

DISS. ETH NO. 18826

**The role of diploid males in a parasitoid with complementary sex determination**

A dissertation submitted to  
ETH ZURICH

for the degree of  
Doctor of Sciences

presented by  
JAN ELIAS

Dipl. Biol. Johannes Gutenberg Universität Mainz

born 15 February 1980  
citizen of Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Silvia Dorn, examiner  
Dr. Jeff Harvey, co-examiner  
Dr. Dominique Mazzi, co-examiner

2009

## 1. Summary

Deleterious consequences of inbreeding have been described across taxa ever since the time of Charles Darwin. Contrary to diploid organisms, haplodiploid species were long thought to be immune to severe inbreeding depression due to the purging of deleterious recessive alleles in haploid males. However, in haplodiploid Hymenoptera with single locus complementary sex determination (sl-CSD) inbreeding may have detrimental consequences. Under sl-CSD, the sex of an individual depends on the genotype at one locus with multiple alleles. Haploids develop into males, whereas diploids develop into females when heterozygous and into males when homozygous at the sex-determining locus. Diploid males are generally regarded as a genetic load for populations due to their sterility or low viability. Diploid males predominantly occur under inbreeding, when the chances of matings between partners sharing an allele at the sex-determining locus are highest. Thus, inbreeding coupled with a loss of alleles may render small isolated populations with sl-CSD more prone to extinction than populations of diploid species and populations of haplodiploid species with alternative sex determination mechanisms. The aim of the present thesis was to understand the role of diploid males in the gregarious endoparasitoid wasp *Cotesia glomerata*, which has recently been shown to have sl-CSD.

In order to assess the costs of diploid male production in *C. glomerata*, the mating and reproductive success of haploid and diploid males was compared. Diploid males had similar mating success to haploid males and fathered fertile diploid daughters. Thus, first evidence for diploid male fertility in a parasitoid with sl-CSD was provided. Driven by inbreeding, fertile diploid males may have evolved as an adaptation to reduce the genetic load of diploid males.

Accordingly, an estimation of inbreeding levels in a natural population of *C. glomerata* using microsatellite markers revealed that more than half of all matings involved siblings. Therefore, it is likely that frequent diploid male production fuels the evolution of diploid male fertility, ultimately reducing the costs of inbreeding. The persistence of inbreeding in this species suggests that advantages and disadvantages of sib-matings are well balanced.

To examine how diploid male fertility affects extinction proneness of small isolated populations of *C. glomerata*, experimental populations with different initial effective population sizes were established. Experimental populations were hypothesized to be more prone to extinction the smaller their effective size due to elevated diploid male production. The effective size of experimental populations did not affect their extinction proneness, indicating that diploid male fertility may contribute to evading the risk of extinction. Nevertheless, population fitness declined over the course of the experiment and frequent extinction events occurred, possibly due to inbreeding depression or isolation. The results suggest that fertile diploid males may delay extinction, but do not avert the threat permanently. Therefore, even well adapted species should be considered when devising conservation measures to preserve biodiversity.

## 2. Zusammenfassung

Die schwerwiegenden Folgen von Inzucht sind bereits seit der Zeit von Charles Darwin bekannt. Anders als bei diploiden Lebewesen galt Inzucht bei haplodiploiden Arten lange als weniger folgenreich, da schädliche rezessive Allele in haploiden Männchen beseitigt werden. Wenn jedoch in haplodiploiden Hymenopteren das Geschlecht durch einen einzigen Locus mit mehreren Allelen bestimmt wird (sl-CSD), kann Inzucht besonders schwerwiegende Folgen haben. In diesen Arten entwickeln sich haploide Individuen immer zu Männchen. Diploide Individuen werden zu Weibchen, wenn sie heterozygot sind am Locus der Geschlechtsbestimmung und zu Männchen, wenn sie homozygot sind am Locus der Geschlechtsbestimmung. Solche diploiden Männchen entstehen überwiegend in Inzucht-Population, in denen die Wahrscheinlichkeit von Verpaarungen zwischen Partnern mit einem gleichen Allel am Locus der Geschlechtsbestimmung am höchsten ist. Diploide Männchen gelten wegen ihrer Sterilität und geringen Lebensfähigkeit allgemein als genetische Last. Dementsprechend kann Inzucht einhergehend mit einem Allelverlust dazu führen, dass kleine, isolierte Populationen mit sl-CSD sogar stärker vom Aussterben bedroht sind als diploide Arten, oder als haplodiploide Arten mit alternativen Mechanismen der Geschlechtsbestimmung. Ziel dieser Doktorarbeit war, die Funktion von diploiden Männchen in der gregären parasitischen Wespe *Cotesia glomerata*, bei der kürzlich sl-CSD nachgewiesen wurde, zu untersuchen.

Um die Belastung zu erfassen, welche die Produktion von diploiden Männchen für *C. glomerata* erzeugt, wurde der Paarungs- als auch der Fortpflanzungserfolg von haploiden und diploiden Männchen verglichen. Der Paarungserfolg von diploiden Männchen unterschied sich in keiner Weise von jenem der haploiden Männchen. Diploide Männchen waren des Weiterem im Stande fruchtbare, diploide Töchter zu

zeugen. Zum ersten Mal ist damit für eine parasitäre Wespe der Nachweis erbracht für das Vorkommen von fruchtbaren, diploiden Männchen unter *sl-CSD*. Die Evolution solcher Männchen war möglicherweise eine Adaptierung mit dem Ziel, die genetische Last durch diploide Männchen zu verringern. Da diploide Männchen überwiegend unter Inzucht entstehen, könnte die Inzucht einen Selektionsdruck für solch eine Adaptierung dargestellt haben.

Aufgrund dieser Überlegung wurde das Ausmaß von Inzucht in einer Feldpopulation mit Hilfe von Mikrosatelliten abgeschätzt. Dabei ergab sich, dass mehr als die Hälfte aller Verpaarungen zwischen Geschwistern stattfanden. Daher ist es wahrscheinlich, dass die Evolution von fruchtbaren diploiden Männchen durch das häufige Vorkommen von diploiden Männchen vorangetrieben wurde mit dem Ziel, die Belastung durch Inzucht zu verringern. Dass Inzucht weiterhin vorhanden ist in dieser Art, lässt darauf schliessen, dass Vor- und Nachteile von Geschwisterverpaarungen ausgeglichen sind.

Um zu untersuchen, inwiefern die fruchtbaren diploiden Männchen das Aussterberisiko kleiner isolierter Populationen von *C. glomerata* beeinflussen, wurden experimentelle Populationen mit unterschiedlichen effektiven Populationsgrößen angesetzt. Je geringer die effektive Populationsgröße, je höher das Vorkommen von diploiden Männchen. Daher wurde erwartet, dass die Anfälligkeit auszusterben mit der Abnahme der effektiven Populationsgröße zunehmen sollte. Aussterbeereignisse waren jedoch unabhängig von der effektiven Populationsgröße, was zu der Überlegung führt, dass fruchtbare diploide Männchen das Risiko auszusterben entscheidend verringern. Dennoch nahm die Populationsfitness im Laufe des Experiments ab, und Aussterbeereignisse kamen häufig vor, wahrscheinlich aufgrund von schwerwiegenden Folgen von Inzucht oder

Isolierung. Daher ist es wahrscheinlich, dass fertile diploide Männchen auf kurze Sicht ein Aussterben verhindern, dies aber nicht dauerhaft zu tun vermögen. Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass selbst sehr gut angepasste Arten beim Naturschutz mitberücksichtigt werden sollten, um Biodiversität zu erhalten.