

Diss. ETH No. 16715

**Host-parasite interactions and the evolution of
meiotic recombination in the Red Flour Beetle,
*Tribolium castaneum***

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY
for the degree of Doctor of Sciences (Dr. sc. ETH Zürich)

presented by
Oliver Marc Fischer
dipl. Zool. Universität Zürich, Switzerland
born May 4, 1973
of Stetten (AG), Switzerland

Prof. Dr. P. Schmid-Hempel, examiner
Prof. Dr. J. Jokela, co-examiner

2007

1. Zusammenfassung

Sexuelle Fortpflanzung wird von zahlreichen Nachteilen begleitet. So werden beispielsweise erfolgreich adaptierte Genkombinationen durch Crossover und Rekombination in der Meiose auseinandergerissen. Schon Generationen von Biologen versuchten, allgemein gültige Modelle für die Evolution und Aufrechterhaltung von sexuellen Prozessen zu finden. Eine klassische, aber nach wie vor kontrovers diskutierte Idee glaubt, dass sexuelle Organismen durch ihre höhere genetische Variabilität einen entscheidenden Vorteil im Kampf gegen Parasiten und Krankheitserreger haben.

Für meine Doktorarbeit entwickelte ich eine Langzeitstudie des Rotbraunen Reismehlkäfers, *Tribolium castaneum*, und einem seiner natürlichen Parasiten, dem Einzeller *Nosema whitei*. Dabei ermöglichte ich eine gegenseitige Adaptation zwischen Wirt und Parasit über mehrere Generationen und untersuchte die Änderung und Auswirkung auf die genetische Rekombination in verschiedenen Populationen. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden die Vorteile von Sexualität und erhöhter Rekombination in einem Wirt-Parasiten Systemen zwar durch theoretische Modelle vorgeschlagen, doch experimentell wurden nur einige Aspekte betrachtet. Dies hier bildete somit die erste Studie, die direkt und experimentell den Einfluss der Adaptation an die Parasiten auf die Rekombinationsrate des Wirtes testete.

Populationen von *T. castaneum* wurden für mehr als 20 Generationen unter der Selektion von Parasiten oder anderen Selektionsfaktoren gehalten. In regelmässigen Abständen habe ich die genetische Rekombinationsfrequenz (Anzahl meiotischer Crossover) in den verschiedenen Käferpopulationen mit Hilfe von Markerstämmen (Käferpopulationen mit genetischen Marker Mutationen) bestimmt. Dazwischen führte ich weitere Experimente durch, um so die Fitness der Käfer und der Grad der Adaptation an die Parasiten innerhalb der Selektion zu messen.

Ich fand eine rasche Zunahme der Rekombinationsfrequenz innerhalb der ersten Generationen, wenn die Käfer die Möglichkeit hatten zusammen mit ihren Parasiten zu evolvieren. Parasiten aus fremden Stämmen bewirkten bei den Käfern leicht erhöhte Rekombinationsfrequenzen. Direkte Selektion auf Resistenz gegen ein Insektizid (Malathion) führte hingegen immer zu tiefen Rekombinationswerten. Im Verlauf des Experiments zeigte ich dann eine mögliche "cost of recombination": Die Käfer, die mit eigenen oder fremden Parasiten selektioniert wurden, hatten nicht nur höhere Rekombinationswerte, sondern jeweils auch eine deutlich erniedrigte Fekundität. Bemerkenswerterweise hatten sie jedoch einen viel geringeren Fekunditätsverlust als jene Populationen, die vorher keinerlei Kontakt mit Parasiten hatten. Dies zeigt, dass die erhöhte Rekombinationsfrequenz eine positive Auswirkung unter infektiösen Bedingungen hat. In einem weiteren Experiment konnte ich zeigen, dass sich die Käfer im Verlauf von 16 Generationen sowohl zeitlich wie auch räumlich an ihre Parasiten anpassen: Sie waren am überlebensfähigsten, wenn sie den augenblicklich vorherrschenden Parasiten aus ihrer eigenen Linie ausgesetzt waren, verglichen mit Parasiten von fremden Stämmen oder mit Parasiten aus ihren früheren Generationen. Im gesamten Experiment änderte die Rekombinationsfrequenz vor allem signifikant innerhalb der Linkage Group II (Chromosom 2) und zwar bei jenen Käfern, die zusammen mit den Parasiten evolvieren konnten. Dies lässt vermuten, dass diese Region Resistenzgene im Zusammenhang mit *N. whitei* enthält. Zusätzlich fand ich positive genetische Interferenz für die aufeinanderfolgenden genetischen Abschnitte in den untersuchten Chromsomen, was u.a. bedeutet, dass es schwierig ist, höhere Rekombinationswerte über einen weiten Bereich des Genoms oder über viele Generationen zu finden.

Zusammengenommen unterstützen die Resultate dieser Doktorarbeit einige wichtige Aspekte der anfangs diskutierten, theoretischen Bedingungen, wie Parasiten als treibende, evolutive Kraft für genetische Rekombination selektieren.

2. Summary

Sexual reproduction is accompanied by a large set of costs, e.g. that favourable genetic combinations break down in every generation during meiotic recombination. Therefore, generations of biologists tried to explain the fundamental process of the evolution and maintenance of sexuality. A long-time and controversially discussed idea suggests that a continuous mixing of genes is advantageous for organisms to effectively fend and genetically escape their rapidly coevolving parasites.

For my thesis, I developed a long-term selection between populations of the Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum*, and its natural parasite, *Nosema whitei*, to design a coevolutionary scenario in a study system and to test conditions for the evolution of recombination. Until now, theoretical models have proposed conditions for genetic variation to evolve, but field studies could verify only a few aspects for recombination in host-parasite systems. However, this was the first study directly and experimentally testing the effect of selection by parasites on recombination rates.

I kept populations of the Red Flour Beetle under different selection regimes for more than 20 generations. I measured host recombination rates with different genetic marker strains in regular intervals and designed further experiments to test host fitnesses and the status of coevolution in the study system.

I found a rapid increase in recombination rates (crossing-overs) within a few generations when beetles were allowed to coevolve with the parasites, while external sources of parasites resulted in marginally smaller rates at the beginning. Directional selection for resistance to the insecticide Malathion resulted in low recombination rates throughout, while the beetles exposed to the random parasites had increased recombination values in later generations. At this time, the beetle populations selected by coevolving or random

parasite lines, i.e. those lines with increased recombination, had decreased fecundities. Remarkably, under infectious conditions, these lines suffered less loss from exposure to parasites than beetles not selected by parasites or selected by Malathion. With this, I showed a possible cost of recombination under uninfected conditions and, at the same time, a positive effect of increased recombination for the host's adaptation to the parasites. Moreover, even the beetles from control lines could profit from higher recombination rates, in that the delay in hatching time caused by parasites decreased with increased recombination rates. In a further step, I found evidence that beetles from the coevolution lines were really locally and temporally adapted to their parasites: Beetle populations were more viable when exposed to the current parasites from their own line as compared to various external sources or to parasites from previous generations. For the overall experiment, especially linkage group II (chromosome 2) showed significantly changed recombination rates under coevolution, suggesting this location to contain resistance loci against *N. whitei*. In addition, I found positive genetic interference in the two adjacent sites on the observed chromosomes, which indicates that it is difficult to find higher values of recombination across a larger range of the genome or across many generations.

Together, although alternative explanations are also discussed, these results support the view, that coevolving parasites may potentially function as a driving selective force for increased recombination in this experimental study system. The results fit also with the theoretical predictions presented at the beginning, about how recombination is constrained or favoured to evolve when host-parasite dependent processes are expected to be involved.