiintyy useassa eri muodossa, orjamurahaisten pidosta isäntälajin työläisten ”ryöstämiseen” pesän suuaukolla tai isäntäpesässä kuningattaren esittämiseen. Parasitismi jaetaan täten erilaisiin alatyyppeihin metodin perusteella. Käytettävä terminologia itsessään on joskus hankala kiistattomasti selvittää; vielä nykyäänkin muurahaisten sosiaaliparasitismien tutkimuksessa tapahtuu synonyymien törmäyksiä ja termeistä väittelyä, kuten esimerkiksi ”orjuuttajamurahaisia” on yritetty uudelleennimetä ”piraattimurahaisiksi” ilman suurta menestystä (Buschinger, 2009). Perimmiltään samat ilmiöt voivat kulkea eri nimillä tutkijasta riippuen. Toisaalta koko tieteenalan monipuolisuuden ja suuren muurahaislajimäärän takia tarkkojen termien säätäminen on ollut kriittisen tärkeää valtavan tietomäärän lajittelemiseksi. Tulen viittaamaan paljon B. Hölldoblerin & E. O. Wilsonin kirjaan *The Ants* (Hölldobler & Wilson, 1990) tämän perustiedon varmistamiseksi, erityisesti lukuun 12. *Symbioses among ant species*.

Ainoa todellisesti yhdistävä tekijä muurahaisten eri sosiaaliparasitismien välillä on ekolokeron perusrakenne, jossa loislaji on riippuvainen yhdestä tai useammasta isäntälajista selviytyäkseen. Asioiden selkeyttämiseksi jaan sosiaaliparasitismien kahteen eri alalajiin, jotka Hölldobler & Wilson nimeävät yhteis- ja sekakolonioiden parasitismeiksi. Yhteiskolonioissa kaksi tai useampaa muurahaislajia elävät hyvin lähekkäisissä olosuhteissa, joskus jopa osittain samojen seinien sisällä, mutta pitävät jälkikasvunsa erillään. Yhteiskoloniat ovat yleisiä ja voivat olla seurausta joko yhteensattumasta tai parasitismistä. Sekakolonioissa eri muurahaislajit elävät niin lähekkäin toisiaan, että eri lajien jälkikasvut kasvavat yhdessä ja niistä pidetään huolta kommunaalisesti. Sekakoloniat eivät ole koskaan yhteensattuman tuloksia, vaan viittaavat parasitismien läsnäoloon.

Hölldobler & Wilson jakavat näissä yhteiskunnissa tapahtuvat vuorovaikutukset vielä tarkempisiin kategorioihin. Yhteiskolonioissa tyypillinen parasitismien tyyppi on kleptobioosi, missä pienet loismurahaiset rakentavat pesänsä lähelle isäntälajinsa pesää ja varastavat ruokaa joko isäntäpesän tunkiosta tai suoraan pesäänsä palaavilta työläisiltä. Kseno- ja lestobioosissa sen sijaan loismurahaiset elävät isäntäpesän seinissä ja lähtevät liikkeelle joko varastaakseen ruokaa, aiheuttamaan oksentamista isäntämuurahaisissa tai metsästääkseen isäntälajinsa jälkikasvua; erityisesti *Solenopsis*-suvun muurahaislajit ovat tunnettuja lestobioosin harjoittajia.

Sekakolonioiden Hölldobler & Wilson tunnustavat myöhäisen tason sosiaaliparasitismien evoluution kriittiseksi tekijäksi, ja niihin tulemme keskittymään tulevissa sivuissa. Yksi tämän parasitismien tyypeistä on duloosi, missä loismuurahaistyöläiset hyökkäävät läheisiin pesiin ja varastavat niistä koteloiden, jotka ne tuovat takaisin omaan pesäänsä. Koteloiden annetaan kehittyä ja niistä tulleet työläiset ryhtyvät töihin ruoankeruussa ja pesänhoidossa, toimien kuten ne olisivat kotipesässään. Duloottiset loistyöläiset ovat lajista riippuen joko vähäisesti tai eivät ollenkaan mukana näissä tehtävissä, mistä osittain johtuu nimitys ”orjuuttajamuurahaiset”. Tilapäinen sosiaaliparasitismi sen sijaan ei muistuta duloosia kovin paljoa; hedelmöittynyt loiskuningatar eli loisgyyni saapuu isäntäpesään ja, lepyttyään pesän työläiset eritetyn feromonin kautta, joko tappaa itse tai indusoi työläiset tappamaan alkuperäisen kuningattaren. Tämän suoritettuaan loisgyyni ryhtyy itse pesän kuningattareksi ja alkaa lisääntymään, jolloin pesästä tulee sekakolonia, kunnes alkuperäisen lajin työläiset ajan myötä kuolevat pois. Viimein, kategoriassa jota Hölldobler & Wilson kutsuvat sosiaaliparasitismien viimeiseksi tasoksi, loiskuningatar elää isäntälajinsa pesässä koko elinkaarensa. Loinen saattaa tuottaa omia työläisiään, mutta kuten duloosissa niiden määrä on vähäinen ja niiden mahdolliset työtehtävät ovat rajallisia. Riippuen lajista loisgyyni saattaa joko elää alkuperäisen kuningattaren rinnalla tai tappaa isäntäkuningattaren joko pistämällä, kuristamalla tai saamalla isäntätyöläiset avukseen. Tätä sosiaaliparasitismien tyyppiä kutsutaan englanninkielisellä termillä ”*inquilinism*” jonka olen päättänyt kääntää suomeksi inkvilinismiksi.

## **Parasiittisten lajien evolutiivinen suhde isäntiin**

Parasiittisten muurahaisten suhteesta niiden isäntälajeihin on tehty monia löydöksiä vuosien ja tutkimustyön myötä, mutta kenties tärkein yleistys tästä ilmiöstä tehtiin jo vuonna 1909 (Hölldobler & Wilson, 1990). Carlo Emeryn tekemä tutkimus oli tärkeä virstanpylväs sosiaaliparasitismien tutkimuksessa, joten hänen toteamuksensa loisten fylogeneettisestä luonteesta (vapaasti suomennettuna) ”Duloottiset ja parasiittiset muurahaiset, sekä tilapäiset että pysyvät, yleisesti tulevat niistä läheisesti sukua olevista eliöistä, jotka toimivat niiden isäntinä” on osoittautunut kriittiseksi havainnoksi alalla. Tämä toteamus, joka myöhemmin sai kutsumanimen ”Emeryn sääntö” on osoittautunut todeksi erityisesti inkviliniinien keskuudessa. Poikkeukset sääntöön esiintyvät lähinnä yhdistelmäpesien parasitismissa, mikä tapahtuu lähinnä eri sukua tai jopa eri alaheimoa olevien muurahaisten tapauksissa. Läheisemmin sukua olevat loiset todennäköisemmin asettuvat sekakolonioiden parasitismiin, joissa poikkeuksia sääntöön esiintyy paljon harvemmin.

Syitä, miksi Emeryn sääntö pätee niin usein, on esitetty ajan myötä. Hölldobler & Wilson luettelevat sekä allopatrisen että sympatrisen lajiutumisen mahdollisiksi syiksi. Allopatrisessa lajiutumisessa jokin geografinen este kehittyy, joka aiheuttaa populaation jakautumisen kahteen ryhmään, kunnes myös geneettinen lisääntymisestä kehittyy. Sympatrisen lajiutuminen muistuttaa allopatrista, mutta siinä geografista fragmentaatiota ei tarvita, sillä tietty määrä samantyyppisiä mutantteja voi luoda oman lisääntyvän populaationsa. Jos isäntälajista eriytynyt uusi laji erikoistuu sen loiseksi, Emeryn sääntö luonnollisesti täyttyy.

Jotkin tutkijat kuten Bourke & Franks (1991) erottelevat tämän lisäksi ”löysän” ja tiukan Emeryn säännön välillä. Tiukka Emeryn sääntö vaatii, että sosiaaliparasiitin lähimmän fylogeneettisen sukulaisen täytyy olla sen isäntä. Tiukalle Emeryn säännölle löytyy poikkeuksia, kuten aiemmin mainitut yhdistelmäpesän parasitit, mutta se toimii hyödyllisenä ja toisinaan totena nollahypoteesina. Löysä Emeryn sääntö vaatii vain, että sosiaaliparasiittinen laji on sukua isäntälajilleen – toisin kuin tiukan säännön tapauksessa, löysää sääntöä noudattavat käytännössä kaikki sekakolonioiden loiset. Erottelu näihin kategorioihin auttaa erityisesti, kun halutaan selvittää sosiaaliparasiiteista ovatko ne interspesifisiä (eri lajista lajiutunut) vai intraspesifisiä (isäntälajista lajiutunut) (Bourke & Franks, 1991).

### **Miten parasitismi kehittyy**

Emeryn säännön ymmärtäminen auttaa sosiaaliparasitismiin johtaneen kehitysreitin selvittämisessä, mutta se ei yksinään riitä. Intraspesifisen parasitismien hypoteesi kertoo vain loisen alkuperän, mutta ei mitään sen kehityksestä nykyiseen muotoonsa. Esimerkiksi duloottisten muurahaisten keskuudessa, monia mahdollisia selityksiä orjuuttamisen alkuperälle on esitetty jo 1800-luvulta saakka; Romiguier ym. (2018) listaavat artikkelissaan, kuinka esim. Charles Darwin (1859) ehdotti teoksessaan ”On the Origin of Species” orjuuttamisen *Formica*-suvussa olleen seurausta saalistuksesta, jossa osa isäntämuurahaisista ei joutunut syödyiksi mikä johti tahattomaan orjuuttamiseen. Muita teorioita esittivät myöhemmin mm. Santschi vuonna 1907 ja Buschinger vuonna 1970, ehdottaen että saalistuksen sijaan joko tilapäinen parasitismi, territoriaalisuus tai polydomia eli monipesäisyys voisivat toimia väliaskeleina orjuuttamiseen. Oikean hypoteesin löytäminen näiden joukosta vaatisi *Formica*-suvun (kekomuurahaisten) fylogenen tarkempaa tuntemusta, mistä syystä Romiguier ym. lähtivät selvittämään suvun fylogeneettistä puuta jatkotutkimuksen hyväksi.

Tarkoituksena oli myös selvittää, onko parasiittinen alasuku *Raptiformica* monofyleettinen vai ei – toisin sanoen, onko tilapäisen parasitismien kehittyminen tismalleen yhden kerran *Raptiformica*-alasukussa johtanut orjuuttamiseen, vai onko tilapäinen parasitismi sekä orjuuttaminen kehittynyt useaan kertaan toisistaan riippumatta. Monofyleettisen *Raptiformica*-alasukun löytäminen tukisi hypoteesia tilapäisen parasitismien tärkeydestä duloosin kehittämisessä. Kladi, joka yhdistäisi useita monipesäisiä lajeja sisältävät alasukut *Raptiformica*, *Coptoformica* sekä *Formica s. str.* olisi myös tärkeä todiste monipesäisyyden merkitykselle orjuuttamisen kehittämisessä.

Fylogeneettinen puu rakennettiin kymmenen lajin perusteella alasukuista *Raptiformica*, *Coptoformica*, *Formica s. str.* ja *Serviformica*. Matriisit muodostettiin ortologisista geeneistä ja ne analysoitiin kolmella eri menetelmällä (*RAxML*, *PhyloBayes* ja *MP-EST*) puun rakentamiseksi. Kaikki menetelmät tuottivat erittäin samanlaisia puita – ainoat erot olivat *Formica s. str.*-alasukun sisällä läheisesti sukua olevien lajien asettelussa, mikä ei vaikuttanut yllä mainittuihin hypoteeseihin. Odotusten mukaan, *Raptiformica* muodosti monofyleettisen alasukun, ja tilapäistä parasitismia sekä duloosia esittävät alasukut muodostivat kiistattoman, monofyleettisen kladin. Kladille yhteisiä piirteitä ovat itsenäisen pesänmuodostuksen mahdollistavien vaistojen menettäminen sekä monipesäisyys, joten rakennettu puu tukee Santschin ja Buschingerin hypoteeseja sekä hypoteesia tilapäisen parasitismien välivaiheesta duloosiin kehittyessä. *Serviformica*-alasuku kiintoisesti ei ollut monofyleettinen lainkaan, joten on todennäköistä, että *Formica*-suvun esi-isät pystyivät muodostamaan itsenäisesti pesiä.

*Formica*-muurahaisten fylogeniaa selvittivät myös Borowiec ym. (2021) muutamaa vuotta myöhemmin, laajentaen puun muodostukseen käytettävien lajien kirjon koko *Formica*-sukuun. Tarkoituksena oli selvittää intra- ja interspesifisen lajiutumisen vaikutusta kyseisen suvun kehitykseen sekä tarkastella syvemmin käytöksellistä siirtymää aitososiaalisuudesta sosiaaliparasitismiin. Puun muodostamiseen käytettiin *IQ-TREE*-menetelmää, ja data sisälsi 101 *Formica*-suvun lajia sekvensoituna.

Lopullisesta fylogeneettisestä puusta Borowiec ym. pystyivät johtamaan useita tärkeitä johtopäätöksiä. Saatu puu tukee *Formica*-suvun yhteisen esi-isän kykenevyyttä luoda pesiä itsenäisesti, kuten Romiguier ym. (2018) myös huomasivat omissa fylogeniassaan. Suvun monipesäisyys ja fakultatiivinen monikuningattarisuus vaikuttivat myös juontavan alkuperänsä tähän yhteiseen esi-isään. Pesien silmutus (engl. ”budding”) eli kuningattaren uuden pesän perustaminen omaa lajia olevien työläisten avulla oli todennäköisesti väliaskelena

pesänmuodostukseen heterospesifisten työläisten avulla, ja kapasiteetti itsenäiseen pesänmuodostukseen menetettiin (eli tilapäinen parasitismi kehittyi) fylogeneettisen puun mukaan noin 18 milj. vuotta sitten.

*Formica*-suvun duloottiset lajit osoitettiin jälleen monofyleettisiksi, joten orjuuttamisen evoluutio kerran suvun kehityshistoriassa (todennäköisesti enemmän kuin 14 milj. vuotta sitten, tilapäisen parasitismien kehittymisen jälkeen) vaikuttaa uskottavalta. Orjuuttajamuurahaiset kehittyivät todennäköisesti siis tilapäisistä parasiiteista, tukien Santschin hypoteesia. Duloottisista muurahaisista ei saatu paljoa lisätietoa liittyen toisiin aiemmin esiteltyihin hypoteeseihin, mutta orjuuttajamuurahaisten yhteisen esi-isän monipesäisyys, monikuningattarisuus ja ehdollinen predaatio mahdollistaisi niiden kaikkien pätevyyden hypoteettisella tasolla. Borowiec ym. kuitenkin muistuttavat, että duloosi on kehittynyt konvergentisti useaan kertaan eri suvuissa muurahaisten keskuudessa, joissain tapauksissa ei-saalistavissa lajeissa; on mahdollista, että näissä lajeissa monipesäisyys ja territoriaalisuus ovat olleet suuremmassa osassa orjuuttamisen kehitystä.

Tutkituista *Formica*-suvun muurahaisista vain yksi oli inkviliini loinen. Tämä muurahaislaji, *F. talbotae*, on ilmeisesti erikoistunut valtaamaan kuningattarettomia pesiä mikä on harvinainen strategia inkviliineissä loisissa. *F. talbotae* sijoittui puussa tilapäisen parasitismien kehittäneen kladin sisään, antaen empiiristä todistusaineistoa hypoteesille, joka esittää inkvilinismien kehittyneen tilapäisestä parasitismista.

Leppänen ym. (2015) tutkivat siloviholaisen *Myrmica rubra* sosiaalisten eli ei-parasiittisten yksilöiden sekä selvästi läheisesti sukua olevien loisten välisiä samankaltaisuuksia sekä eroja geneettisin menetelmin. Emeryn säännön läsnäolo tapauksessa on selvä: kyseiset loiset ovat sympatrisesti eroutuneet isäntälajistaan, ja ovat joko lajiutuneet tai vieläkin lajiutumassa. Siloviholaisella on useita eri loislajeja, mutta tässä artikkelissa kyseessä olevat parasiitit olivat inkviliinejä pienoiskuningattaria eli mikrogyynejä, jotka asuvat ja lisääntyvät pesän sisällä. *M. rubra* on monikuningattarinainen laji, joten kuningatarloisten läsnäolo pesässä ei välttämättä johda pesän epäonnistumiseen. Näiden mikrogyynien statusta joko omana lajinaan eli *M. microrubra*:na tai osana siloviholaisia on väitelty puolin sekä toisin, kuten Leppänen ym. huomauttavat, joten aiheen geneettiseen tutkimukseen liittyi oleisesti myös kysymys lajinmuodostumisesta.

Ottamalla näytteitä 80 pesästä 11 eri paikalta ympäri Etelä-Suomea, Leppänen ym. analysoivat mikrogyynien, makrogyynien eli isäntäkuningattarien sekä työläisten välisiä geneettisiä eroja. 21 mikrosatelliittilokusta tutkittiin ja näiden lokusten alleelifrekvensseistä huomattiin, että vaikka kuningatarttyypit kuuluivat selvästi eri geneettisiin rykelmiin, mikro- ja makrogyynit sekä työläiset jakoivat 68% testatuista alleeleistaan. Kuningatarttyyppien välinen  $F_{ST}$  (fiksaatioindeksi, vaihtelee nolasta yhteen ja mittaa populaatioiden välistä geneettistä eroavuutta) oli myös noin 0.6 – arvo on selvästi nolaa korkeampi, mutta ei niin korkea että geenivirran loppuminen morfien välillä olisi tapahtunut kovin kauaa sitten. Pieni osa tutkituista työläisistä myös kiintoisasti jakoi geneettistä affiniteettia loisten kanssa; on mahdollista, että osa mikrogyyneistä onnistui vielä synnyttämään työläisiä, mikä myöskin viittaisi parasiittiseen elämäntapaan siirtymisen olleen evolutiivisesti viimeaikainen muutos. Mikrogyynien keskuudessa Leppänen ym. myös huomasivat, että useat yksilöt olivat mikrosatelliittilokuksiltaan toisilleen geneettisesti identtisiä; tämä havainto saattaisi mahdollisesti viitata thelytokiseen lisääntymiseen loispopulaatiossa, mikä on itsehedelmöityksen tyyppi, joka tuottaa vain naaraita. Tätä todennäköisemmin se on kuitenkin vain matalan geneettisen variaation syytä seksuaalisesti lisääntyvässä populaatiossa.

Alleelisen datan perusteella tutkijat päätyivät kuitenkin lopputulokseen, että tutkitut loismuurahaiset eivät geneettisesti eronneet sosiaalisista *M. rubra*-yksilöistä tarpeeksi ollakseen muodostanut omaa lajiansa vielä. Inkviliinit loiset olivat selvästi vieläkin sympatrisen lajiutumisen prosessissa, ja vaikka ne olivat enimmäkseen reproduktiivisesti isoituneita makrogyyneistä, ne toisinaan hybridisoituivat isäntiensä kanssa.

On siis selvää, että inkvilinismiin, duloosiin ja tilapäiseen parasitismiin on useita mahdollisia evoluutiopolkuja. Erityisesti *Formica*-suvun muurahaisten tapauksessa tilapäinen parasitismi on toiminut välivaiheena toisille sosiaaliparasitismien muodoille, ja tiettyjen avainominaisuuksien kehitys tai menetys on tapahtunut kerran loisten evoluutiohistoriassa. Tällaisissa tapauksissa monipesäisyyden, monikuningattarisuuden, territoriaalisuuden sekä metsästyskäyttäytymisen vaikutus evoluutioon on relevantti näkökulma. Toisaalta *Myrmica rubra*-lajin kaltaisessa tapauksessa, jossa selvästi sympatrisen lajiutuminen on vieläkin prosessissa muutoin aitososiaalisesta muurahaishajista, tällainen fylogeneettinen tarkastelu ei ole kovin hyödyllistä aiheen tutkimuksen kannalta. Tällainen tapaus kuitenkin toimii erinomaisena esimerkkinä tiukimmasta mahdollisesta Emeryn säännöstä. *M. rubra* on toisaalta monikuningattarinen laji, joten lisätutkimus monikuningattarisuuden vaikutuksesta

inkvilinismien kehitykseen saattaisi tuottaa kiintoisia tuloksia. Samoin, *Formica*-suvulle tehtyjen fylogeneettisten puiden kaltainen analyysi muista sosiaaliparasitismia esittävistä muurahaissuvuista olisi mielenkiintoinen lisätutkimus, varsinkin aiemmin mainittujen hypoteesien testaamisen kannalta.

## Sosiaaliparasitismien genomiikka

Siinä missä genetiikan tutkimus perustuu DNA:n funktionaalisten alueiden (geenien) löytämiseen ja niiden tuotteiden tai tarkoitusten selvittämiseen, genomiikka siirtää tutkimuksen pääpainon yksittäisistä geneista ja niiden vaikutuksista kokonaisuun kromosomeihin ja genomeihin. Laajempi skaala mahdollistaa sosiaaliparasitismille relevanttien ilmiöiden kuten geeniekspression ja geenien välisten interaktioiden tutkimisen. Sosiaaliparasitiittisten muurahaisten genomiikan tutkimuksessa on tehty useita kiinnostavia löydöksiä, joihin tutustumme nyt.

## Ekspression säätely parasitiittisissä lajeissa

Eräs alue, jossa genominen tutkimus saattaa auttaa ymmärtämään sosiaaliparasitismien ilmiöstä on tarkastellessa eroja isäntälajin ja siitä eronneen loislajin välillä. Kuten jo huomasimme *Myrmica rubra*-muurahaisten tapauksessa (Leppänen et al., 2015) jopa pitkälle kehittyneet inkviliinit loiset voivat olla vielä niin geneettisesti identtisiä isäntiensä kanssa, että niiden status omana lajinaan on kyseenalaisena. Fenotyypiset erot isännän ja loisen välillä ovat kuitenkin selviä, joten katseemme kääntyy samanlaiseen tapaukseen *Hymenoptera*-lahkossa tyypillisissä työläisten ja kuningattarien välisissä eroissa. Nämä fenotyypiset erot muurahaistien välillä voivat tapahtua joko muuttamalla monikäyttöisen geenisetin ekspressiota (esim. Toth ym. (2007)) tai myöhemmän hypoteesin mukaan ekspressoimalla täysin uutta geenisettiä (esim. Schrader ym. (2015)). Emme kuitenkaan tiedä kumpi mekanismi näistä on vaikuttanut enemmän sosiaaliparasitismien kehitykseen. Tätä kysymystä Smith ym. (2015) lähtivät tutkimaan inkviliineillä loismuurahaislajeilla *Pogonomyrmex anergismus*, *P. colei* ja *Vollenhovia nipponica* sekä niiden isäntälajeilla *P. rugosus*, *P. barbatus* ja *V. emeryi*.

Sekvensoimalla mainittujen muurahaislajien koko genomit ja käyttämällä *P. barbatus*-lajin jo aiemmin annotoitua genomia, Smith ym. (2015) vertasivat sosiaaliparasitiittisiä lajeja niiden isäntiin. Jotta hypoteesi erillisistä geeniseteistä sosiaaliparasitismien aiheuttajana voitaisiin todeta, loismuurahaisissa täytyisi ensinnäkin löytyä käytöstä poistunut geenisetti, ja tässä

geenisetissä tulisi esiintyä löystyneen valinnan aiheuttamaa sekvenssin rappeumaa. ”Kastispesifisten” geenien löytäminen tuotti kuitenkin ongelmia – geenien ekspressio vaihteli elämänvaiheesta riippuen niin paljon, että simuloidessaan puhdistavaa ja löystynyttä valintaa loipopulaatioissa tutkijat joutuivat tarkastelemaan koko genomia. Todennäköisyys että *P. colei*, *P. anergismus*, tai *V. nipponica* olisi saanut löystyneen valinnan alaisena olevaan geeniin jonkin haitallisen mutaation (joko lukukehys- tai stop-kodoni-mutaation) lähimmästä sukulaisestaan eroamisen jälkeen oli korkea – n. 68 % *Pogonomyrmex*-suvussa ja 24 % *Vollenhovia*-suvussa. Koska *Pogonomyrmex*-suvun isännät olivat lähes yhtä lähekkäin sukua toisilleen kuin loiset olivat isännilleen, vertailu voitiin tehdä ”tavallisten” ja työläiskastin menetykseen liittyvien mutaatioiden vertailemiseksi. Verrattaessa sekvenssejä, eroja haitallisten mutaatioiden määrässä isäntä-isäntä- ja isäntä-loisparien välillä ei kuitenkaan löydetty. Löystynyttä valintaa loisissa ei siis todettu. Tämän löydöksen avulla Smith ym. yhdistivät analyysissään lois-isäntäparien väliset fenotyypiset erot muutoksiin kehityksen säätelyverkoissa. He spekuloiivat, että näillä loisilla on vieläkin geneettisesti kyky tuottaa työläisiä, mutta nämä fenotyypit ovat nykyään saavuttamattomia.

Toinen tapa, jolla geeniekspressio vaikuttaa loisten ja isäntien välisiin eroihin on sosiaalisissa käyttäytymisissä. Ottamalla orjuuttajamuurahaiset havainnollistavaksi esimerkiksi, parasiittiset muurahaiset ja niiden isännät esittävät kahta eri käytöksellistä fenotyyppiä ympäristönsä perusteella: ryöstöretki- ja normaalifenotyyppiä. Orjuuttajissa ryöstöretkifenotyyppiin liittyy aktiivinen pesänvaltaus ja munien ryöstö, kun taas isäntälajeissa ryöstöretkifenotyyppi ei liity pesään hyökkäämiseen, vaan sen puolustamiseen; normaalifenotyyppiä lajiteltiin kaikki ryöstöretkien ulkopuolinen toiminta. Näiden kahden behavioraalisen fenotyypin geeniekspression välisiä eroja lois- ja isäntälajien välillä sekä sisällä Alleman ym. (2018) lähtivät tutkimaan. Tutkittavat lajit olivat orjuuttajamuurahaiset *Temnothorax americanus*, *T. pilagens* ja *T. duloticus* jotka ovat kaikki hieman erilaisia ryöstöretkitavoissaan, sekä läheisesti sukua olevat isäntälajit *T. ambiguus*, *T. longispinosus* ja *T. curvispinosus*. Käyttämällä RNA-sekvensointia muurahaisiin eri käyttäytymisfenotyypeissä, tutkijat pystyivät luomaan analyysin geeniekspressioista tutkituissa muurahaisissa.

Huomattavaa on myös, että orjuuttajien ryöstöretket tuottavat vahvoja fitness-kuluja ja täten valintapaineita isäntälajeille. Isäntämuurahaisten täytyy erikoistua puolustamaan jälkikasvuun, mistä johtuu evolutiivinen kilpavarustelu loisen ja isännän adaptaatioiden ja vasta-adaptaatioiden kautta (Foitzik ym., 2003, 2009). Jokaisella orjuuttajalla on myös oma

ryöstöretkityylinsä: *americanus*-muurahaiset suosivat feromonien käyttöä paniikin aiheuttamiseen isäntäpesässä ja estämään puolustuksen, kun taas *duloticus*-muurahaiset tyypillisesti pistävät kaikki isäntäpesän puolustajat kuoliaaksi ennen koteloiden viemistä, aiheuttaen vakavia vahinkoja paikallisille kolonioille. *T. pilagens*-muurahaiset ovat näiden kahden välimaastossa, joskus kyeten suorittamaan ryöstöretkensä ilman taisteluita ja viemään jopa aikuisia työläisiä takaisin pesäänsä ja joskus joutuen turvautumaan puolustajien pistämiseen (Feldmeyer ym. 2017).

Ekspressioltaan eroavia geenejä löytyi tutkituista muurahaisista yhteensä 4078. Tarkastellessaan dataa Alleman ym. huomasivat, että orjuuttajamuurahaisilla oli molemmissa fenotyypeissä yhteensä suurempi suhde ekspressioltaan eroavia geenejä koko genomiinsa verrattuna kuin isäntämuurahaisilla. Niillä oli kuitenkin myös pienempi suhde voimistavasti säänneltyjä geenejä ryöstöretkifenotyypissä kuin normaalifenotyypissä. Toinen kiintoisa tulos analyysistä oli, että orjuuttajamuurahaiset jakoivat keskenään lähes kaikki voimistavasti säädellyt funktionaaliset geenit normaalifenotyypeissään – *T. duloticus* erikoisesti jakoi koko funktionaalisen repertuaarinsa toisten orjuuttajien kanssa normaalifenotyypissä.

Loiset jakoivat ryöstöretkifenotyypissään paljon vähemmän voimistavasti säädeltyjä geenejä kuin normaalifenotyypissä. Nämä tulokset selittyvät tutkittujen orjuuttajien erilaisilla ryöstöretkistrategioilla, jotka luonnollisesti vaativat erilaisia säätelytapoja. Isäntälajeissa jaettuja ekspressioltaan vaihtelevia geenejä ei ollut lähes ollenkaan kummassakaan fenotyypissä, minkä tutkijat tulkitsivat olevan merkki orjuuttajamuurahaisten aiheuttamasta valintapaineesta; adaptaatiot pesänpuolustukseen ovat pieniä, lajikohtaisia ja nopeasti toimeenpantavia.

*Temnothorax*-muurahaisten geeniekspression aihepiiristä jatkoivat Kaur ym. (2019), keskittyen erityisesti lois-isäntäpariin *T. americanus* – *T. longispinosus*. Aiemmin mainitut valintapaineet ovat aiheuttaneet muutoksia isäntäpesien tiheydessä ja koossa, sekä adaptaatioita isäntämuurahaisten puolustus- ja allokaatiostrategioissa. Pienet pesät alueilla, jotka eivät koe suurta loisprevalenssia, tyypillisesti vastaavat hyökkäyksiin taistelemalla. Isommat pesät samalla alueella sen sijaan ovat passiivisempia. Korkean loispaineen alueilla tämä ilmiö on toisin päin: pienet pesät suhtautuvat passiivisemmin orjuuttajiin, mutta aktiivisten puolustajien määrä kasvaa pesän koon kasvaessa. Aggressio isännissä myös yleisesti lisääntyy loisten aiheuttaman paineen kasvaessa. Loisisa koevoluution merkkejä korkean prevalenssin alueilla esiintyy sellaisten feromonien tuottona, jotka joko auttavat *americanus*-muurahaisia kulkemaan

isäntämuurahaisten joukossa tulematta tunnistetuksi tai aiheuttamaan taisteluja puolustajien keskuudessa.

Koska *americanus*-muurahaisten aiheuttama valintapaine vaihtelee eri alueiden välillä, Kaur ym. odottivat löytävänsä isännistä voimistavasti säänneltyjä aggressiogenejä ryöstöretkifenotyypistä korkean valintapaineen alueilta. He myös odottivat löytävänsä eroja tunnistusferomonien tuotannosta orjuuttajamuurahaisissa korkean ja matalan loisprevalenssin alueilta. Tutkijat havaitsivat orjuuttajien tuottamien feromonien määrän todellakin vähenevän niiden prevalenssin alueella kasvaessa. Samoin, parasiittien prevalenssi parasiittipopulaatiossa johti vaihteleviin geeniekspressioihin isännissä; korkean prevalenssin populaatioissa yliekspressoituvat geenit olivat osittain samoja kuin ei-hyökkäävissä isännissä yliekspressoituvat geenit, ja samanlainen kytkös huomattiin matalan prevalenssin populaatioiden sekä hyökkäävien isäntien väliltä. Monen havainnon tulkitseminen vaikutti olevan riippuvainen oletuksesta, että korkea loisprevalenssi loispopulaatiossa oli merkki orjuuttajamuurahaisten ekologisesta onnistuneisuudesta alueella. Itse prevalenssi isäntäpopulaatiossa ei kiintoisasti kuitenkaan tässä tutkimuksessa vaikuttanut yhtä paljoa geeniekspressioihin – eli aiemmin spekuloitu loisten aiheuttama valintapaine ei vaikuttanut läheskään yhtä paljon isäntiin kuin loisten ekologinen onnistuneisuus alueella.

Tunnistusferomonien konsentraatio orjuuttajien kutikuloilla ja isäntien keskuudessa taisteluita aiheuttavaa feromonia erittävän Dufour-rauhasen tuotanto olivat korreloituneita loisten onnistuneisuuden kanssa. Aiemmin havaittu korrelaatio pesän koon ja isäntäaggressiivisuuden välillä eri prevalensseilla vaikutti olevan kaksisuuntaista: matalan prevalenssin alueilla isompi pesä ei auttanut sillä orjuuttajien selvät feromonit levittyvät vain paikallisesti ja taistelulle avoin tila ei lisääntynyt, mutta korkean prevalenssin alueilla orjuuttajien kemiallinen sodankäynti oli tehokkaampaa ja erityisesti pieniin pesiin soluttautuminen oli helppoa.

Yliekspressoituneisiin geneihin isännissä kuului useita aggressiivisuuden säätelyyn vaikuttavia genejä, kuten glutamaatti[NMDA]reseptorin aliyksikkö 1, joka yliekspressoitui onnistuneiden orjuuttajien alueella elävissä isännissä, ja joka on myös yhdistetty mm. hyvin aggressiivisiin afrikkalaistuneihin mehiläisiin. Kaur ym. yhdistivät tämän geenin voimistuneen säätelyn onnistuvien loisten alueella *americanus*-muurahaisten edistyneeseen soluttautumiseen. Aggressiivisuuteen liittyvien geenien ekspresio ei välttämättä vihjaa tämän aggressiivisuuden kohdistuvan loisiin, ja tämän takia vahvaa kytköstä hyökkäävissä isännissä yliekspressoituviiin geneihin ei ollut. Ekspressiomuutokset ulottuivat myös

histonimodifikaatioihin liittyviin geeneihin, jotka ovat tärkeitä käyttäytymisen joustavuudelle. Tämä selittää, miksi parasiittien kohtaamisesta johtuva käyttäytymismuutos isäntämuurahaisissa kesti yli kaksi viikkoa eikä päättynyt kontaktin loppuessa.

Yleisellä tasolla, Kaur ym. onnistuivat selvittämään, että *Temnothorax longispinosus*-muurahaisten interaktiot *T. americanus*-orjuuttajien kanssa riippuvat enemmän parasiitin ekologisesta onnistuneisuudesta kuin parasiittien aiheuttamasta paineesta. Samanlaisia ilmiöitä saattaa esiintyä muissakin *Temnothorax*-suvun isäntä-loispareissa, kuten niissä, joita Alleman ym. tutkivat. Isäntien ja loisten välisten interaktioiden vaikutusta geeniekspressioon voitaisiin käyttää muurahaisten genomiikan ymmärryksen yleiseen parantamiseen. On selvää, että kontakti loisten kanssa aiheuttaa ekspressiomuutoksia *Temnothorax*-isäntien aivoissa jotka johtavat kohonneeseen aggressioon, ja että nämä ekspressiomuutokset ovat lajikohtaisia ja evolutiivisesti hyvin muokattavia. On myös todennäköistä, että *Pogonomyrmex*-suvussa esiintyvää, ekspressiomuutoksiin pohjautuvaa fenotyypistä vaihtelua esiintyy muissakin suvuissa, mikä tuo joitakin mielenkiintoisia hypoteeseja pöydälle: jos osaisimme käsitellä ekspressiota paremmin keinotekoisesti, olisiko mahdollista ”ohjelmoida” *Temnothorax*-orjuuttajia takaisin loisista sosiaalisiksi?

### **Geenien valinta ja menetys loisissa**

Ekspressiomuutosten lisäksi parasiittilajeissa tapahtuu myös huomattavia geneettisiä muutoksia. Geenien pudotessa pois puhdistavan valinnan alueelta tai tullessa erilaisen valinnan alaiseksi, niihin kerääntyvien mutaatioiden määrä muuttuu ajan saatossa. Esimerkiksi aiemmin tarkastelluissa *Temnothorax*-orjuuttajissa, loisen elämäntapaan transitiosta johtuva isäntälajista poikkeava ekspressiosäätely tuottaa ja on todennäköisesti tuottanut sekä vahventuneen että löystyneen valinnan alueita genomiin: geeni, jota säädellään hiljentyvästi, on todennäköisempi tulemaan löystyneen valinnan alaiseksi, ja vastapainoisesti loisen ekolokeron hyödyntämiselle tärkeä geeni on todennäköisemmin voimistuneen ekspression ja valinnan alaisena. Tämä yksinkertaistettu päättely on pätevä nykyisen luonnonvalinnan ymmärryksemme mukaan, mutta ilman empiiristä dataa emme voi varmuudella sanoa näin tapahtuvan. Emme voi myöskään tietää, mitkä geenit ovat muuttuneet lajeissa ilman genomien vertailua. Joudumme siis siirtämään huomionsiimme geenivalintaan ja sen vaikutuksiin.

Edeltäen osaa aiemmin tutkituista artikkeleista *Temnothorax*-orjuuttajista, Feldmeyer ym. (2017) tekivät selvitystä koko genomien valintakohteiden muutoksista transitiossa parasiittiseen

elämäntyyliin vertailemalla samoja lois-isäntäpareja kuin Kaur ym. tulisivat tutkimaan kahta vuotta myöhemmin. Odotuksena oli löytää valinnan todisteita geneeissä liittyen tunnistukseen sekä puolustus- tai ryöstöretkikäyttäytymiseen. Toinen tutkimuksen kohde oli saada selville, kuinka suuren osan sosiaaliparasitismien geneettisestä perustasta eri orjuuttajat jakoivat vertailemalla niitä keskenään. Aiemmin käsitelty tutkimus *Pogonomyrmex*- ja *Vollenhovia*-loisiin (Smith ym., 2015) ei löytänyt todisteita geneettisestä evoluutiosta parasiittiseen elämäntapaan siirtyessä, mutta suoraa vertausta *Temnothorax*-sukuun ei voida tehdä näistä tuloksista.

Feldmeyer ym. keräsivät muurahaisia New Yorkin, Ohion ja Michiganin osavaltioista ja lukivat niiden transkriptomien sekvenssit analyysiä varten. Yhteensä 574 positiivisen valinnan alla olevaa geeniä löydettiin lois-isäntäpareista; 309 orjuuttajiin johtavista oksista ja 161 isäntiin johtavista oksista. *T. americanus*-lajiin johtavasta oksasta löydettiin mielenkiintoisesti neljä kertaa enemmän positiivisesti valittuja geenejä kuin kummastakaan evolutiivisesti nuoremmasta, strategialtaan vähemmän kehittyneestä *T. duloticus*- tai *T. pilagens*-lajista. Vertaillessa sekä isäntien että orjuuttajien sisällä, lajien välillä jaettujen positiivisesti valittujen geenien määrä oli alempi kuin pelkkä todennäköisyys olisi ennustanut. Jaettujen positiivisesti valittujen biologisten ketjujen (geenien, joiden tuotteet indusoivat toistensa transkriptiota) määrä oli vastapainoisesti korkeampi kuin todennäköisyys olisi johtanut odottamaan. Yhden isäntä-loisparin sisällä (*T. americanus* – *T. longispinosus*) yhteisten positiivisesti valittujen ketjujen ja geenien määrä oli odotettua korkeampi; pieni määrä konvergenttia evoluutiota oli odotettavissa feromonitunnistukseen liittyvissä adaptaatioissa, mutta biologisen kilpavarustelun aiheuttaman koevoluution ei muuten odotettaisi johtavan korkeaan määrään yhteisiä positiivisen valinnan kohteita.

Orjuuttajissa positiivisesti valittuihin geneihin kuului erityisesti esimerkiksi DNAJ-kaltaisten proteiinien alaheimon lämpöshokkiproteiinien homologeja; ihmisissä nämä ovat osa stressivastetta, joten Feldmeyer ym. arvelivat niiden liittyvän korkeaa stressiä aiheuttaviin ryöstöretkiin. Sirkadiaanista rytmiä säätelevissä proteiineissa oli myös valintaa, johtuen todennäköisesti orjuuttajatyöläisten omituisesta aktiivisuuskuviosta, jossa ne ovat aktiivisia vain kesän ryöstöretkisesongilla ja riippuvaisia orjista muun osan ajasta. Kaksi proteiinia liittyen kutikulan hiilivetysynteesiin (todennäköisesti liittyen isäntäpesän puolustajien huomatuksi tulemisen välttämiseen) olivat myös osallisina muutoksessa parasiittiseen elämäntyyliin. Isäntälajeissa *tachykinin*-niminen aggressiivisuutta säätelevä geeni oli

positiivisesti valittu korkean loisprevalenssin alueilta, osoittaen kiintoisan kytköksen Kaurin ym. tekemiin havaintoihin *Temnothorax*-isäntien aggressiivisuudesta. Valinta orjuuttajaisäntäpareissa ei osoittanut läheskään yhtä monia jaettuja valinnan kohteita; geenitasolla kongruenssia ei ollut ollenkaan joissain pareissa, ja ketjutasolla ainoat kiintoiset löydöt olivat *T. duloticus* – *T. curvispinosus* -parista löytyneissä metaboliseen ja oksidatiiviseen stressiin liittyvissä biologisissa ketjuissa. Tutkijat tulkitsivat löydöksen johtuvan tämän kyseisen parin asuttamasta spesifisestä elinympäristöstä.

Geneettisen evoluution seurauksena voi löytää myös genomista rappeutumista löystyneen valinnan alueilta, kuten Schrader ym. (2021) huomasivat tutkiessaan inkviliinejä loisia *Acromyrmex*-suvusta. Tämä löystynyt valinta tapahtuu isäntälajispesifisissä toiminnoissa kuten sosiaalisuudessa ja hajutunnistuksessa, joita loislaji ei enää käytä ekolokerossaan, ja jotka putoavat pois tasapainottavan valinnan alueelta. Rappeutumista pahentaa myös inkviliinien loisten laikuttaiset levinneisyysalueet, matala efektiivinen populaatiokoko ja sisarten välillä usein tapahtuva lisääntyminen isäntäpesissä, mikä johtaa genomeihin, joissa on paljon lievästi haitallisia mutaatioita ja joiden elintärkeät funktiot ovat ainoita aktiivisen valinnan alla olevia. Schrader ym. sekvensoivat neljän *Acromyrmex*-suvun muurahaislajin genomit ja analysoivat ne etsiäkseen tätä odotettua rappeutumista.

Sekvensoinnissa mukana olevista muurahaisista kolme (*Acromyrmex charruanus*, *A. insinuator* ja *Pseudoatta argentina*) olivat inkviliinisiä loisia, ja yksi (*A. heyeri*) oli isäntälaji kahdelle tutkituista loisista. Analyysiin sisällytettiin myös kolmannen loisen isäntälaji, *A. echinator*, jonka genomi oli sekvensoitu ja julkaistu aiemmin. Tarkastelemalla isäntä-loispareja, empiiristä todistusaineistoa saatiin efektiivisen populaatiokoon pienuudesta ja koko genomien kattavasta valinnan löystymisestä loisissa isäntälajeihin verrattuna.

Käyttämällä *Atta colombica*-lajia ulkoryhmänä, Schrader ym. selvittivät geenimenetyksen määrän loislajeissa. Sekä *A. insinuator* ja *P. argentina* osoittivat loisille tyypillistä ja odotettua geenimenetystä, mutta *P. argentinan* sisarlajiin *A. charruanus* johtanut oksa oli kiintoisesti tuottanut enemmän geenejä kuin menettänyt niitä. Jokin selvästi aiheutti erilaisen geeniperheeseen evoluution *A. charruanus*-lajissa tämän lajiutumisen jälkeen. Hypoteesiksi tälle tapahtumalle esitettiin joko optimaalisen fitnessin (”fitness-tasauman”) saavuttamista *A. charruanus*-lajissa hieman geenivirran loppumisen jälkeen *P. argentina*-lajin kanssa, tai *A. charruanus*-loisten jotenkin hybridisoituneen tai introgressoituneen isäntänsä kanssa. Kumpaakaan hypoteesia ei voitu kuitenkaan todistaa ilman lisätutkimusta.

Tutkittaessa menetettyjä geenejä tarkemmin, Schrader ym. myös todistivat menetysten kohdistuneen tiettyihin geeniperheisiin. Gustatoriset reseptorit (kemiallinen kommunikaatio) ja Major Royal Jelly -geeniperhe (tärkeä kastimääräytymiselle) osoittivat geenimenetyksen merkkejä kiintoisasti vain *P. argentina*-lajissa. Hajureseptoreita koodaava geeniperhe (Olfactory Receptors, OR) sen sijaan koki huomattavia menetyksiä kaikissa tutkituissa lajeissa, mikä heijasti niiden vähentyntä tarvetta vastaanottaa sosiaalisia signaaleja. Erityisesti evolutiivisesti nuoret geenit tässä perheessä, kuten *Acromyrmex*- ja *Atta*-sukujen sosiaalisten esi-isien kehittämät OR-geenit, olivat kohteina geenimenetykselle. Eniten elintavoiltaan erikoistunut laji, *P. argentina*, koki suurimpia menetyksiä tässä geeniperheessä, osoittaen korrelaatiota fenotyypin erikoistumisen ja genotyypin muutoksen välillä.

Positiivinen ja löystynyt valinta eri genomien alueilla vaikuttaa siis eri loislajeihin eri tavoin. *Temnothorax*-suvun orjuuttajamuurahaisissa löydettiin todisteita jaetuista positiivisen valinnan kohteista, jotka liittyivät mm. sirkadiaaniseen rytmiin ja kutikulan hiilivetykuvioihin. Nämä geenit ja ketjut todennäköisesti liittyvät muutokseen aitososiaalisuudesta duloosiin. Isännissä tärkeä positiivisen valinnan kohde oli *tachykinin*-geeni, joka lisäsi aggressiivisuutta korkean orjuuttajaprevalenssin populaatioissa. Inkviliineissä *Acromyrmex*-loisissa sen sijaan löydettiin geenimenetyksen merkkejä etenkin sosiaalisuudelle tärkeissä geeniryhmissä kuten hajutunnistuksessa ja kemiallisessa kommunikaatiossa. Geenimenetyksen ja genomisen rappeuman määrä kiintoisasti kykeni vaihtelevaan paljon hyvinkin läheisten sukulaislajien välillä, ja menetyksen kohteina olivat epäsuhtaisen usein evolutiivisesti nuoret geenit.

Näistä tuloksista olisi houkuttavaa tehdä vertauksia inkviliinien ja duloottisten loisten välillä, mutta näin ei harmillisesti voi tehdä. Feldmeyer ym. eivät mitanneet geenimenetyksen määrää *Temnothorax*-muurahaisissa, ja Schrader ym. eivät löytäneet uusia adaptaatioita positiivisesti valituista geeneistä. Koska geneettinen drift on niin voimakasta inkviliinipopulaatioissa, on hankala löytää konvergenttia adaptaatiota eri loislajien välillä; Schrader ym. myös tuovat esille epigenetiikan mahdollisen osan tässä valinnassa ja myöntävät lisätutkimuksen tarpeen aiheesta. Tunnen samoin orjuuttajamuurahaisten geenimenetyksestä ja genomisesta rappeumasta, ja toivon että lisätutkimusta aiheeseen suoritetaan. Liian suoranaisia johtopäätöksiä ei luonnollisesti voida tehdä fenotyypeiltään ja fylogenioiltaan vahvasti eri muurahaissukujen väliltä, mutta olisi kiinnostavaa selvittää kuinka valinta kokonaisuudessaan vaihtelee eri sosiaaliparasitismien tyyppien välillä.

## Yhteenveto

Sosiaaliparasitismi on sosiaalisissa hyönteisissä kuten muurahaisissa ja muissa pistiäisissä esiintyvä ilmiö, jossa melkein aina isännälleen läheistä sukua oleva loinen hyväksikäyttää isäntälajin sosiaalisia käyttäytymisiä ravinnon, turvapaikan tai työvoiman saamiseksi. Muurahaisten sosiaaliparasitismien kirjossa voidaan tehdä jako yhdistelmäpesien ja sekakolonioiden parasitismiin, joista myöhempi sisältää evolutiiviselle tarkastelulle mielenkiintoisan inkvilinismien, duloosin ja tilapäisen parasitismien. Emeryn sääntö, eli loisen läheinen fylogeninen suhde isäntäänsä, pätee poikkeuksetta sekakolonioiden parasitismissa joko tiukkana tai ”löysänä”; tämä ilmiö mitä todennäköisimmin johtuu loisen intraspesifisestä ja sympatrisesta lajiutumuksesta isännästään.

Kehitystä ja uusia löytöjä sosiaaliparasiittisten muurahaisten evoluutiossa on tehty viime aikoina, kuten tarkastelemissamme *Formica*-muurahaisten fylogenisissä selvityksissä. *Formica*-suku sisältää useita epävirallisia alasukuja, jotka edustavat joko duloottisia tai tilapäisesti parasiittisia muurahaislajeja. Suvun duloottisten lajien kehityksestä on esitetty useita hypoteeseja viimeisen vuosisadan aikana, joiden validiutta Romiguier ym. sekä Borowiec ym. koittivat selvittää rakentamalla fylogenisia puita suvun edustajista. Tilapäinen parasitismi ja tämän jälkeen orjuuttaminen kehittyivät saatujen tulosten mukaan kerran *Formica*-suvun kehityshistoriassa, mikä tuki alun perin Santschin 1900-luvun alussa esittämää hypoteesia itsenäisen pesänmuodostuksen menetyksen tärkeydestä duloosin evoluutiossa. Monipesäisyys, territoriaalisuus, fakultatiivinen monikuningattarisuus sekä saalistus vaikuttivat myös olevan osana tässä kehityksessä, mutta niiden vaikutus orjuutuksen evoluutiossa jäi todennäköiseksi todistetun sijaan. Lisätutkimus näiden ominaisuuksien tärkeydestä tässä siirtymässä voisi olla valaisevaa hypoteesien karsimiseksi ja auttaa selvittämään duloosin evoluutiopolkua muissakin sen kehittäneissä muurahaissuvuissa.

Siirtymässä aitososiaalisuudesta parasitismiin, geeniekspression ja geneettisen evoluution osuudet fenotyyppisten erojen muodostuksessa ovat myös kiinnostuksen alue. *Hymenoptera*-laskolle tyypillinen kastien vaihtelu lajin sisällä voi tapahtua joko yhteisen geenisetin erilaisella ekspressiolla tai kokonaan eri geenisetin käytöllä, joten on luonnollista rinnastaa loisten ja isäntien väliset ekspressioerot työläisten ja kuningattarien välisiin eroihin. Smith ym. tarkastelivat tätä ongelmaa *Pogonomyrmex*- ja *Vollenhovia*-sukujen inkviliineissä loisissa eivätkä löytäneet mitään merkkiä vaihtoehdoisesta geenisetistä – loiset siis ekspressoivat samoja

geenejä kuin isäntänsä, mutta eri tavoin ja eri elämänvaiheissa. Loisten genomit olivat pikemminkin säilyneet löystyneeltä valinnalta, mikä on kiintoisaa, sillä Schraderin ym. tekemässä inkviliinien *Acromyrmex*-loisten genomisessa analyysissä huomattiin merkittävästi enemmän geenimenetystä. Inkviliinien matalat efektiiviset populaatiokoot ja elinhistoriat altistavat ne genomiselle rappeumalle, mikä näkyi odotusten mukaisesti *Acromyrmex*-suvun loisten sosiaalisissa funktioissa kuten hajukommunikaatiossa, mutta ei niinkään Smithin ym. tutkimissa lajeissa. Muutos takaisin aitososiaalisuuteen parasitismista voisi olla mahdollista joillekin tutkituista muurahaisista, vaikka ei niinkään evolutiivisesti todennäköistä.

Alleman ym. sekä Kaur ym. tutkivat geeniekspression vaikutuksia käyttäytymisfenotyypeihin *Temnothorax*-muurahaisissa. Jakamalla isäntä-loisparien esittämät käyttäytymiset kahteen eri luokkaan – ryöstöretki- ja normaalifenotyyppiin – he pystyivät tarkastelemaan eri geenien aktivaatioita näissä eriävissä tilanteissa. Yleisiä havaintoja olivat orjuuttajien lähes kokonaan keskenään jakamat normaalifenotyypit mutta hyvin paljon toisistaan erottuvat ryöstöretkifenotyypit, sekä isäntämuurahaisten pienet ja lajikohtaiset adaptaatiot ryöstöretkifenotyypissä. Kaikki tulokset vastasivat odotuksia. Feldmeyer ym. löysivät todisteita myös geneettisestä evoluutiosta näistä lajeista ja tutkituilta alueilta. Orjuuttajat jakoivat toistensa kanssa sekä lois-isäntäpareissa useita positiivisesti valittuja biologisia ketjuja, ja *T. americanus*-laji sisälsi erityisen paljon positiivisen valinnan kohteita.

Kaur ym. erityisesti tutkivat *T. americanus* - *T. longispinosus* -paria, jossa todettiin populaatiotasolla eroja geeniekspressiossa korkean ja matalan loisprevalenssin alueilla. Erityisesti aggressiivisuutta säätelevät geenit isännissä olivat tämän vaihtelun alla. Tämä johtui orjuuttajien aiheuttamasta valintapaineesta, ja omituinen interaktio pesän koon ja loisten ekologisen onnistuneisuuden välillä löydettiin: matalan prevalenssin alueella pienet pesät olivat passiivisempia ja isommat aggressiivisempia, mutta tämä vaihtui toisin päin prevalenssin kasvaessa. Kohtaaminen orjuuttajien kanssa aiheutti muokattavia, lajikohtaisia ja jossain määrin pitkäkestoisia muutoksia isäntien geeniekspressiossa. Samankaltainen tutkimus inkviliinien loisten virulenssin ja isäntien geeniekspression välisestä suhteesta voisi olla valaiseva.

Muurahaisten sosiaaliparasitismien aihepiirissä on tehty paljon löytöjä viime vuosina, mutta tutkimusta on luonnollisesti aina lisää tehtävänä. Näinkin syvälinen ja mielenkiintoinen aihe tarvitsee kaiken sille annetun huomion, ja toivon että ymmärryksemme näistä aitososiaalisuutta hyväksikäyttävistä loisista ja niiden genomiikasta vain paranee lähitulevaisuudessa.

## Lähdeluettelo

- Alleman, A., Feldmeyer, B., & Foitzik, S. (2018). Comparative analyses of co-evolving host-parasite associations reveal unique gene expression patterns underlying slavemaker raiding and host defensive phenotypes. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20262-y>
- Borowiec, M. L., Cover, S. P., & Rabeling, C. (2021). The evolution of social parasitism in Formica ants revealed by a global phylogeny. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(38). <https://doi.org/10.1073/pnas.2026029118>
- BOURKE, A. F. G., & FRANKS, N. R. (1991). Alternative adaptations, sympatric speciation and the evolution of parasitic, inquiline ants. *Biological Journal of the Linnean Society*, 43(3), 157–178. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1991.tb00591.x>
- Buschinger, A. (2009). Social parasitism among ants: A review (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 12, 219–235.
- Darwin 1809-1882, C. (1859). *On the origin of species by means of natural selection, or preservation of favoured races in the struggle for life*. London : John Murray, 1859. <https://search.library.wisc.edu/catalog/9934839413602122>
- Feldmeyer, B., Elsner, D., Alleman, A., & Foitzik, S. (2017). Species-specific genes under selection characterize the co-evolution of slavemaker and host lifestyles. *BMC Evolutionary Biology*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12862-017-1078-9>
- Foitzik, S., Achenbach, A., & Brandt, M. (2009). Locally adapted social parasite affects density, social structure, and life history of its ant hosts. *Ecology*, 90(5), 1195–1206. <https://doi.org/10.1890/08-0520.1>
- Foitzik, S., Fischer, B., & Heinze, J. (2003). Arms races between social parasites and their hosts: Geographic patterns of manipulation and resistance. *Behavioral Ecology*, 14(1), 80–88. <https://doi.org/10.1093/beheco/14.1.80>
- Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (1990). The ants. In *The ants*. Belknap Press.
- Kaur, R., Stoldt, M., Jongepier, E., Feldmeyer, B., Menzel, F., Bornberg-Bauer, E., & Foitzik, S. (2019). Ant behaviour and brain gene expression of defending hosts depend on the ecological success of the intruding social parasite. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 374(1769). <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0192>
- Leppänen, J., Seppä, P., Vepsäläinen, K., & Savolainen, R. (2015). Genetic divergence between the sympatric queen morphs of the ant *Myrmica rubra*. *Molecular Ecology*, 24(10), 2463–2476. <https://doi.org/10.1111/mec.13170>
- Romiguier, J., Rolland, J., Morandin, C., & Keller, L. (2018). Phylogenomics of palearctic Formica species suggests a single origin of temporary parasitism and gives insights to the evolutionary pathway toward slave-making behaviour. *BMC Evolutionary Biology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12862-018-1159-4>
- Schrader, L., Pan, H., Bollazzi, M., Schiøtt, M., Larabee, F. J., Bi, X., Deng, Y., Zhang, G., Boomsma, J. J., & Rabeling, C. (2021). Relaxed selection underlies genome erosion in socially parasitic ant species. *Nature Communications*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23178-w>

- Schrader, L., Simola, D. F., Heinze, J., & Oettler, J. (2015). Sphingolipids, transcription factors, and conserved toolkit genes: Developmental plasticity in the ant *cardiocondyla obscurior*. *Molecular Biology and Evolution*, *32*(6), 1474–1486. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv039>
- Smith, C. R., Helms Cahan, S., Kemena, C., Brady, S. G., Yang, W., Bornberg-Bauer, E., Eriksson, T., Gadau, J., Helmkampf, M., Gotzek, D., Suarez, A. V., & Mikheyev, A. (2015). How do genomes create novel phenotypes Insights from the loss of the worker caste in ant social parasites. *Molecular Biology and Evolution*, *32*(11), 2919–2931. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv165>
- Suefuji, M., & Heinze, J. (2014). The genetic population structure of two socially parasitic ants: “the active slave-maker” *Myrmoxenus ravouxi* and the “degenerate slave-maker” *M. krausseii*. *Conservation Genetics*, *15*(1), 201–211. <https://doi.org/10.1007/s10592-013-0531-6>
- Toth, A. L., Varala, K., Newman, T. C., Miguez, F. E., Hutchison, S. K., Willoughby, D. A., Simons, J. F., Egholm, M., Hunt, J. H., Hudson, M. E., Hudson, M. E., & Robinson, G. E. (2007). Wasp gene expression supports an evolutionary link between maternal behavior and eusociality. *Science*, *318*(5849), 441–444. <https://doi.org/10.1126/science.1146647>