

Ecology and Evolution
of Invasive Pacific Oysters
in Response to
Pathogen Infection and Rising Temperatures



Ecology and Evolution of Invasive Pacific Oysters in
Response to Pathogen Infection and Rising Temperatures

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. rer. nat.

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Carolin Charlotte Wendling

Kiel 2013

Referent: Dr. K. Mathias Wegner

Koreferent: Prof. Dr. Thorsten B.H. Reusch

Tag der mündlichen Prüfung: 31. Januar 2014

Zum Druck genehmigt:

gez. Prof. Dr. Wolfgang J. Duschl, Dekan



Dobzhansky (1955) on the Chile/Argentina border near the Cristo Redentor de los Andes monument (Photographed by Charles Birch; Picture and Caption taken from (Griffiths, 2009))

„Seen in the light of evolution, biology is, perhaps, intellectually
the most satisfying and inspiring science“.

Theodosius Dobzhansky (1973)

CONTENTS

Summary	9
Zusammenfassung	11
Introduction	13
1. Ecological change affects evolution.....	13
2. Success story of the invasive Pacific oyster <i>Crassostrea gigas</i>	22
3. The fate of <i>C. gigas</i> in times of global change (Part I).....	34
Thesis Outline	39
Chapters	
I Relative contribution of reproductive investment, thermal stress and <i>Vibrio</i> infection to summer mortality phenomena in Pacific oysters.....	43
II Persistence, seasonal dynamics and pathogenic potential of <i>Vibrio</i> communities from oyster hemolymph.....	69
III Resistance to pathogen communities: Rapid adaptation of invasive Pacific oysters to local <i>Vibrio</i> spp. is promoted by dominant inheritance of disease resistance.....	97
IV Effects of temperature and life-stage on genotype x genotype interaction in bacterial disease of Pacific oyster larvae.....	121
Synthesis - The fate of <i>C. gigas</i> in times of global change (Part II)	143
Bibliography	153
Appendix	173
Danksagung	175
Curriculum Vitae	177
Erklärung	179

SUMMARY

Nature is a highly complex system that is subject to competition from several factors, which can be of physical, chemical, biotic but also anthropogenic origin. Nevertheless, we commonly consider only a few of those factors in our experiments. However, to understand the bigger picture, we have to test the synchronous effects of multiple factors. One great opportunity to do so comes from the direct interplay between bioinvasions and climate change. Bioinvasions constitute a natural experiment in evolution: when invasive species colonize new habitats they experience strong selection pressures from novel abiotic and biotic stressors. For a successful invasion, adaptation to those stressors is essential for survival. Additional threats may result from current climate change scenarios that further challenge the adaptive potential of invaders. Major threats of global change, such as emerging diseases are caused directly and indirectly by rising temperatures. A combined approach addressing direct effects of global change on host-parasite interactions of invasive species has rarely been taken. However, there is growing evidence that such multiple factors interact in complex ways. Furthermore, the way invasive species cope with novel parasites is still a black box. Using invasive Pacific oysters *Crassostrea gigas* and their opportunistic pathogens of the genus *Vibrio* as model organisms, this thesis addresses the evolution of an invasive species to novel sympatric parasites and combines this with additional challenges imposed by rising temperatures that are expected to occur in the habitat.

C. gigas independently invaded and successfully colonized the Southern and the Northern area of the European Wadden Sea. The successful invasion of *C. gigas* is mainly attributed to a lack of natural enemies and high propagule pressure. While Southern populations have occasionally been subjected to extensive mortalities resulting from a complex interaction of high temperatures, oyster genetics and parasite infections, Northern populations have been spared from this fate so far. Those differences in invasion and disease selection history were the starting point of my thesis.

Based on a set of controlled infection experiments at contemporary and future water temperatures, I demonstrated that invasive oysters have the potential to adapt rapidly to novel sympatric *Vibrio* spp. (Chapter III). By using lab-bred hybrids of the two invasion waves, I determined that the rapid adaptation is facilitated by dominant inheritance of disease resistance alleles. This adds a further factor, apart from lack of natural enemies and

high propagule pressure in explaining *C. gigas*' enormous invasion success: rapid adaptation to enemy shifts. This adaptation to sympatric pathogens could only be observed at high temperatures (21°C in contrast to 17°C). Indeed, I could show that *Vibrio* infection and temperature add additively to disease outbreaks in adults (Chapter I). At high temperatures adult oysters have a reduced ability to clear out infectious strains efficiently (Chapter I), while simultaneously the likelihood of encountering pathogenic strains from the surrounding environment correlates positively with temperature (Chapter II). However, in contrast to adults, susceptibility to disease of larvae was reduced at high temperatures, i.e. 23°C in contrast to 19°C (Chapter IV). I assume, that nowadays, selection is less pronounced on adults when average water temperatures remain below 20°C. However, if average summer temperatures will rise as predicted by global change scenarios, selection pressure on adult oysters will increase while simultaneously decrease on larvae by favoring successful recruitment and disease resistance (Chapter IV). Such opposing temperature-mediated effects between life-stages will play a major role in determining this species' persistence in the invaded area in the face of global warming.

In summary, by studying the evolution of an invasive species to novel parasites in the context of climate change I unveiled another facet explaining the outstanding success of *C. gigas*' invasion in the European Wadden sea: rapid adaptation to enemy shift. In concert with this finding, I suggest, that in the context of rising temperatures, the persistence of *C. gigas* underlies on the one hand the opposite response of temperature-mediated infection outcome between larvae and adults, and on the other hand the equilibrium between the rate of rising temperatures and the rate at which the populations will be able to catch up.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Natur ist ein hochkomplexes System, das von unzähligen physikalischen, chemischen, biologischen aber auch anthropogenen Faktoren beeinflusst wird. In unseren Experimenten ziehen wir üblicherweise selten mehr als einen Faktor in Betracht. Um jedoch den Gesamtzusammenhang zu verstehen, sollten die Wechselwirkungen aller Faktoren verstärkt in den Fokus gerückt werden. Die direkte Interaktion zwischen Bioinvasionen und Klimawandel stellt eine gute Gelegenheit dar, dies umzusetzen. Bioinvasionen sind als ein natürliches Evolutionsexperiment zu verstehen: Wenn invasive Arten neue Habitate besiedeln, unterliegen sie, bedingt durch ungewohnte abiotische und biotische Stressoren, starken Selektionsdrücken. Um den neuen Lebensraum erfolgreich besiedeln zu können, ist eine Anpassung unabdingbar. Aus gegenwärtigen Szenarien zum Klimawandel könnten zudem weitere Herausforderungen an die Anpassungsfähigkeit invasiver Arten auftreten. Die größten Risiken des Klimawandels sind die durch den Temperaturanstieg hervorgerufenen direkten und indirekten Folgen, wie z.B. neu ausbrechende Krankheiten. Bisher wurden selten umfassende Experimente, in denen direkte Folgen des Klimawandels auf Wirts-Parasit Beziehungen bei invasiven Arten betrachtet werden durchgeführt. Dies ist umso erstaunlicher, als dass vermehrt wissenschaftliche Belege für die komplexe Interaktion multipler Faktoren gefunden werden. Zudem ist die Art und Weise, auf die invasive Arten auf für sie ungewohnte Parasiten reagieren, bisher noch weitestgehend unerforscht. In dieser Arbeit wird anhand der Modelorganismen der Pazifischen Felsenauster *Crassostrea gigas* und ihren opportunistischen Bakterien der Gattung *Vibrio* eben diese Interaktion untersucht.

Der Norden und der Süden des Europäischen Wattenmeeres wurden unabhängig voneinander durch *C. gigas* besiedelt. Der Invasionserfolg ist dabei vor allem auf das Fehlen natürlicher Feinde und auf das wiederholt hohe Einbringen zusätzlicher Tiere durch den Menschen zurückzuführen. Während die südlichen Populationen gelegentlich hohe Sterblichkeitsraten durch die komplexe Interaktion hoher Temperaturen, genetischer Resistenzvoraussetzungen und Infektionen aufwiesen, waren die nördlichen Populationen von diesen bisher nicht betroffen. Dieses Phänomen war die Motivation für die vorliegende Arbeit.

Auf Basis mehrerer Infektionsexperimente bei aktuellen sowie zukünftig zu erwartenden Wassertemperaturen konnte ich zeigen, dass invasive Austern in der Lage sind, sich rasch an unbekannte sympatrische *Vibrio* Bakterien anzupassen (Kapitel III). Mit Hilfe künstlich gezüchteter Hybride aus beiden Populationen konnte ich des Weiteren aufdecken, dass diese

rasche Adaption durch eine dominante Vererbung der Allele, die eine Resistenz gegenüber diesen Infektionen hervorrufen, erleichtert wird. Damit kommt neben dem Fehlen natürlicher Feinde und dem wiederholten Einbringen zusätzlicher Tiere durch den Menschen ein weiterer Faktor dazu, der den herausragenden Invasionserfolg der Pazifischen Auster erklärt: die rasche Anpassung an lokale unbekannte Parasiten.

Im Experiment konnte diese Anpassung an sympatrische *Vibrio* Bakterien ausschließlich unter hohen Temperaturen (21°C im Vergleich zu 17°C) nachgewiesen werden. Des Weiteren konnte ich den Nachweis einbringen, dass *Vibrio* Infektionen bei adulten Austern bei hohen Temperaturen schwerwiegender verlaufen (Kapitel I). Hohe Temperaturen wirken sich zum einen negativ auf die Widerstandsfähigkeit der adulten Austern gegenüber diesen Bakterien aus (Kapitel I). Zum anderen, steigt die Wahrscheinlichkeit, dass Austern pathogene *Vibrio* spp. aus der Umwelt aufnehmen mit der Temperatur (Kapitel II). Austernlarven hingegen wiesen bei hohen Temperaturen (23°C) im Gegensatz zu adulten Tieren eine geringere Sterbewahrscheinlichkeit auf (Kapitel IV). Daher vermute ich, dass zum gegenwärtigen Zeitpunkt im Falle durchschnittlicher Wassertemperaturen von unter 20°C, adulte Austern einem relativ geringen Selektionsdruck unterliegen. Im Rahmen des anhaltenden Klimawandels ist jedoch eine Erhöhung des Selektionsdrucks auf adulte Austern zu erwarten. Gleichzeitig ist davon auszugehen, dass Austernlarven zukünftig einem geringeren Selektionsdruck unterliegen, da sowohl der Ansiedlungserfolg als auch die Krankheitsresistenz durch wärmere Temperaturen begünstigt werden (Kapitel IV). Solch eine gegensätzliche Temperaturempfindlichkeit wird vor allem in Zeiten des anhaltenden Klimawandels eine entscheidende Rolle in der Bestimmung des Fortbestandes dieser Art in dem jeweiligen Invasionsgebiet spielen.

Indem ich die Anpassung einer invasiven Art an neue, bisher unbekannte Parasiten im Kontext des Klimawandels untersucht habe, kann ich zusammenfassend feststellen, dass der herausragende Invasionserfolg von *C. gigas* im Europäischen Wattenmeer unter anderem dadurch stark begünstigt wurde, dass diese sich sehr rasch an lokale Parasiten angepasst hat. Der weitere Fortbestand dieser invasiven Art, in Zeiten des Klimawandels, hängt zum einen von der gegensätzlichen Temperaturempfindlichkeit zwischen Adulten und Larven und zum anderen von der Geschwindigkeit des zu erwartenden Temperaturanstiegs, sowie der Fähigkeit der gegenwärtigen Populationen diesem Stand zu halten, ab.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel:

Ecology and Evolution of Invasive Pacific Oysters in Response to Pathogen Infection and Rising Temperatures

mit Hilfe meiner Betreuer, Co-Autoren und Praktikanten und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Hilfsmittel und Quellen sowie unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der Deutschen Forschungsgemeinschaft verfasst habe.

Die Arbeit wurde keiner anderen Stelle im Rahmen eines Prüfungsverfahrens vorgelegt.
Dies ist mein einziges und bisher erstes Promotionsverfahren.

Teile dieser Arbeit wurden als Manuskripte in wissenschaftlichen Fachzeitschriften veröffentlicht bzw. eingereicht: Kapitel I in *Aquaculture* mit Mathias Wegner als Koautor. Kapitel II in *Environmental Microbiology* mit Frederico Batista und Mathias Wegner als Koautoren.

