

University of Groningen

## The role of parasites in host speciation

Gobbin, Tiziana P.

DOI:  
[10.33612/diss.168426043](https://doi.org/10.33612/diss.168426043)

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2021

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Gobbin, T. P. (2021). *The role of parasites in host speciation: Testing for parasite-mediated divergent selection at different stages of speciation in cichlid fish*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.168426043>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

A large, abstract, black and white ink blot or watercolor splash. The splash is irregular in shape, with dark, dense areas and lighter, more diffused areas. In the center of the splash, there is a white lowercase letter 'i' in a serif font. The background is white.

*i*

# Riassunto in italiano

Translation by Tiziana P Gobbin



## SPECIAZIONE MEDIATA DA PARASSITI

La speciazione – la formazione di nuove specie – è stata definita da Darwin come il "mistero dei misteri" più di un secolo fa. Da allora, i meccanismi di speciazione sono stati studiati intensamente e molti progressi sono stati fatti. Gli adattamenti a fattori biotici e abiotici possono causare la speciazione come effetto secondario e, tra i fattori biotici, i parassiti possono essere un importante agente di selezione. Tuttavia, alcuni meccanismi di speciazione rimangono poco esplorati. In particolare, l'inizio della divergenza non è ancora ben compreso. In questa tesi, indago quando e come la selezione divergente mediata da parassiti contribuisca al processo di speciazione.

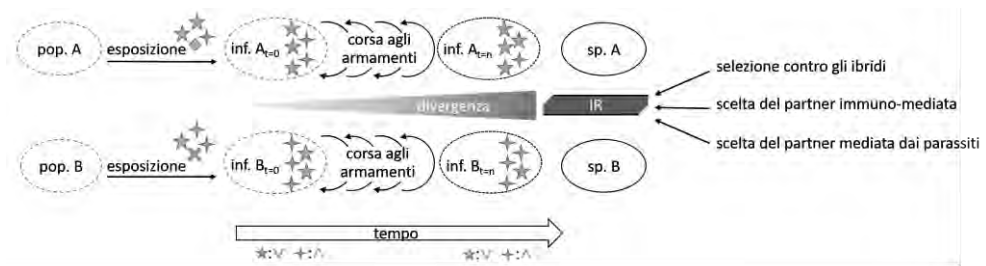
I parassiti costituiscono una fonte di selezione ecologica molto diffusa (Poulin & Morand, 2000; Schmid-Hempel, 2013), che potrebbe potenzialmente fungere da motore della speciazione (Schluter, 1996, 2000b; Rundle & Nosil, 2005; Maan & Seehausen, 2011). Per definizione, i parassiti impongono costi di fitness ai loro ospiti (ad esempio riduzione della crescita, della riproduzione e della sopravvivenza, Agnew et al., 2000; Lafferty & Kuris, 2009; Segar et al., 2018). Gli ospiti si adattano ai parassiti evolvendo una resistenza, una tolleranza o tramite comportamenti di evitamento. A loro volta, i parassiti si adattano in risposta agli ospiti eludendo o sopprimendo l'immunità dell'ospite. Ciò porta a una dinamica co-evolutiva di adattamento e contro adattamento (Decaestecker et al., 2007).

Le popolazioni di ospiti che occupano diverse nicchie ecologiche possono essere esposte a diverse quantità e specie di parassiti, risultando potenzialmente in differenti selezioni mediate da parassiti (Knudsen et al., 2004; Pegg et al., 2015; Hablützel et al., 2017; Hayward et al., 2017) anche in simpatria. Ciò può indurre le popolazioni di ospiti a sviluppare differenti adattamenti contro le minacce dei parassiti locali. Tali risposte adattative possono portare a una crescente differenza nell'infezione parassitaria tra le popolazioni di ospiti. Se queste differenze vengono mantenute nel tempo, allora la selezione mediata dai parassiti agisce continuamente nella stessa direzione, promuovendo la divergenza dell'ospite. Le fluttuazioni temporali stocastiche o dipendenti dalla frequenza nell'abbondanza dei parassiti potrebbero causare variazioni nella forza della selezione mediata da parassiti, ma la divergenza viene comunque promossa fintanto che la direzione della selezione viene mantenuta (**Fig. 11.1**).

Queste differenze di infezione stabili nel tempo possono portare alla differenziazione genetica tra le popolazioni di ospiti ed infine instaurare o rafforzare l'isolamento riproduttivo tra loro (Hamilton & Zuk, 1982; Landry et al., 2001; Nosil et al., 2005; Maan et al., 2008; Eizaguirre et al., 2011). Inoltre, l'isolamento riproduttivo potrebbe essere rafforzato dalla selezione contro gli ibridi e gli immigrati (tramite infezione più elevata), dalla scelta del partner immuno-mediata (scegliendo partner che forniscono immunità localmente adattata) o scelta del partner mediata

dai parassiti (scegliendo partner sani). In alternativa, la selezione divergente mediata da parassiti può rafforzare la differenziazione dell'ospite una volta che un certo grado di isolamento riproduttivo è già stato raggiunto attraverso altri meccanismi (Haldane, 1949; Price et al., 1986; Karvonen & Seehausen, 2012).

Lo studio della speciazione mediata da parassiti può essere problematico a causa della natura bidirezionale dell'interazione ospite-parassita – per cui bisogna determinare quale dei due stia conducendo la diversificazione – e a causa del coinvolgimento di altri fattori ecologici, per cui bisogna distinguere gli effetti dei parassiti da quelli di altri potenziali fattori di diversificazione. A tal fine, le popolazioni di ospiti nelle prime fasi della speciazione forniscono un buon modello di studio. In questa tesi, mi avvalgo della giovane radiazione adattativa dei pesci ciclidi nel Lago Vittoria per studiare il ruolo dei parassiti nella speciazione degli ospiti.



**Figura 11.1**

Speciazione mediata da parassiti. Due popolazioni di ospiti in grado di ibridarsi occupano due diverse nicchie ecologiche (A e B) e sono esposte a diverse quantità e specie di parassiti (simboli), risultando in due diverse infezioni. Ciascuna popolazione di ospiti evolve adattamenti contro i parassiti locali, impegnandosi in una corsa agli armamenti evolutiva. La direzione della differenza nell'infezione rimane costante nel tempo, nonostante le fluttuazioni nell'abbondanza complessiva (★ maggiore nella popolazione A rispetto a B, † minore in A rispetto a B). La divergenza nelle difese contro i parassiti porta all'isolamento riproduttivo (IR) tra le popolazioni ospiti – che può essere rafforzato tramite selezione contro ibridi e/o immigrati, e/o scelta del partner immuno-mediata, e/o scelta del partner mediata dai parassiti – risultando così in due distinte specie di ospiti.

## I CICLIDI DEL LAGO VITTORIA E I LORO PARASSITI

La radiazione adattativa dei pesci ciclidi del lago Vittoria è ideale per studiare la speciazione mediata da parassiti, a causa della sua giovane età, della diversità ecologica interspecifica e della differenziazione genetica relativamente debole. Appena 14'600 anni fa, il lago si è nuovamente riempito dopo essere stato asciutto per migliaia di anni (Johnson et al., 1996; Stager & Johnson, 2008). Due lignaggi fluviali hanno poi colonizzato il lago, formando una popolazione ibrida

(Seehausen et al., 2003; Meier et al., 2017a) e fornendo la variazione genetica che ha facilitato la rapida speciazione adattativa (Seehausen, 2004; Salzburger, 2018). Pertanto, la maggior parte dei ciclidi del Lago Vittoria si è evoluta *in situ* dopo tale periodo di siccità (Johnson et al., 2000; Stager & Johnson, 2008; Wagner et al., 2013; Meier et al., 2017a). Nel Lago Vittoria, i membri della radiazione co-esistono con lignaggi più antichi e lontanamente imparentati che non hanno speciato dopo aver colonizzato il lago: *Astatoreochromis alluaudi* (Pellegrin, 1904), *Pseudocrenilabrus multicolor* (Schöller, 1903), *Oreochromis variabilis* (Boulenger, 1906) e *Oreochromis esculentus* (Graham, 1928). Questi forniscono un utile termine di paragone per studiare il motivo per cui alcuni lignaggi hanno speciato e altri invece no.

Studi precedenti suggeriscono che la speciazione mediata da parassiti potrebbe avvenire nei ciclidi, a causa dell'elevata diversità delle nicchie ecologiche (Fryer & Iles, 1972; Wagner et al., 2012a), della potenzialmente alta trasmissibilità delle malattie dovuta all'elevata densità dei pesci (Ribbink et al., 1983; Fenton et al., 2002), dell'associazione tra parassitismo ed espressione dei segnali sessuali (Taylor et al., 1998; Maan et al., 2006b) e della rapida evoluzione dei geni MHC (legati alla risposta immunitaria, Blais et al., 2007). Inoltre, ci sono prove a sostegno della co-evoluzione tra i ciclidi del lago Tanganica e i monogenei che parassitano le loro branchie (Vanhove et al., 2015).

Il lago Vittoria ospita anche delle repliche di speciazione che si trovano in diversi stadi, il che consente di valutare quando – durante il processo di speciazione – si manifestano delle differenze nell'infezione. *Pundamilia pundamilia* (Seehausen et al., 1998), di color blu, e *Pundamilia nyererei* (Witte-Maas e Witte, 1985), di color rosso, sono due ciclidi strettamente imparentati che co-abitano le isole rocciose nella parte sud-orientale del lago. In alcune località queste due specie si sono ibridate e poi hanno nuovamente speciato formando delle coppie blu e rosse simili alle specie d'origine (Meier et al., 2017b; Meier et al., 2018). Attraverso le varie località, le forme blu e rosse variano nel loro grado di differenziazione genetica (Seehausen et al., 2008; Meier et al., 2017b; Meier et al., 2018), differenziazione morfologica (van Rijssel et al., 2018a), differenziazione nell'adattamento visivo (Carleton et al., 2005; Seehausen et al., 2008; Wright et al., 2019) e nella frequenza di ibridazione (Seehausen, 1996a; Seehausen et al., 2008; Meier et al., 2017b; Meier et al., 2018). La variazione di questi tratti è associata alla trasparenza dell'acqua.

I parassiti vivono a spese degli ospiti, imponendo loro un costo di fitness. Il ciclo vitale del parassita può comportare una o più specie ospiti (in cui l'ospite finale alberga gli stadi riproduttivi) e può comprendere anche stadi di vita libera (spesso uova o larve). I ciclidi ospitano numerosi taxa di macro-parassiti: monogenei (parassiti delle branchie, ma alcuni generi infettano il tratto digestivo o la vescica, con un ciclo di vita diretto), copepodi (parassiti delle branchie o della pelle, con un ciclo di vita diretto), molluschi bivalvi (parassiti delle branchie o della pelle, con un ciclo di vita diretto), nematodi (endoparassiti, di cui i pesci sono spesso ospiti

intermedi), trematodi (endoparassiti con almeno due ospiti intermedi). I monogenei sono di grande interesse nello studio delle interazioni ospite-parassita a causa della loro elevata specificità per le specie ospite. In particolare, il monogeneo delle branchie *Cichlidogyrus* è un buon candidato per la promozione della speciazione degli ospiti, grazie al suo elevato numero di specie che differiscono nella morfologia e all'alta specificità (Pariselle et al., 2003; Vanhove & Huyse, 2015; Vanhove et al., 2015).

## QUESTA TESI

In questa tesi ho investigato se i parassiti iniziassero o contribuissero alla speciazione dei ciclidi del lago Vittoria. A tal fine, ho analizzato l'infezione da macro-parassiti di una grande comunità simpatica di 17 specie di ciclidi appartenenti alla radiazione e due specie rappresentanti due lignaggi che non hanno mai speciato (**capitoli 2 e 5**), nonché le differenze di infezione tra quattro repliche di coppie blu e rosse di *Pundamilia* che variano nel grado di differenziazione genetica (**capitoli 3 e 4**). I pesci erano infettati da cinque generi di parassiti delle branchie (*Cichlidogyrus* spp., *Gyrodactylus sturmbaueri*, *Lamproglana monodi*, *Ergasilus lamellifer*, larve glochidia di bivalvi) e due endoparassiti della cavità addominale (nematodi, trematodi). Nonostante siano degli ottimi candidati per promuovere la speciazione dei ciclidi, i *Cichlidogyrus* del lago Vittoria sono perlopiù sconosciuti. Pertanto, li ho identificati morfologicamente a livello di specie. I pattern di infezione sono stati analizzati a livello di genere dei parassiti in due diversi anni di campionamento (2010 e 2014) e a livello di *Cichlidogyrus* in un solo anno di campionamento (2014). Dato che i risultati differiscono a seconda del livello analizzato, essi vengono presentati separatamente.

### Differenze di infezione a livello di genere dei parassiti

Nei **capitoli 2 e 3** ho testato due prerequisiti per la speciazione mediata da parassiti: *i*) le specie ospiti differiscono nell'infezione parassitaria e *ii*) la direzione della selezione mediata da parassiti rimane consistente nel tempo (Karvonen & Seehausen, 2012). Diciassette specie ospiti simpatiche a Makobe e quattro coppie di *Pundamilia* blu e rossi in quattro località differivano nella loro infezione parassitaria, sia in termini di abbondanza che di diversità, coerentemente con la selezione divergente mediata da parassiti. Queste differenze di infezione erano perlopiù coerenti tra i due anni di campionamento, sia tra i membri della radiazione campionati che nella coppia di specie ospiti riproduttivamente isolata, supportando il prerequisito di continuità temporale della selezione mediata da parassiti.

Nel **capitolo 3**, ho verificato se le differenze di infezione tra le forme blu e rosse di *Pundamilia*, da quattro località, co-variano col grado di distanza genetica o geografica presente tra loro. Solamente la coppia blu-rossa con la più alta differenziazione genetica differiva nei profili di



infezione. Il paragone tra tutte le coppie (simpatriche e allopatriche, di colore uguale o diverso) ha rivelato che il grado di dissomiglianza della comunità parassitaria aumenta con l'aumentare della distanza genetica all'interno delle coppie, tenendo conto della distanza geografica tra le località. Questi risultati suggeriscono che le differenze di infezione tra specie ospiti dipendono dal grado di differenziazione genetica dell'ospite: le differenze di infezione si accumulano con l'aumentare della divergenza genetica dell'ospite, piuttosto che precederla. Pertanto, i parassiti possono contribuire alla differenziazione delle specie ospiti ma non la iniziano. La correlazione positiva tra differenziazione delle infezioni e differenziazione genetica a livello del genere di parassita è stata osservata in entrambi gli anni di campionamento, supportando la continuità temporale della selezione mediata da parassiti.

Sebbene l'intensità di alcuni parassiti sia associata alla profondità dell'acqua, la variazione dell'infezione tra le specie ospiti non è completamente spiegata né dalla profondità né dalla specializzazione trofica (**capitoli 2 e 3**). Ciò suggerisce che anche altre proprietà intrinseche della specie ospite (come immunità e suscettibilità genetica) svolgono un ruolo. Nel **capitolo 4**, ho studiato il contributo delle proprietà intrinseche della specie ospite alla variazione dell'infezione, valutando le differenze di infezione tra due specie ospite mantenute in laboratorio con esposizione uniforme ai parassiti. Ho esaminato i pattern di infezione di una delle coppie di *Pundamilia* del capitolo 3, confrontando le differenze interspecifiche di infezione osservate in natura con quelle delle stesse specie allevate in laboratorio (prima generazione) e tra queste e gli ibridi interspecifici di prima generazione allevati in laboratorio. Sia in natura che in laboratorio, tre degli ectoparassiti più comuni presentavano livelli di prevalenza e abbondanza paragonabili. Le due specie differivano nell'infezione in natura ma non in laboratorio, condizione in cui i pesci non possono esprimere alcuni tratti ecologici specie-specifici (ad es. preferenze di profondità e dieta). Ciò indica che la variazione di infezione è dovuta principalmente agli effetti estrinseci piuttosto che a differenze genetiche legate all'immunità. Poiché questa coppia di *Pundamilia* è debolmente differenziata geneticamente, è improbabile che le differenze nei tratti immunitari si siano evolute già nelle prime fasi della speciazione. Ciò non è compatibile con un contributo dei parassiti nella divergenza tra *Pundamilia*.

I livelli di infezione degli ibridi non differivano da quelli delle specie parentali (unicamente individui di prima generazione allevati in laboratorio, **capitolo 4**), in contrasto con l'atteso svantaggio ibrido che avrebbe favorito la diversificazione mediata da parassiti. Nonostante ciò gli ibridi sono rari in natura, probabilmente a causa dell'accoppiamento assortativo per specie. La mancanza di svantaggio ibrido suggerisce che l'accoppiamento assortativo è guidato da altri fattori ecologici.

In natura, a causa della segregazione di profondità, le due specie di *Pundamilia* sono adattate a diversi ambienti visivi: le forme blu vivono in condizioni di luce ad ampio spettro, mentre le forme rosse in condizioni di luce nello spettro rosso. Queste due condizioni visive sono state ricreate in

laboratorio. Una discordanza tra specie e ambiente visivo coincide con una minore sopravvivenza (Maan et al., 2017) e potrebbe coincidere anche con una più alta infezione da parassiti. Ciò non è però stato osservato: l'infezione non differiva tra ospiti allevati in condizioni di luce naturale e innaturale, suggerendo che una mancata corrispondenza tra specie e ambiente visivo non aumenta la suscettibilità dell'ospite alle infezioni parassitarie.

### **Differenze di infezione a livello di specie di *Cichlidogyrus***

Contrariamente a quanto osservato a livello di generi di parassiti, la composizione della comunità di morfospecie di *Cichlidogyrus* non differiva tra le specie ospite campionate appartenenti alla radiazione del Lago Vittoria (**capitolo 2**). Ciò non supporta un ruolo di *Cichlidogyrus* nella diversificazione dell'ospite, poiché tale scenario prevedeva che i membri della radiazione, essendosi diversificati di recente, evolessero una resistenza specie-specifica legata alla divergenza dell'infezione. Invece, la comunità di *Cichlidogyrus* differiva tra i tre lignaggi di ciclidi: il lignaggio delle radiazioni e i due lignaggi più antichi rappresentati da *A. alluaudi* e *Ps. multicolor*. Nonostante la simpatria delle specie ospiti, le morfospecie di *Cichlidogyrus* che infettano un lignaggio raramente ne infettano un altro. Questo suggerisce che vi sia un'opportunità di specializzazione dell'ospite (sebbene attualmente i membri della radiazione non rappresentino risorse diverse per *Cichlidogyrus*).

Focalizzandosi sulle coppie di specie di *Pundamilia*, non c'è un graduale aumento nel grado di dissomiglianza nella comunità di *Cichlidogyrus* all'aumentare della differenziazione genetica tra le popolazioni ospiti (**capitolo 3**), contrariamente a quanto osservato a livello di generi di parassiti. Così come osservato a livello di generi di parassiti, l'unica coppia in simpatria che differiva nell'infezione delle morfospecie di *Cichlidogyrus* è quella riproduttivamente isolata a Makobe. Ciò indica che *Cichlidogyrus* non sta guidando la differenziazione in *Pundamilia*. Indica invece che le differenze nell'infezione sorgono quando gli ospiti hanno già raggiunto un certo grado di divergenza, contrariamente a quanto atteso se *Cichlidogyrus* contribuisse nelle prime fasi della diversificazione dell'ospite. Insieme, questi risultati suggeriscono che le morfospecie di *Cichlidogyrus* non contribuiscono alla differenziazione dell'ospite.

### **Nessun pattern geografico nelle differenze di infezione tra specie**

Le probabilità di infettarsi e il numero parassiti che infettano gli ospiti variano tra le diverse località geografiche. Ciò può essere spiegato dalle differenze ecologiche tra tali località. Ad esempio, i più alti livelli di infezione da nematodi (spesso trasmessi dagli uccelli) sono stati osservati sull'isola di Makobe, abitata da grandi popolazioni di cormorani ed egrette. L'abbondanza di parassiti era generalmente bassa nella località paludosa con poche specie e individui di pesci, rispetto alle isole rocciose con relativamente grandi popolazioni di ciclidi. Nonostante tale variazione geografica nei livelli di infezione, le differenze tra le specie ospiti

nell'infezione erano consistenti tra le varie località (**capitoli 2 e 3**). Questo schema è stato osservato per i singoli taxa di parassiti (ad esempio le forme rosse di *Pundamilia* ospitavano costantemente più *L. monodi* ed *E. lamellifer* rispetto alle forme blu) ma anche a livello di composizione della comunità di parassiti (un aumento della distanza geografica tra le popolazioni non coincideva con un aumento della dissomiglianza della comunità parassitaria). Una mancanza di pattern geografico nelle differenze di infezione tra specie simpatriche può supportare uno scenario di diversificazione simpatica mediata da parassiti, poiché la differenziazione nell'infezione può derivare da tratti intrinseci dell'ospite (inclusa la resistenza).

### **Segregazione nei microhabitat dei parassiti**

Nel **capitolo 5** ho analizzato la distribuzione dei microhabitat dei parassiti sulle branchie, per valutare se ciò potesse costituire un altro asse di divergenza nell'infezione. I due taxa più abbondanti di ectoparassiti (*Cichlidogyrus* spp., *L. monodi*) e di morfospecie di *Cichlidogyrus* (*C. nyanza*, *C. furu*) presentavano una distribuzione di microhabitat non casuale che differiva tra le specie ospiti, suggerendo che lo stesso parassita potrebbe interagire in modo differente con differenti specie ospite. Ciò può fornire opportunità di differenziazione dell'ospite mediata da parassiti. La selezione di microhabitat rappresenta un altro asse di eterogeneità nell'infezione che può rivelare più differenze di quanto faccia il semplice conteggio dei parassiti, quindi è auspicabile che venga incluso anche in studi futuri. Le relazioni interspecifiche tra parassiti non differivano tra le specie ospiti. Nei monogenei ciò può essere spiegato da maggiori opportunità di accoppiamento (poiché si riproducono sull'ospite); mentre nei copepodi ciò può essere spiegato dall'esposizione delle uova al flusso d'acqua (poiché la maggior parte dei copepodi è attaccata alla branchia in modo tale da esporre le uova all'esterno dei filamenti branchiali).

### **Dinamiche parassitarie nell'ospite**

Nel **capitolo 5** ho osservato correlazioni positive tra l'abbondanza di ectoparassiti (a livello di genere) e correlazioni negative tra l'abbondanza di morfospecie di *Cichlidogyrus*. Le relazioni positive possono essere spiegate in diversi modi: *i*) sono vere interazioni sinergiche, potenzialmente derivanti dalla somiglianza antigenica del parassita che consente lo sfruttamento dell'immunomodulazione da parte dell'altro parassita *ii*) risultano dal fatto che entrambi i parassiti sono associati alla stessa specializzazione ecologica dell'ospite. Le relazioni negative possono essere dovute alla concorrenza, eventualmente connessa alla relazione filogenetica dei parassiti o alla somiglianza nei requisiti delle risorse. La direzione e la forza delle interazioni tra parassiti non differivano tra le specie ospiti, suggerendo che i tratti intrinseci delle specie ospiti non influenzino le relazioni con i parassiti, in contrasto con la specificità dell'ospite.

Ho anche esplorato le differenze nell'attività riproduttiva dei copepodi (misurata come la proporzione di femmine adulte munite di uova) tra le specie ospiti. Non ho osservato differenze

né tra le specie catturate in natura (**capitolo 5**) né tra le due specie di *Pundamilia* allevate in laboratorio e i loro ibridi interspecifici (**capitolo 4**). Ciò suggerisce che non vi è nessuna specificità dell'ospite nell'attività riproduttiva del copepode, sebbene esso vari nei livelli di infezione (prevalenza e abbondanza).

## CONCLUSIONE

In questa tesi, ho trovato evidenze a supporto del ruolo dei parassiti nel contribuire alla divergenza dell'ospite, ma non nell'iniziarla. Primo, i parassiti sono distribuiti in modo non casuale ad almeno tre livelli – microhabitat delle branchie, specie ospiti, lignaggi ospiti – indicando una specializzazione del parassita e un'opportunità di selezione eterogenea mediata da parassiti. Secondo, le differenze tra specie nell'infezione sono temporalmente coerenti, in linea con i prerequisiti per la speciazione mediata da parassiti. Terzo, quando le specie ospiti iniziano a divergere in ecologia, esse iniziano anche ad accumulare differenze nelle comunità di parassiti, suggerendo che la differenziazione nell'infezione è una conseguenza della divergenza piuttosto che il contrario.

