

DISS. ETH NO. 29194

Uncovering the evolution of elevational ecotypes in Alpine carnations

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

AKSEL PÅLSSON

M.SC. IN SCIENCE, UPPSALA UNIVERSITY, SWEDEN

born on 27.08.1989

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Alex Widmer

Dr. Simone Fior

Dr. Jake Alexander

Prof. Dr. Sophie Karrenberg

Prof. Dr. Simon Hiscock

2023

Summary

Divergent selection pressures imposed by contrasting environmental conditions at opposite ends of environmental gradients can drive the evolution of populations that are adapted to local conditions. Elevational gradients in the Alps coincide with steep climatic gradients where plant populations experience divergent selection within a limited geographic scale. This feature makes alpine plants with a broad elevational range ideal for the study of evolution of local adaptation. In this thesis, we aimed to unravel the evolution of distinct locally adapted ecotypes of alpine carnations (*Dianthus* spp., Caryophyllaceae) in response to climate driven selection imposed by contrasting elevational habitats. As a study system, we used two perennial systems with an elevational distribution ranging from the colline to alpine belts in central Europe, *D. carthusianorum* and *D. sylvestris*. We used populations from low and high elevation growing in long-term reciprocal transplant experiments to study the evolutionary processes underlying ecotype formation by investigating performance across multiple fitness components and life stages of the perennial life cycle. Experiments for *D. sylvestris* were further combined with phenotypic selection analyses and a genome-wide association study based on a transplant of recombinant F2 crosses, which were used to examine the both contribution of divergent traits to adaptation and the fitness effect of alleles underlying these traits.

In **chapter I**, we first tested for local adaptation in *D. carthusianorum* by using data on performance in individual fitness components measured over a period of three years in the reciprocal transplant experiment. We found evidence of genotype by environment (GxE) interactions and fitness advantages of the local ecotype, though with extensive variation at different stages of the life cycle. We thus performed a complementary seedling recruitment experiment and integrated fitness over the course of the experiment through matrix population models. Population growth rates showed a strong signal of local adaptation in both elevational environments and further provided evidence of alternate life-history traits as determinants of plant fitness. The low elevation environment caused the local plants to express a faster life cycle characterized by high investment in early reproduction. Contrarily, fitness of the local plants in the high elevation ecotype was driven primarily by survival. The high elevation plants also reproduced more in the foreign environment, which caused them to exceed their physiological limit of resource allocation to reproduction and suffer a cost in terms of reduced post reproductive survival. **Chapter I** shows how selection imposed at the extremes of an elevational gradient drove ecotype formation in a perennial plant, highlighting the influence of trade-offs and phenotypic plasticity of life history traits as determinants of population performance under different environmental conditions.

In **chapter II**, we explored how selection acting through different fitness components of the perennial life cycle has driven ecotype formation in *D. sylvestris*, and we dissected the contribution of divergent traits to this process. Populations of *D. sylvestris* persisted in high elevation refugia during the Last Glacial Maximum and have subsequently colonized low

Summary

elevation habitats. We combined phenotypic and fitness data collected in a reciprocal transplant experiment over five years with phenotypic selection analyses on F2 crosses to unravel the contributions of adaptive traits to the responses to the contrasting environmental conditions and associated selection regimes. Our results revealed a strong genetic basis for plant size, plant height and flowering time, associated with elevational adaptation. The high elevation environment favored a conservative life history strategy characterized by a long life span and limited investment in reproduction. Consistently, selection acted towards early flowering to ensure completion of the reproductive cycle in the short alpine summer season. In contrast, the warmer low elevation environment favored a life history strategy characterized by high investment in early reproduction at the expense of a shorter life cycle, and thus plants achieving large size and maximized fecundity. Our results show that colonization of the warmer low elevation habitats proceeded through a shift in both phenotypic and life history traits linked to resource allocation in a high-energy environment with a longer reproductive season.

In **chapter III**, we leveraged results from chapter II to uncover the fitness effect of alleles underlying the traits that contributed to the adaptive divergence between the low and high elevation populations of *D. sylvestris*. We performed genome-wide association analyses and identified a polygenic genetic architecture underlying the studied adaptive traits. We found examples of both antagonistic pleiotropy and conditional neutrality describing the fitness effects of allelic variation at these loci. By dissecting separate fitness components, we revealed that alleles underlying successful reproduction at high elevation had a negative effect on fecundity, while this relationship turned positive at low elevation. These results suggest that the trade-off in resource allocation indicated in chapter II is accompanied by congruent signals at the level of the underlying genetic variants.

Zusammenfassung

Unterschiedlicher Selektionsdruck durch kontrastierende Umweltbedingungen an entgegengesetzten Enden von Umweltgradienten kann die Evolution von Populationen vorantreiben, die an die lokalen Bedingungen angepasst sind. Höhengradienten in den Alpen werden von steilen klimatischen Gradienten begleitet, bei denen Pflanzenpopulationen innerhalb einer begrenzten geografischen Skala divergierende Selektion erfahren. Dies macht alpine Pflanzen die auf verschiedenen Höhenlagen vorkommen ideal für die Untersuchung der Evolution lokaler Anpassungen. In dieser Arbeit untersuchten wir die Entwicklung verschiedener lokal angepasster Ökotypen alpiner Nelken (*Dianthus* spp., Caryophyllaceae) als Reaktion auf die klimatisch bedingte Selektion auf verschiedenen Höhenlagen. Als Studiensystem dienten uns zwei mehrjährige Pflanzenarten, die in Mitteleuropa von der collinen bis zur alpinen Stufe verbreitet sind: *D. carthusianorum* und *D. sylvestris*. Um die evolutionären Prozesse zu untersuchen, die der Bildung von Ökotypen zugrunde liegen, verwendeten wir Populationen aus niedrigen und hohen Lagen und führten Langzeitexperimente mit reziproker Transplantation durch. Dabei untersuchten wir die Leistung über mehrere Fitnesskomponenten und Lebensstadien des mehrjährigen Lebenszyklus. Die Experimente für *D. sylvestris* wurden darüber hinaus mit phänotypischen Selektionsanalysen und einer genomweiten Assoziationsstudie auf der Grundlage einer Transplantation von rekombinanten F2-Kreuzungen, sowohl den Beitrag divergenter Merkmale zur Anpassung als auch den Fitnessseffekt der diesen Merkmalen zugrunde liegenden Allele zu untersuchen.

In **Kapitel I** testeten wir zunächst die lokale Anpassung von *D. carthusianorum* anhand von Daten über die Leistung in einzelnen Fitnesskomponenten, die über einen Zeitraum von drei Jahren im Rahmen des reziproken Transplantationsexperiments gemessen wurden. Wir fanden Hinweise auf Wechselwirkungen zwischen Genotyp und Umwelt (GxE) und auf Fitnessvorteile des lokalen Ökotyps, allerdings mit erheblichen Abweichungen in verschiedenen Stadien des Lebenszyklus. Daher führten wir ein ergänzendes Experiment zur Rekrutierung von Sämlingen durch und integrierten die Fitness im Verlauf des Experiments durch Matrix-Populationsmodelle. Die Wachstumsraten der Populationen zeigten ein starkes Signal der lokalen Anpassung in beiden Höhenlagen und lieferten weitere Belege für alternative lebensgeschichtliche Merkmale als Determinanten der Pflanzenfitness. Die niedrig gelegene Umgebung veranlasste die lokalen Pflanzen zu einem schnelleren Lebenszyklus, der durch hohe Investitionen in die frühe Reproduktion gekennzeichnet war. Im Gegensatz dazu wurde die Fitness der einheimischen Pflanzen im hochgelegenen Ökotyp hauptsächlich durch das Überleben bestimmt. Die Pflanzen aus der höheren Lage vermehrten sich auch in der fremden Umgebung stärker, was sie dazu veranlasste ihre physiologische Grenze der Ressourcenallokation für die Fortpflanzung zu überschreiten und einen Preis in Form eines geringeren Überlebens nach der Fortpflanzung zu zahlen. **Kapitel I** zeigt, wie die Selektion an den Extremen eines Höhengradienten die Bildung von Ökotypen bei einer mehrjährigen Pflanze vorantreibt, und verdeutlicht den Einfluss von

Kompromissen und phänotypischer Plastizität der lebensgeschichtlichen Merkmale als Determinanten der Populationsleistung unter verschiedenen Umweltbedingungen.

In **Kapitel II** untersuchten wir, wie die Selektion auf verschiedene Fitnesskomponenten des mehrjährigen Lebenszyklus die Bildung von Ökotypen bei *D. sylvestris* vorangetrieben hat und untersuchten den Beitrag divergenter Merkmale zu diesem Prozess. Populationen von *D. sylvestris* hielten sich während des letzten glazialen Maximums in hochgelegenen Refugien auf und haben anschließend Lebensräume in niedrigeren Lagen besiedelt. Wir kombinierten phänotypische und Fitnessdaten, die in einem fünfjährigen Experiment mit reziproker Transplantation erhoben wurden, mit phänotypischen Selektionsanalysen an F₂-Kreuzungen, um die Beiträge adaptiver Merkmale zu den Reaktionen auf die unterschiedlichen Umweltbedingungen und die damit verbundenen Selektionsregime zu entschlüsseln. Unsere Ergebnisse zeigten eine starke genetische Grundlage für Pflanzengröße, Pflanzenhöhe und Blütezeit, die mit der Anpassung an die Höhenlage zusammenhängen. Die hochgelegene Umgebung begünstigte eine konservative Lebensstrategie, die durch eine lange Lebensspanne und begrenzte Investitionen in die Fortpflanzung gekennzeichnet ist. Die Selektion in höherer Lage begünstigte frühes Blühen, um den Abschluss des Reproduktionszyklus in der kurzen alpinen Sommersaison zu gewährleisten. Im Gegensatz dazu begünstigte die wärmere Umgebung in niedrigeren Höhenlagen eine Lebensstrategie, die durch hohe Investitionen in die frühe Reproduktion auf Kosten eines kürzeren Lebenszyklus gekennzeichnet ist, so dass die Pflanzen grösser werden und maximale Fruchtbarkeit erreichen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Besiedlung der wärmeren Lebensräume in niedrigen Lagen durch eine Verschiebung sowohl der phänotypischen als auch der lebensgeschichtlichen Merkmale erfolgte, die mit der Ressourcenallokation in einer energiereichen Umgebung mit einer längeren Fortpflanzungssaison verbunden sind.

In **Kapitel III** haben wir die Ergebnisse aus Kapitel II genutzt, um die Fitnesseffekte der Allele aufzudecken, die den Merkmalen zugrunde liegen, die zur adaptiven Divergenz zwischen den Populationen von *D. sylvestris* in niedrigen und hohen Lagen beigetragen haben. Wir führten genomweite Assoziationsanalysen durch und identifizierten eine polygene genetische Architektur, die den untersuchten adaptiven Merkmalen zugrunde liegt. Wir fanden Beispiele sowohl für antagonistische Pleiotropie als auch für bedingte Neutralität, die die Fitnesseffekte der allelischen Variation an diesen Loci beschreiben. Durch die Zerlegung einzelner Fitnesskomponenten konnten wir feststellen, dass Allele die für eine erfolgreiche Reproduktion in höherer Lage verantwortlich sind, einen negativen Effekt auf die Fruchtbarkeit haben, während diese Beziehung in tieferer Lage positiv ist. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass der in Kapitel II aufgezeigte Kompromiss bei der Ressourcenallokation von kongruenten Signalen auf der Ebene der zugrunde liegenden genetischen Varianten begleitet wird.