

Diss. ETH No. 17132

Host variability and parasitism in *Bombus terrestris*

A dissertation submitted to the
Swiss Federal Institute of Technology
Zürich

for the degree of
Doctor of Sciences

presented by
ALICE P. JOHNSON
BSc. (Hons) Biology, University College, London
born 8. October 1977
citizen of the UK

accepted on the recommendation of
Prof. Paul Schmid-Hempel, examiner
Prof. Bruce McDonald, co-examiner

2007

Zusammenfassung

Es wird angenommen, dass Parasiten und die genetische Variation in ihren Wirten sich gegenseitig beeinflussen. Parasiten müssen sich in einem Wirt fortpflanzen und auf neue Wirte überspringen, wenn sie überleben wollen. Parasiten können theoretisch leichter zwischen genetisch ähnlichen (homogenen) Wirten übertragen werden, und können sich auch leichter an die entsprechenden Genotypen anpassen und sie effizienter ausbeuten. Auf diese Weise werden sie in einem bestimmten Genotyp virulenter, auf Kosten der Fähigkeit, auch andere Genotypen effizient ausbeuten zu können. Eine heterogene Wirts-Umgebung limitiert theoretisch diese Entwicklung hin zu grösserer Virulenz, indem sie den Parasiten zwingt, eine generalistische anstatt einer spezialisierten Strategie auszubilden.

Parasitismus könnte ebenso zur Erhaltung einer genetischen Diversität in Wirts-Populationen führen. Es wird erwartet, dass die Anpassung der Parasiten an genetische Variationen in Wirts-Populationen zu negativer frequenzabhängiger Selektion und damit zu Zyklen in den Wirts-Genotypen führt (die "Red Queen"-Hypothese). Häufige Wirts-Genotypen leiden an übermässiger Infektion durch gut adaptierte Parasiten und erleiden dadurch einen Verlust an Fitness, was wiederum zur Ausdünnung des Genotyps führt. Seltene Genotypen leiden weniger an den Beeinträchtigungen durch Parasiten, da weniger Parasiten an sie angepasst bleiben, und kommen dadurch zunehmend häufiger vor. Diese Dynamik wurde von der Theorie vorhergesagt, und könnte eine wichtige Rolle in der Wahrung sexueller Fortpflanzung und Rekombination spielen, sie wurde jedoch kaum tatsächlich in der Natur nachgewiesen.

In dieser Arbeit stelle ich Untersuchungen zu diesen zwei Aspekten der wirtsgenetischen Heterogenität und des Parasitismus anhand der Erdhummel *Bombus terrestris* vor. Ich habe anhand des Darmparasiten *Crithidia bombi*, der in Population von entweder heterogenen oder homogenen Wirten weitergegeben wurde, nicht feststellen können, dass wirtsgenetische Heterogenität eine Einschränkung für die Entwicklung von Virulenz darstellt. Entgegen meinen Erwartungen zeigt *Crithidia bombi* nach mehreren Durchgängen durch entweder heterogene (Hummeln aus zwei Kolonien) oder homogene (Hummeln aus einer Kolonie) Umgebungen keine Unterschiede in der Virulenz, wie anhand der Grösse der Eierstöcke der Hummeln, ihrem Körperfettanteil und ihrer Überlebensdauer bei Nahrungsentzug festgestellt wurde. Da die Hummeln mit einem Cocktail von verschiedenen Stämmen infiziert wurden, könnte die Übertragung der Parasiten in einer Bevorzugung einzelner Stämme aufgrund starker genetischer Interaktion zwischen Wirt und Stamm resultieren, anstatt in einer direkten Konkurrenz zwischen Stämmen oder einer Anpassung an den Wirts-Hintergrund und der Entwicklung höherer Virulenz.

Ich stelle ausserdem die Resultate zweier Untersuchungen vor, die sich mit einigen der Vorhersagen der Red Queen-Hypothese befassen. Im Red Queen-Szenario wären mehrere Genotypen von Hummeln in einer Population zu erwarten, einige davon häufig und andere selten. Die häufigen Genotypen sollten mit Parasiten überinfiziert sein, und alle Genotypen sollten aufgrund des parasitären Einflusses unter negativer frequenzabhängiger Selektion stehen. Ich habe eine Sektion mitochondrialer DNS (die nicht-kodierende intergenetische Sequenz zwischen den Cytochrom-Oxidase-Genen I und II) benutzt, um Hummeln jeweils einem Haplotypen zuzuordnen. Ich habe in beiden untersuchten Population – Zürich, Schweiz und Gotland, Schweden – mehrere verschiedene Haplotypen unterschieden, wobei zwei Haplotypen in beiden Populationen häufig auftraten. Ein Experiment zur Feststellung der Infektionsraten und der Fitness dieser verschiedenen Haplotypen hat gezeigt, dass häufige Haplotypen in der Tat einen Trend zu mehr Parasiten aufweisen, dass jedoch die seltenen Haplotypen in Bezug auf Grösse der Kolonien und sexueller Reproduktion schlechter gestellt sind. Die Daten zeigen weiterhin einen Trend in einem der häufigen Haplotypen – Haplotyp A – zu grösserer Fitness und höherer Parasiten-Belastung als im anderen häufigen Haplotyp, Haplotyp B.

In Zürich variiert die Häufigkeit der Haplotypen von einem Jahr zum nächsten, obschon das in keinem offensichtlichen Zusammenhang zum Parasitenbefall zu stehen scheint. In den meisten Jahren ist Haplotyp A der häufigere. In Gotland ist in den meisten untersuchten Jahren und Jahreszeiten B der häufigste Haplotyp; im Sommer 2002 ändert sich dies jedoch dramatisch, und Haplotyp A ist der häufigste. Wiederum scheint dieser Wechsel nicht vom Einfluss der Parasiten abzuhängen. Diese Resultate werden in Anbetracht möglicher Unterschiede in der mitochondrialen Enzymaktivität diskutiert, sowie der vielversprechenden Möglichkeit, neu entwickelte “Quantitative Trait Loci”-Marker zu benutzen, um Hummeln in Kategorien einzuteilen, die in direkterem Zusammenhang zu in Wirts-Parasiten-Interaktionen involvierten Genen stehen.

Summary

Host genetic variation and parasites are thought to interact in a number of ways. Parasites must reproduce inside the host and transmit to new hosts if they are to survive. When hosts are genetically similar (homogeneous), parasites can in theory transmit more easily, and can also adapt to better exploit that specific genotype. They thus become more virulent in this one genotype at the expense of being able to exploit other host genotypes. A heterogeneous host environment theoretically constrains this evolution of virulence by forcing the parasites to adopt a generalist rather than specialist strategy.

Parasitism could also lead to the maintenance of host genetic diversity within populations. Parasite adaptation to genetic variation within host populations is expected to lead to negative frequency-dependent selection and therefore cycles of host genotypes (the Red Queen hypothesis). Common host genotypes will suffer from overinfection by adapted parasites and suffer a concomitant loss of fitness, driving them to become rare. Rare genotypes escape the fitness consequences of parasitism as fewer parasites remain adapted to them, and will become more common. These dynamics have been predicted in theory, and could have an importance in the maintenance of sexual reproduction and recombination, but have rarely been shown to be occurring in nature.

In this thesis I present investigations into these two aspects of host genetic heterogeneity and parasitism in the bumblebee, *Bombus terrestris*. I found that host genetic heterogeneity does not constrain the evolution of virulence when the trypanosome *Crithidia bombi*, a gut parasite of bumblebees, is serially passaged through a population of heterogeneous versus a population of homogeneous hosts. Contrary to my expectations, *Crithidia bombi* shows no difference in virulence after several passages in either heterogeneous (bumblebees from two colonies) or homogeneous (bumblebees from one colony) environments as shown by host ovariole size, fat body weight and survival under starvation conditions. As the bumblebees were infected with a cocktail of several strains, the passage of parasites may result in strain sorting caused by strong genetic interactions between host and strain, rather than direct strain competition or adaptation to the host background and the evolution of higher virulence.

I also present results of two investigations into some of the predictions made by the Red Queen hypothesis. Under a Red Queen scenario, one would expect to see multiple genotypes of bumblebees within a population, some common and some rare. The common genotypes should be overinfected by parasites, and genotypes should be under negative frequency-dependent selection due to this parasite pressure. I used a section of mitochondrial DNA (the

non-coding intergenic sequence between cytochrome oxidase I and II genes) to assign bumblebees to haplotype. I found multiple haplotypes within both the populations studied – Zürich, Switzerland and Gotland, Sweden – with two haplotypes being common in both populations. An experiment to ascertain the infection rates and fitness of these different haplotypes showed that common haplotypes do indeed show a trend to having more parasites, but that rare haplotypes fare much worse in terms of colony size and sexual production. The data shows a trend that one of the common haplotypes – haplotype A – has higher fitness and higher parasite loads than the other common haplotype, haplotype B.

Across years in Zürich, the frequency of haplotypes A and B varies, although this does not seem to be obviously related to parasites. In most years haplotype A is the most frequent. In Gotland, haplotype B is the most common in most years and seasons sampled, although in summer 2002 this changes dramatically, and haplotype A is the most common. Again, this change does not appear to be due to parasite pressure. These results are discussed with reference to possible differences in mitochondrial enzyme activity, and the exciting possibility of using newly developed Quantitative Trait Loci markers to assign bumblebees into types which are more directly linked to genes involved with host-parasite interactions.