



Doctoral Thesis

On the evolution of life history and local adaption in the fungal pathogen *Microbotryum violaceum* (Basidiomycetes) and its host plant *Silene latifolia* (Caryophyllaceae)

Author(s):

Kaltz, Oliver

Publication Date:

1998

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-002064884> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

ON THE EVOLUTION OF LIFE HISTORY AND LOCAL
ADAPTATION IN THE FUNGAL PATHOGEN *MICROBOTRYUM*
VIOLACEUM (BASIDIOMYCETES) AND ITS HOST PLANT *SILENE*
LATIFOLIA (CARYOPHYLLACEAE)

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY OF ZÜRICH
for the degree of Doctor of Natural Sciences

presented by

Oliver Kaltz
Dipl. Biol.
University of Basel
born December 7, 1966
Germany

accepted following the recommendation of

Prof. Dr. P. Schmid-Hempel, examiner
Dr. J. A. Shykoff, co-examiner
Prof. Dr. B. A. Roy, co-examiner

SUMMARY

For coevolving hosts and parasites the biotic component of the environment (host for parasite and *vice versa*) continually degrades. This will set off a process of adaptation and counter-adaptation, where hosts are selected by parasites to regain control over their resources, parasites by hosts to evolve new ways of exploiting their hosts.

CHAPTER 2. The anther-smut fungus, *Microbotryum violaceum*, infecting the dioecious host *Silene latifolia* and other plants of the family Caryophyllaceae, provides an example of a plant venereal disease. This sterilising pathogen sporulates in the flowers of infected hosts. Insects, also serving as pollinators, transmit spores to new hosts. The particularity of this transmission mode has raised interest from different research areas. Recent work has focused on the genetic basis of resistance in the host, but also on those life-history traits that expose plants to disease, or the influence of vector behaviour on disease transmission. These genetic and ecological aspects have been integrated into an epidemiological framework addressing transmission dynamics at the population level.

This study investigated the expression of host and parasite life-history traits and geographic patterns of patterns of resistance and infectivity in the *Microbotryum-Silene* system.

CHAPTER 3. In this pathogen successful invasion of a new host requires conjugation between sporidia of opposite mating type. Each diploid teliospore, the transmission unit, is heterozygous for the mating type locus, therefore germination and meiosis should produce sporidia of both mating types. I grew sporidial colonies from single teliospores from six natural populations; one third of the teliospores were found to produce strongly or totally biased mating type ratios. In one population there was a consistent bias for one mating type. Additional experiments indicated that mating-type bias develops over several cycles of sporidial replication. However, teliospores from the biased population formed conjugation hyphae on leaf tissue, suggesting that, early after germination, cells of both mating types are present, and early self-conjugation is possible.

CHAPTER 4. Conjugation is a fitness-relevant life-history trait for this pathogen, because the dikaryon resulting from conjugation is the infectious unit. In an inoculation experiment, high infectious sporidial dosage produced more infections than did low dosage. Thus conjugation frequency may indeed correspond with infection probability. Conjugation also determines the genetic composition of the ensuing offspring (selfed or outcrossed). *In vitro*, both fungal strain and host identity influenced conjugation frequency. Selfing sporidial combinations produced, on average, more conjugations than did outcrossing ones. Selfing appears to be the predominant mode of reproduction in this

fungus, and selfing preference may have evolved as a mechanism for reproductive assurance. Individual strains varied in conjugation frequency in selfing and outcrossing combinations across different hosts. This indicates that conjugation between outcrossing partners could be favoured at least in some hosts. Sexual recombination may thus generate novel genotypes able to infect local resistant hosts.

CHAPTERS 5 AND 6. Being vector-transmitted, *M. violaceum* should avoid reducing plant attractiveness to insect visitors, or even develop ways to enhance attractiveness. Disease accelerated flowering in plants inoculated as seedlings or rosettes, and it also increased flower production. These alterations can be considered as manipulation by the pathogen to attract pollinators and thereby enhance transmission probability. However, diseased plants also produced smaller, more irregularly shaped flowers with different nectar-sugar production than did healthy plants. This indicates unavoidable side-effects of disease rendering plants less attractive to pollinators. In addition, diseased plants invested relatively less in root biomass than did healthy plants. This pathogen has to overwinter in the rootstock of infected plants. Thus, increasing the chance of within-season transmission by increased allocation in above-ground structures may occur at the expense of between-season survival of the host. The magnitude of some of these effects of disease differed among fungal crosses. Differential alteration of host phenotype may result in pollinator-mediated selection on this pathogen.

CHAPTERS 7 AND 8. In sexually transmitted diseases host mating behaviour will influence infection risk. In *S. latifolia* expression of floral display influences pollinator visitation and thereby the likelihood of spore deposition and infection. Male plants produce many but short-lived flowers, while females have fewer but longer-lived flowers, especially when developing into fruits after pollination. A flower inoculation experiment investigated effects of flower number and flower life span on infection probability. Females retaining physical connections to inoculated flowers developing into fruits for two weeks had higher disease levels than had male or female plants with inoculated flowers removed within two days. Variation in number of flowers inoculated (four or 16) had no significant effect on infection probability. This higher per-contact infection risk of females is consistent with overinfection of females relative to males found in a field survey. Since ripening of fruits is an unavoidable constraint for females evolution of a mating behaviour minimising per-contact infection risk may be difficult to achieve.

CHAPTER 9. Conventional wisdom holds that parasites have more rapid evolutionary rates than their hosts. Parasites, then, should be able to adapt to their local host populations. This process may result in a geographical pattern of local adaptation with higher mean fitness on local versus foreign hosts. Though a common result in several

studies local parasite adaptation is not universal. Simple frequency-dependent selection models predict complex patterns of parasite performance on local and foreign populations. In metapopulations, stochasticity of extinction/recolonisation dynamics, gene flow and environmental heterogeneity may obscure local processes or change the level at which local adaptation occurs. Alternatively, gene flow may introduce adaptive variation, so differential migration rates can modify the asymmetry of host and parasite evolutionary rates. Altogether, local adaptation may be detected only as an average phenomenon across many populations.

CHAPTER 10. A cross-inoculation experiment revealed local maladaptation of *M. violaceum* to its host. On average, infection success was lower in sympatric than in allopatric combinations of host and pathogen from 14 natural populations. Several factors may restrict the evolutionary potential of this pathogen relative to that of its host plant. First, a predominantly selfing breeding system may limit its ability to generate new virulence types by sexual recombination, whereas the obligate outcrosser *S. latifolia* may profit from rearrangement of resistance alleles by random mating. Second, populations often harbour only few infected individuals, so virulence variation may be further reduced by stochasticity. Third, migration rates in the host plant have been estimated as about twice as high as that in the pathogen, possibly because pollinators prefer healthy over diseased plants. Migration among partly isolated populations may therefore introduce novel resistance variants more often than novel virulence variants.

ZUSAMMENFASSUNG

Im evolutiven Kontext stellen Parasiten für ihre Wirte, ebenso wie Wirte für ihre Parasiten, eine sich ständig verschlechternde Umwelt dar. Koevolution zwischen Wirten und Parasiten wird deshalb häufig als evolutives Wettrüsten beschrieben, in dem Wirte darauf selektiert werden, die Kontrolle über ihre Ressourcen zurückzugewinnen, und Parasiten wiederum neue Wege entwickeln, ihre Wirte auszubeuten.

KAPITEL 2. Der Antherenbrandpilz, *Microbotryum violaceum* (Basidiomycetes), ein Pathogen der zweihäusigen Pflanze *Silene latifolia* sowie anderer Arten der Familie der Caryophyllaceen, besitzt Eigenschaften einer Geschlechtskrankheit. Dieser Parasit sterilisiert seinen Wirt und sporuliert in den Antheren von Blüten infizierter Pflanzen. Blütenbesucher, die gleichzeitig als Bestäuber fungieren, übertragen Pilzsporen auf neue Wirte. Die Besonderheit dieses Übertragungsweges berührt verschiedene Forschungsgebiete. Dies beinhaltet einerseits Fragen nach der genetischen Basis von Resistenz, andererseits auch nach der Bedeutung von anderen Pflanzenmerkmalen, die das Infektionsrisiko beeinflussen, oder auch nach dem Einfluß von Bestäuberverhalten auf Krankheitsübertragung. Diese genetischen und ökologischen Aspekte spielen eine wichtige Rolle in epidemiologischen Modellen, die die Übertragungsdynamik in natürlichen Populationen untersuchen.

Diese Arbeit untersuchte Wirts- und Parasiten- *life-history* Merkmale und geographische Muster von Resistenz und Infektivität im *Microbotryum-Silene* System.

Kapitel 3. Etablierung in einem neuen Wirt erfordert das Konjugieren von Sporidien gegensätzlichen Paarungstyps. Die als Übertragungseinheit fungierende diploide Teliospore ist heterozygot für den Paarungstyp-Locus und sollte somit nach Keimung und Meiose Sporidien gegensätzlichen Paarungstyps hervorbringen. Nach Isolieren von Sporidien-Kolonien einzelner Teliosporen von sechs natürlichen Populationen ergaben sich bei einem Drittel der Teliosporen stark ungleiche oder ganz einseitige Paarungstyp-Verhältnisse. Zusätzliche Experimente legten nahe, daß ein Paarungstyp-Ungleichgewicht während der mitotischen Teilungszyklen der Sporidienkulturen entsteht. Teliosporen einer Population mit extremem Ungleichgewicht zugunsten eines Paarungstyps produzierten dennoch Infektionshyphen nach Auftragen der Sporen auf Blattoberfläche. Das bedeutet, daß zu Beginn der Keimung beide Paarungstypen vorhanden sind und Konjugationen zwischen Sporidien möglich sind.

Kapitel 4. Konjugation ist ein fitness-relevantes Merkmal für diesen Parasiten, da das Dikaryon, das aus einer Konjugation hervorgeht, die infektiöse Einheit darstellt. Inokulation mit einer hohen Dosis von Sporidien führte zu mehr Infektionen als eine niedrige Dosis. Dies legt nahe, daß Konjugationshäufigkeit mit

Infektionswahrscheinlichkeit korreliert. Konjugation bestimmt zudem die genetische Zusammensetzung der dikaryontischen Hyphen und anschließend der Teliosporen. In einem *in vitro*-Experiment war die Konjugationshäufigkeit sowohl von den Eigenschaften der Konjugationspartner als auch der Wirtspflanzen beeinflusst. Selbstbefruchtende Sporidienkombinationen hatten höhere durchschnittliche Konjugationshäufigkeit als fremdbefruchtende. Selbstbefruchtung ist der vorherrschende Reproduktionsmodus dieses Pilzes. Eine Präferenz für Selbstbefruchtung könnte als Mechanismus zur Sicherung von Reproduktionserfolg evolviert haben. Einzelne Pilzstämme variierten hinsichtlich ihrer Konjugationshäufigkeit in selbst- und fremdbefruchtenden Kombinationen. Somit könnte Konjugation zwischen fremden Partnern zumindest in manchen Wirten von Vorteil sein. Sexuelle Rekombination könnte also wichtig sein, um neue Genotypen hervorzubringen, die lokale, resistente Wirte infizieren können.

KAPITEL 5 UND 6. Als vektor-übertragener Parasit sollte es *M. violaceum* vermeiden, die Attraktivität für Blütenbesucher seines Wirtes zu vermindern, oder sogar in der Lage sein, die Attraktivität zu erhöhen. Infektion beschleunigte den Blühbeginn und erhöhte die Blütenproduktion experimentell infizierter Pflanzen. Diese Veränderungen können als Manipulation durch den Parasiten interpretiert werden, um Blütenbesucher anzuziehen und die Übertragungschancen zu erhöhen. Allerdings produzierten infizierte Pflanzen auch kleinere, unsymmetrischere Blüten mit geringerem Nektar-Zuckergehalt als gesunde Pflanzen. Dies weist auf unvermeidbare negative Nebeneffekte von Infektionen hin, die die infizierte Pflanze weniger attraktiv für Insekten machen. Darüberhinaus investierten infizierte Pflanzen relativ weniger in unterirdische Biomasse als gesunde Pflanzen. Dieser Pathogen überwintert in den Wurzeln seines Wirtes. Somit könnte er die Fähigkeit, die Übertragungswahrscheinlichkeit durch erhöhte Allokation in oberirdische Strukturen zu manipulieren, mit erhöhtem Sterberisiko bezahlen. Pilzstämme unterschieden sich im Ausmaß der im Wirt induzierten Veränderungen in einigen der untersuchten Merkmalen. Diese Unterschiede in der Veränderungen des Wirtstypens eröffnen die Möglichkeit Bestäuber-vermittelter Selektion auf diesen Parasiten.

KAPITEL 7 UND 8. Im Falle von Geschlechtskrankheiten beeinflusst Paarungsverhalten das Infektionsrisiko. Für *S. latifolia* ist bekannt, daß das Blühverhalten den Blütenbesuch und damit auch die Wahrscheinlichkeit von Sporendeposition und darauffolgender Erkrankung beeinflussen. Während männliche Pflanzen viele, kurzlebige Blüten produzieren, besitzen Weibchen weniger, dafür langlebigere Blüten, besonders wenn diese sich zu Früchten entwickeln. In einem Blüten-Inokulationsexperiment untersuchte ich den Einfluß von Blütenzahl und -lebensdauer auf die Infektionswahrscheinlichkeit. Weibchen, bei denen die Blüten, bzw. sich entwickelnde Fruchtkapseln, erst zwei

Wochen nach der Inokulation entfernt wurden, hatten eine höhere Infektionswahrscheinlichkeit als männliche oder weibliche Pflanzen, bei denen inokulierte Blüten innerhalb von zwei Tagen entfernt wurden. Variation in der Anzahl inokulierter Blüten (vier oder 16) hatte keinen signifikanten Einfluß auf die Infektionswahrscheinlichkeit. Das erhöhte per-Kontakt Risiko könnte überproportionale Infektionsraten von Weibchen in natürlichen Populationen erklären. Das Reifen der Fruchtkapseln ist ein unabwendbarer Zwang für eine weibliche Pflanze. Dies läßt es schwierig erscheinen, ein adäquates Paarungsverhalten zu evolvieren, das das per-Kontakt Risiko minimiert.

KAPITEL 9. Es wird allgemein angenommen, daß Parasiten schneller evolvieren können als ihre Wirte und sich deshalb an ihre lokale Wirtspopulation anpassen. Als Resultat dieses Prozesses kann ein geographisches Muster lokaler Anpassung entstehen, das höhere durchschnittliche Fitness des Parasiten in lokalen als in fremden Wirten beinhaltet. Obwohl in verschiedenen Studien bestätigt, ist dieses Muster jedoch kein universeller Befund. Bereits einfache, auf frequenz-abhängiger Selektion beruhende Modelle sagen komplexe Muster im Verhalten von Parasiten in lokalen und fremden Wirten voraus. In Metapopulationen können Stochastizität im Zuge von Aussterbens- und Wiederbesiedlungsdynamik, Genfluß und Umweltheterogenität Prozesse lokaler Anpassung aufheben, oder erst auf höheren geographischen Ebenen entstehen lassen. Andererseits kann Genfluß zu Import von adaptiver Variation führen. Unterschiedliche Migrationsraten von Wirt und Parasit könnten sogar das Ungleichgewicht evolutiver Raten zwischen Wirt und Parasit beeinflussen. Aus all diesen Gründen dürfte man lokale Anpassung in der Regel nur als ein "Durchschnitts"-Phänomen, gemittelt über viele Populationen, erwarten können.

KAPITEL 10. In einem Inokulations-Experiment zeigte *M. violaceum* geringeren durchschnittlichen Infektionserfolg in Kombination mit lokalen Wirtspflanzen als in Kombinationen mit Wirten von anderen Populationen. Mehrere Gründe könnten für diese lokale Fehlanpassung verantwortlich sein. Zum einen ist *M. violaceum* weitgehend selbstfruchtet, und dies könnte die Möglichkeit, durch Rekombination neue Virulenztypen zu erzeugen, vermindern. Der Wirt hingegen ist obligat fremdbefruchtet und kann somit durch sexuelle Rekombination ständig neue Resistenzvarianten generieren. Zweitens finden sich in Populationen oft nur relativ wenige infizierte Individuen, sodaß Stochastizität die Variabilität des Pathogens weiter reduzieren könnte. Drittens zeigt *S. latifolia* wesentlich höhere Migrationsraten als *M. violaceum*, möglicherweise weil Bestäuber gesunde Pflanzen bevorzugen. Migration zwischen verschiedenen Populationen könnte deshalb neue Resistenzvarianten häufiger einführen als Virulenzvarianten.