



university of
 groningen

11-07-2013

Dieter Bruin

S1911066

Scriptie 2013

Microbial Fencing:

van afweer tot coöperatie

Begeleidende docent:

J.D. van Elsas

Abstract

In the microbial world there is strong competition for resources like nutrients for growth and reproduction. This competition is the result of limited availability of these resources. In order to maximize a cell's individual fitness, the cell usually competes by use of two strategies, denoted Scramble Competition and/or Contest Competition, where the first is a dash for resources and the second an active struggle over dominance (Hibbing et al, 2009). Contest competition can typically be described as Microbial Fencing. Microbial Fencing is local bacterial warfare by secondary metabolites like bacteriocins. It is a collective effort, otherwise it would not be effective. This is a form of cooperative behaviour, usually done by relatives and fits Hamilton's Rule very well (Hamilton, 1963 & 1964). Here, individual fitness is no longer maximised. Instead, Inclusive fitness, the fitness of the shared genome is maximized by investments of individual cells proportional to their relatedness. Cooperative and/or altruistic behaviour are exceptions to Contest Competition. Does this mean that the exception to Microbial Fencing is cooperative and/or altruistic behaviour? In microbes, cooperative and altruistic behaviour can be explained by Hamilton's Rule (Hamilton, 1963 & 1964) and the Selfish Gene concept (R. Dawkins, 1976). Here, signalling of relatedness and a correlating 'hard wired' response are required. This system is facilitated by Green Beard Genes (R. Dawkins, 1976). These genes encode for a phenotypic trait and some-what compulsory social behaviour like cooperation to others with that trait. This system is, however, sensitive to exploitation by cheaters. Cooperative behaviour is possibly enforced by Horizontal Gene Transfer. Although Horizontal Gene Transfer increases the genomic relatedness, it is likely that this does not lead to cooperative and/or altruistic behaviour in the recipient cell. Transfer of genes that encode obligatory cooperation, however, are likely to be at the basis of social behaviour. These genes are disadvantageous for the recipient cell, because cooperation and/or altruistic behaviour comes with a cost to the cell, and is therefore under selection pressure. So-called Addiction Modules can keep these obligate cooperation genes anchored in a genome. Addiction Modules together with obligate cooperation genes yield an interesting perspective in the light of the Selfish Gene concept.

Inleiding

Buiten het laboratorium, in de bodem, zijn de omstandigheden voor microbieel leven veelal substantieel anders dan wanneer het binnen het laboratorium bestudeerd wordt. Er is niet langer sprake van, zoals in het laboratorium meestal het geval, voldoende aanbod van nutriënten. De beschikbaarheid van deze nutriënten is beperkt en aan tafel schuiven veel andere concurrerende microbiële soorten aan. Het is ieder voor zich en niet iedereen kan een winnaar zijn. Derhalve is de concurrentie groot, en kan er misschien wel gesproken worden over een oorlog tussen microben. Succes wordt bepaald aan de fitheid van de soort binnen diens ecologie. Derhalve zal een microbieel organisme zich inzetten om zijn niche te verdedigen tegen concurrenten. En toch is dit niet altijd het geval. Binnen deze felle concurrentiestrijd zijn er legio voorbeelden die coöperatief en/of altruïstisch gedrag beschrijven, bacteriën die niet overgaan tot wering van een concurrent, maar elkaar negeren of juist samenwerken. Enkele voorbeelden zijn het bouwen van complexe structuren zoals biofilms (O'Toole et al, 2000)(Wei & Zang, 2006) en vruchtlichaampjes (fruiting bodies) in *M. xanthus* (Velicer & Vos, 2009), of de productie van 'public goods' zoals ijzerbindende siderophoren (Stinzi et al, 1998)(Ren et al, 2005) Nog een voorbeeld is tijdige celdood na virale infectie. Hierdoor wordt de verdere verspreiding van virus partikels tegen gegaan (Blower et al, 2012) (Chopin et al, 2005).

Coöperatief gedrag heeft traditioneel veel aandacht gehad binnen de levenswetenschappen. Echter werd onderzoek veelal verricht aan 'hogere' soorten zoals dieren en insecten en is er weinig gedaan aan onderzoek aan coöperatie door micro-organismen (Maynard-Smith, 1995). In de laatste jaren is er echter steeds meer aandacht gekomen voor coöperatief gedrag binnen micro-organismen (Lyon, 2007). Mede vanwege de mogelijke antibacteriële toepassingen in de gezondheidszorg en voedingsmiddelenindustrie wordt sociaal gedrag in microben meer onderzocht. Met deze scriptie probeer ik te beschrijven waarom coöperatief gedrag binnen een felle concurrentiestrijd voordelig kan zijn. Verder omschrijf ik enkele manieren over hoe aan een van de belangrijkste randvoorwaarden voor coöperatie; herkenning van verwantschap, kan worden voldaan. Allereerst zal de uitgangssituatie worden besproken, namelijk de strijd om nutriënten door micro-organismen.

Competitie

Er zijn meerdere manieren mogelijk voor micro-organismen om te concurreren over nutriënten. Zo kan er geprobeerd worden om de ander te beroven van de nutriënten door

sneller te groeien en/of er een sneller metabolisme erop na te houden. Dit staat bekend als Scramble Competition (Hibbing et al, 2009) en wordt gekenmerkt door sneller te zijn dan de concurrent. Een andere manier is Contest Competition (Hibbing et al, 2009), waarbij er actief gewerkt wordt aan het schaden van de concurrent met het doel om deze uit te schakelen. Deze afweer kan veelal geschaard worden onder de term Microbial Fencing.

Microbial Fencing (MF) kan worden beschouwd als afweer door het ene micro-organisme tegen het andere. Kolonies verspreiden zich door radiatieve groei en komen lokaal andere soorten of ecotypen tegen. Deze verspreidende en lokale soorten zijn veelal elkaars concurrenten en kunnen soms ter plekke de ander weren. Het doel van deze afweer is om lokale competitieve exclusie te bewerkstelligen. (Hibbing et al, 2009). Lokale competitieve exclusie is competitie tussen soorten met resultaat het verdwijnen van één of meerdere concurrerende soorten. De afweer vindt plaats door de productie van toxische secundaire metabolieten. Een grote groep van deze toxische secundaire metabolieten, geproduceerd door bacteriën tegen andere nauw verwante micro-organismen, staan bekend als bacteriocines. Bacteriocines hebben een antimicrobiële werking met gelijkenissen aan antibiotica. Antibiotica werken echter tegen een grotere groep micro-organismen. Desondanks is er in de wetenschap ook veel aandacht voor deze bacteriocines, voor gebruik in de gezondheidszorg en toepassingen in de voedingsmiddelenindustrie. Omdat de productie en secretie van bacteriocines in de directe omgeving van de producerende cellen in principe net zo schadelijk kan zijn voor de producerende cellen als de concurrerende cellen, is er meestal sprake van een resistentie van de producerende cellen voor de bacteriocine (Hibbing et al, 2009). Dit in tegenstelling tot de microbiële productie van antibiotica, waar het antibioticum meestal niet schadelijk is voor de producent.

Regulatie

MF is verder een proces dat gereguleerd is (Weibel, 2008)(Van Ooij, 2011). Want aan de productie van en de resistentie tegen bacteriocines kleeft een energetisch nadeel. In een omgeving waarin er weinig concurrenten zijn en er verder afdoende nutriënten beschikbaar zijn, zullen micro-organismen die aan MF doen, minder snel kunnen groeien dan de soorten die niet aan MF doen. De energie benodigd voor de productie van en resistentie tegen bacteriocines gaat ten koste van de energie beschikbaar voor groei en deling. Dit is evolutionair gezien een ongewenste situatie, omdat, wanneer MF als proces altijd 'aan' staat, dat ten koste

van het algemene reproductief succes gaat. Om dit probleem te omzeilen staat doorgaans de MF-afweer uit en wordt deze aangeschakeld wanneer nodig (Hibbing et al, 2009). Om dit te kunnen bewerkstelligen zijn een of meerdere mechanismen benodigd om andere soorten en of concurrentie te herkennen om zo op het juiste moment MF aan te schakelen en weer uit te schakelen als competitieve exclusie plaats heeft gevonden.

Een ander argument voor de redenering dat MF aan regulatie onderhevig is, is dat MF gewoonweg inefficiënt is wanneer het uitgevoerd wordt door individuele cellen tegen andere concurrerende cellen (Bassler, 2002). Een bacterie is immers zelden alleen, maar des te meer ook omdat één enkele bacteriocine producerende cel doorgaans niet zoveel kan produceren dat na secretie en diffusie in het extracellulaire milieu de dosis nog groot genoeg is om de concurrent te schaden. Het is dan ook veelal een groep verwante micro-organismen, zoals een kolonie, die zich verweert tegen andere kolonies of groepen micro-organismen. Hierbij wordt vermoed dat quorum sensing een rol speelt om te waarborgen dat bacteriocine-productie enkel geschiedt wanneer dit effectief is. Zo kan quorum sensing gebruikt worden om de timing te bepalen van de bacteriocine productie. Wanneer het quorum behaald wordt en dus de gezamenlijke productie groot genoeg kan zijn om effectief te zijn wordt er collectief overgegaan op bacteriocine productie. Quorum sensing kan wellicht ook op soortgelijke manier gebruikt worden door micro-organismen om zo concurrenten waar te nemen en de mate van concurrentie te bepalen (Van Ooij, 2011). Quorum sensing is vermoedelijk een belangrijk signaleringssysteem betrokken bij de regulatie van coöperatie en Microbial Fencing.

Coöperatie en altruïsme

Zoals quorum sensing een mechanistische verklaring kan geven voor regulatie van MF, moet er ook een mechanistische verklaring zijn voor de uitzondering op Contest Competition, namelijk coöperatie. Coöperatief gedrag kan gedefinieerd worden als elke gedraging waardoor de fitness van anderen vergroot wordt (Damore & Gore, 2012). Deze definitie maakt echter geen onderscheid tussen coöperatief en altruïstisch gedrag. Wellicht is, in het geval van micro-organismen de definitie van Velicer (2003) beter geschikt. Velicer omschrijft coöperatief gedrag als een “proportionele bijdrage van individuen aan een collectief geproduceerd goed” en altruïstisch gedrag als “gedrag dat resulteert in een fitness verhoging in andere individuen ten koste van een netto reductie van de evolutionaire fitness van de uitvoerder van dat gedrag”. (Alle definities zijn vrij vertaald). Deze definities komen overeen met de veronderstelling, dat

concurrentie om nutriënten resulteert in conflict. Dit omdat coöperatie en/of altruïsme per definitie niet leiden tot een netto (direct) individueel evolutionair voordeel. Waarom er in de praktijk echter toch (micro-)organismen zijn die coöpereren met concurrenten en in sommige gevallen zelfs altruïstisch gedrag vertonen valt te verklaren aan de hand van Hamilton's Rule en het Selfish Gene concept. Deze beide (grote) theorieën zijn afkomstig uit onderzoek aan dieren en insecten en er zijn wel enkele kanttekeningen te maken bij diens toepassing op micro-organismen.

Hamilton's Rule

De publicaties "The Evolution of Altruistic Behaviour" (1963) en "The Genetical Evolution of Social Behaviour" (1964) zijn beide citatieklassiekers binnen de levenswetenschappen. Beide papers zijn geschreven door Hamilton en de theorie die erin staat beschreven staat dan ook bekend als Hamilton's Rule. Deze theorie stelt dat organismen er naar streven om hun zogenaamde "inclusive fitness", het totaal van de fitness van een individu en de proportionele fitness van verwanten, te maximaliseren en dat op deze manier het biologisch succes gemaximaliseerd wordt. Hamilton's Rule stelt dus dat er selectie is op de inclusive fitness. Hieruit volgt dat, binnen Darwiniaanse competitie, individuen ernaar streven om hun inclusive fitness te maximaliseren en niet hun individuele fitness. Dit kan leiden tot gedrag dat suboptimaal of zelfs schadelijk is voor het individu, en toch leidt tot een maximalisatie van de inclusive fitness die de gehele populatie betreft. Dit suboptimale tot schadelijke gedrag kan coöperatief en/of altruïstisch zijn, waarbij een ander voordeel heeft en het organisme dat deze gedraging(en) uitdraagt zichzelf benadeelt. Laatstgenoemde is hier enkel bij gebaat als de ander op een of andere manier bijdraagt aan diens inclusive fitness. Dit is het geval als beiden verwant aan elkaar zijn. Verwantschap is de allereerste vereiste voor inclusive fitness. Een ander vereiste is dat de kosten van de gedragingen voor het individu dat deze gedragingen vertoont, kleiner zijn dan de voordelen die de verwant ontvangt. Het netto resultaat moet voor de inclusive fitness positief zijn. Verder moet binnen deze theorie ook rekening gehouden worden met de mate van verwantschap. De voordelen van coöperatief of altruïstisch gedrag komen namelijk terecht bij in dit geval een verwant. De mate van verwantschap bepaalt de mate waarin het evolutionaire voordeel van coöperatie door het ene organisme voor het ander doorspeelt in de inclusive fitness van het organisme die coöperatief/altruïstisch gedrag vertoont. Dit leidt ertoe dat, omdat de verwantschap, zeker bij 'hogere' organismen zoals dieren, bijna nooit hoger is

dan 0.5, het netto evolutionaire voordeel van het organisme die ontvanger is van het altruïstisch of coöperatief gedrag zich zelden één op één vertaalt naar de inclusive fitness. Wellicht is de mate waarin dit gebeurt in micro-organismen echter groter omdat micro-organismen asexueel zijn en dus klonale reproductie kennen. Dan zou de verwantschap 1 kunnen benaderen, ofwel volledig verwante klonen.

Selfish Gene concept

Het concept van inclusive fitness stelt dat de belangen van het individu minder belangrijk kunnen zijn dan het geheel van het individu en zijn verwanten. Dit lijkt aanvankelijk tegenstrijdig. Immers, selectie in de natuur berust op het fenotype van een organisme. Dit fenotype is opgebouwd uit het samenspel tussen het genetische materiaal van het organisme, zijn genen, en zijn omgeving/ecologie. Omdat natuurlijke selectie geschiedt aan de hand van dit totaalpakket, is het logischerwijs aan te nemen dat de fitness van het fenotype op individueel niveau gemaximaliseerd wordt. Verder omdat elk fenotype doorgaans een uniek individueel geval betreft, kan worden geredeneerd dat een organisme zijn eigen fenotype centraal stelt en dus geen oog heeft voor de fitness van anderen.

Hieruit volgt de tegenstrijdigheid van de inclusive fitness. Hier wordt immers, ondanks dat selectie nog altijd op het (individuele) fenotype berust, een samengevoegde fitness (gedeeld met verwanten) gemaximaliseerd. Naar deze tegenstrijdigheid is binnen de levenswetenschappen al veel onderzoek gedaan (O'Malley, 2007). Het blijkt namelijk te kloppen dat organismen, ondanks deze tegenstrijdigheid, streven naar maximalisatie van hun inclusive fitness. Onderzoek dat hieraan verricht is, veelal bij 'hogere' organismen zoals dieren en insecten, bevestigt dit (Maynard-Smith, 1995). Er is echter een theorie waarmee deze tegenstrijdigheid weggehaald kan worden.

Deze theorie staat bekend als het Selfish Gene concept (R. Dawkins, 1976). Dit concept stelt de belangen van het individu niet voorop, maar de belangen van diens genetisch materiaal, de genen. Het is niet het geval dat een organisme in zijn leven het eigen individuele evolutionaire succes probeert te maximaliseren. Er is sprake van een redelijk passief proces gestuurd door ecologische en evolutionaire processen. Uiteindelijk bepalen de genen en de dan geldende selectie het biologische succes. Derhalve volgt dan ook dat de genetische fitness voorop staat. De overleving en hieraan gekoppeld verspreiding van het genetische materiaal wordt

bovendien gemaximaliseerd binnen de theorie van inclusive fitness. De eis voor coöperatie of altruïstisch gedrag binnen Hamilton's Rule is dat de ontvanger van de voordelen van deze gedragingen verwant is. Bij verwantschap wordt er genetisch materiaal gedeeld en binnen het Selfish Gene concept wordt de fitness van de 'eigen' genen gemaximaliseerd, zij het nu binnen of het individu of een verwant.

Coöperatie in Microben

Voorgaande theorieën kunnen in micro-organismen verklaren waarom niet altijd op MF wordt overgegaan. Het zou dus kunnen zijn dat er niet tot afweer over wordt gegaan omdat er verwantschap wordt herkend van dusdanige grootte dat coöperatie kan leiden tot een inclusive fitness die groter kan zijn dan de individuele fitness als wanneer er niet samengewerkt wordt. Alhoewel deze redenering aannemelijk is en ook verklarend kan zijn voor microbiëel gedrag staat één discussiepunt in de weg. Binnen deze redenering moet namelijk een afweging gemaakt worden tussen de kosten en de baten van coöperatie. Dit is een cognitief proces, waarover consensus is dat microben daar niet over beschikken. Alhoewel microben wel kunnen reageren op signaalstoffen, is de reactie genetisch bepaald, en niet het product van ad-hoc besluitvorming.

Cognitie wordt verwacht bij beide vereisten voor Hamilton's Rule: (1) herkenning van verwanten en de mate van deze verwantschap en (2) afweging tussen individuele kosten en gezamenlijke voordelen. Om tegemoet te komen aan het functioneren van dit systeem in micro-organismen kan het echter wel enigszins versimpeld worden. Zo kan worden gesteld dat coöperatie in microben genetisch bepaald kan zijn, een hard-wired reactie volgend op bepaalde signalen. Dit signaal kan de detectie van een niveau van verwantschap zijn. Op deze manier is er geen sprake meer van een cognitief proces, maar een reactie op stimuli uit de omgeving. Hierbij moeten fysiologische processen verantwoordelijk zijn voor de herkenning van verwantschap en is de reactie hierop niet het resultaat van een afweging, maar een genetisch vastgelegd antwoord.

Binnen een dergelijk versimpeld systeem zullen er vervolgens één of meerdere mechanismen noodzakelijk zijn voor de herkenning van verwantschap. Een aannemelijk mechanisme is quorum sensing. Enkele onderzoeken herkennen quorum sensing als een coöperatief/altruïstisch systeem (Lyon, 2007). Immers, de signaalmoleculen die constant

geproduceerd moeten worden leveren in de eerste plaats een energetische kostenpost op wat, als het quorum niet behaald wordt, wat zich vertaalt naar een evolutionair nadeel. Mocht het quorum echter wel behaald worden, dan zullen genen aangeschakeld worden die kunnen coderen voor coöperatief gedrag. Dit coöperatief gedrag kan op zijn beurt weer een groter evolutionair voordeel teweeg brengen, mogelijk groter dan de kosten van het systeem. Als het systeem vervolgens over het algemeen een netto evolutionair voordeel teweeg brengt, dan is het evolutionair stabiel. Zo'n evolutionair stabiel systeem zal niet uit zichzelf kunnen verdwijnen uit een populatie, omdat er binnen bovenstaande voorwaarden selectiedruk bestaat ten faveure van het systeem (Maynard-Smith & Price, 1973).

De genen die voor dit systeem coderen zenden feitelijk een boodschap uit naar de buitenwereld. Deze boodschap staat voor coöperatie. Genen die een dergelijke boodschap naar buiten uitdragen zijn onderwerp van onderzoek geweest binnen de gedragsbiologie en staan bekend als "Green Beard Genes" (R. Dawkins, 1976). Derhalve kunnen de quorum sensing genen wellicht ook aangemerkt worden als Green Beard Genes. Echter zijn er ook andere mechanismen voor verwantschapsherkenning denkbaar binnen de Green Beard Genes theorie. Zo kan het zijn dat herkenning geschiedt aan de hand van fysieke interactie tussen cellen, bijvoorbeeld eiwitcomplexen in de celwand of de extracellulaire matrix (Brown, 2008). Geconcludeerd kan worden dat er communicatie vereist is aan de hand van een of meerdere signaleringsmoleculen. De reactie op de signaal-moleculen is vervolgens genetisch bepaald en is derhalve vastgelegd. Green Beard Genes faciliteren coöperatief gedrag en dergelijk gedrag van micro-organismen kan vervolgens naar de theorie van Hamilton's Rule en het Selfish Gene concept verlopen.

Cheaters

Het Green Beard Genes mechanisme, echter, is gevoelig voor cheaters (Velicer, 2003.) Cheaters zijn in dit geval cellen die er een andere strategie op na houden. Cheaters zullen proberen te profiteren van de voordelen van coöperatie, zonder zelf bij te dragen in de kosten van deze coöperatie (Velicer, 2003). Doorgaans zullen cheaters profiteren van bijvoorbeeld public goods zoals ijzerbindende-siderophoren of multi-cellulariteit zoals in biofilms (O'Toole et al, 2000)(Wei & Zang, 2006), zonder aan de kosten van public goods of multi-cellulariteit bij te dragen. Bij Microbial Fencing is het mogelijk dat een cheater zal proberen de MF afweer van een ander uit te schakelen, door zich voor te doen als een verwant. Op deze manier ervaart de

cheater geen Contest Competition (Hibbing et al, 2009) terwijl beide soorten wel degelijk elkaars concurrenten zijn. Als er geen Microbial Fencing optreedt tussen concurrerende soorten dan is het mogelijk dat er sprake is van een uitzondering op de regel. Er is namelijk geen verwantschap, maar er is een cheater die zich enkel voordoeft als een verwant.

Horizontale gen overdracht

Naast het voorkomen van cheaters is er nog een interessante manier denkbaar waar concurrerende soorten niet overgaan tot MF. Hierbij moet gedacht worden aan horizontale gen overdracht. In tegenstelling tot het geval bij het Green Beard Genes systeem is er geen sprake van communicatie naar buiten. Herkenning van verwanten hoeft ook geen rol te spelen. Toch kan coöperatie binnen de vereisten van Hamilton's Rule en het Selfish Gene concept door middel van horizontale gen overdracht tot stand komen. De overdracht van plasmiden of bacteriofagen door middel van horizontale gen overdracht leidt immers tot een toename in de genetische verwantschap van soorten tussen welke genuitwisseling plaatsvindt. Deze genetische verwantschap is soort-overschrijdend als gevolg van de horizontale gen overdracht. Horizontale gen overdracht is derhalve een middel waarmee een bepaalde mate van verwantschap tussen concurrenten 'gemaakt' kan worden. Verwantschap is een vereiste voor Hamilton's Rule en een sterke verwantschap is een manier om de inclusive fitness te maximaliseren via coöperatief en/of altruïstisch gedrag. Oftewel, in dit geval, het uitschakelen van Microbial Fencing. Echter is enkel genetische verwantschap in microben waarschijnlijk niet genoeg. Zoals eerder beschreven is er in microben hoogstwaarschijnlijk enkel sprake van de toepassing van Hamilton's Rule bij de aanwezigheid van Green Beard Genes en de hard wired response op deze genen. Dit systeem moet intact en werkend overgedragen worden wil horizontale gen overdracht leiden tot coöperatie. Ongeacht de toegenomen mate van verwantschap bij de overdracht van genetisch materiaal via horizontale gen overdracht.

Addiction Modules

Onderzoek van Nogueira et al (2009) en Lawrence (2009) tonen aan dat horizontale gen overdracht toch gebruikt kan worden om coöperatie af te dwingen. Hierbij worden genen overgedragen die coderen voor obligate coöperatie om de concurrent die de genen ontvangt te dwingen tot coöperatief gedrag. Uiteraard is de getransformeerde concurrent hierbij niet gebaat omdat deze zich nu niet kan verweren tegen de concurrentiedruk van de ander. Daarom zal een dergelijk systeem snel verdwijnen als gevolg van mutanten die de gedwongen

coöperatie-genen ongedaan kunnen maken. Echter blijkt uit onderzoek van Nogueira et al dat het ongedaan maken van deze coöperatie genen veelal niet zo gemakkelijk is.

De overdracht van genen die coöperatief gedrag forceren gaat namelijk vaak gepaard met de overdracht van zogenaamde 'addiction modules' (Nogueira et al, 2009). Deze 'addiction modules' zijn constructies in het genoom die zorg dragen voor continuïteit van de coöperatie-genen en worden omschreven als; "easily acquired, difficult to lose". Deze 'addiction modules' hebben een werking die berust op een toxin-antitoxin interactie of een type II restrictie modificatie systeem. De werking is tweeledig en door co-lokalisatie met de coöperatie-genen op een ander gebied in het (core)genoom is deletie van het systeem sterk bemoeilijkt. Deletie van de coöperatie-genen gaat door de co-lokalisatie gepaard met deletie van een functioneel deel van het systeem. Wanneer dit gebeurt, zal het andere deel leiden tot bijvoorbeeld het ophopen van toxines of tot ongecontroleerde restrictie in het genoom. Daarnaast worden deleties in het andere deel van het systeem sterk bemoeilijkt door de co-lokalisatie met het core-genoom. Op deze manier is het systeem van beide kanten evolutionair stabiel, omdat deleties in één van beide systemen vrij snel lethaal zijn (Lawrence, 2009). Dit vertaalt zich in een erg robuust systeem en is erg moeilijk voor een populatie om kwijt te raken.

Zelfzuchtige genen

Door horizontale gen overdracht is het mogelijk voor een micro-organisme om in zijn eigen belang te handelen door een concurrent te dwingen om te coöpereren. Deze manier valt op voorhand niet in het theoretisch raamwerk van Hamilton's Rule (1963 & 1964). Wat echter wel opmerkelijk is, is dat voornoemde 'addiction systems' wel heel goed te verenigen zijn met het Selfish Gene concept (R. Dawkins, 1976). Vanuit het perspectief van de genen die coderen voor het 'addiction system' samen met de coöperatie-genen, is het eenvoudig in te zien dat deze genen in hun eigen voordeel handelen. Deze genen zijn aanwezig in een gastheer zonder dat deze gastheer er baat van heeft, de gastheer kan zich immers niet meer weren tegen concurrenten door middel van MF. De genen zijn erg moeilijk te verwijderen uit het genoom en dwingen de gastheer samen te werken met naburige cellen. Deze cellen kunnen ofwel deze genen in dezelfde vorm bezitten, of deze genen bezitten als wapen in de felle concurrentiestrijd. Wat dan opvalt is dat, vanuit dit perspectief, het systeem toch weer benaderd kan worden met Hamilton's Rule.

Een dergelijk 'addiction system' (Nogueira et al, 2009) kan, wanneer beschouwd als discrete autonome eenheid, via klonale reproductie van de gastheer in het nageslacht terecht komen. Dit nageslacht is voor wat betreft dan volledig verwant aan het oorspronkelijke 'addiction system'. Coöperatie tussen nageslacht van klonaal reproducerende cellen is te verwachten omdat, ongeacht de aanwezigheid van de coöperatie-genen, er sprake is van een sterke mate van verwantschap en waarschijnlijk een netto evolutionair voordeel door maximalisatie van de inclusive fitness. Echter, omdat dit systeem gebruikt wordt als wapen om concurrenten te forceren tot coöperatie, leidt horizontale gen overdracht van dit systeem tot een soort-overschrijdende verwantschap op het niveau van het 'addictive system'. Omdat het 'addictive system' samen met de coöperatie-genen tevens coöperatie afdwingt leidt dit tot een evolutionair voordeel voor cellen met verwantschap op het niveau van het addictive system. Zo is het wederom mogelijk om hier Hamilton's Rule te herkennen. De inclusive fitness van de genen van het 'addictive system' en de coöperatie-genen, worden immers gemaximaliseerd in meerdere individuen als gevolg van de coöperatie.

Conclusie

In de microbiële wereld heerst een sterke concurrentie om nutriënten. De uitgangssituatie is dan ook dat afweer tegen concurrenten sterk bepalend is voor hun ecologie en evolutie. Microbial Fencing is een gangbare manier waarop microben zich verweren tegen concurrenten. Echter zijn er ook legio voorbeelden van coöperatie en/of altruïsme. Het uitschakelen van de MF afweer in het bijzijn van een concurrent kan worden aangemerkt als een voorbeeld van coöperatie. Een vereiste bij coöperatie in microben is het samenspel van een hard wired response op specifieke signaalmoleculen. Dit kan volgens het theoretisch raamwerk van Hamilton (1963 & 1964) verlopen aan de hand van Green Beard Genes. Echter kan het systeem ook uitgebuit worden door cheaters. Tevens kan coöperatie afgedwongen worden door middel van horizontale gen overdracht waar genen die voor coöperatief gedrag coderen overgedragen worden. Echter, de toegenomen genetische verwantschap is vermoedelijk niet genoeg om coöperatief gedrag in microben tot stand te laten komen. Selectiedruk zal leiden tot het verdwijnen van obligaat coöperatief gedrag coderende genen. Addiction Modules kunnen echter obligaat coöperatief gedrag coderende genen waarborgen. Deze genen kunnen, tezamen met een addiction module, bovendien ook beschouwd worden binnen het Selfish Gene concept. Coöperatief en/of altruïstisch gedrag in microben is derhalve op meerdere

manieren verklaarbaar vanuit verscheidene theorieën en biedt derhalve nog interessante aanknopingspunten voor verder onderzoek.

Discussie

Het uitschakelen van Microbial Fencing wordt in deze scriptie aangeduid als zijnde coöperatief gedrag. Of deze analogie correct is, is onderwerp van discussie. Het uitschakelen van Microbial Fencing is immers niet een gedraging met directe positieve gevolgen voor een concurrent. Het is eerder het stoppen van een type gedrag dat normaliter negatieve gevolgen heeft voor een concurrent. Verder impliceert coöperatief gedrag dat alle partijen die betrokken zijn bij de samenwerking bijdragen. Dit is echter niet het geval zoals wanneer een cheater enkel de afweer van zijn concurrent weet uit te schakelen en ondertussen zijn eigen afweer in stand houdt. Wellicht is de definitie van altruïsme geschikter om het uitschakelen van Microbial Fencing te omschrijven. Hierbij zijn niet alle partijen verplicht om hun afweer uit te schakelen. Echter is het in mijn ogen wel zo dat wanneer de inclusive fitness van de microbe die zijn afweer uitschakelt verhoogd wordt er ook niet helemaal sprake kan zijn van altruïsme. De juiste definitie van sociale gedragingen zoals het uitschakelen van Microbial Fencing laat ik daarom achterwege.

Herkenning van verwantschap werd in deze scriptie beschreven aan de hand van de zogenaamde Green Beard Genes (R. Dawkins, 1976). Deze genen moeten fysieke communicatie verzorgen over de verwantschap door middel van signaalmoleculen. Echter is het ook mogelijk dat het samenwerken met verwanten op een andere manier verloopt. Zo kan het zijn dat coöperatie volledig hard-wired is. Dat er geen andere keuze is dan coöperatie omdat er een genetische grondslag voor ligt. Argumenten hiervoor zijn dat lokale interacties bij microben gewoonlijk tussen verwanten plaatsvindt. Een naburige cel is veelal een verwant als gevolg van de klonale verspreiding en de beperkte mobiliteit van een groot aantal soorten. Een andere manier is dat microben wellicht toch de vorm van cognitie beschreven onder kopje 'Coöperatie in Microben' eigen zijn. Echter is dit niet aannemelijk is omdat hier mentale capaciteiten verwacht wordt. Mocht dit toch het geval zijn, dan kan sociaal gedrag plaatsvinden op vergelijkbare manier zoals in hogere soorten zoals dieren. Zoals sociaal gedrag op basis van reciprociteit.

Verder is het belangrijk om op te merken dat zoals ook bij hogere organismen, sociale interacties in microben gevoelig zijn voor cheaters. Cheaters profiteren door in de eerste plaats niet bij te dragen aan de coöperatie. Verder kunnen cheaters concurrenten verzwakken door deze te manipuleren of forceren tot sociale gedragingen zoals coöperatie en/of altruïsme. Als de concurrent deze extra kosten van coöperatie/altruïsme draagt, is zijn individuele fitness verlaagd. De verlaagde fitness verzwakt zijn concurrentiepositie en biedt kansen voor concurrenten zoals de cheater. Soorten kunnen zich wapenen tegen cheaters. Een soort die zich zo gedraagt dat vals spel niet mogelijk is, is een soort met een Evolutionair Stabiele Strategie (ESS) (Maynard-Smith & Price, 1973). Dergelijke strategieën komen tot stand door evolutionaire processen waarbij uiteindelijk een suboptimale strategie wordt gehandhaafd die tegelijkertijd ongevoelig is voor cheaters, en derhalve niet uitgebuit kan worden. Zo kan bijvoorbeeld de mate van coöperatie, en de investering hierin zo afgesteld worden dat een eventuele cheater die de coöperatie uitbuit niet een hogere fitness kan verkrijgen dan de niet vals spelende populatie. Dit is echter, mede met het oog op de tijd en de lengte van deze scriptie niet behandeld.

Literatuurlijst

- Bassler, B. L. (2002) Small talk: Cell-to-cell communication in bacteria. *Cell*, vol. 109, 421–424
- Blower T.R., Evans T.J., Przybilski R., Fineran P.C., Salmond G.P.C. (2012) Viral Evasion of a Bacterial Suicide System by RNA-Based Molecular Mimicry Enables Infectious Altruism. *PLOS Genetics* vol. 8 no. 10 1-12
- Brown S.P., Buckling A. (2008) A Social Live for Discerning Microbes. *Cell* 135: 600-603
- Celiker H., Gore J. (2013) Cellular Cooperation: Insights from Microbes. *TRENDS in Cell Biology* vol. 23 no. 1 9-15
- Choping MC., Chopin A., Bidnenko E. (2005) Phage Abortive Infection in lactococci: Variations on a Theme. *Current Opinion in Microbiology* 8 473-479
- Chuang J.S., Rivoire O., Leibler S. (2010) Cooperation and Hamilton's Rule in a Simple Synthetic Microbial System. *Molecular Systems Biology* 6 no. 398 1-7
- Damore J.A., Gore J. (2012) Understanding Microbial Cooperation. *Journal of Theoretical Biology* 299 31-41
- Dawkins R. (1976) *The Selfish Gene*. Oxford University Press NY
- Fisher, R.A. (1930) *The Genetical Theory of Natural Selection*, Clarendon Press
- Foster K.R., Parkinson K., Thompson C.R.L. (2007) What Can Microbial Genetics Teach Sociobiology. *TRENDS in Genetics* vol. 23 no. 2 74-80
- Garbeva P., Silby M.W., Raaijmakers J.M., Levy S.B., Boer W. de, (2011) Transcriptional and Antagonistic Responses of *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 to Phylogenetically Different Bacterial Competitors. *The ISME Journal* 5: 973-985
- Hamilton W.D. (1963) *The Evolution of Altruistic Behaviour Part I. The*

- American Naturalist vol. 97 no. 896 354-356
- Hamilton W.D. (1964) The Genetical Evolution of Social Behaviour Part II Journal of Theoretical Biology vol. 7 no. 1 17-52
 - Hibbing M.E., Fuqua C., Parsek M.R., Peterson S.B. (2010) Bacterial competition: Surviving and Thriving in the Microbial Jungle. Nature Reviews | Microbiology 8: 15-25
 - Lampert A., Tlusty T. (2009) Mutability as an Altruistic Trait in Finite Asexual Populations. Journal of Theoretical Biology 261 414-422
 - Lawrence J.G. (2009) Microbial Evolution: Enforcing Cooperation by Partial Kin Selection. Current Biology vol. 19 no. 20 943-945
 - Lewis K. (2000) Programmed Death in Bacteria. Microbial and Molecular Biology Reviews vol. 64 no. 3 503-514
 - Lyon P. (2007) From Quorum to Cooperation: Lessons from Bacterial Sociality for Evolutionary Theory. Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences 38 820-833
 - Maynard Smith J., Price G.R., (1973) The Logic of Animal Conflict. Nature vol. 246, 15-18.
 - Nogueira T., Rankin D.J., Touchon M., Taddel F., Brown S.P., Rocha E.P.C. (2009) Horizontal Gene Transfer of the Secretome Drives the Evolution of Bacterial Cooperation and Virulence. Current Biology 19 1683-1691
 - O'Malley M.A, Dupré J. (2007) Towards a Philosophy of Microbiology. Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences 38 775-779
 - O'Toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R. (2000) Biofilm formation as microbial development. Annual Review of Microbiology, vol. 54, 49–79
 - Ooij C. van, (2011) Strong Fences Make Good Neighbours. Nature Reviews | Microbiology vol. 9
 - Ren, D., Zuo, R., & Wood, T. K. (2005) Quorum-sensing antagonist (5Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-3-butyl-2(5H)-furanone influences siderophore biosynthesis in *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas aeruginosa*. Applied Microbiology and Biotechnology, vol. 66, 689–695
 - Smith J., Dyken van J.D., Zee P. (2010) A Generalization of Hamilton's Rule for the Evolution of Microbial Cooperation. Science 328 1700-1703
 - Smith, J. Maynard; Szathmary, E. (1995) The Major Transitions in Evolution. Oxford Univ. Press; New York
 - Stanton T.B. (2007) Prophage-like Gene Transfer Agents – Novel Mechanisms of Gene Exchange for *Methanococcus*, *Desulfovibrio*, *Brachyspira* and *Rhodobacter* species. Anaerobe 13 43-49
 - Stinzi, A., Evans, K., Meyer, J. M., & Poole, K. (1998) Quorum sensing and siderophore biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*: *lasR/lasI* mutants exhibit reduced pyoverdine biosynthesis. FEMS Microbiology Letters, vol. 166, 341–345
 - Velicer G.J. (2003) Social Strive in the Microbial World. TRENDS in Microbiology vol. 11 no. 7 330-337
 - Velicer G.J., Vos M (2009) Social Conflict in Centimeter and Global-Scale Populations of the Bacterium *Myxococcus xanthus*. Current Biology 19: 1763-1767
 - Wei, H. L., & Zhang, L. Q. (2006) Quorum-sensing system influences root colonization and biological control ability in *Pseudomonas fluorescens* 2P24. Antonie Van Leeuwenhoek, vol. 89, 267–280.
 - Weibel D.B., (2008) Building Communities One Bacterium at a Time. PNAS vol. 105 no. 47: 18075-18076