



Doctoral Thesis

Variation in natural selection on immune defense in a freshwater snail

Author(s):

Langeloh, Laura

Publication Date:

2016

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010877863> →

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](#).

DISS. ETH NO. 23816

VARIATION IN NATURAL SELECTION ON IMMUNE DEFENSE IN A FRESHWATER SNAIL

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by
LAURA LANGELOH

M.Sc. Biol., University of Münster

born on 18.08.1982

citizen of Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Jukka Jokela
Dr. Otto Seppälä
Prof. Mark J. F. Brown

2016

Summary

Approximately 30 to 50 % of all species lead a parasitic lifestyle displaying some degree of virulence in their hosts. Immune defense is considered the main physiological barrier of hosts against parasite infections. The immune system is composite of a number of cellular and molecular mechanisms with the purpose of detecting and eliminating non-self. Many immune defense traits display heritable phenotypic variation suggesting they could evolve through natural selection. However, little is known to date about how variation in immune traits contributes to fitness variation. In order to understand and possibly predict the outcome of host-parasite interactions we need to learn about the form and strength of natural selection on immune traits.

Theory predicts immune traits to be under stabilizing selection based on the hypothesis that, apart from the benefit of eliminating harmful parasites, these defenses are costly to maintain and deploy. Empirical evidence, on the other hand, mostly reports positive directional selection with only very few exceptions. Key to understanding this discrepancy between theory and reality could be the consideration of various biological factors, such as resource availability, infection risk, and genetic variation in host populations, which might lead to spatial and temporal variation in the form and strength of natural selection. Additionally, other host characteristics, affecting, for instance, their exposure to parasites, could affect the form and strength of selection on immune traits as such traits could act as alternative targets for selection. Context-dependency of natural selection could lead to genetic divergence between host populations as well as the maintenance of within-population genetic variation in immune traits.

In this project, I first investigated the form of selection on two immune defense traits, phenoloxidase-like (PO-like) activity and antibacterial activity in hemolymph, in the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* under field conditions (chapter 1). I maintained the snails individually in cages in a lake where they were exposed to a natural community of parasites and measured two components of fitness, survival and fecundity. As high resource availability can lead to variation in individual resource level due to differences in resource acquisition, fitness might therefore turn out to reflect individual-level variation in condition rather than variation in immune defense. To consider this potential confounding factor, I introduced a feeding treatment that ensured that resource availability was reduced. As the need for a strong immune defense can be expected to be higher when parasite pressure is higher, I investigated the effect of infection risk by opportunistic microbes on natural selection on the same two immune

defense traits under laboratory conditions (chapter 2). I exposed snails derived from six different laboratory populations to either clean aged tap-water or microorganism-enriched tap water and recorded survival and fecundity of individuals. Additionally, to quantify the relative importance of factors determining host exposure to parasite infective stages and immune defense for the outcome of host-parasite encounters, I collected individual-level measurements for attractiveness of *L. stagnalis* snails to *E. aconiatum* cercariae, physiological condition, immune activity, and susceptibility to infection (chapter 3).

The results show that the form of selection varied between the two immune parameters, both in the field and in the laboratory, suggesting that the two traits differ with respect to their importance under the experimental conditions. Selection gradients responded to variation in resource availability and infection risk. PO-like activity was under stabilizing selection in the field in the treatment group with higher resource availability, and mostly under negative directional selection in the laboratory experiment. It appears that this trait was mostly costly when the snails were exposed to opportunistic microbes only but increased in importance when the snails faced the risk of infection with larger parasites such as trematodes. This is in line with the known role of phenoloxidase during the encapsulation process of large parasites. Antibacterial activity was under positive directional selection in the field when resource availability was higher and under stabilizing selection in clean aged tap water in the laboratory, indicating that the importance of this trait increased with increasing risk of microbial infection. Selection on both traits was mostly driven by selection on survival while fecundity selection only played a minor role. Variation in attractiveness of snails to trematode cercariae did not affect variation in susceptibility, suggesting that other defense-related processes, possibly occurring after the infection, determine susceptibility. Immune activity in hemolymph, however, as measured here, was not associated with *L. stagnalis* susceptibility to *E. aconiatum*.

Zusammenfassung

Rund 30 bis 50 % aller Arten führen ein parasitisches Leben, welches mit einem gewissen Grad an Virulenz einhergeht. Das Immunsystem gilt als die wichtigste physiologische Barriere des Wirtes gegen parasitäre Infektionen und setzt sich aus einer Reihe von zellulären und molekularen Mechanismen zusammen, deren Ziel die Erkennung und Zerstörung von Körperfremdem ist. Viele Immunabwehr-Merkmale weisen erbliche phänotypische Variation auf, was vermuten lässt, dass sie zur Evolution durch natürliche Selektion in der Lage sind. Bis heute ist jedoch wenig darüber bekannt, wie die Variation in Immunmerkmalen zur Variation in reproduktiver Fitness beiträgt. Um den Ausgang von Wirt-Parasit-Interaktionen verstehen und eventuell vorhersagen zu können, bedarf es Erkenntnissen über die Form und Stärke des natürlichen Selektionsdrucks auf Immunmerkmale.

Die Theorie besagt, dass Immunmerkmale unter stabilisierender Selektion stehen sollten. Dies basiert auf der Hypothese, dass diese Verteidigungsmechanismen trotz ihres Nutzens bei der Zerstörung schädlicher Parasiten teuer im Unterhalt und in der Anwendung sind. Empirische Studien berichten allerdings mit nur wenigen Ausnahmen hauptsächlich von positiver direktonaler Selektion. Der Schlüssel zum Verständnis dieser Diskrepanz zwischen Theorie und Realität könnte in der Einbeziehung verschiedener biologischer Faktoren, wie z.B. Verfügbarkeit von Ressourcen, Infektionsrisiko und genetische Vielfalt der Wirtspopulationen, liegen, die zu räumlichen und zeitlichen Schwankungen in Form und Stärke der natürlichen Selektion führen könnten. Abgesehen davon gibt es noch andere Eigenschaften des Wirtes, die sich auf die Form und Stärke der Selektion von Immunmerkmalen auswirken könnten, indem sie z.B. den Kontakt zu Parasiten beeinflussen. Solche Merkmale stellen alternative Angriffspunkte für Selektion da. Eine derartige Kontextabhängigkeit natürlicher Selektion könnte zu genetischer Divergenz zwischen Populationen, sowie zur Erhaltung von genetischer Varianz in Immunmerkmalen innerhalb von Populationen führen.

In diesem Projekt habe ich zunächst die Form der Selektion in zwei Immunabwehr-Merkmalen, Phenoloxidase-ähnliche (PO-ähnliche) Aktivität und antibakterielle Aktivität, in der Hämolymphe der Süßwasserschnecke *Lymnaea stagnalis* unter Freilandbedingungen untersucht (Kapitel 1). Ich habe die Schnecken in einem See einzeln in Käfigen gehalten, wo sie einer natürlichen Parasiten-Gemeinschaft ausgesetzt waren. Ich habe zwei Fitness-Komponenten, Überleben und Fekundität gemessen. Da

aufgrund von Unterschieden zwischen Individuen bezüglich ihrer Nährstoffaufnahme eine hohe Verfügbarkeit von Ressourcen zu Varianz in der Höhe der individuellen Nährstoffversorgung führen kann, ist es möglich, dass individuelle Fitness individuelle Unterschiede in Bezug auf die körperliche Verfassung widerspiegelt anstelle von Unterschieden in der Stärke der Immunabwehr. Um diesen potentiell irreführenden Faktor zu berücksichtigen, habe ich ein durch eine Manipulation in der Fütterung sichergestellt, dass die Verfügbarkeit von Nährstoffen reduziert war. Die Notwendigkeit einer starken Immunabwehr sollte erwartungsgemäß unter erhöhter Belastung durch Parasiten höher sein. Während der Selektionsdruck durch Parasiten im ersten Experiment für alle Schnecken gleich hoch war, habe ich in einem Laborexperiment die Auswirkung des Infektionsrisikos durch opportunistische Mikroben auf die natürliche Selektion derselben beiden Immunabwehr-Merkmale untersucht (Kapitel 2). Ich habe Schnecken aus sechs verschiedenen Laborkulturen entweder sauberem gealtertem Leitungswasser oder Mikroben-angereichertem Leitungswasser ausgesetzt und Daten über das Überleben und die Fekundität der Individuen erhoben. In einem dritten Experiment habe ich individuelle Messungen in *L. stagnalis*-Schnecken bezüglich ihrer physiologischen Konstitution, ihrer Immunaktivität, sowie ihrer Attraktivität und ihrer Infektionsanfälligkeit für *Echinoparyphium aconiatum*-Zerkarien durchgeführt (Kapitel 3).

Die Ergebnisse zeigen, dass die Form der Selektion zwischen den beiden Immunparametern sowohl im Feld als auch im Labor variiert, was darauf hindeutet, dass sich die beiden Merkmale in Bezug auf ihre Wichtigkeit unter den experimentellen Bedingungen unterscheiden. Die Selektionsgradienten haben auf die Varianz in der Ressourcenverfügbarkeit und im Infektionsrisiko reagiert. PO-ähnliche Aktivität stand im Feld in der Gruppe mit höherer Ressourcenverfügbarkeit unter stabilisierender Selektion, aber im Laborversuch hauptsächlich unter negativer direktonaler Selektion. Es scheint, dass dieses Merkmal hauptsächlich kostspielig ist, solange die Schnecken nur opportunistischen Mikroben ausgesetzt sind, aber an Bedeutung gewinnt, sobald die Schnecken einer Bedrohung durch größere Parasiten, wie z.B. Trematoden, gegenüberstehen. Dies deckt sich mit der bekannten Rolle von Phenoloxidase während der Verkapselung großer Parasiten. Antibakterielle Aktivität stand im Feld bei höherer Ressourcenverfügbarkeit unter positiver direktonaler Selektion und im Labor im sauberen gealterten Leitungswasser unter stabilisierender Selektion, was auf die wachsende Bedeutung dieses Merkmals bei steigendem Infektionsrisiko durch Mikroben hindeutet. Die Selektion beider Merkmale wird durch Selektion auf Überlebensfähigkeit

gelenkt, während Selektion auf Fekundität nur eine untergeordnete Rolle spielt. Die Varianz ihrer Attraktivität für Trematoden-Zerkarien hatte keinen Einfluss auf die Varianz in der Infektionsanfälligkeit der Schnecken, was darauf hindeutet, dass andere Abwehr-bezogene Prozesse, die möglicherweise nach der Infektion stattfinden, über die Infektionsanfälligkeit entscheiden. Immunaktivität in der Hämolymphe, wie sie hier gemessen wurde, steht jedoch in keinem Bezug zur Anfälligkeit von *L. stagnalis* für *E. aconiatum*.