



Ecole Doctorale
BUFFON

UMR CNRS 5561 **BIOGÉOSCIENCES**
Equipe Ecologie Evolutive

THÈSE

Présentée pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BOURGOGNE

**La manipulation de l'hôte par les parasites acanthocéphales,
aspects éco-éthologiques**

Nicolas KALDONSKI

Soutenue publiquement le 25 mai 2007. Membres du Jury :

Pr Robert W. ELWOOD

Dr Jean-Nicolas BEISEL

Pr Bruno FAIVRE

Dr Jérôme BOISSIER

Dr Philippe GAUDIN

Pr Frank CEZILLY

Dr Marie-Jeanne PERROT-MINNOT

University of Belfast

Université de Metz

Université de Bourgogne

Université de Perpignan

INRA de Bordeaux

Université de Bourgogne

Université de Bourgogne

Rapporteur

Rapporteur

Président

Examineur

Examineur

Directeur

Directeur

Remerciements

Les travaux regroupés dans ce manuscrit ont été réalisés au sein de l'Equipe Ecologie Evolutive, et je tiens ici à mettre l'accent sur le terme d'« équipe ». En effet rien de tout cela n'aurait pu être possible sans cet esprit de collaboration et d'entraide permanentes qui a fait de cette thèse ce qu'elle est. Rien n'aurait non plus été possible sans la participation, le dévouement et l'enthousiasme de tous les étudiants que j'ai encadré, qu'ils soient restés à mes côtés deux semaines ou six mois : vous avez toutes et tous ma plus grande reconnaissance!

Monsieur le professeur Frank Cézilly, je tiens à vous exprimer une large reconnaissance pour m'avoir encadré au cours de ces trois années, pour tout ce que vous m'avez appris sur l'étude du comportement animal et pour toutes ces discussions scientifiques toujours très stimulantes.

Madame Marie-Jeanne Perrot-Minnot, je vous suis également très reconnaissant de m'avoir co-encadré. L'exercice du co-encadrement n'est certes pas toujours chose facile mais au-delà des difficultés quotidiennes, ce sont les résultats qui comptent. Pour ma part, ce ne sont pas tant les fruits de nos travaux qui importent que cet enrichissement personnel que vous m'avez permis au cours de ces trois années.

Je remercie tout particulièrement monsieur Thierry Rigaud, notre bien aimé chef d'équipe, pour sa gentillesse, sa disponibilité et ses précieux conseils.

Mr Bob Elwood, I thank you very much for being referee on my PhD work. Hope you will enjoy your birthday in Burgundy!

Monsieur Jean-Nicolas Beisel, je vous suis reconnaissant d'avoir accepté, *in extremis*, d'être rapporteur de mes travaux.

Monsieur Philippe Gaudin, que vous ayez accepté d'être examinateur de mes travaux fut pour moi une très agréable surprise tant vos travaux ont guidé mon appréhension de la faune piscicole et en particulier mes bien aimés chabots tout au long de ma thèse. Encore merci d'avoir apporté un regard de « prédateur » à ce manuscrit!

Monsieur Jérôme Boissier, votre vision de jeune expert en parasitologie évolutive vous permettra je l'espère d'examiner mes travaux sous un angle particulier. Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté cette tâche.

Mes travaux ont également fait l'objet d'un suivi par un comité de thèse, dont messieurs Thierry Rigaud, Frédéric Thomas, Gilles Luquet et Loïc Bollache m'ont fait l'honneur de faire partie. Je vous remercie tous pour nous avoir apporté votre regard et votre avis extérieur sur l'avancée des résultats et sur leurs valorisations.

S'il est une personne qui a contribué à faire de moi le « fêru de nature au service de la science » que j'aspire à être, c'est bien toi Loïc. Mon Lolo, toutes ces journées (et ces nuits) d'émulations scientifiques et naturalistes passées à tes côtés furent de grands moments de bonheurs, et me laissent pour certains des souvenirs impérissables!

A la base de mon entrée dans l'équipe écologie évolutive il y a un homme dont on ne peut espérer mieux pour prendre contact avec les sciences naturelles au sens large et noble du terme, c'est Bernard Frochot. Chacune de mes « obs » ornitho est teintée de votre regard, Bernard, et je crois que rares sont les balades que je fais sans penser à vous.

Monsieur Bruno Faivre, j'ai eu la chance et le bonheur de vous avoir comme maître de stage au cours de ma maîtrise. C'est vous qui m'avez mis le premier oiseau entre les mains et je m'en rappelle comme si c'était hier, ce frais matin dans la forêt des Crochères fut un grand moment pour moi.

Ce matin là, une autre personne était présente et a énormément compté (et compte encore énormément) pour moi, il s'agit de Godefroy Devevey. Même s'il n'est plus aussi facile qu'avant de nous retrouver, soit sûr mon Gdy que je tiens à ce que nous passions encore de nombreuses heures ensemble autour d'un bon Pernand ou derrière nos œilletons.

Merci à tous les autres membres du labo pour leurs conseils avisés, les discussions que nous avons pu avoir tout au long de ma thèse mais aussi les après repas de décompression. Merci donc à Jérôme Moreau, François-Xavier Dechaume-Moncharmont, Yannick Moret, Stéphane Garnier, Rémi Wattier, Paul Alibert, Sébastien Motreuil, Alouex, Maria Gaillard et Emilie Arnoux.

Les « jeunes » du labo, à savoir les masters 2, thésards et autres post-doc, les mots sont difficiles à trouver pour exprimer tout ce que vous m'avez apporté. Merci donc à Ellie et Luke pour ces moments anglophiles au labo comme autour d'une mousse ; Jeff, j'ai trouvé en toi un redoutable adversaire en jeux de mots, mais tu le vauz bien !; Steph et Karine, merci pour votre présence et votre joie quotidienne qui emplissent le bureau et au-delà ; mention spéciale à Clément et Anne, les expat' en Nouvelle-Zélande, vous me manquez !

Au hasard d'une rencontre à la loge, d'un besoin de réparation ou d'aménagement de salle, j'ai côtoyé un certain nombre de personnels dits « technique » de l'université. En plus de leurs sourires, les services qu'ils rendent régulièrement nous sont d'une grande utilité et je tenais à les en remercier. Mention spéciale à Jean-Marc et Daniel!

Comme je vous le disais un peu plus haut, les étudiants que j'ai eu la chance d'encadrer tout au long de ma thèse sont pour beaucoup dans les résultats obtenus. Parmi eux il y a les stagiaires de master 1 Emilie Guyonnet, Candice Chaillou (Cancan), Raphaël Dodet, Stéphanie Lecuelle et Thomas Reignier. Viennent ensuite tous les stagiaires d'été (dans le désordre cette fois-ci) Maxime Boulet, Arnaud Germond, Alexis Canette, Morgan David, Marc Grivey, Thibaud Guinot, Mélanie Jouhanneau, Noélie Maurel, Emilie Sauvage, Stéphanie Barry, Sophie Blard, Blandine Carre, Jean-Philippe Colin, Romain Gueirero et Karin Vassel. Enfin Romuald Belin et Guillaume Martinaud, ni master ni stagiaires d'été, furent d'une aide considérable en des périodes où ma disponibilité n'était, à mon grand regret, pas totale (qu'ils m'en pardonnent). Eux comme tous les autres ont su faire preuve d'autonomie et d'initiative, deux grandes qualités qu'il faut savoir reconnaître lorsque l'on travail en équipe. Merci à tous pour ces moments partagés, ces pêches parfois interminables que vous avez endurées, ces fous rires l'épuisette à la main, votre bonne humeur et votre enthousiasme!

En dehors de la thèse il y a une vie, et dans cette vie il y a des gens qui comptent : Dom, Jean-Marc, Xav, Caro, Romain, Binos, Claude, et tous les autres que j'oublie dans l'urgence de cette fin de rédaction, je ne vous ai pas beaucoup (assez) vu durant ces trois années, on va essayer de se rattraper! Il en va de même pour Duke, Louis et Count, les galettes noires vont reprendre du service.

Dans cette vie, il y a aussi ma famille que je tiens à remercier pour son soutien moral et financier, pour avoir en partie fait de moi ce que je suis devenu.

Mireille et Fanfan, je pense également bien à vous tant vous avez compté au cours de ces dernières années.

Cette vie est surtout habitée par toi, Anne-Laure, et il me faudrait bien plus que ces quelques lignes pour t'exprimer tout ce que tu m'apportes de bonheur, de douceur et de réconfort. Notre nouvelle vie qui vient de naître (oui toi ma petite Faustine) renforce un peu plus tout cela, merci à toutes les deux d'être là, tout simplement!

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE.....	7
Chapitre 1 : La manipulation comportementale, définition et ambiguïtés.....	10
1) Du parasitisme à la manipulation, une conquête de l'hôte individuellement plus efficace.....	11
a) Interactions durables, parasitisme et phénotype étendu.....	11
b) Le cycle complexe, un parcours plus efficace.....	13
c) La transmission trophique, un parcours d'obstacles.....	18
d) Une stratégie pour franchir le filtre de rencontre : la manipulation comportementale.....	19
2) A la base de la manipulation comportementale, des altérations phénotypiques favorisant la transmission trophique du parasite.....	20
a) La notion d'altération phénotypique.....	20
b) Modifications d'apparence.....	22
c) Modifications comportementales.....	23
d) Combinaison des deux ?.....	25
e) Mécanismes mis en jeu.....	26
3) La manipulation comportementale est-elle une altération adaptative pour le parasite ?.....	26
a) Toutes les altérations phénotypiques ont-elles une signification adaptative ?.....	26
b) Preuves établies ou inférences ?.....	36
c) Un critère majeur, le gain en aptitude phénotypique.....	38
d) Coûts associés à la manipulation et stratégies de limitation de ces coûts.....	42
e) Effet des parasites sur les écosystèmes.....	44
4) La spécificité de la manipulation, une réduction des coûts pour les parasites.....	45
a) Interactions proie - prédateur et communication animale.....	45
b) Communication chimique chez les crustacés, comportement anti-prédateur.....	47
c) Exploitation du signal par le parasite.....	48
d) Vers une approche expérimentale optimisée ?.....	48
Chapitre 2 : Mise à profit d'un système aux nombreux atouts pour l'étude de la spécificité.....	50
1) Introduction sur les acanthocéphales, présentation générale.....	51
- Position systématique.....	51
- Description morphologique et physiologique des acanthocéphales.....	51
- Développement et cycle de vie des acanthocéphales.....	52

2) Les acanthocéphales modèles de cette étude.....	53
3) Leurs hôtes : les hôtes intermédiaires/les hôtes définitifs.....	54
- Les hôtes intermédiaires.....	54
- Les hôtes définitifs de <i>P. laevis</i> et <i>P. tereticollis</i>	55
- Les hôtes définitifs de <i>P. minutus</i>	57
- Les prédateurs non-hôtes.....	57
4) Un système multi parasites / multi hôtes intermédiaires / multi prédateurs.....	58
 Chapitre 3 : Résumé des principaux résultats et publications.....	 60
Résumé des principaux résultats	61
«Altered drift behavior and increased vulnerability to predation in intermediate hosts infected by an acanthocephalan parasite: field evidence for adaptive manipulation»	64
«Increased susceptibility to predation and altered anti-predator behaviour in an acanthocephalan-infected amphipod».....	97
«Differential influence of two acanthocephalan parasites on the anti-predator behaviour of their intermediate host»	105
«Infection with acanthocephalans increases the vulnerability of <i>Gammarus pulex</i> (Crustacea, Amphipoda) to non-host invertebrate predators».....	131
«Adaptive colouration in acanthocephalans: a red-herring in host-manipulation by parasites?».....	153
 Chapitre 4 : Discussion générale.....	 176
<i>Les modifications comportementales induites par le parasite augmentent sa transmission par voie trophique.....</i>	<i>177</i>
<i>Le parasite altère plusieurs perceptions de signaux ou les réactions comportementales afférentes chez son hôte intermédiaire.....</i>	<i>178</i>
<i>Cette transmission trophique est ciblée vers les hôtes définitifs.....</i>	<i>180</i>
<i>D'autres prédateurs peuvent tirer bénéfice de cette vulnérabilité accrue.....</i>	<i>181</i>
 Chapitre 5 : Références bibliographiques.....	 184

INTRODUCTION GENERALE

Avoir réalisé que la plupart des organismes hébergent une quantité incommensurable d'autres organismes avec lesquels ils ont établi des interactions durables fut certainement une des grandes avancées en biologie au cours du siècle dernier (Combes 2001). Parmi ces « associés du vivant », les parasites dits *manipulateurs* ont la capacité d'exprimer une partie de leurs caractères au-delà de leur enveloppe charnelle, caractères qui peuvent interférer avec le comportement de l'organisme qui les héberge (Poulin 1995). Tout organisme hôte de tels parasites peut ainsi présenter des altérations plus ou moins sévères de sa morphologie et de ses comportements du fait de l'infection parasitaire, celles-ci pouvant aller jusqu'à entraîner une issue fatale pour l'hôte au bénéfice du parasite.

L'étude des parasites manipulateurs a fait l'objet d'un réel engouement chez les parasitologues au cours des dernières décennies (Poulin 1998, Combes 2001, Moore 2002). Au-delà de l'aspect spectaculaire et fascinant que revêt ce phénomène, les biologistes évolutionnistes et les écologistes du comportement y ont trouvé un outil fort à propos pour étudier et discuter de l'adaptation. Un des enjeux principaux du débat actuel est de comprendre si ces aberrations morphologiques et/ou comportementales observées chez l'hôte sont le résultat d'une sélection naturelle ayant opéré sur les gènes du parasite permettant une augmentation de son taux de transmission, ou si ces aberrations ne sont que de simples sous produits liés à la présence d'un corps étranger dans l'organisme, une réaction immunitaire par exemple (Poulin 1995, Thomas *et al.* 2005). Ces altérations observées représentent un réel défi pour les biologistes évolutionnistes quant à leur interprétation, avec un risque important au pire d'adaptationnisme exacerbé, au mieux d'un glissement sémantique du genre « purposive design ». Des voix se sont élevées contre cet état de fait, notamment celles de Robert Poulin (1995, 1998), qui a proposé un cadre théorique précis pour tester le caractère adaptatif de telles altérations, et ainsi éviter toutes conclusions trop hâtives. Bien évidemment tous les systèmes hôte parasite ne permettent pas de tester ces hypothèses adaptatives avec la même aisance, aussi bien pour des raisons de disponibilité et d'abondance des proies parasitées que pour des raisons inhérentes aux espèces étudiées, comme leur éventuel statut protégé, leur taille ou leur sensibilité à l'expérimentation et au confinement. Plus de dix ans ont passé depuis les propositions conceptuelles de Poulin, et les études affirmant ou infirmant clairement le caractère adaptatif des manipulations comportementales observées restent

encore rares et les risques de généralisation abusive élevés. Pour paraphraser Jacques Monod, c'est ainsi dans un double contexte de nécessité et de hasard que la présente thèse s'inscrit : dans un contexte de nécessité de preuves et de connaissances complémentaires permettant d'élucider une question que d'aucuns voudraient trop vite résolue, mais aussi dans un contexte de hasard faisant que la région Bourgogne, et plus particulièrement Dijon et ses environs offre à de nombreux égards un terrain d'étude très propice à fournir des réponses à cette question.

Une idée forte émanant du raisonnement de Robert Poulin est que l'augmentation de la transmission trophique liée à l'infection reste encore à démontrer pour la plupart des systèmes hôtes-parasites manipulateurs connus. Certains travaux ont établi de telles démonstrations, mais ils étaient dans leur grande majorité réalisés en conditions de laboratoire et très (trop) rarement en conditions naturelles. Les travaux présentés ici fournissent des éléments de réponse visant à renforcer la compréhension du caractère adaptatif de la manipulation comportementale dans un système hôte-parasite manipulateur, à la fois en conditions naturelles et dans l'environnement contrôlé du laboratoire. Pour ce faire, c'est le système parasites acanthocéphales – gammarès – poissons dulçaquicoles qui a été mis à profit, système inféodé au milieu aquatique qui a permis de réaliser un faisceau d'études originales à la croisée de la parasitologie évolutive et de l'écologie comportementale. Les acanthocéphales constituent un bon modèle d'étude, de par le caractère ancestral et généralisé à tout ce phylum de la manipulation parasitaire (Moore 1984, 2002). Au delà du test d'hypothèses concernant l'augmentation de transmission trophique, en milieu naturel comme en conditions de laboratoire, c'est le caractère multidimensionnel de la manipulation comportementale (Cézilly & Perrot-Minnot 2005) qui est pris en compte dans ces travaux. Dans ce sens, les études portant sur les parasites à cycle complexe font souvent abstraction de bon nombre de facteurs environnementaux, approximant ainsi parfois trop la réalité biologique du système. Un exemple flagrant est l'omission de l'influence de l'hôte définitif dans l'observation des modifications comportementales chez l'hôte intermédiaire. Ces travaux réintègrent cet acteur déterminant et démontrent que l'étude de la manipulation comportementale doit indubitablement en tenir compte. Une autre approximation fréquemment rencontrée est de considérer que seuls les protagonistes du cycle sont présents dans le milieu. Il n'en est évidemment rien et bien d'autres organismes peuvent exercer leur influence sur la dynamique des cycles complexes, comme en particulier tous les prédateurs auxquels sont exposés les

individus infectés, et dans lesquels le parasite ne pourra achever sa reproduction. Ce champ d'investigation est également abordé dans cette thèse, qui propose d'évaluer le coût de cette prédation non spécifique dans le système, minorant l'avantage sélectif de la manipulation comportementale mais établissant de nouvelles interactions proies - prédateurs au niveau des écosystèmes.

Le manuscrit débutera par une synthèse des connaissances actuelles concernant les altérations phénotypiques. Cette synthèse mettra l'accent sur la question du caractère adaptatif de ces altérations phénotypiques, et s'attachera à préciser les points forts et les points faibles des études s'y étant intéressés. Elle se terminera par la proposition d'un cadre expérimental optimisé pour son étude. Une présentation des principales propriétés biologiques des espèces parasites et hôtes étudiées suivra ensuite, puis une section débutant par un résumé des principaux résultats regroupera ensuite les articles acceptés, soumis et en préparation concernant les travaux effectués. Enfin ce manuscrit se terminera par une réflexion générale sur l'ensemble des travaux présentés, imbriquant conclusions et perspectives des études à venir.

Chapitre 1 :
La manipulation comportementale, définition et ambiguïtés

1) Du parasitisme à la manipulation, une conquête de l'hôte individuellement plus efficace

a) Interactions durables, parasitisme et phénotype étendu

Le terme d'interaction durable qualifie toute association prenant place dans le temps entre au moins deux entités vivantes aux génomes différents. Ces associations s'établissent à l'échelle de la vie d'un organisme mais aussi à une échelle « géologique » (Combes 1995). Le parasitisme est une interaction durable faisant intervenir une espèce dite parasite dont l'existence dépend étroitement de son association avec une autre espèce, dite espèce hôte, dont elle réduit la viabilité (Combes 2001). Ce mode de vie offre de nombreux avantages aux parasites : l'hôte constitue un environnement stable et prédictible, il fournit des ressources trophiques à volonté (Bush *et al.* 2001, Combes 2001) et procure une protection face aux attaques extérieures comme la prédation par exemple. Ces bénéfices variés font que le parasitisme est certainement aujourd'hui le mode de vie le plus commun sur terre (Timm & Clauson 1988, Windsor 1998) et certains groupes taxonomiques, tels les microsporidies, les trématodes et les acanthocéphales, sont exclusivement parasites (De Meeûs & Renaud 2002). Cependant, le parasitisme est par définition coûteux pour l'hôte car les ressources prélevées par les parasites ne peuvent être allouées aux fonctions vitales de l'hôte (Stearns 1992, Schmid-Hempel 2003, Duclos *et al.* 2006). Cette réduction de viabilité, appelée virulence (Herre 1993, Jaenike *et al.* 1995, Fitze *et al.* 2004), fait que les hôtes répondent à l'infection en mettant en place des résistances auxquelles le parasite se doit de faire face (Wakelin 1996). Ce sont entre autre les différents mécanismes de défense immunitaire (Gillespie *et al.* 1997), d'évitement des périodes et des zones à fort risque d'infection, ainsi que les stratégies de dilution de l'exposition aux parasites à travers la vie en groupe (Perrot-Minnot & Cézilly 2007). Dans son travail fondamental sur la théorie de la reine rouge en 1973, Leigh Van Valen conceptualisait ces oppositions conflictuelles entre organismes parasites et hôtes et écrivait : « *It is selectively advantageous for a prey or a host to decrease its probability of being eaten or parasitized. It is often selectively advantageous for a predator or parasite species, and much often for a predator or a parasite individual, to increase its expected rate of capture of food... Every species does the best it can in the face of these pressures... Biotic forces provide the basis for a self-driving perpetual motion of the effective environment and so of the evolution of the species affected by it (1).* »

(1) « Il est sélectivement avantageux pour une proie ou un hôte de réduire sa probabilité d'être mangé ou parasité. Il est souvent sélectivement avantageux pour une espèce de prédateur ou de parasite, et encore plus souvent pour un individu prédateur ou parasite, d'augmenter son taux de capture de nourriture... Chaque espèce fait du mieux qu'elle peut face à ces pressions... Les forces biotiques fournissant la base pour un mouvement perpétuel et auto-entretenu de l'environnement et ainsi de l'évolution des espèces qui en sont

Le père de l'hypothèse de la Reine Rouge (Figure 1) bousculait alors l'ordre établi en proposant que les principales forces environnementales s'exerçant sur un organisme sont les autres organismes vivants avec lesquels il interagit et non son environnement physique comme admis jusqu'alors. Une espèce α peut exercer de fortes contraintes sur une espèce β , des pressions de sélection, pouvant provoquer un événement de sélection. L'espèce β subissant les contraintes peut en réponse exercer de telles pressions sur l'espèce α et lorsque ces deux espèces interagissent pendant un temps suffisamment long, il s'établit entre elles un équilibre dynamique appelé coévolution (Van Valen 1973, Hafner & Nadler 1988, Combes 2001).



FIGURE 1. De l'autre côté du miroir. « Dans notre pays, si l'on courait très vite pendant longtemps, comme nous venons de le faire, on arrive généralement quelque part, ailleurs. » « Un pays bien lent ! », répond la Reine. « Tandis qu'ici, il faut courir de toute la vitesse de ses jambes pour simplement rester là où l'on est. Si l'on veut aller quelque part, ailleurs, il faut courir au moins deux fois plus vite que ça ! » (Illustration de John Tenniel dans « de l'autre côté du miroir » de Lewis Carroll (1872))

Par le truchement de certaines coévolutions, les individus parasités peuvent présenter un phénotype différent des individus non infectés de la même espèce. Le phénotype d'un individu - c'est-à-dire l'ensemble des caractères de cet individu - est le produit de l'interaction entre son environnement et son patrimoine génétique (Futuyma 2005). Cependant, le phénotype complet ne s'observe pas toujours sur l'organisme en lui-même, et les nids des oiseaux (Winkler & Sheldon 1993, Berg *et al.* 2006) ou les toiles d'araignées (Eberhard 1990, 2000, Li 2005) sont par exemple des structures dont l'élaboration est également codée génétiquement. Les gènes d'un organisme s'expriment dans ces cas au delà de son enveloppe

charnelle et le concept de *phénotype étendu* à été proposé pour illustrer de tels phénomènes (Dawkins 1982, 1986). A l'instar de ces organismes, certains parasites ont cette capacité d'exprimer leurs propres gènes à l'extérieur de leur enveloppe charnelle, dans le phénotype de leur hôte et d'en modifier l'apparence et le comportement d'une manière qui favorise l'achèvement de leur cycle de reproduction.

b) Le cycle complexe, un parcours plus efficace

Tout être vivant ne peut assurer son développement et sa survie que si ses propagules trouvent, activement ou passivement, un habitat favorable (Combes 2001). Hormis les parasites intra-cytoplasmiques à transmission verticale comme les *wolbachia* pour qui la propagation des gènes n'est pas conditionnée par la recherche d'un nouvel hôte (Rousset *et al.* 1992, Werren *et al.* 1995a, 1995b, Bandi *et al.* 1998, Rigaud & Moreau 2004), le cycle de vie d'un parasite est caractérisé par deux types de phase lui permettant de coloniser ses hôtes: une phase libre et une phase fixée, durant laquelle le parasite vit aux dépens de l'organisme hôte (Bush *et al.* 2001). Au cours de l'évolution des parasites, certains cycles simples et directs de reproduction (cycles dits homoxènes ou holoxènes) ont pu devenir plus complexes (cycles alors dits hétéroxènes).

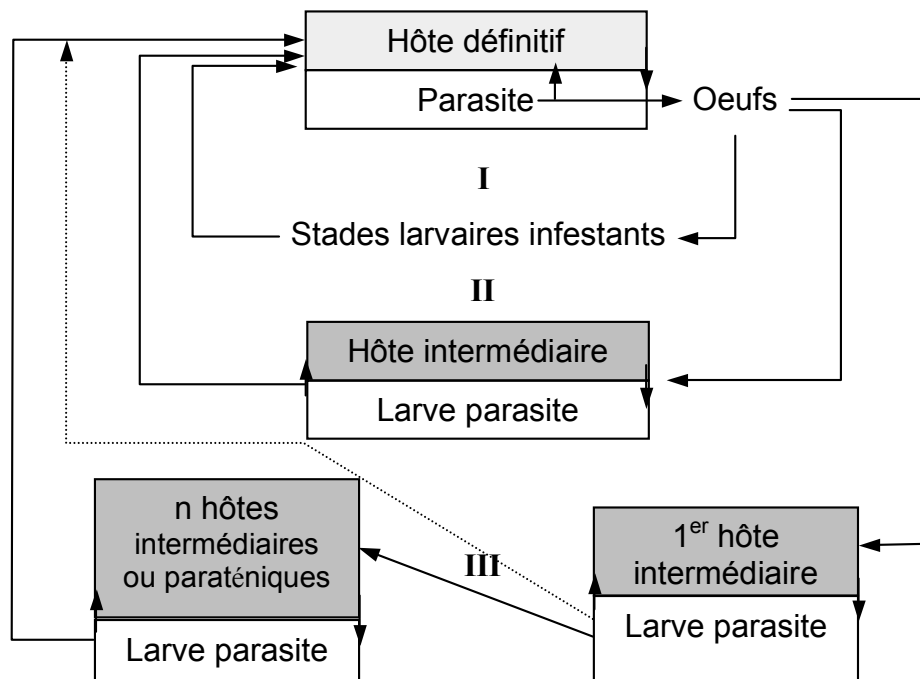


Figure 2 : Cycles parasitaires possibles (I : cycle simple, II : cycle complexe à deux hôtes, III : cycle complexe à $n > 2$ hôtes) : dès lors que le parasite passe par au moins un hôte intermédiaire, on parle de cycle complexe de reproduction (modifié d'après Cassier *et al.* 2001)

Cette transition n'est pas forcément liée à une tendance intrinsèque à évoluer vers la complexité mais est plus le fait d'accidents évolutifs ou de pressions de sélection assurant une plus grande efficacité de transmission des propagules (Poulin 1998, Parker *et al.* 2003a). De tels cycles de vie comportant plusieurs espèces hôtes successives sont rencontrés chez de nombreux groupes de parasites phylogénétiquement éloignés (Poulin 1998). Les cycles de vie complexes des helminthes parasites sont supposés avoir évolués à partir d'un cycle à un seul hôte par incorporation de nouveaux hôtes (Parker *et al.* 2003a) : un prédateur vertébré peut ainsi être ajouté au cycle de vie d'un parasite s'il se nourrit fréquemment d'une proie que le parasite exploite comme hôte, ledit prédateur devenant alors un hôte définitif. Adopter un vertébré comme hôte définitif peut avoir permis aux parasites d'accroître considérablement leur taux de reproduction dans des hôtes dont la taille corporelle et la durée de vie sont bien plus importantes que les invertébrés (Parker *et al.* 2003b), ainsi que, hormis pour les espèces hermaphrodites, d'augmenter leur taux de fertilisation croisée en concentrant des individus isolés (Brown *et al.* 2001). L'incorporation *a posteriori* d'hôtes intermédiaires supplémentaires utilisés comme vecteurs de transmission peut ensuite avoir augmenté la probabilité de gagner l'hôte vertébré (Choisy *et al.* 2003). Chacune de ces espèces hôte représente cependant un environnement nouveau auquel le parasite doit accéder et s'adapter (figure 2). Un organisme parasite ne peut alors plus être juste considéré comme la seule forme adulte mais comme l'ensemble de son cycle de vie de l'œuf à l'adulte (Bonner 1993), la sélection naturelle agissant ainsi sur toutes les étapes du développement de ce parasite. Malgré ce chemin parsemé d'obstacles que doivent parcourir de nombreux parasites, des cycles complexes faisant intervenir jusqu'à quatre hôtes existent (Cassier *et al.* 1998). Un exemple bien connu de cycle parmi les plus complexes est celui du trématode *Halipegus ovocaudatus* qui vit sous la langue des grenouilles vertes (*Rana esculenta*) au stade adulte. Les œufs de ce parasite sont relargués dans l'eau et donnent alors naissance à une larve nageante propre aux trématodes, le *miracidium*, qui pénétrera dans un mollusque de la famille des *Planorbidae* pour y effectuer une reproduction asexuée. De cette multiplication naîtront des cercaires qui, une fois sorties du mollusque, se déposeront sur le substrat et attendront d'être ingérées par un copépode. Il faudra ensuite que ce copépode soit prédaté par une libellule, dans l'intestin de laquelle le parasite s'établira, puis que cette libellule soit elle-même prédatée par la grenouille, l'hôte définitif du parasite, pour que le parasite achève son cycle. Les travaux de Zelmer & Esch (1998) tendent cependant à démontrer que la libellule ne

constitue pas un hôte obligatoire pour *H. ovocaudatus* : si la grenouille se nourrissait de copépodes elle pourrait tout autant s'infecter. La libellule serait alors plutôt un hôte dit *paraténique*, augmentant les chances de rencontre entre la grenouille et le copépode, mais dans lequel le parasite ne se développe pas.

Les voies de transmission complexes mettent donc le parasite face à une succession d'événements très hasardeux pour achever son cycle, arriver à maturité et se reproduire. Les hôtes sont des habitats à durée de vie limitée et à distribution discrète et non homogène dans l'environnement du parasite, qui devra donc pour subsister changer cycliquement d'habitat. L'hôte amont, celui d'où vient le parasite, peut être distingué de l'hôte aval, celui où va le parasite (figure 3). Le passage des stades infestants d'un hôte amont à un hôte aval constitue une phase très critique dans la vie d'un parasite (Brown *et al.* 2001, Choisy *et al.* 2003). Le succès reproducteur des parasites à cycle hétéroxène dépend alors d'une succession d'événements improbables tels que leur survie dans les différents hôtes ou leur reproduction dans l'un d'entre eux. Dobson (1988) fait en outre remarquer que chaque événement de transmission provoquant un fort taux de mortalité chez les parasites, la probabilité de survie et d'accomplissement du cycle est d'autant plus faible que le cycle est complexe. Malgré ces contraintes, un tiers des protozoaires parasites, deux tiers des nématodes et la totalité des trématodes digènes, cestodes et acanthocéphales présentent des cycles de vie complexes.

Combes en 1995 faisait un élégant parallèle entre le concept de stratégies « r » ou « K » développé par MacArthur et Wilson (1967) puis par Pianka (1970), et les deux types de génotypes rencontrés chez les parasites leur permettant d'achever leur cycle de reproduction. Ainsi Combes (1995) remarquait que pour maximiser leur transmission, la sélection naturelle avait favorisé chez les parasites :

- des génotypes misant sur la quantité et produisant un nombre considérable d'œufs, augmentant ainsi la probabilité de rencontre -considérée comme un événement aléatoire- de l'hôte suivant (Price 1974). Ce type de compensation des pertes, assimilée à une stratégie dite de type « r », est une des caractéristiques les plus fréquente chez les parasites ; elle est rencontrée chez les parasites monoxènes à stade libre et lors de la colonisation de certains hôtes chez les parasites à cycle hétéroxènes. Pour ne citer qu'un exemple, un homme infecté par l'amibe dysentérique (*Entamoeba histolytica*) évacue avec ses excréments jusqu'à 50 millions de kystes chaque jour qui se retrouveront dans l'eau et y achèveront leur maturation pour donner chacun 4 amibes ayant elle-même la capacité de se multiplier (Combes 2001).

- des génotypes misant sur la qualité et produisant des propagules qui sont individuellement plus efficaces dans leur transmission : des mécanismes de favoritisme morpho-anatomiques et/ou éthologiques ajustent alors la rencontre entre le parasite et l'hôte ciblé. Cette stratégie, dite de type « K », se rencontre chez les parasites à cycles de dispersion libre, où les stades libres provoquant le rendez-vous avec leur cible ont été sélectionnés. C'est par exemple le cas des miracidium de schistosomes (trématodes) qui modifient leur comportement de nage lorsqu'ils arrivent dans une zone où existe un gradient de concentration de substances émises par le mollusque qui leur sert d'hôte définitif : leur trajet devient alors plus sinueux et la vitesse de nage moins importante, ce qui accroît les chances de contact avec l'hôte (Chernin 1970, Wright 1971, Roberts *et al.* 1979). Mais cette stratégie se rencontre aussi et surtout sur des cycles dits à *dispersion portée* et dans ce cas, le parasite est inclus dans le corps d'un organisme porteur, un hôte intermédiaire qui le véhicule jusqu'à l'hôte suivant.

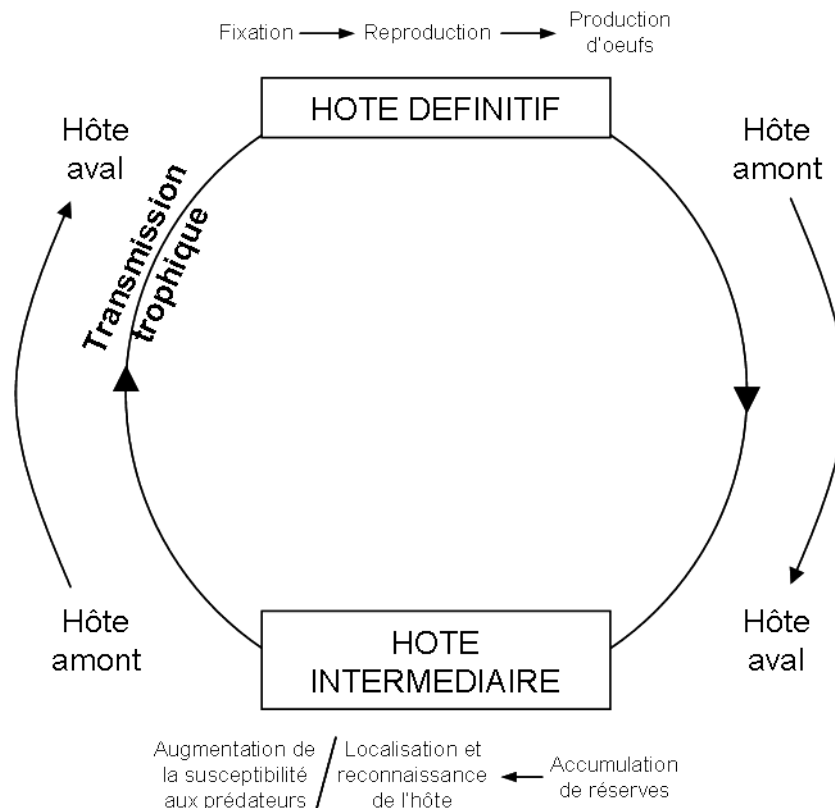


Figure 3. Cycle de vie généralisé à deux hôtes, basé sur celui de la classe des acanthocéphales dont tous les membres suivent un tel type de cycle (modifié d'après Poulin 1998).

Un cas très intéressant a, dans ce domaine, été reporté par Lacroix *et al.* (2005) qui ont démontré que les moustiques *Anopheles gambiae* vecteurs de la malaria (*Plasmodium*

falciparum) sont attirés par des enfants porteurs du stade infestant du parasite et vont davantage se nourrir du sang de ces enfants –et donc devenir véhicule du parasite vers un autre hôte- que de celui d'enfants non porteurs ou porteurs de stades n'étant pas encore infestants. Le parasite augmente ici son taux de transmission en émettant un signal, encore inconnu, favorisant son passage vers un autre hôte. Dans de nombreux cycles complexes, l'hôte intermédiaire doit être consommé par l'hôte définitif pour que le parasite atteigne sa taille maximale et se reproduise (figure 3). Ces cas de parasites dits à *transmission trophique* représentent un type de stratégie « K » très particulier où le parasite, pour survivre, doit provoquer la mort de son hôte intermédiaire. Il en résulte un conflit d'intérêt très fort entre le génotype du parasite et celui de l'hôte intermédiaire. Il est désormais bien connu que les hôtes intermédiaires de parasites dépendant d'une telle transmission trophique présentent souvent des altérations de comportement ou d'apparence augmentant leur chance de prédation par l'hôte définitif (Moore 2002). C'est notamment le cas pour de nombreux parasites intestinaux à cycle complexe comme les nématodes ou les acanthocéphales (Bethel & Holmes 1973, Dobson 1988, Cézilly *et al.* 2000). Dans ces stratégies de type « K », le comportement de l'hôte n'est donc pas contenu dans ses propres gènes mais sont en interaction avec ceux du parasite, qui s'expriment au delà du corps du parasite. D'un point de vue évolutif, ces altérations, qu'elles soient morphologiques ou comportementales, sont des exemples parfaits du concept de phénotype étendu proposé par Dawkins (1982) dans lequel, comme il a été décrit précédemment, les gènes d'un organisme, ici le parasite, ont des effets sur le phénotype d'un autre individu, l'hôte. Les stratégies de type « K » font donc de grandes économies d'individualité mais ne sont peut être pas moins onéreuses, il est juste plus difficile de quantifier le coût que représente l'induction d'altérations phénotypiques. Assumant (1) que les parasites modifient le comportement de l'hôte intermédiaire de manière à fortement réduire son aptitude phénotypique et (2) que le prédateur peut distinguer une proie parasitée d'une proie saine, Kuris (1996) a postulé que la transmission trophique induite par le parasite ne peut apparaître qu'une seule fois dans le cycle d'un parasite à cycle complexe, car un prédateur doit éviter les proies qui le rendent plus vulnérable à la prédation. Un parasite à cycle complexe devrait donc présenter des alternances de stratégies « r » et « K » au cours de son cycle de reproduction.

c) La transmission trophique, un parcours d'obstacles

La coévolution qui s'établit entre le parasite et ses différents hôtes peut être vue comme une course aux armements (Van Valen 1973) : la sélection naturelle va favoriser chez les parasites des génomes efficaces dans l'infection de leurs hôtes, et chez ceux-ci, des génomes efficaces dans l'évitement de l'infection. Dans une association simple impliquant un parasite et un seul hôte, les différentes barrières qui séparent les deux protagonistes peuvent être représentées par un système de deux filtres que devra franchir le parasite pour coloniser son hôte (Euzet et Combes 1980, Combes 2001, figure 4) :

Le filtre de rencontre définit la probabilité de contact entre le parasite et son hôte. La biologie du parasite fait que son environnement, son lieu de vie, est une entité vivante et est donc par essence limitée dans le temps. Les populations d'hôtes étant fragmentées, le cycle de développement d'un parasite présente fréquemment des ruptures à la fois dans l'espace et dans le temps et la rencontre avec son hôte implique que ce parasite se trouve au bon endroit et au bon moment. Ce filtre possède en outre une composante écologique impliquant que le parasite doit occuper la même niche écologique que son hôte pour pouvoir le coloniser, et une composante éthologique excluant du spectre d'hôtes toute espèce dont le comportement empêche une mise en contact avec le parasite.

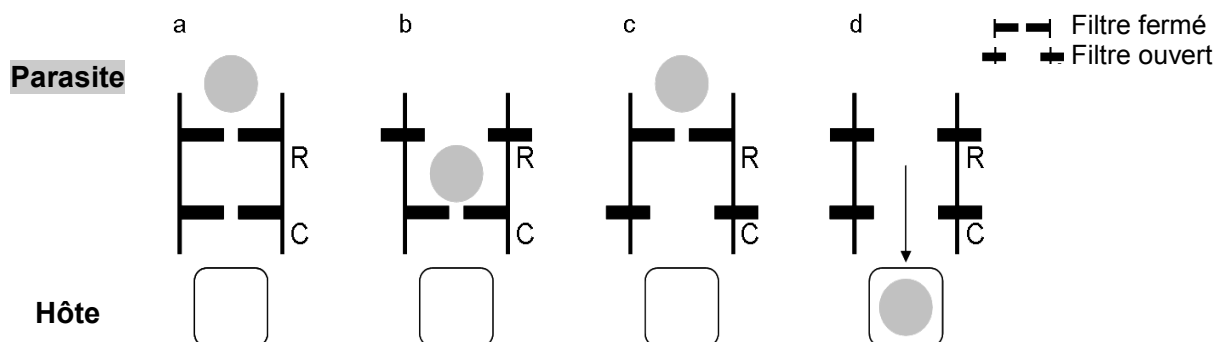


Figure 4. Illustration des filtres de rencontre (R) et de compatibilité (C), entre parasites et hôtes : lorsque les deux filtres sont fermés (situation a) ou seulement un (situations b et c), le parasite ne peut s'établir dans son hôte. Il n'y parviendra que si les deux filtres sont ouverts (situation d) (d'après Combes 2001).

Le filtre de compatibilité définit quant à lui la probabilité pour le parasite de s'établir durablement dans un hôte potentiel. Peuvent lui être attribuées une composante métabolique correspondant aux exigences en termes d'espace et de ressources requises pour le bon développement du parasite, et une composante immunologique correspondant aux défenses

immunitaires mises en place par l'hôte pour compromettre les chances du parasite de parvenir à l'infecter. Toute mutation entraînant l'ouverture d'un de ces filtres aura de grandes chances d'être sélectionnée chez le parasite, tandis que toute mutation fermant ces filtres aura de grandes chances d'être sélectionnée chez l'hôte (figure 4, Combes 1991). Un parasite à cycle complexe aura ainsi autant de paires de filtres à franchir que d'hôtes à infecter pour accomplir son cycle. Il faut cependant remarquer que même si le franchissement du filtre de compatibilité est un événement important dans la séquence d'infection, le franchissement du filtre de rencontre, qui apparaît obligatoirement le premier dans la séquence d'infection, est un événement déterminant dans l'infection d'un hôte. L'optimisation de ce franchissement est donc un élément clé de l'infection : aucun tri ne peut être opéré sur les mécanismes permettant la compatibilité du parasite avec son hôte si leur rencontre n'a pas eu lieu.

d) Une stratégie pour franchir le filtre de rencontre : la manipulation comportementale

Ce sont Cram (1931) puis Van Dobben (1952) qui suspectèrent les premiers que les parasites puissent modifier le comportement de leurs hôtes intermédiaires à leur propre bénéfice. Van Dobben en particulier avait remarqué que les contenus stomacaux des grands cormorans *Phalacrocorax carbo* contenaient davantage de poissons infectés par le cestode *Ligula intestinalis*, dont le cormoran est l'hôte définitif, que les pêcheurs n'en attrapaient dans leurs filets. Un mécanisme rendait donc les poissons infectés plus vulnérables à la prédation que les poissons non-infectés. La notion s'est ensuite précisée et l'idée que les modifications de comportement observées chez les hôtes intermédiaires puissent favoriser la transmission du parasite s'est progressivement imposée à partir des années 1970, notamment avec les travaux remarquables de Bethel et Holmes (1973, 1974, 1977) sur le cycle de reproduction des vers acanthocéphales. Ces expériences menées en laboratoire ont montré que les cystacanthes – stades infestants de ces helminthes – de l'acanthocéphale d'oiseau *Polymorphus marilis* entraînaient des comportements anormaux, notamment une inversion du géotactisme chez son hôte intermédiaire, l'amphipode *Gammarus lacustris* (Bethel & Holmes 1973). Bethel et Holmes (1977) ont ensuite vérifié que de tels comportements anormaux augmentaient le taux de prédation de l'hôte intermédiaire vers l'hôte définitif du parasite *Polymorphus paradoxus*, en l'occurrence le canard colvert *Anas platyrhynchos* (Bethel & Holmes 1977).

Qualifiant ces phénomènes observés chez les individus parasités, le terme de *manipulation comportementale* a fait son apparition en 1983 avec les travaux de Simone Helluy portant sur les associations amphipodes/trématodes (Helluy 1983). Ce terme sous-tendait alors clairement que ces modifications observées chez les proies infectées étaient le fait du parasite, qui « prenait en main » son véhicule pour achever son cycle de reproduction. En 1994, Poulin notait que plus de 114 expériences portant sur les modifications comportementales induites par les parasites avaient été publiées sur les trente années passées et depuis au moins autant ont suivi, si ce n'est plus (cf Moore 2002).

2) A la base de la manipulation comportementale, des altérations phénotypiques favorisant la transmission trophique du parasite

a) La notion d'altération phénotypique

Les individus parasités présentent fréquemment un ou plusieurs caractères différents de ceux rencontrés normalement chez des individus sains de la population dont ils sont issus. C'est sur cette observation que se base la notion d'altération phénotypique : le phénotype de l'individu infecté est altéré par rapport au phénotype couramment rencontré chez les individus non-infectés. Un grand nombre d'espèces de parasites, protozoaires comme métazoaires, induisent de telles altérations (Brodeur & McNeil 1989, Maitland 1994, Lacroix *et al.* 2005, Ponton *et al.* 2006). C'est cependant chez les parasites à cycle complexe faisant intervenir une phase de transmission trophique que ces altérations phénotypiques sont aujourd'hui le plus documentées, touchant systématiquement le dernier hôte intermédiaire dans la séquence (Holmes & Bethel 1972, Moore & Gotelli 1990, Moore 1995, Poulin 1995). Les modalités que prennent ces altérations sont relativement diversifiées (voir Poulin 1994 et Moore 2002 pour synthèse) et seront l'objet de la présente étude et de tout ce qui sera développé ci-après. Elles correspondent le plus souvent à des modifications :

- d'apparence, auquel cas le parasite induit des modifications de caractères morphologiques de l'hôte amont (couleur, forme...) susceptibles de faire déplacer l'hôte aval vers celui-ci (Camp & Huizinga 1979, Combes 1995)

- de comportement faisant déplacer le parasite de l'hôte amont vers l'hôte aval. Dans le cas de stades infestants non-libres et particulièrement dans le cas de la transmission trophique, la sélection naturelle peut avoir favorisé des altérations induites par le parasite concernant soit le comportement de l'hôte amont, soit celui de l'hôte aval. Ces altérations n'ont cependant pu être sélectionnées que chez le parasite, une manipulation de l'hôte aval ne pouvant s'effectuer qu'en lui présentant un signal potentiellement trompeur de n'importe quelle sorte.

Les altérations peuvent être classées selon que le signal est émis par l'hôte définitif (1a) ou son environnement (1b), ou par le parasite (2a) ou son véhicule (2b) :

(1a) Les rats infectés par le protozoaire *Toxoplasma gondii* voient leur aversion innée pour les chats inversée en une attraction qui leur sera fatale et permettra ainsi au parasite de passer dans son hôte définitif, cette attraction n'ayant lieu qu'en réaction à l'odeur d'un chat et non à celle d'un lapin dans lequel le parasite ne peut s'établir (Berdoy *et al.* 2000)

(1b) *Microphallus sp.* est un parasite de canards et autres oiseaux aquatiques. Ce trématode inhibe l'attraction à la gravité de son hôte intermédiaire l'escargot d'eau douce *Potamopyrgus antipodarum*, et le fait se déplacer moins vite lorsqu'il est exposé à la lumière, ces deux altérations rendant l'escargot plus vulnérable à la prédation par les oiseaux d'eau servant d'hôte définitif au parasite (Levri & Fisher 2000)

(2a) Par leur forme et leurs mouvements, les cercaires du trématode *Gorgodera euzeti* prennent l'apparence d'appâts pour les larves aquatiques d'insectes du genre *Sialis* (Combes 1968)

(2b) Les métacercaires de *Paratimonia gobii* (trématode) s'accumulent dans le siphon du bivalve *Abra ovata*, qui se détache, puis est consommé par la gobie tachetée *Pomatoschistus microps* (Maillard 1976)

Les différentes altérations comportementales rencontrées chez les organismes manipulés peuvent être dissociées en deux catégories, les modifications ayant attiré à l'apparence des individus infectés et les modifications touchant leur *comportement* (Helluy 1983), ces deux catégories seront détaillées dans les deux parties suivantes.

b) Modifications d'apparence

Les altérations dites morphologiques concernent directement l'aspect des individus parasités et regroupent le gigantisme (Carney 1969, Henry & Oma 1981, Minchella 1985, Ness & Foster 1999, Trabalon *et al.* 2000), les ruptures de mimétisme de l'hôte (Leiby & Dyer 1971, Bartoli 1976, Bartoli & Prévot 1978, Brassard *et al.* 1982, Moore 1983, Carmichael & Moore 1991) et enfin les couleurs aberrantes (Hynes & Nicholas 1963, Lewis 1977, Oetinger & Nickol 1981, Lyndon 1996, Bakker *et al.* 1997). Moore (2002) pose cependant la question de l'assimilation des modifications d'apparence à une altération comportementale. Concernant plus précisément les couleurs, deux types principaux de modification de la couleur peuvent être rencontrés :

- des modifications de couleurs existantes, comme une mélanisation plus prononcée (Camp & Huizinga 1979). Hindsbo (1972) a montré que le parasite acanthocéphale *P. minutus* provoquait diverses modifications physiologiques chez *Gammarus lacustris*, entraînant des changements de l'aspect de cet hôte intermédiaire qui devenait bleu. Cet exemple, bien qu'ayant été publié dans une prestigieuse revue, est intéressant car *P. minutus* est une espèce relativement répandue et cette coloration bleue induite chez *G. lacustris* n'a jamais été reportée depuis ni chez cette espèce ni chez aucun autre amphipode servant d'hôte intermédiaire à *P. minutus*. Il n'est par contre pas fait mention du point rouge-orangé qu'arborent habituellement les gammarus infectés par ce parasite. Cependant une teinte bleutée semblable à celle dont il est question dans cet article est un phénomène que l'on retrouve chez certains amphipodes dans certaines conditions environnementales. Si les gammarus infectés occupent des micro habitats différents de ceux infectés, cette coloration extravagante ne pourrait être due qu'à une différence de régime alimentaire des hôtes et non un réel effet du parasite.

- l'apparition d'une couleur n'étant pas initialement présente sur l'animal infecté comme par exemple une tache colorée formée par le parasite. Les effets de la modification de l'apparence sur la vulnérabilité de l'hôte intermédiaire ont été démontrés chez certains parasites acanthocéphales. Le parasite de poisson *Pomphorhynchus laevis*, lorsqu'il arrive au stade infestant dans son hôte intermédiaire l'amphipode *Gammarus pulex*, peut se voir par transparence dans l'haemocoel de l'hôte intermédiaire (Bakker *et al.* 1997). Il apparaît clairement sous la forme d'une sphère jaune pâle permettant de distinguer à l'œil nu les

individus infectés. Bakker *et al.* (1997) ont démontré expérimentalement que cette tache rendait l'amphipode plus visible par l'épinoche, petit poisson pensé servir d'hôte définitif au parasite, et augmentait ainsi sa vulnérabilité à la prédation par rapport aux individus qui en sont dépourvus.

c) Modifications comportementales

Les modifications comportementales aujourd'hui connues chez les hôtes intermédiaires de parasites à cycles complexe dépendant d'une transmission trophique peuvent être regroupées en trois grandes classes que sont les variations de niveau d'activité (Brassard *et al.* 1982, Helluy 1984, Harwood *et al.* 1996, Libersat & Moore 2000), les choix de micro habitat (Helluy 1983, Mouritsen & Jensen 1997, Maynard *et al.* 1998) et les altérations des comportements anti prédateurs (Jakobsen & Wedekind 1998, Levri 1998, Berdoy *et al.* 2000, Baldauf *et al.* 2006). Au sein d'une méta-analyse, Poulin (1994b) s'est intéressé aux deux premières classes et a démontré (1) que les nématodes induisent des modifications de comportement dont la magnitude est supérieure à celles induites par les cestodes et les acanthocéphales; (2) que le fait que l'hôte intermédiaire soit un vertébré ou un invertébré n'influçait pas cette magnitude ; (3) que les parasites à cycle complexe à transmission trophique induisaient des modifications comportementales plus faibles que les parasites à cycle complexe dont le mode de transmission est autre, comme les vecteurs par exemple. La position du taxon des acanthocéphales est intéressante dans le point (1) : en effet les trématodes induisent toujours des modifications de plus grande ampleur que les cestodes, mais Poulin a divisé les modifications comportementales en niveau d'activité et choix de micro habitat. Les acanthocéphales se rangent du côté des cestodes pour ce qui est de l'activité mais du côté des trématodes pour ce qui est du choix du micro habitat. De plus le point (3) montre que les parasites à cycle complexe et à transmission trophique affectent peu leurs hôtes intermédiaires comparativement aux parasites utilisant d'autres voies de transmission. L'argument de Poulin (1994b) concernant ce résultat auquel il ne s'attendait pas est de dire que ces parasites doivent affecter moins sévèrement leurs hôtes pour les faire survivre le plus longtemps possible en attendant leur transmission. Or les acanthocéphales sont tous des parasites faisant intervenir la transmission trophique dans leur cycle et Poulin n'a pris en compte que les études dont les mesures ont été effectuées en l'absence de prédateur. C'est là

certainement un biais majeur dans ces résultats car des études récentes tendent à prouver que les modifications comportementales sont soit diminuées, soit inexistantes lorsque le parasite, par le biais de son hôte intermédiaire, ne perçoit pas son hôte définitif dans son environnement (Baldauf *et al.* 2006). Les associations hôte-parasite faisant intervenir des cycles complexes à transmission trophique les plus connues et les plus étudiées sont sans aucun doute les associations liant les acanthocéphales et les crustacés. De nombreuses études ont en effet étudié ce couple, quel que soit l'hôte définitif, et les modifications comportementales induites par le parasite sur l'hôte intermédiaire. A l'instar de la méta-analyse de Poulin, ces études ont essentiellement démontré des différences dans les choix du micro habitat plutôt que dans les niveaux d'activité (Bethel & Holmes 1973, Hechtel *et al.* 1993, Médoc *et al.* 2006). En outre, des études récentes postérieures à cette méta analyse ont mis en évidence que le comportement anti-prédateur était aussi une cible des altérations phénotypiques, ce qui suggère que, dans certains cas, aucune autre altération phénotypique ne puisse être décelée sans la mise en présence de prédateur hôte définitif dans le système (Berdoy *et al.* 2000, Baldauf *et al.* 2006). D'autres facteurs peuvent aussi influencer plus ou moins sévèrement les altérations comportementales. Dans une étude récente, Benesch *et al.* (2005) ont démontré que l'inversion du phototactisme induite par *Corynosoma constrictum* (Acanthocéphale) sur son hôte intermédiaire *Hyaella azteca* (Amphipode) pouvait varier en fonction de la composition spectrale de la lumière qui les éclairait. La variabilité de la lumière est un paramètre que Bethel et Holmes (1973) avait déjà testé, et qui n'avait pas d'influence sur le phototropisme positif que présentait *Gammarus lacustris* infecté par *Polymorphus marilis*. Cependant Bethel et Holmes (1973) n'avaient considéré que l'intensité lumineuse, paramètre très variable *in natura*, et non le spectre d'émission de leur éclairage, paramètre beaucoup plus stable au sein d'une même localité, ne variant qu'en fonction de la latitude et dans une bien moindre mesure de la saisonnalité. Précisons enfin que l'augmentation comme la diminution d'activité de l'hôte intermédiaire peuvent favoriser sa prédation : dans le premier cas il est plus visible et est donc mieux repéré par le prédateur, dans le second il fuit moins vite et donc a plus de chances de se faire capturer (Poulin 1994).

d) Combinaison des deux ?

Alors qu'il peut paraître dans bien des cas très avantageux pour le parasite de modifier un caractère ou un comportement de son hôte à son profit, l'addition de plusieurs modifications ne peut que renforcer le succès de transmission. Les deux types de modifications présentées ci-dessus ne sont donc pas mutuellement exclusifs et les changements d'apparence sont souvent accompagnés d'altérations comportementales (Hindsbo 1972, Camp & Huizinga 1979, Brown & Thompson 1986, Bakker *et al.* 1997). Le petit crustacé dulçaquicole *Caecidotea intermedius* lorsqu'il est infecté par l'acanthocéphale *Acanthocephalus dirus*, est non seulement de couleur plus claire que les individus sains, mais de surcroît est moins repoussé que les individus sains par l'odeur d'un prédateur, ce qui le rend surexposé à la prédation par les poissons qui constituent les hôtes définitifs de l'acanthocéphale (Hechtel *et al.* 1993). Un cas intéressant de cumulation d'altérations à la fois morphologiques et comportementales est rencontré chez les termites des Caraïbes *Nasutitermes acajutlae* infectés par un acanthocéphale encore indéterminé. Les ouvriers infectés de cette espèce de termite sont beaucoup plus clairs que les autres ouvriers, ils sont donc plus visibles lorsqu'ils sont en dehors de la termitière et au milieu de leurs congénères, et restent plus longtemps en dehors de la termitière, se surexposant à des prédateurs tels que les lézards du genre *Anolis* (Fuller *et al.* 2003). Cette étude est une des rares à avoir réellement mis en évidence des modifications comportementales induites par des acanthocéphales chez des arthropodes terrestres. Seules les études portant sur le crustacé isopode *Armadilidium vulgare* (Moore 1983a) et les blattes *Periplaneta brunnea* (Moore 1983b, Carmichael & Moore 1991) avaient jusqu'alors démontrées de tels effets sur des arthropodes terrestres, et seuls les travaux sur la blatte portaient sur un arthropode de la classe des Insectes (les crustacés servent en outre très fréquemment d'hôte intermédiaires aux acanthocéphales en milieu aquatique). Fuller *et al.* (2003) ont également montré que les termites infectés se surexposaient à la prédation et se trouvaient ainsi être plus consommés par un lézard que les non infectés. Il semblerait cependant que l'acanthocéphale ne puisse se développer dans les espèces de lézard utilisées dans leurs expériences, et que des prédateurs carnivores de cet hôte paraténique tels que les chats, servent d'hôtes définitifs (Nickol *et al.* 2006).

e) Mécanismes mis en jeu

Même si toutes les questions concernant l'écologie évolutive des modifications comportementales n'ont pas encore trouvé de réponses, les possibilités offertes par l'outil moléculaire depuis quelques années ont poussé certaines équipes à prospecter les mécanismes proximaux de ces modifications (Thomas *et al.* 2005, Tain *et al.* 2006, 2007). Connaître avec plus de précision les organes ou les processus physiologiques affectés par les parasites ainsi que le niveau de ces affections procède de l'avancée générale dans la connaissance en parasitologie évolutive et plus particulièrement de la manipulation parasitaire (Poulin 1995, Thomas *et al.* 2005). Des substances libérées par les parasites peuvent par exemple, en exerçant leur action sur différentes voies neuronales ou endocriniennes, entraîner des altérations phénotypiques à plusieurs niveaux et ainsi expliquer dans certains cas l'existence de combinaisons de modifications comportementales. Deux axes sont aujourd'hui exploités concernant ces mécanismes. Une approche par criblage global du protéome recherchant des protéines candidates pour certaines fonctions (Ponton *et al.* 2006) ; une approche ciblée sur des voies neuromodulatrices (Helluy & Thomas 2003, Tain *et al.* 2006, 2007). Des travaux récents ont notamment mis en évidence, dans deux systèmes hôtes-parasites différents, une modification de l'activité sérotonergique dans le cerveau des hôtes manipulés (Helluy & Thomas 2003, Tain *et al.* 2006, 2007).

3) La manipulation comportementale est-elle une altération adaptative pour le parasite ?

a) Toutes les altérations phénotypiques ont-elles une signification adaptative ?

De manière assez intuitive et vue la complexité de certaines altérations phénotypiques, il pourrait être établi que toute altération du phénotype de l'hôte intermédiaire le rendant plus vulnérable à la prédation par l'hôte définitif est adaptative pour le parasite (Combes 2005). Nombreux sont les exemples suggérant ou affirmant que les modifications du comportement d'hôtes parasités sont avantageuses pour le parasite, dans la mesure où elles favorisent l'accomplissement de son cycle en augmentant sa probabilité de transmission vers l'hôte aval

(voir Moore 2002 pour une synthèse de ces études). Cependant face à la diversité de formes comme de taxons d'hôtes et de parasites que concernent ces modifications morphologiques et comportementales, leur attribuer à toutes une valeur adaptative bénéficiant *de facto* au parasite semble relativement présomptueux (Tierney *et al.* 1993, Urdal *et al.* 1995). Une adaptation peut être considérée comme un trait déterminé génétiquement qui est devenu ou est en train de devenir prédominant dans une population car il confère un avantage sélectif à celui qui le porte à travers l'amélioration d'une quelconque fonction (Ridley 2003). Ridley (2003) fait remarquer que toutes les conséquences bénéfiques d'un caractère ne doivent cependant pas être considérées comme adaptatives, seules celles pour lesquelles le trait a été sélectionné méritent cette appellation. Des traits complexes peuvent cependant exister par une succession progressive d'adaptations rendant le trait mieux adapté à son environnement et le rendant plus complexe. Le cas bien connu de la formation de l'œil a par exemple été démontré à la fois par Strickberger (1990) par une étude comparative sur les mollusques actuels, et par Nilsson & Pelger (1994) par simulation informatique. Ces travaux montrent que les divers constituants de l'œil peuvent avoir évolué de manière indépendante par petites étapes pour produire un œil aussi complexe que celui des pieuvres ou des calmars. La manipulation a également été envisagée comme un suicide (Smithtrail, 1980, Moore 1984), suicide qui pourrait être considéré comme une adaptation de la part de l'hôte selon l'hypothèse de la sélection de parentèle (Hamilton 1964, 1972). En effet, si un individu hôte possède un nombre suffisant de gènes en commun avec ses congénères et sous certaines conditions, son sacrifice permettra aux individus ayant ces gènes en commun avec lui de perdurer, son suicide protégeant ses congénères de l'infection (Moore 1984, Poulin 1992). Cette hypothèse est cependant très discutée et ne semble pas s'appliquer à tous les cas de manipulation.

- Une question restant ouverte encore aujourd'hui est celle concernant ce que Gould et Vrba (1982) ont appelé l'exaptation. Ce concept postule que certains caractères que présentent les organismes ont été sélectionnés jadis pour une fonction qu'ils ne remplissent plus aujourd'hui. Une mutation génétique aurait ainsi pu être sélectionnée car elle augmentait la survie du parasite dans l'hôte et a acquis secondairement une valeur adaptative car elle modifiait le comportement de l'hôte et conférait un avantage en terme de transmission trophique au parasite. Cependant, Futuyma (1998) précise que si ce caractère est devenu neutre, on peut parler d'exaptation, mais que s'il a acquis une nouvelle fonction sous l'effet de nouvelles pressions de sélection, alors on peut parler d'adaptation pour la nouvelle

fonction. Dans ce cas, on peut alors se demander si le trait considéré reste toujours identique à l'originel et si ce genre de filiation est réellement pertinente.

Des réflexions théoriques visant à définir des conditions permettant d'affirmer ou d'infirmer le caractère adaptatif des altérations phénotypiques que présentent les hôtes parasités ont été menées principalement par deux auteurs, le français Claudes Combes et le canadien Robert Poulin, qui envisagent la question chacun sous un angle différent.

- *Le point de vue de Combes*

Combes (1995, 2001), dans une démarche originale adaptée de Keymer & Read (1991), propose qu'avant de postuler que la modification observée est à la fois le résultat d'une manipulation par le parasite et avantageuse pour ce dernier, il convient d'écarter les quatre hypothèses alternatives suivantes :

- La modification n'a pas de valeur adaptative (ni pour le parasite ni pour l'hôte) :

certaines modifications morphologiques ou comportementales peuvent être présentes chez un hôte sans offrir au parasite un quelconque avantage adaptatif. Lorsqu'une modification comportementale est par exemple le fait d'une modification hormonale, il se peut que les mécanismes à la base de cette modification soit opérationnels sur d'autres organismes que l'hôte intermédiaire du parasite. Le cestode de carnivore *Spirometra mansonioides* provoque par exemple chez des souris infectées une accélération de la croissance les rendant rapidement énormes (Mueller 1974). Ces souris obèses deviennent alors beaucoup plus faciles à capturer pour les chats, hôtes définitifs du cestode, et on se trouve là dans un parfait exemple de favorisation. Cependant, il se trouve qu'en conditions naturelles, l'hôte intermédiaire majoritaire de ce cestode n'est pas la souris mais une couleuvre qui ne présente pas cette anomalie de croissance. La modification morphologique induite sur la souris ne peut donc pas être considérée comme ayant une valeur adaptative pour le parasite si le taux de rencontre entre ces deux organismes n'est que très rare. Une modification peut être dans certains cas expliquée par des contraintes phylétiques. Une altération morphologique ou comportementale peut avoir été sélectionnée dans une association hôte parasite ancestrale donnée en vertu du bénéfice qu'en retirait le parasite. Ensuite, ce trait peut avoir été conservé par les espèces comprises dans la lignée évolutive des espèces parasites, sans qu'il ne leur confère obligatoirement un avantage (Moore & Gotelli 1990).

- La modification est une réponse adaptative de l'hôte : alors que de nombreuses modifications comportementales rendent les hôtes intermédiaires surexposés au risque de prédation par l'hôte définitif du parasite, Moore et Gotelli (1992) ont rencontré un effet inverse chez la blatte *Supella longipalpa* infectée par le parasite de rat *Moniliformis moniliformis*. Les blattes infectées présentaient en effet une tendance, par rapport aux individus sains, à occuper davantage une zone à l'ombre qu'une zone éclairée. Les auteurs concluaient alors que pour la première fois, ils démontraient que les hôtes intermédiaires diminuaient leur exposition à la prédation par des prédateurs visuels, ce qui peut être mis sur le compte d'une réaction adaptative de l'hôte et non du parasite. Cependant les rats sont certes des prédateurs visuels, mais également des prédateurs nocturnes et préférant les zones peu éclairées. Ainsi il se peut que si le choix est laissé à un rat entre une zone éclairée et une zone sombre, celui-ci préférera lui aussi la zone sombre, auquel cas le choix opéré par les blattes infectées concorde parfaitement avec celui induit par le parasite chez l'hôte intermédiaire. Il reste donc à prouver que le preferendum pour les zones sombres diminue le taux de prédation de la blatte infectée pour être sûr que cette modification comportementale est bien une réponse adaptative pour l'hôte et non pour le parasite (Perrot-Minnot et Cézilly 2007).

- La modification a une valeur adaptative mais n'est pas directement liée à la transmission : un exemple de modification comportementale dont la documentation va croissante est celle induite par le trématode *Diplostomum spathacum* sur les poissons comme la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) (Seppälä *et al.* 2004, 2006). Lorsqu'ils sont infectés, ces poissons passent une grande partie de leur temps à nager près de la surface, et sont donc plus visibles que les poissons non infectés, ce qui les rend plus vulnérables à la prédation par des oiseaux chassant à vue comme la grande aigrette *Ardea alba* ou le héron cendré *Ardea cinerea*. Il a été démontré que les poissons infectés sont tous victimes d'une cataracte sévère. Cette opacité de la cornée rend le poisson pratiquement aveugle, et on peut alors considérer que soit il n'est plus en mesure de percevoir s'il se trouve en zone éclairée ou sombre et visite les deux espaces indifféremment, soit la demande en lumière devenue nécessaire à une bonne vision l'oblige à se placer dans les zones fortement éclairées. Cette pathologie peut s'expliquer par une accumulation lente de déchets métaboliques excrétés par le parasite dans l'œil et entraînant une telle opacification. Cependant les parasites à croissance rapide et arrivant au stade infestant en un laps de temps très court peuvent induire une forte cataracte du fait d'une évacuation trop lente des déchets par le poisson par rapport à leur

production : ces parasites peuvent avoir été favorisés au cours de l'évolution pour augmenter la susceptibilité des poissons aux prédateurs (Seppälä *et al.* 2005). Tout ceci n'explique néanmoins pas la localisation du parasite au niveau de l'œil. Il se trouve que l'œil est un organe dans lequel le système immunitaire du poisson, comme de beaucoup de vertébrés, n'a que peu d'emprise (Szidat 1969, Rauch *et al.* 2006), le parasite s'y trouvant est donc invisible aux défenses immunitaires de l'hôte. Ce ne serait donc pas la manipulation qu'exerce le parasite oculaire sur son hôte en tant que telle qui aurait été sélectionnée mais la localisation du parasite dans une zone où il se trouve à l'abri de tout phénomène de résistance de l'hôte. Il ne faut toutefois pas exclure l'hypothèse d'une amplification de la production de déchets au cours de la coévolution.

- La modification n'est pas le résultat d'une sélection sur la transmission : des modifications de comportement ou d'apparence peuvent apparaître chez les hôtes infectés sans bénéfice pour le parasite. L'occupation des zones de surface par les truites arc-en-ciel citée précédemment pourrait être assimilée à cette catégorie car il semblerait que ce sont les déchets métaboliques excrétés par le parasite qui provoquent ce comportement, c'est donc dans ce cas un produit lié à l'infection qui modifie le comportement sans que la sélection n'ait agi sur celui-ci. D'autres exemples existent concernant ces sous-produits liés à l'infection. Des effets secondaires peuvent faire penser que le parasite modifie un trait de son hôte à son bénéfice alors qu'il n'en est rien, ceci pouvant parfois être renforcé par le fait que des modifications similaires dans des systèmes hôtes parasites proches ont été prouvées comme bénéfiques pour le parasite. Le cestode intestinal de carnivore *Multiceps multiceps* se loge dans le cerveau des moutons, où l'immunité est plus faible que dans le reste du corps, qui lui servent d'hôte intermédiaire et provoque chez ceux-ci un tournis les rendant plus vulnérables aux loups et aux chiens. Un tel comportement aberrant est également rencontré chez les moutons hébergeant les larves du diptère *Oestrus ovis*, l'oestre du mouton. Ces larves vont se développer dans les sinus du mouton avant de se transformer en pupe et de tomber au sol pour continuer leur développement et éclore en mouche adulte. Dans ce cas, ce n'est que l'obstruction des sinus provoquée par les larves du diptère qui donnent le tournis aux moutons, et les prédateurs consommant ces proies faciles ne constituent en rien une étape dans le cycle de reproduction du diptère, dont les larves seront alors perdues. Combes (2001) notait que la contribution des effets pathologiques sur l'hôte est rarement considérée pour interpréter le

changement de comportement, et les travaux de Poulin (2000) tendent à montrer que dans bien des cas leur implication ne doit pas être écartée.

Une fois ces quatre hypothèses alternatives écartées, Combes (2001) propose que l'on puisse conclure que l'altération présente une valeur adaptative pour le parasite. Il ne reste plus alors qu'à démontrer que cette altération favorise la transmission trophique du parasite pour lui accorder un caractère adaptatif. Combes fait donc une distinction entre la *manipulation*, phénomène exercé par le parasite sur son hôte, et n'étant pas le résultat d'un autre processus sélectif, et la *favorisation* qui est l'augmentation de transmission de l'hôte intermédiaire induite par le parasite, en d'autres termes un processus adaptatif sélectionné par le succès de la rencontre avec l'hôte. Une favorisation peut donc avoir lieu sans qu'il n'y ait forcément de manipulation de l'hôte de la part du parasite, la manipulation n'étant qu'un des processus de favorisation ayant été sélectionné car augmentant les chances de transmission du parasite (Combes 1991). Le processus de favorisation doit donc obligatoirement avoir une signification adaptative, c'est-à-dire qu'il doit être le produit d'une sélection dans le pool génétique du parasite. Cependant, ne peuvent être considérés comme des processus de favorisation que des traits comportementaux qui modifient la position du parasite et de sa cible dans l'espace et/ou dans le temps et ont pour conséquence d'augmenter la probabilité de rencontre avec l'hôte définitif, ce qui constitue un point de vue très éthologique. Ces traits impliquent obligatoirement un stimulus et une réponse, et Combes (1991, 2001) souligne que même si des adaptations physiologiques ou morphologiques renforcent fréquemment les modifications comportementales, elles ne peuvent, à son sens, être considérées comme des processus de favorisation. Cette restriction semble antinomique avec la définition de base que donne Combes de la favorisation, car des modifications morphologiques comme comportementales faisant partie intégrante du pool génétique du parasite ont été démontrées comme augmentant sa transmission. Enfin un dernier point que précise Combes est que la favorisation doit être démontrée quantitativement pour être ainsi nommée et que les exemples convaincants se faisaient rares en 1991 (précisons qu'ils ne sont pas beaucoup plus abondants depuis). Si l'on considère chacune des hypothèses proposées par Combes et qu'on se réfère aux exemples les illustrant, il semble que la plupart présentent des difficultés d'ordre méthodologique quant à leur mise en évidence pratique. En effet, il semble plus difficile de construire une démarche expérimentale par élimination successive d'hypothèses, Combes

insistant notamment sur le fait que l'ensemble des quatre hypothèses alternatives doivent être écartées pour conclure à une signification adaptative de la manipulation de l'hôte, du moins en l'état actuel des connaissances sur les différents systèmes hôtes parasites. En reconsidérant le cas de la cataracte détaillée ci-dessus, rien n'est connu sur les coûts que représentent une telle pathologie, comme le risque pour le poisson de mourir sans que le parasite n'ait pu se transmettre (mort d'inanition ou par emprisonnement dans des poches d'eau se formant en marge des rivières au cours d'une crue mais s'asséchant rapidement avec la décrue : les poissons nageant en surface ont plus de risques de se retrouver ainsi isolés que ceux restant au fond et ne quittant pas le lit du cours d'eau par exemple). Une seule étude a à ce jour tenté une telle démarche « à rebours », il s'agit du travail de Franz et Kurtz (2002). Ces auteurs ont étudié des copépodes *Macrocyclus albidus* infectés par *Schistocephalus cephalus*, parasite de l'épinoche à trois épines *Gasterosteus aculeatus*. Les copépodes infectés ayant des difficultés à s'échapper ainsi qu'un niveau d'activité général plus élevé que les individus ne présentant pas l'infection, Franz et Kurtz (2002) ont cherché si les hôtes présentaient des affections énergétiques ou musculaires suite à leur infection, pouvant être considérées comme adaptatives ni pour le parasite ni pour l'hôte. Le parasite n'ayant d'effet ni sur les ressources en énergie ni sur la masse musculaire de leurs hôtes, qui présentaient néanmoins des modifications comportementales, Franz et Kurtz (2002) proposent que ce cestode manipule activement le copépode. Même si les propositions méthodologiques de Combes étaient déjà présentes lorsque Poulin a avancé les siennes en 1995, le fait que les idées de Combes ne soient parues que sous la forme de livre (paru qui plus est en français à l'origine) et non d'article scientifique n'a certainement pas joué en leur faveur quant à leur mise en application pratique.

- Le point de vue de Poulin

Poulin (1995) a pris la question dans l'autre sens en proposant une série de conditions qu'une altération doit remplir pour qu'elle puisse être établie comme adaptative pour le parasite. Certaines de ces conditions sont coïncidentes avec les hypothèses de Combes, mais Poulin a fourni un cadre conceptuel et pratique que de nombreuses études ont adopté par la suite car certainement plus facile à mettre en œuvre concrètement. Ainsi donc, pour qu'une altération

phénotypique puisse être considérée comme un cas de phénotype étendu et donc adaptative, Poulin (1995) précise qu'elle doit satisfaire aux critères suivants:

- Convergence phylogénétique : sur une échelle macro évolutive, si des altérations phénotypiques identiques ont évolué dans des lignées différentes de parasites à cycles similaires, alors celles-ci sont sûrement adaptatives. Seuls Moore et Gotelli (1996) ont effectué une étude à ce sujet et ont démontré que la capacité du parasite *M. moniliformis* à altérer le comportement de différentes espèces de blattes ne présentait aucune concordance avec une phylogénie de cette espèce hôte. Ces altérations sont donc apparues de manière répétée et indépendante dans les différentes lignées de blattes. En l'absence de contraintes, des adaptations similaires doivent donc avoir évolué indépendamment dans plusieurs lignées distinctes sous des pressions de sélection similaires pour être adaptatives. Une convergence comparable est également rencontrée chez deux taxons différents de parasites, les trématodes et les acanthocéphales, exploitant fréquemment un type d'hôte commun, les amphipodes. Les stades adultes des trématodes et acanthocéphales se trouvent souvent dans des vertébrés très proches, comme des poissons ou des oiseaux d'eau. C'est le cas notamment du trématode *Microphallus papillorobustus* parasite de laridés au stade adulte (Helluy 1983a, Helluy 1983, Thomas *et al.* 1996a, Thomas *et al.* 1996b), de *Polymorphus minutus* et *Polymorphus paradoxus*, parasites de canards colverts entre autre au stade adulte (Bethel & Holmes 1973, 1974, Cézilly *et al.* 2000). Ces deux parasites doivent donc passer par un hôte définitif très semblable en termes de méthode de prise alimentaire, et exploitent deux espèces d'amphipodes relativement proches : *Gammarus insensibilis* ou *Gammarus aequicauda* pour le premier, et *Gammarus pulex* pour le second. Les modifications comportementales induites par ces parasites sur leurs hôtes intermédiaires sont très proches, elles consistent principalement à faire remonter les gammarus à proximité de la surface de l'eau par une inversion du géotactisme, les rendant surexposés à la prédation par les hôtes définitifs des parasites. Les mêmes pressions de sélection exercées sur ces deux systèmes hôte parasites phylogénétiquement indépendants produisent donc les mêmes effets sur les hôtes intermédiaires.

- Relation entre le type de modification du comportement et le type d'hôte cible : il doit exister un lien logique entre la modification du comportement observée et le type d'hôte ciblé (Futuyma 1998). Peu d'études ont cependant démontré l'existence d'un tel lien entre l'altération du phénotype de l'hôte par le parasite et les bénéfices pour le parasite en

terme de transmission. Moore (1983) a observé chez une espèce de crustacé isopode terrestre (*Armadillidium vulgare*) parasité par un acanthocéphale (*Plagiorhynchus cylindraceus*) un choix d'habitat différent selon le statut parasitaire. Cette modification du choix de l'habitat s'accompagne d'une altération du comportement de fuite des individus infectés se traduisant par une proportion plus importante d'individus parasités dans le régime alimentaire de l'étourneau (*Sturnus vulgaris*), hôte définitif du parasite, que dans le milieu naturel. Cette étude, bien qu'ayant fait date car elle était l'une des premières à démontrer expérimentalement, et surtout *in natura*, une augmentation de la transmission trophique d'un parasite manipulateur, a fait intervenir des proportions et des tailles d'échantillons relativement restreintes et est donc sujette à caution. En revanche, un bel exemple de modification comportementale pouvant être reliée au type d'hôte ciblé se rencontre encore une fois dans le milieu aquatique et concerne encore les acanthocéphales et les amphipodes. Deux espèces d'acanthocéphales, *Pomphorhynchus laevis* et *Polymorphus minutus*, exploitent une espèce commune comme hôte intermédiaire, l'amphipode *G. pulex*. Cependant, les modifications comportementales induites par ces deux espèces de parasites sont bien différentes et semble concorder avec le type d'hôte ciblé par chacune d'entre elles. *P. minutus* est un parasite d'oiseau et inverse le géotactisme des gammarus infectés, ce qui les amène à la surface et sur les bords des rivières (Cézilly *et al.* 2000), alors que *P. laevis* est un parasite de poisson et inverse le phototactisme de ses hôtes (Cézilly *et al.* 2000, Perrot-Minnot 2004), les faisant sortir de sous les pierres où ils se trouvent habituellement pour éviter d'être mangés par des poissons chassant à vue dans le courant. C'est ici un exemple clair d'ajustement de modification de comportement en fonction de l'hôte ciblé, même si celui-ci n'est potentiellement pas le seul à consommer ces proies infectées.

- Complexité : alors que des traits simples peuvent aussi bien être des adaptations qu'être arrivés par pur hasard ou être des sous-produits d'autres changements sélectifs, des traits complexes ont beaucoup moins de chance d'être le produit d'un accident ou de la chance. Avec le précédent, ce critère permet de faire le distinguo entre les effets pathologiques provoqués par l'infection et de réelles altérations comportementales. L'explication la plus parcimonieuse pour comprendre de nombreuses altérations serait en effet qu'elles sont des sous-produits de l'infection parasitaire. La majorité des altérations phénotypiques connues sont de simples augmentations ou diminutions de la proportion de temps durant laquelle les hôtes infectés présentent un certain comportement par rapport aux

individus non infectés (Poulin 1995). Une augmentation comme une diminution d'activité peuvent d'ailleurs favoriser la transmission trophique (Poulin 1994). Un parasite affectant par exemple les capacités respiratoires de son hôte mènera celui-ci vers des zones richement oxygénées. Ces zones peuvent également par le fait du hasard être à haut risque de prédation par l'hôte suivant du parasite et ce ne serait que l'augmentation de la demande en énergie liée à l'infection qui forcerait l'hôte à tolérer de plus grands risques de prédation (Giles 1983, Milinski 1985, Godin & Sproul 1988, Haye & Ojeda 1998). Dans la mesure où la rencontre favorisée avec l'hôte n'est qu'une conséquence de l'effet pathologique sur l'hôte, ce cas de comportement modifié ne peut être considéré comme adaptatif. Comme vu précédemment, les fièvres ou recherches de points hauts dans l'environnement peuvent être considérées comme des sous-produits de l'infection, avec pour conséquence de la fièvre d'anéantir le pathogène par la chaleur, et, pour la recherche de points hauts, celle de lutter contre une hypoxie par exemple en milieu aquatique. A l'inverse d'autres effets comme une inversion de comportement anti-prédateur chez l'hôte intermédiaire, ou des mécanismes de sécrétion d'hormones ou d'autres substances par le parasite dans l'hôte favorisant sa transmission, s'assimilent plus difficilement à un effet pathologique car ils peuvent faire intervenir des mécanismes physiologiques complexes (Adamo 2002).

- Bénéfice en terme d'aptitude pour le parasite manipulateur : démontrer que la modification comportementale est adaptative revient à montrer qu'elle conduit à une augmentation de l'aptitude phénotypique du parasite. Cette démonstration peut s'effectuer en établissant par exemple une corrélation positive entre l'amplitude du changement de comportement de l'hôte intermédiaire et le taux de transmission du parasite à l'hôte définitif : plus la modification comportementale est intense plus la transmission du parasite à son hôte définitif doit être élevée. Brown *et al.* (2001) montrent que la charge parasitaire en *Ligula intestinalis* (Cestode) est positivement corrélée à l'intensité des modifications comportementales chez l'hôte intermédiaire, le gardon (*Rutilus rutilus*), mais le lien avec la transmission trophique n'est pas encore établi. Cette corrélation n'est cependant pas retrouvée chez les acanthocéphales (Cézilly *et al.* 2000). Il est donc probable que les niveaux d'infection ne soient corrélés aux niveaux d'altération phénotypique que dans certains taxons et non dans d'autres. Concernant ce dernier critère Poulin (1995) notait que, bien que difficile à tester, il constituait néanmoins le plus essentiel des quatre et permet d'établir le caractère adaptatif de la manipulation.

La méthode de Poulin semble plus se prêter à l'expérimentation que celle de Combes. Il n'est cependant pas clairement discuté du fait que les quatre points doivent être réunis ou non. L'augmentation de la transmission est un élément critique dans la notion de manipulation selon Poulin, mais les exemples la démontrant restent peu nombreux. Progresser dans l'investigation de ces quatre points a permis et permettra encore de préciser les *scenarii* évolutifs concernant les altérations phénotypiques, fournissant ainsi davantage d'explications sur le caractère adaptatif ou non de celles-ci. Il y a quelques années, une synthèse notait que vingt cinq études avaient conclu à une prédation accrue indubitable des hôtes intermédiaires infectés par l'hôte définitif du parasite (Moore 2002), mais seulement trois d'entre elles avaient été conduites en conditions naturelles. Globalement, le quatrième critère de Poulin (1995) semble donc être vérifié. Brent Nickol (2005) fait cependant remarquer que les efforts intellectuels doivent encore se concentrer sur la démonstration que les modifications du phénotype augmentent bel et bien la transmission trophique du parasite et sur la clarification des mécanismes impliqués.

L'étude du caractère adaptatif de la manipulation pourrait sembler être uniquement un problème de terminologie. Cependant, face aux quelques possibilités évoquées ci-dessus, on peut comprendre qu'il faut surtout éviter de faire un excès d'adaptationisme et garder un esprit critique sur ce qui est observé. Pour bien comprendre comment la manipulation intervient, il est également nécessaire de préciser ce qui la conditionne. Thomas *et al.* (2005) doutent de l'utilité d'une distinction entre effets pathologiques et réelle manipulation parasitaire adaptative, considérant que toute altération phénotypique apportant un bénéfice en terme d'aptitude phénotypique peut être admise comme adaptative pour le parasite. Le fait est que le caractère adaptatif de la plupart des altérations phénotypiques causées par les parasites reste à être démontré de manière convaincante (Thomas *et al.* 2005).

b) Preuves établies ou inférences ?

Une certaine prudence doit être de mise concernant de nombreuses études portant sur la transmission trophique accrue par le parasite. Un des raccourcis les plus fréquemment rencontré est l'attribution du caractère adaptatif sans que la transmission n'ait réellement été testée. Plusieurs possibilités sont rencontrées :

(1) soit l'expérience de prédation n'a pas eu lieu et les auteurs concluent au caractère adaptatif par extrapolation. Bethel et Holmes (1973) ont comparé les modalités des modifications comportementales de deux espèces parasitaires sur un hôte intermédiaire commun, ces deux espèces parasitaires ayant deux hôtes définitifs différents. *Gammarus lacustris* est l'hôte intermédiaire de deux espèces de parasites acanthocéphales *Polymorphus marilis* et *Polymorphus paradoxus*. Le gammare sain évite la lumière et, s'il est dérangé, s'enfouit dans le substrat. Parasité par *P. marilis*, il choisit des zones éclairées mais garde le même comportement de fuite. Infesté par *P. paradoxus*, il est photophile et se précipite vers la source de perturbation en rasant la surface de l'eau. Il existe donc une certaine variabilité dans les modalités de la manipulation pour une même espèce hôte intermédiaire selon l'espèce parasitaire hébergée. Le preferendum lumineux du gammare parasité par *P. marilis* l'amène dans la niche alimentaire du petit morillon (*Aythya affinis*), un canard plongeur, principal hôte définitif du parasite. L'activité en surface du gammare parasité par *P. paradoxus* a pour conséquence une présence dans l'espace de son hôte définitif, le canard colvert (*Anas platyrhynchos*), canard de surface. A travers cet exemple, où les individus parasités par les deux espèces sont observés suivant le même protocole expérimental, la spécificité de la manipulation est très bien mise en évidence, mais son efficacité réelle vis-à-vis des hôtes définitifs n'a pas été testée. L'avantage conféré par ce comportement modifié peut sembler suffisamment évident pour ne pas réclamer de preuves expérimentales impliquant l'hôte définitif. Cependant, même si a priori les individus parasités sont plus présents dans le milieu où l'hôte définitif se trouve, rien ne prouve qu'ils soient plus choisis par cet hôte définitif pour autant.

(2) Soit elle a été simulée comme c'est le cas d'expériences tentant d'attraper des poissons infectés avec une passoire pour établir leur vulnérabilité (Seppälä *et al.* 2004) mais ces expériences ne renseignent en rien sur l'ajustement de la manipulation par rapport au type d'hôte ciblé.

(3) Soit enfin l'expérience a été réalisée avec un prédateur qui ne constitue pas un hôte définitif potentiel pour le parasite. C'est le cas notamment de l'expérience de Webber *et al.* (1987) qui ont exposé des larves de moustique *Aedes aegypti* parasité par le trématode *Plagiorchis noblei* à des poissons rouges. Les larves de moustiques infectées étaient plus consommées que les non infectées, mais le poisson rouge n'est pas un prédateur que les larves de moustiques ou le trématode rencontrent dans leur milieu. Le choix du prédateur doit donc

être réaliste écologiquement quand il s'agit de tester l'augmentation de transmission trophique des proies parasitées. Une critique supplémentaire pouvant être apportée à certaines études (présentant les défauts précédemment cités ou non) porte sur les proportions relatives de proies infectées et non infectées offertes aux prédateurs ou pseudo prédateurs. Celles-ci sont rarement le reflet des proportions rencontrées dans la nature, bien souvent pour des commodités expérimentales ou d'analyse (Perrot-Minnot & Cézilly 2007). Ce biais est considérable quand par exemple des proportions de 50% de proies parasitées sont offertes aux prédateurs lors d'expériences de prédation en milieu contrôlé alors que les prévalences en milieu naturel n'atteignent que très rarement ces niveaux. Enfin, les études qui se sont attachées à reproduire le plus fidèlement les conditions environnementales réelles des organismes n'ont pas toutes montré une transmission accrue du parasite vers son hôte définitif (Urdal *et al.* 1995).

c) Un critère majeur, le gain en aptitude phénotypique

Le terme de Transmission Trophique Induite par le Parasite (TTIP) désigne le fait que l'hôte parasite est plus vulnérable à la prédation que les individus non infectés de son espèce (Lafferty 1999, *Parasite Induced Trophic Transmission* dans le texte original). Ce terme rend compte du fait que les proies dont le comportement est modifié par le parasite sont plus exposées à la prédation. Le seul moyen objectif de tester si les modifications observées chez les individus infectés sont adaptatives est d'effectuer des expériences de prédation démontrant la plus grande vulnérabilité des proies infectées. Or peu d'études se sont penchées sur ce problème et par conséquent le lien direct entre les changements induits par les parasites et la transmission trophique n'a été jusqu'à aujourd'hui que très peu démontré. Un cas symptomatique est rencontré chez les succinées infectées par le trématode *Leucochloridium paradoxum*, parasite d'oiseaux comme l'étourneau *Sturnus vulgaris* (Rennie 1992, Casey *et al.* 2003). Cette association, de par son caractère très extravagant, sert couramment d'exemple de modifications d'apparence favorisant la prédation de l'hôte. La succinée, petit escargot terrestre, voit en effet son comportement, sa morphologie et sa couleur profondément modifiés lorsqu'elle est infectée par *L. paradoxum* : le sporocyste du parasite, bourré de métacercaires infestantes, envoie des ramifications dans les antennes de l'escargot, ces ramifications distendent la peau de ses antennes et des bandes jaunes et vertes transversales

aux antennes apparaissent alors par transparence. Ces stries sont en plus animées de mouvements ondulatoires en réponse uniquement à la lumière et miment ainsi très efficacement une chenille dont sont friands les oiseaux. Étonnamment, Wesenberg-Lund (1931) est le seul à avoir considéré une éventuelle prédation différentielle des succinées infectées et aucune étude n'a suivi depuis. Or Wesenberg-Lund (1931) n'avait pas réussi à démontrer que les proies infectées étaient à la fois plus repérables par les étourneaux, et à la fois plus mangées par ceux-ci, que les proies non-infectées. Il observa même des oiseaux venant se poser et chanter à quelques mètres à peine de ces proies, dont les pulsations montaient jusqu'à 70 battements par minute, et, à son grand désappointement, ne les remarquant pas.

Lorsque des expériences ont tout de même été mises en œuvre, elles étaient de deux types :

- Les expériences menées en laboratoire

Ces expériences ont pour principe d'offrir à un prédateur un nombre donné de proies infectées et non infectées dans un microcosme. Après un temps calibré, le prédateur est enlevé du microcosme et les proies restantes comptées. Si une plus grande proportion de proies infectées a été consommée que le prédateur n'en avait à sa disposition au départ de l'expérience, alors l'infection peut être tenue pour responsable d'une augmentation de la transmission trophique de l'hôte intermédiaire. Un problème inhérent à cette méthode réside dans le fait que le non remplacement des proies implique que si le prédateur présente une préférence pour l'un des deux types, ce type va se raréfier dans l'environnement du prédateur à mesure que celui-ci le prélève, induisant une sous-estimation de l'augmentation de la transmission trophique (Lafferty & Morris 1996). Quelques études ont démontré la plus grande susceptibilité des proies parasitées grâce à de tels protocoles. Dans l'association *Acanthocephalus dirus* (acanthocéphale) – *Asellus intermedius* par exemple, Camp et Huizinga (1979) ont mis en évidence une relation entre les altérations phénotypiques (dépigmentation) et comportementales (hyperactivité) induites par le parasite chez l'hôte et sa prédation préférentielle par le mulot à cornes (*Semotilus atromaculatus*) hôte définitif du parasite, (pour d'autres exemples voir entre autres Bethel & Holmes 1973, 1977, Moore 1983, Poulin 1992, Pulkinen *et al.* 2000). Cependant d'autres études ne sont pas parvenues à faire cette démonstration (Webster *et al.* 2000, Edelaar *et al.* 2003). Du fait de la difficulté à réaliser ces expériences de prédation, parfois du fait du prédateur difficile à confiner, une solution de substitution est de simuler un événement de prédation, avec une épuisette ou un

filet par exemple (Seppälä *et al.* 2004). L'extrapolation est certes ici moins hasardeuse que dans le cas où l'expérience de prédation est inexistante mais sa portée et son réalisme peuvent être discutables. Urdal *et al.* (1995) ont trouvé qu'un cestode altérait fortement le comportement de son hôte mais n'ont pas réussi à trouver une augmentation de la transmission trophique liée à l'infection. Pourtant une proie non infectée était ingérée pour 1.25 infectée. Il se peut que la méthode d'analyse employée n'ait pas détecté de différence significative.

- Les expériences *in natura*

Elles consistent à estimer la prévalence dans le régime alimentaire du prédateur et de la comparer avec celle rencontrée dans le milieu. Une prévalence plus élevée dans le régime alimentaire que dans le milieu rendra indirectement compte d'une plus grande vulnérabilité à la prédation des individus infectés. Malgré une simplicité apparente dans la démarche, les études ayant mis en œuvre ce type de protocole ne sont pas légions (figure 5). Historiquement, la première fut celle de Van Dobben (1952) portant sur les grands cormorans mais qui tenait plus du constat que de l'étude de la transmission trophique à proprement parler. En 1983, J. Moore fut la première à réaliser un réel travail longitudinal sur le terrain et à étudier, au sein du couple *Armadillidium vulgare* (isopode terrestre) – *Plagiorhynchus cylindraceus* (acanthocéphale), le continuum allant de la prévalence du parasite dans le milieu, en passant par les caractéristiques et l'amplitude des modifications comportementales induites par le parasite sur l'hôte, jusqu'à la prédation différentielle des individus parasités par rapport aux individus sains. Hoogenboom et Dijkstra (1987) ont procédé de façon similaire avec le campagnol des champs (*Microtus arvalis*) parasité par un protozoaire (*Sarcocystis cernae*) dans le régime alimentaire des faucons crécerelles (*Falco tinnunculus*). Il faut enfin citer les recherches effectuées par Lafferty et Morris (1996) sur le cycle du trématode *Euhaplorchis californiensis*. Jusqu'à 3000 métacercaires de ce parasite peuvent envahir la boîte crânienne du petit poisson marin des zones subtropicales *Fundulus parvipennis*. A l'instar de nombreux hôtes intermédiaires, les poissons parasités ont un comportement très différent de celui des poissons non infectés : une inversion de leur géotactisme les fait séjourner fréquemment près de la surface, ils effectuent en plus des mouvements désordonnés, exhibant notamment leur ventre clair vers la surface. Chez les oiseaux piscivores tels que les ardeidés, la vision de ce miroir peu faciliter le repérage de la proie et enclencher le harponnage de celle-ci. L'adulte du parasite se développant chez la grande aigrette (*Ardea*

alba), ces comportements augmentent la probabilité de transmission du parasite vers son hôte définitif. Les expériences réalisées en bassin extérieur par les auteurs démontrent que les poissons parasités sont trente fois plus nombreux à être capturés par les oiseaux que les poissons non infectés. Récemment, Knudsen *et al.* (2001) ont montré que la proportion de *Gammarus lacustris* infectés par *Cyathocephalus truncatus* dans les estomacs de l'omble de l'arctique *Salvelinus alpinus* est 8 fois supérieure à celle du milieu. Cette étude n'est cependant qu'un constat, reprenant la technique de Van Dobben, mais ne donne pas de détails sur les altérations phénotypiques pouvant conduire à cette surreprésentation des hôtes intermédiaires dans le régime alimentaire de l'omble. Rares sont donc les études documentant l'augmentation de transmission trophique en conditions naturelles, prouvant ainsi que la simplicité apparente ne reflète pas la complication que représente la mise en application concrète.

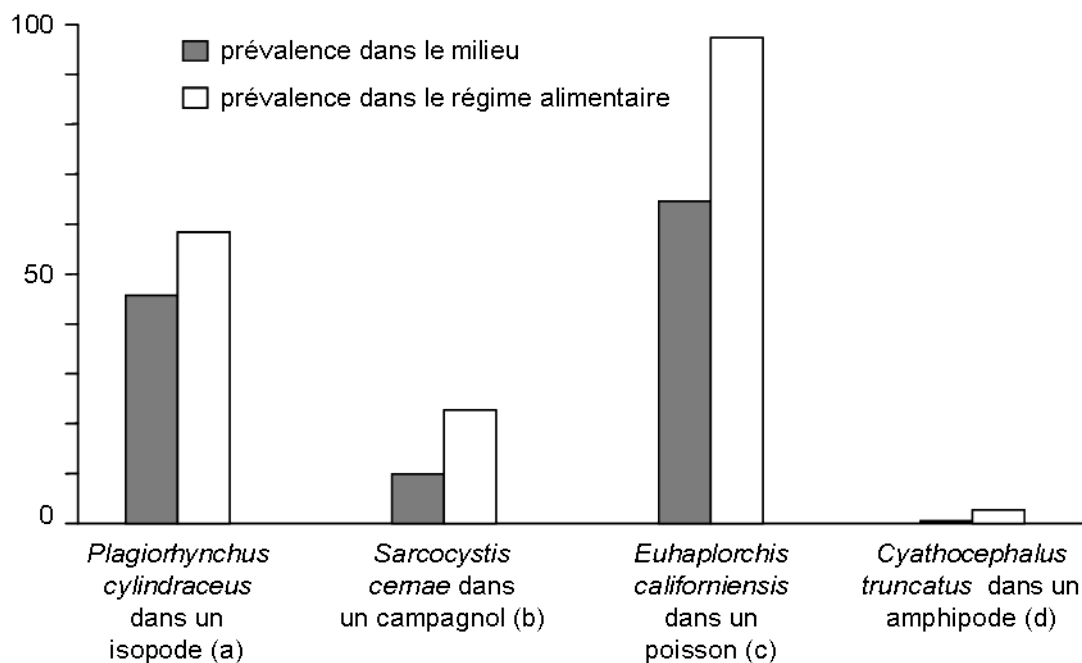


Figure 5. Prévalences en proies parasitées observées dans le milieu et dans les contenus stomacaux de 4 hôtes définitifs, l'étourneau sansonnet (*Sturnus vulgaris*) pour *Plagiorhynchus cylindraceus*, le faucon crécerelle (*Falco tinnunculus*) pour *Sarcocystis cernae*, des oiseaux piscivores pour *Euhaplorchis californiensis* et l'omble de l'arctique pour *Cyathocephalus truncatus* (modifié d'après Poulin 1998, données de Moore 1983, Hoogenboom & Dijkstra 1987, Lafferty & Morris 1996, Knudsen *et al.* 2001).

d) Coûts associés à la manipulation et stratégies de limitation de ces coûts

Les études portant sur l'augmentation de transmission trophique ont, à de rares exceptions près, considéré uniquement l'hôte définitif comme prédateur dans le système, à l'instar des quelques modèles populationnels sur l'augmentation de transmission trophique (Dobson & Keymer 1985, Dobson 1988). Les modèles de Poulin (1994) et Brown (1999) adoptaient un point de vue centré sur le parasite pour étudier l'évolution de la manipulation et considéraient que la seule alternative à la transmission à l'hôte définitif était la mort du parasite dans l'hôte intermédiaire. C'est là une faiblesse majeure car dans un contexte écologique plus large, d'autres prédateurs ne pouvant servir d'hôtes définitifs pour le parasite peuvent également consommer les hôtes intermédiaires des parasites et ainsi influencer fortement la stratégie de manipulation (Mouritsen & Poulin 2003). Du point de vue de ces prédateurs, c'est là une manne providentielle car ces proies sont plus faciles à capturer que les autres et ne représentent en rien un coût.

Un cas particulier de résistance à ce type de coût est rencontré chez les vers gordiens, même si ceux-ci ne rentrent pas dans la catégorie des parasites à transmission trophique. Ces vers sont libres au stade adulte mais parasitent à l'état larvaire des grillons des bois *Nemobius sylvestris*, dans lesquels ils passent d'une larve microscopique à un vers occupant la presque totalité de la cavité générale de leur hôte (Schmidt-Rhaesa *et al.* 2000, Schmidt-Rhaesa 2001). La forme adulte du vers étant aquatique et le grillon des bois terrestre, le parasite exerce une manipulation du comportement du grillon le faisant rechercher un point d'eau et s'y jeter, ce qui entraîne la mort très probable (mais pas certaine) de l'hôte mais la survie du parasite (Thomas *et al.* 2002b, 2003). Une fois dans l'eau, le ver sort du grillon en un temps variant de quelques secondes à quelques minutes. A ce moment, le grillon flottant et s'agitant à la surface de l'eau est fortement exposé à un risque de prédation par des poissons ou des grenouilles dans lesquels le parasite ne pourra se reproduire. Si un tel événement de prédation se produit, le ver a la capacité étonnante de sortir du prédateur du grillon juste après s'être fait manger, en passant par la bouche, les branchies ou les narines (Ponton *et al.* 2006). Ces vers ont donc évolué vers une nouvelle solution face à une prédation non désirée, ils sortent activement de la cavité buccale de leur prédateur, et grâce à leur cuticule rigide et résistante ne subissant pas les attaques des sucs digestifs, retrouvent le milieu aquatique sans avoir subi de dommages profonds. Les prédateurs constituant des impasses évolutives pour le parasite représentent un coût considérable pour celui-ci, c'est ce que Mouritsen et Poulin (2003) ont

appelé le « cauchemar du manipulateur ». Quatre catégories de prédateurs peuvent être rencontrées par le parasite dans son milieu naturel : (i) l'hôte définitif le plus approprié peut se définir comme un hôte dans lequel le parasite peut se développer et se reproduire dans les meilleures conditions. C'est de cet hôte que le parasite retirera le plus grand bénéfice en s'implantant. (ii) d'autres hôtes potentiels, dans lesquels il pourra se fixer mais se développera beaucoup moins bien et tirera un moindre bénéfice. (iii) des prédateurs servant d'hôtes d'attente, dits hôtes paraténiques. (iv) des prédateurs non appropriés, ne constituant pas des hôtes définitifs propices à la fixation et au développement du parasite. Ces prédateurs représentent alors un coût considérable pour celui-ci.

La manipulation comportementale devrait donc apparemment être ciblée sur un hôte terminal approprié et non exposer l'hôte intermédiaire à un ensemble de prédateurs non appropriés dans lesquels le parasite ne pourra ni se fixer ni se développer correctement. Le terme de favorisation introduit par Combes (1991) désigne la stratégie adaptative dont le résultat est d'augmenter la probabilité qu'un stade infestant transmette ses gènes (le fait que le parasite favorise sa transmission vers son hôte définitif par le biais d'une altération comportementale). Les proies infectées sont là surreprésentées dans le régime alimentaire de l'hôte définitif par rapport à ce qu'elles sont dans le milieu de ce même hôte. Il y a donc ici une notion de spécificité sous-jacente de la manipulation. Souvent manquantes, les informations concernant l'écologie et l'éthologie des prédateurs inappropriés pour le parasite s'avèrent cependant nécessaires pour comprendre les interactions entre le parasite et ses différents prédateurs potentiels (Poulin 1995). Les épinoches parasitées par le cestode *Schistocephalus solidus* risquent de se faire autant prédater par des oiseaux piscivores hôtes définitifs que par des truites ne constituant pas des hôtes définitifs (Milinski 1985, Ness & Foster 1999). Peu d'articles ont en outre montré des évitements de prédateurs non hôtes par les proies infectées. L'étude de Webber *et al.* (1987), montrant que les moustiques infectés par *Plagiorchis noblei* (trématode) sont davantage susceptibles d'être prédatés par des campagnols des champs (*Microtus arvalis*), leur hôte définitif, que par des guppies (*Poecilia reticulata*), prédateurs non hôtes, pourrait en faire partie. Les guppies utilisés dans cette étude ne représentent cependant pas un prédateur présent dans l'environnement de la larve de moustique ou du trématode, et le réalisme écologique de ces résultats s'en trouve fortement diminué. Dans certains cas une transmission accrue vers des prédateurs ne pouvant constituer un hôte définitif pour le parasite a même été trouvée (Urdal *et al.* 1995, Webster *et al.* 2000),

anéantissant alors le bénéfice de l'altération pour le parasite et pouvant faire penser à des effets pathologiques de l'infection. Les trématodes *Microphallus sp.* mènent leurs escargots véhicules à rester sur la face supérieure des rochers dans les premières heures de la journée, quand ils sont exposés à une prédation intensive par les oiseaux d'eau, et se cachent le reste de la journée quand la prédation par des poissons, prédateurs non hôtes pour le parasite, est augmentée (Levri & Lively 1996, Levri 1998). Ces observations font fortement penser à un ajustement de la manipulation en fonction de la période de nourrissage de l'hôte définitif et donc à une certaine forme de spécificité de cette manipulation. Elles ne prouvent cependant en rien que la manipulation peut imposer un coût aux parasites. Dans leur étude pionnière portant sur les coûts et bénéfices relatifs de la manipulation parasitaire en milieu naturel, Mouritsen et Poulin (2003) suggèrent que la prédation par des prédateurs non hôtes peut avoir des conséquences importantes sur les dynamiques des populations de parasite.

e) Effet des parasites sur les écosystèmes

Les communautés d'organismes ont des propriétés qui sont la somme des propriétés des individus plus de leurs interactions (Begon *et al.* 2006), et ces dernières sont précisément ce qui rendent les communautés plus complexes que la somme de leurs parties. Au sein des communautés, les réseaux trophiques rendent compte des flux d'énergie qui s'établissent au niveau des différentes chaînes alimentaires. La description précise de ces réseaux n'est pas de réalisation aisée et l'intégration exhaustive de tous les paramètres n'a été approchée que dans peu d'études (Raffaelli & Hall 1992, Schmid-Araya *et al.* 2002, Thompson & Townsend 2003). Malgré le nombre grandissant de détails incorporés dans ce type d'étude, le groupe fonctionnel des parasites est longtemps resté négligé (Marcogliese & Cone 1997, mais voir Huxham *et al.* 1995), à l'exception près du domaine, à part, des parasitoïdes. Cependant, le rôle des parasites dans la structuration des communautés et la stabilité des écosystèmes fait l'objet d'une attention croissante depuis quelques années (Mouritsen & Poulin 2005, Thomas *et al.* 2005a, Hatcher *et al.* 2006, Hudson *et al.* 2006, Lafferty *et al.* 2006). L'augmentation de la susceptibilité des proies infectées par des parasites à cycle complexe peut en particulier profondément modifier les relations trophiques. Ceci a pour conséquence de mettre des proies en contact avec des prédateurs auxquels elles ne sont pas exposées lorsqu'elles ne sont pas infectées. De tels effets peuvent avoir des conséquences importantes sur les transferts d'énergie dans les écosystèmes. D'une part, l'hôte définitif peut n'avoir que peu à gagner à

chercher activement à éviter les proies infectées : elles sont plus faciles à capturer et l'adulte du parasite ne cause que peu de tort à son hôte définitif (Lafferty 1992). D'autre part, tous les autres prédateurs –sous entendu non-hôtes- présents dans l'environnement de la proie parasitée ne courent pas le risque d'être parasités mais bénéficient de proies plus faciles à capturer. Les proies infectées pourraient représenter une ressource en énergie moindre par rapport aux proies non-infectées, cependant les quelques rares études s'étant penchées sur le sujet n'ont pas donné de résultats concluant (Franz & Kurtz 2002, Plaistow *et al.* 2001). De plus, Fenton et Rands (2006) montrent que les parasites à transmission trophique n'affectent pas forcément la persistance des prédateurs, mais que la manipulation peut induire de fortes oscillations dans les densités de proies et de prédateurs et ainsi altérer le succès de prédation des prédateurs. L'intégration de tous les prédateurs potentiels des proies infectées par des parasites à cycle complexe ne renseignera donc pas uniquement sur le caractère adaptatif de la manipulation mais aussi sur l'impact que ceux-ci ont sur les communautés.

4) La spécificité de la manipulation, une réduction des coûts pour les parasites

a) Interactions proie - prédateur et communication animale

Au cours de l'évolution, de nombreuses espèces ont mis en place des adaptations morphologiques, physiologiques et comportementales leur permettant d'éviter de se faire prédater (Edmunds 1974, Bertram 1978, Elgar 1989, Kavaliers & Choleris 2001). Ces adaptations réduisent soit la probabilité d'une attaque (comme par exemple le mimétisme, le cryptisme ou les colorations aposématiques), ou diminuent ses chances de succès (comme par exemple les défenses chimiques ou les armes morphologiques) (Magurran 1999, Morin 2003). L'environnement sélectif dans lequel les parasites évoluent en réponse à la prédation comporte des particularités notables : alors que potentiellement tous les organismes libres ont des prédateurs (à l'exception des top prédateurs adultes), très peu d'espèces de parasites sont directement concernées par la prédation, du moins lorsqu'ils sont à l'intérieur de leurs hôtes (Combes 2001). Ils subissent néanmoins les prédateurs de leurs hôtes (Thomas *et al.* 2002). L'évitement des prédateurs est une stratégie clé pour la survie des organismes et il est crucial pour ces organismes d'utiliser tous leurs sens pour éviter de se faire prédater (Åbjörnsson *et*

al. 1997). La stratégie la plus bénéfique pour les proies est d'éviter autant que faire se peut la rencontre avec leurs prédateurs. Pour cela, il leur faut éviter de partager la même niche écologique avec leurs prédateurs, que ce soit dans l'espace ou dans le temps. Lorsque ceci n'est pas possible, la stratégie alternative qui s'offre à elles est de détecter les éventuels prédateurs par les différents signaux qu'ils émettent afin d'y répondre et d'éviter de se faire prédater. Les réponses anti-prédatrices peuvent être provoquées par différents stimuli : visuels, auditifs, hydrodynamiques et chimiques (Åbjörnsson *et al.* 1997). La capacité d'identification des prédateurs à travers leurs signaux permet à la proie d'ajuster son comportement et d'autres caractéristiques, telles que sa morphologie ou son histoire de vie, avant la rencontre du prédateur afin d'augmenter sa survie (Åbjörnsson *et al.* 2000). La présence de prédateurs peut conduire les proies à utiliser différents habitats, à modifier leur période d'approvisionnement, à changer leur niveau d'activité ou altérer leur comportement d'approvisionnement (Nyström & Åbjörnsson 2000). C'est principalement ces comportements qui vont être la cible des altérations phénotypiques induites par les parasites.

- Réaction à des signaux non spécifiques

Afin de s'assurer que sa route ne croise pas celle d'un prédateur donné, la proie doit se fier à des signaux fiables et ubiquistes dans son environnement. Il en existe deux qui sont couramment exploités par les proies pour prévenir la rencontre inopportune, ce sont la lumière -pour les organismes épigés- et la gravité. En évitant la lumière, la proie s'assure de ne pas être à découvert et donc de ne pas se faire repérer par un prédateur. Cette lumière, et son intensité, rythment la vie de nombreux organismes qui calent leurs périodes de nourrissage, de déplacement sur les rythmes jour/nuit. La gravité est quant à elle un gage de se trouver hors de portée de nombreux prédateurs, que ce soit les brouteurs qui prélèvent le haut des herbes dans le cas des fourmis et des moutons par exemple, mais aussi en milieux aquatique de tous les prédateurs chassant dans le courant ou à la surface de l'eau telles les truites (Baglinière et Maisse 1991).

- Réaction à des signaux spécifiques

Si des coûts sont associés à la manipulation, alors les parasites doivent mettre en place des adaptations leur permettant de réduire ces coûts. Ils doivent notamment cibler plus précisément leur hôte définitif en augmentant leur vulnérabilité à ce dernier et/ou en évitant de se faire manger par des prédateurs ne constituant pas des hôtes potentiels (Cézilly & Perrot-Minnot 2005). Pour ce faire, exploiter des réactions spécifiques d'un prédateur chez

l'hôte intermédiaire semble être une stratégie des plus efficace de la part du parasite. La perception physique du prédateur peut se faire de différentes façons (chimique, visuelle, thermique, vibratoire ou encore acoustique) mais les milieux dans lesquels évoluent les organismes ont chacun leurs avantages et leurs inconvénients quant à la perception la plus précise du signal. Une proie aquatique ne pourra par exemple pas compter repérer son prédateur à sa chaleur car l'eau est opaque aux infrarouges (rayonnements thermiques).

b) Communication chimique chez les crustacés, comportement anti-prédateur

Dans les environnements aquatiques, la visibilité réduite du fait de la turbidité et de la structure complexe de l'environnement (Chivers *et al.* 1996) et la bonne diffusion des signaux chimiques dans l'eau font que la détection des prédateurs par voie chimique est un phénomène largement répandu et utilisé chez les proies (Wisenden *et al.* 1997). Ces indices chimiques sont relâchés lors de la détection, l'attaque, la capture (odeur du prédateur) et l'ingestion des proies (phéromones relâchées par les proies blessées). L'odeur des prédateurs (kairomones) est ainsi connue pour susciter des réponses anti-prédatrices chez beaucoup d'organismes aquatiques tels que les arthropodes, les amphibiens, les poissons et les protozoaires (Kats & Dill 1998). Les crustacés sont en particulier bien connus pour répondre rapidement et spécifiquement à une large gamme de signaux chimiques comme physiques (Boersma *et al.* 1998, Burks *et al.* 2000, Meerhoff *et al.* 2006). Il a été démontré chez *Gammarus lacustris*, amphipode d'eau douce, une diminution de l'activité, du taux de dérive (Wudkevich *et al.* 1997) et chez *Gammarus pulex* un évitement actif des micro-habitats en présence de prédateurs ainsi qu'une augmentation du taux de dispersion (Dahl 1998, Dahl *et al.* 1998). Il a également été constaté que le choix du micro-habitat par *Gammarus roeseli* différait en présence d'odeurs d'organismes prédateurs ou non (Baumgärtner *et al.* 2003), supposant un certain niveau de discernement de la part des proies, et donc de spécificité de leur réponse en fonction du signal perçu. Les invertébrés aquatiques augmentent en général leur niveau de dérive en réponse à des prédateurs invertébrés et diminuent leur activité en réponse à des prédateurs vertébrés (Sih & Wooster 1994). En réponse aux stimuli de brochets par exemple, *G. lacustris* tente de quitter la colonne d'eau et de rester proche du sol et de la végétation alors qu'en réponse aux stimuli de larves de libellules (prédateur benthique se cachant dans la végétation) cette tendance n'est pas observée (Wudkevich *et al.* 1997). En

réponse à la larve de plécoptère *Phasganophora capitata*, prédateur se mouvant lentement, *Gammarus pseudolimnaeus* augmente son niveau de dérive alors qu'en présence d'écrevisses, il diminue son activité (Williams & Moore 1985).

c) Exploitation du signal par le parasite

Pour cibler leurs hôtes, les parasites peuvent se fier à deux types de stimuli, des stimuli abiotiques comme la lumière ou la gravité, et des stimuli biotiques comme les vibrations, la chaleur ou l'odeur émises par leur hôte. Les premiers ont l'avantage d'être omniprésents dans l'environnement du parasite. Les seconds sont moins courants dans son environnement, mais plus fiables car ils peuvent indiquer avec beaucoup plus de précision la présence ou l'absence de prédateur. Un investissement sur les premiers sera donc une valeur sûre pour le parasite, mais avec le risque associé non négligeable que constituent les prédateurs non hôtes pouvant se trouver dans l'environnement. Investir sur le second semble bien plus rentable car permet au parasite de cibler très finement son hôte, et indirectement de payer un bien moins lourd tribut à la manipulation du fait d'une diminution importante des risques associés à cette manipulation. Une telle spécificité de la manipulation n'a été pour l'instant que très peu étudiée et la finesse de l'ajustement des altérations comportementales reste à élucider. Cette dichotomie entre les deux signaux exploitables n'est bien entendu que factuelle et les deux ne sont pas mutuellement exclusifs, il semblerait même qu'ils puissent se combiner.

d) Vers une approche expérimentale optimisée ?

Une bonne appréhension du phénomène de manipulation de l'hôte par un parasite à cycle complexe ne peut donc faire l'économie d'investigation *in natura*. Malgré les écueils que de telles études représentent du fait des nombreux paramètres difficiles à maîtriser, les données récoltées en conditions naturelles sont encore trop rares. Eu égard au nombre important d'études aujourd'hui réalisées en laboratoire, les efforts doivent se porter sur le renforcement des expérimentations *in natura*, la maîtrise des paramètres environnementaux pouvant être approchée par une réplication et des tailles d'échantillons importants. Une bonne connaissance des cycles de reproduction des parasites étudiés est indispensable pour prouver l'augmentation de transmission trophique, car permet d'utiliser le prédateur adéquat et non un

organisme aberrant vis-à-vis du parasite considéré. La connaissance du milieu dans lequel vit le parasite permet aussi d'appréhender l'ensemble des prédateurs auxquels il est potentiellement exposé et de les intégrer dans l'équation permettant de conclure au caractère adaptatif des altérations phénotypique qu'il induit chez son hôte intermédiaire. Les études en laboratoires, plus que démontrer la prédation accrue des proies parasitées par l'hôte définitif du parasite, doivent apporter des précisions quant aux signaux exploités par le parasite pour achever son cycle et avec quel niveau de discernement, de spécificité, ces signaux sont exploités. Il semble évident que tous les systèmes hôtes/parasite à cycle complexe ne se prêtent pas aussi facilement à l'ensemble de ces expériences. Cependant, dans la diversité des systèmes aujourd'hui connus, certains semblent présenter des caractéristiques les disposant à tout ou partie des champs proposés ci-dessus.

Chapitre 2 :

Mise à profit d'un système aux nombreux atouts pour l'étude de la spécificité

1) Introduction sur les acanthocéphales, présentation générale

L'embranchement des acanthocéphales est un petit groupe de vers helminthes triploblastiques acoelomates (ou pseudo-coelomates) comprenant environ 1150 espèces (De Meeûs & Renaud 2002). Exclusivement constitué de formes parasites internes, cet embranchement tire son nom du grec *Acantho* (=épine) et *cephala* (=tête) (Bush *et al.* 2001). C'est en 1684 que le médecin italien Francesco Redi en fit la première description en observant un individu d'*Acanthocephalus anguillae* dans un intestin d'anguille européenne *Anguilla anguilla*. Des acanthocéphales ont depuis été trouvés dans des intestins de poissons, reptiles, oiseaux, et mammifères, et ce sur l'ensemble du globe. De couleur blanchâtre, crème ou orangée, ils ne dépassent que rarement 3 cm de long mais atteignent parfois des densités de plusieurs dizaines d'individus par centimètre linéaire d'intestin.

- Position systématique

Après avoir été rapprochés successivement des nématodes, des cestodes et des priapulins, on s'accorde aujourd'hui à les placer dans un embranchement indépendant, comprenant trois classes, quatre ordres, dix-huit familles et environ 125 genres (Near *et al.* 1998). Outre les études phylogénétiques moléculaires en cours, leur systématique a longtemps été basée sur la disposition du réseau vasculaire, la structure des noyaux tégumentaires, le type d'insertion des crochets sur le rostre (Fig. 2 et 3), et la structure de la poche musculaire dans laquelle celui-ci se rétracte. La classe des paleacanthocéphales, à laquelle appartiennent les acanthocéphales des poissons et oiseaux aquatiques de la présente thèse, est la classe la plus diversifiée en terme d'hôtes définitifs, parasitant les cinq grands groupes de vertébrés actuels, et la plus abondante en espèces (Golvan 1969). La majorité des espèces de cette classe infestent des hôtes inféodés à des habitats aquatiques, dont les poissons bien sûr mais aussi les oiseaux d'eau, et utilisent comme hôtes intermédiaires des arthropodes aquatiques tels que les crustacés d'eau douce des genres *Gammarus* ou *Asellus*.

- Description morphologique et physiologique des acanthocéphales

Sur un plan morphologique, les acanthocéphales au stade adulte sont des vers plus ou moins aplatis, d'une longueur allant généralement de 1 à 30 mm, mais pouvant atteindre 60 cm chez certaines espèces. Leur corps peut être divisé en trois parties : une partie antérieure rétractile, appelée rostre ou proboscis, armée de crochets et servant d'organe de fixation, suivie immédiatement d'un cou lisse reliant ce proboscis à la partie postérieure, le tronc, constituant la majorité du corps. Le corps des acanthocéphales est généralement sans coelome, c'est-à-

dire sans cavité générale, et on ne trouve pas de bouche, d'intestin ni de système circulatoire conventionnel chez ces parasites. Les sexes sont séparés et généralement dimorphiques (Baer 1961).

- Développement et cycle de vie des acanthocéphales

A l'instar de nombreuses espèces de parasites, le cycle de vie des acanthocéphales est dit complexe ou hétéroxène car il fait intervenir deux espèces hôtes, c'est-à-dire que pour se reproduire ils doivent obligatoirement passer par un hôte intermédiaire, puis parfois par un hôte d'attente dit paraténique, avant d'atteindre leur hôte définitif. L'hôte intermédiaire est généralement un insecte, un crustacé ou un myriapode et l'hôte définitif un vertébré. Suite à la copulation entre un individu mâle et un individu femelle dans l'intestin de l'hôte définitif, l'œuf fécondé se développe dans la femelle pour donner un embryon appelé acanthor, entouré de trois ou quatre membranes protectrices. Ces œufs embryonnés quittent la femelle par le gonopore et gagnent le milieu extérieur avec les fèces de l'hôte définitif (Bush *et al.* 2001). L'acanthor contenu dans l'œuf est le stade infestant pour l'hôte dit intermédiaire et ne se développera pas davantage tant qu'il ne sera pas ingéré par un hôte approprié (dans des conditions normales et selon les espèces, un acanthor à l'intérieur d'un œuf peut rester viable pendant plusieurs mois). Quand un arthropode constituant un hôte intermédiaire approprié ingère un œuf, l'acanthor traverse la paroi intestinale et atteint l'haemocoel de l'hôte. Il commence alors à absorber des nutriments de son hôte, grandit et développe des ébauches de tous les organes présents chez l'adulte, dont le rostre qui est complètement rétracté dans le tronc. Ce stade de croissance est appelé acanthella. Lorsque le développement de l'acanthella est achevé, le ver alors appelé cystacanth, constitue le stade infestant pour l'hôte définitif. Le cycle de vie des acanthocéphales s'achève lorsque l'arthropode infecté par un cystacanth est consommé par un hôte définitif approprié. La larve se dégage alors de son enveloppe, le rostre s'évagine et s'enfonce dans la paroi de l'intestin, fixant ainsi le ver qui deviendra adulte et sexuellement mature. On trouve donc à un moment donné trois stades de la même espèce, des acanthors libres dans le milieu, des acanthella et des cystacanthes dans les hôtes intermédiaires et des adultes dans les hôtes définitifs (figure 6).

<i>Milieu externe</i>	<i>Hôte intermédiaire</i>	<i>Hôte définitif</i>
Oeuf + Acanthor	⇒ Acanthor ⇒ Acanthella ⇒ Cystacanth	⇒ Ver adulte

Figure 6: Les trois stades de l'ontogenèse des acanthocéphales dans le cycle biologique D'après J. C. Baer (1961)

C'est sur le stade cystacanthe et essentiellement sur les effets que celui-ci a sur l'hôte intermédiaire que porte la présente thèse.

2) Les acanthocéphales modèles de cette étude

Trois acanthocéphales serviront de modèle à notre étude : *Pomphorhynchus laevis* et *Pomphorhynchus tereticollis* qui sont deux espèces parasites de poissons et *Polymorphus minutus*, espèce parasite d'oiseaux aquatiques (figure 7). Ces trois espèces sont largement répandues sur l'Europe de l'ouest, mais leur aire de répartition précise n'est pas encore correctement établie. Un problème est notamment rencontré au niveau des deux espèces d'acanthocéphales de poissons, qui étaient regroupées sous la même espèce (*P. laevis*) et n'ont donc jamais été distinguées lors des divers échantillonnages. Ces parasites se distinguent aisément au stade cystacanthe à travers la cuticule du gammare, sous l'aspect d'une boule allant du jaune plus ou moins orangé pour *P. laevis* et *P. tereticollis*, à l'orangé vif pour *P. minutus*. Cette boule colorée peut représenter jusqu'à environ un dixième du volume du gammare (Fig. X). Cette coloration est liée à la présence de caroténoïdes dans le tégument des cystacanthés, accumulés par prélèvement sélectif des caroténoïdes circulant dans l'hôte (Barrett & Butterworth 1968; Gaillard *et al.* 2004; Perrot-Minnot *et al.* non publié).

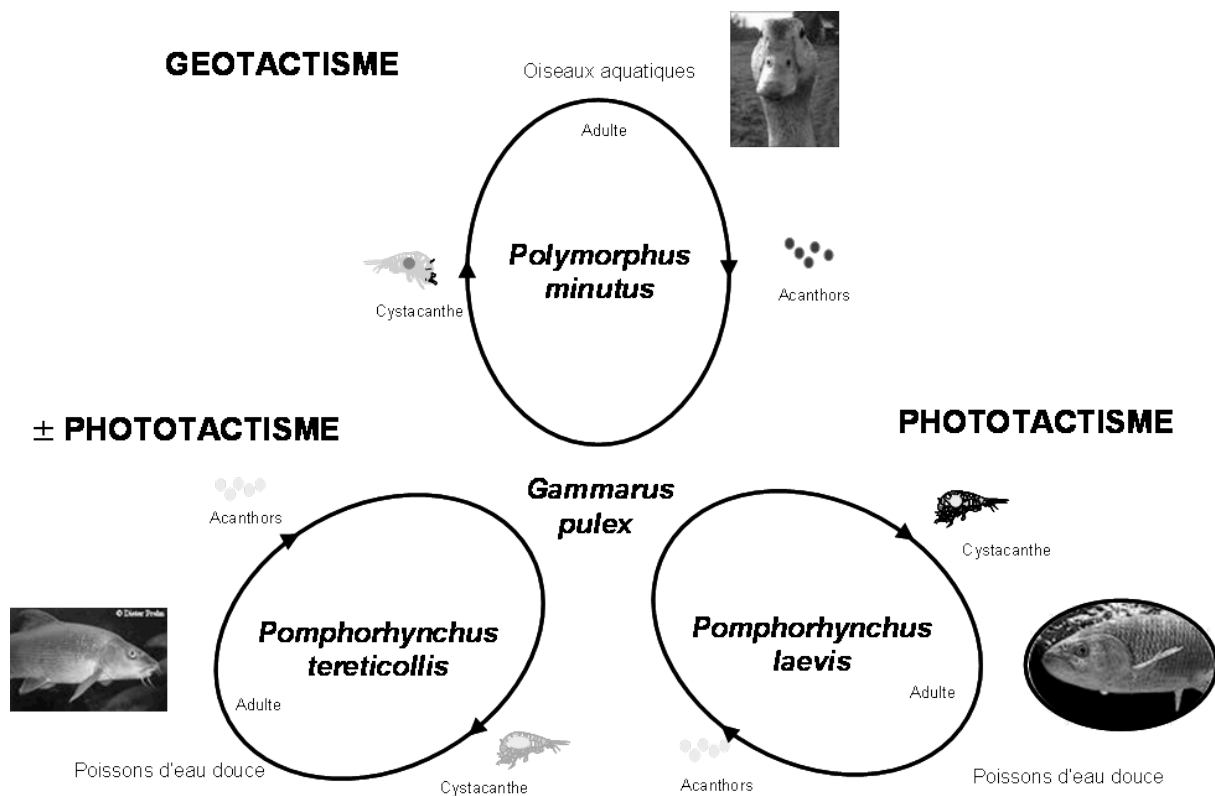


Figure 7 : schéma des cycles de reproduction des trois espèces d'acanthocéphales étudiées, *P. laevis*, *P. tereticollis* et *P. minutus*.

3) Leurs hôtes : les hôtes intermédiaires/les hôtes définitifs

- Les hôtes intermédiaires

Les gammarus sont des crustacés amphipodes très largement répandus sur l'ensemble de l'hémisphère nord, comprenant dans la région de l'ouest paléarctique plus d'une centaine d'espèces d'eau douce (Karaman & Pinkster 1977). La faune actuelle des Amphipodes continentaux européens s'est formée il y a environ 10000 à 15000 ans, profondément influencée par la dernière glaciation. Le sous Ordre des *Gammariens* compte 4500 espèces, ce qui représente 85% de l'ordre des amphipodes (Bousfield 1958). Les espèces du genre *Gammarus* sont de petite taille (9 à 25 millimètres) aplaties latéralement et incurvées. Leur habitat peut aller du milieu marin aux eaux douces (MacNeil *et al.* 1997). A l'instar de la plupart des Amphipodes d'eau douce, les gammarus représentent une proie d'importance pour de nombreux prédateurs vertébrés et invertébrés aquatiques (Andersen *et al.* 1993, MacNeil *et al.* 1999). Ils jouent en particulier un rôle important dans le régime alimentaire des poissons car ils sont présent dans les cours d'eau tout au long de l'année, ce qui n'est pas le cas de la plupart des autres invertébrés, insectes notamment, qui n'y sont souvent qu'à l'état larvaire à la saison printanière (MacNeil *et al.* 1999). Il a été observé que les individus dérivent plus au crépuscule et la nuit que la journée et que ce phénomène est clairement synchronisé (McCahon *et al.* 1991) ; ce comportement est généralement relié à un évitement de la prédation par les poissons (Williams & Moore 1985, Andersson *et al.* 1986, Holomuzki & Hoyle 1990, Friberg *et al.* 1994).

Deux espèces sont communément rencontrées dans les cours d'eau de Bourgogne. La première, *Gammarus pulex* -dite crevette d'eau douce (Perrier 1929, Bollache *et al.* 2000)- est l'espèce indigène en Bourgogne. Ce gammare est présent depuis la dernière glaciation sur l'ensemble de la façade ouest de l'Europe plus sporadiquement en Turquie et en Grèce (Figure 8) (Karaman & Pinkster 1977). D'une taille adulte allant de 9 à 20mm environ et d'une couleur marron, cette espèce montre une nette préférence pour les rivières rapides aux eaux froides, bien qu'il puisse supporter des niveaux d'oxygène assez bas. *G. pulex* peut représenter dans certaines rivières le macroinvertébré dominant en termes de biomasse (MacNeil *et al.* 1997). Cet invertébré est de plus à la base de nombreuses chaînes alimentaires aquatiques et terrestres en tant que proie, mais il assure également un rôle nettoyeur puisqu'il est détritivore (Welton 1979).

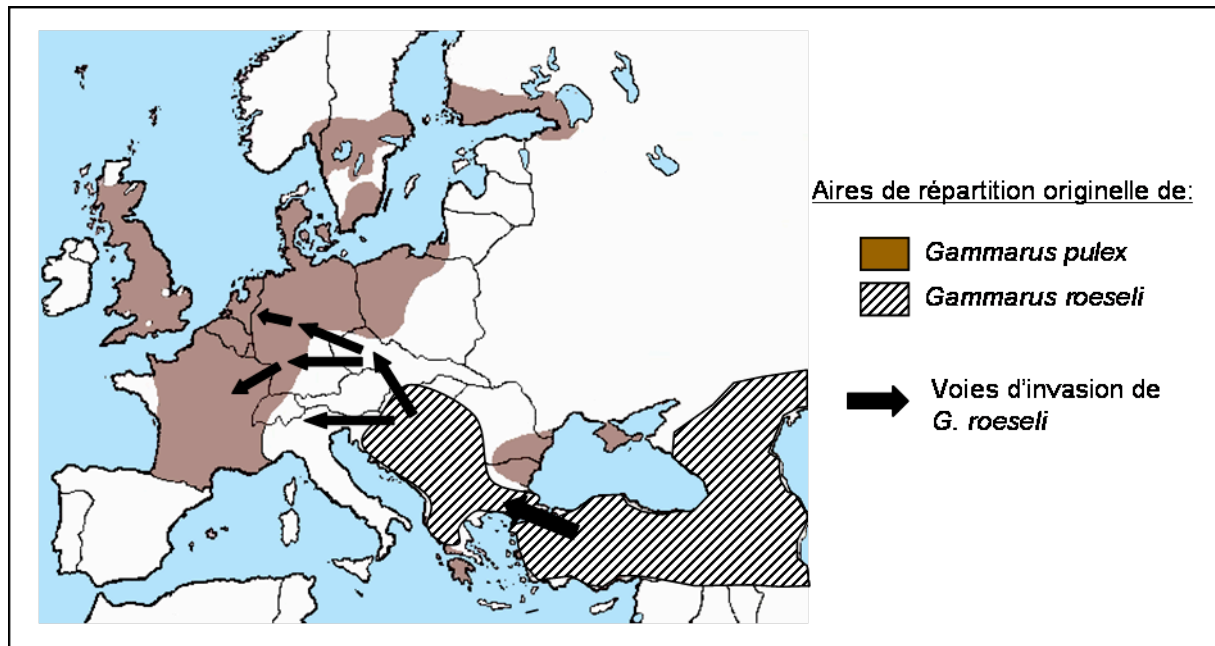


Figure 8. Aires de répartitions originelles de *Gammarus pulex*, espèce native en France, et de *Gammarus roeseli*, espèce invasive. Les flèches indiquent les voies d'invasions suivies par *G. roeseli* pour coloniser les rivières de la façade ouest de l'Europe. Modifié d'après Barnard & Barnard 1983.

La seconde est l'espèce invasive *Gammarus roeseli* Gervais 1835 (Karaman & Pinkster 1977). La création de canaux entre les principaux systèmes fluviaux européens a permis à cette espèce de progresser dès 1850 à travers l'Europe de l'Ouest, et son aire de répartition s'étend aujourd'hui de l'Asie Mineure à l'Allemagne en passant par le Benelux et la moitié Est de la France (Chevreux & Fage 1925, Roux 1969, Jazdzewski 1980) (Figure 8). De morphologie et de taille relativement proches de *G. pulex*, *G. roeseli* s'en démarque par la présence d'une carène dorsale épineuse (Bollache *et al.* 2006). Cette espèce est fréquemment trouvée en sympatrie avec *G. pulex* dans des rivières rapides, où elle n'exploite pas alors obligatoirement les mêmes micro-habitats (Roux & Roux 1980, Jazdzewski & Roux 1988, Janetzky 1994, Wijnhoven *et al.* 2003).

- Les hôtes définitifs de *P. laevis* et *P. tereticollis*

Les poissons sont parasités par 65% des genres d'acanthocéphales mais l'impact de ces derniers sur les traits d'histoire de vie de leurs hôtes n'est pas encore réellement connu. En Bourgogne, les acanthocéphales de poissons exploitent au cours de leur cycle un large spectre d'hôtes définitifs comprenant le chabot (*Cottus gobio*), la perche *Perca fluviatilis*, le chevesne

(*Leusiscus cephalus*), le barbeau (*Barbus barbus*), la loche *Barbatula barbatula*), le vairon (*Phoxinus phoxinus*), le rotengle (*Scardinius erythrophthalmus*) ou la truite (*Salmo trutta*) (Kennedy *et al.* 1978, Molloy *et al.* 1995, Guyonnet 2005, Perrot-Minnot & Bollache données personnelles). Des répartitions contrastées sont rencontrées selon les espèces de poisson dans lesquelles les cystacanthes de ces vers s'installent. Certaines ne présentent que très rarement des stades adultes de *P. laevis* ou *P. tereticollis* dans leur intestin, tels le vairon (*Phoxinus phoxinus*), le goujon (*Gobio gobio*) ou la vandoise (*Leuciscus leuciscus*), alors que d'autres comme le chevesne et le barbeau présentent des infestations allant jusqu'à plusieurs dizaines d'individus par centimètre linéaire d'intestin (Guyonnet 2005). Certains poissons comme le vairon ou le poisson-chat (*Ameiurus nebulosus*) présentent également des cystacanthes de *P. laevis* dans leur cavité générale, stade larvaire normalement rencontré chez l'hôte intermédiaire. Ces poissons pourraient servir d'hôtes paraténiques facultatifs, c'est-à-dire d'hôte d'attente pour le parasite, avant de se faire consommer par un poisson plus approprié pour son développement (Guyonnet 2005).

Parmi ces hôtes, deux se prêtaient bien à des études expérimentales, que ce soit *in natura* ou en laboratoire, pour des raisons d'approvisionnement aisé mais aussi et surtout par le faible stress qu'ils manifestent en environnement confiné.

- Le chabot : *Cottus gobio* est un petit poisson benthique qui peut mesurer jusqu'à 15 cm (Gaudin 1981). Il vit caché sous des pierres et préfère les substrats avec du gravier. Chasseur à l'affût, sa grosse bouche lui permet de capturer facilement ses proies en se jetant sur elles et en les aspirant. Il s'agit d'un prédateur naturel de *Gammarus pulex* (Smily 1956), qui peut représenter jusqu'à 100% de son régime alimentaire. Bien que plus actif la nuit, il se nourrit le jour et la nuit (Li & Moyle 1976). Les deux sexes ne présentent pas de différence dans leurs choix alimentaires (Welton 1991). Dans notre région, c'est l'un des hôtes définitifs les plus communs de *Pomphorhynchus laevis* (Moravec 1991, Kennedy 1996) et de *P. tereticollis* (Perrot-Minnot *et al.* 2007).

- La truite de rivière : les salmonidés sont une famille privilégiée car bénéficie d'une large documentation du fait de son intérêt pour la pêche. Parmi les membres de cette famille, la truite de rivière (*Salmo trutta fario*) est largement répandue dans toute l'Europe, jusqu'à l'Oural et en Asie Mineure (Terofal 1979). Elle fréquente les cours d'eau vives où elle chasse différents invertébrés et poissons dans le courant (Elliott 1994). Présente ainsi potentiellement dans les mêmes biotopes que les gammaridés, elle en constitue un des principaux prédateurs,

ceux-ci représentant environ 10% de son alimentation (Billard 1997). Elle est en outre d'un accès facile toute l'année en pisciculture et supporte plutôt bien le confinement. Hôte définitif de *P. laevis*, elle n'est malheureusement plus présente dans certains cours d'eau que grâce au ré-empoissonnement à but sportif.

- Les hôtes définitifs de *P. minutus*

Les hôtes définitifs des acanthocéphales d'oiseaux fréquentent souvent les milieux aquatiques et sont donc principalement des canards comme le canard colvert (*A. platyrhynchos*). Ces hôtes se nourrissent de gammares en broutant les herbes essentiellement sur les berges mais aussi au fond des rivières peu profondes. Cependant, vues les difficultés évidentes inhérentes à ces vertébrés, en terme de manipulation comme en terme d'approvisionnement et de maintien rendent les études les impliquant très limitées. Il est également à noter que ce sont de gros consommateurs de gammares et que des expériences de prédation nécessitent des quantités de proies à leur offrir excessivement élevées.

- Les prédateurs non-hôtes

Parmi les différents prédateurs rencontrés par les gammares dans les cours d'eau des environs de Dijon, deux ont été retenus pour leur abondance, leur facilité d'accès et de maintien en laboratoire et la pression de prédation qu'ils exercent sur ces proies.

- L'écrevisse *Orconectes limosus* est un Crustacé décapode originaire de la côte Est des Etats-Unis. Cette écrevisse d'eau douce aurait été introduite en Europe vers les années 1880 et plus précisément en France dans les années 30. Bien qu'étant capable d'atteindre des longueurs de 120 à 140mm, la taille habituelle se situe aux alentours de 70 à 80mm. Elle est reconnaissable à ses ornements brunâtres sur la face dorsale de l'abdomen. Elle supporte aisément des températures de 1 à 30°C et est peu exigeante quant à la qualité de l'eau, tolérant sans problèmes les pollutions organiques et faibles taux d'oxygène, ce qui lui a permis de coloniser des milieux délaissés depuis longtemps par les espèces autochtones. Active le jour comme la nuit, elle se nourrit de toutes sortes de débris organiques et végétaux. Elle consomme également volontiers vers et autres invertébrés, ainsi que des petits poissons vivants ou morts. Ce prédateur détecte ses proies par les vibrations et les odeurs que celles-ci dissipent, les capture à l'aide de ses pinces hypertrophiées pour enfin les déchiqueter avant de les ingérer. Prédateur benthique fréquemment présent dans les mêmes niches que les gammares, l'écrevisse peut en consommer plus d'une dizaine par heure.

- La nêpe cendrée *Nepa cinerea* est un hétéroptère appartenant à la famille des nepidae représentée en France uniquement par elle et le ranatre *ranatra linearis*. Cet insecte aquatique affectionne les eaux stagnantes ou les zones à faibles courant des rivières comme les rives où la végétation superficielle lui permet de faire affleurer son siphon respiratoire pour emmagasiner de l'oxygène sous ses élytres. Le corps très aplati peu atteindre 25 mm chez l'adulte, dont la coloration est plutôt brun foncé que cendrée comme semble l'indiquer son nom. Les membres antérieurs de ce prédateur sont à la fois préhensiles et ravisseurs, lui permettant de capturer aisément d'autres invertébrés aquatiques comme les gammares mais aussi à l'occasion de petits têtards et alevins. Comme toutes les punaises, la nêpe est dotée d'un rostre piqueur-suceur acéré qui transperce sa proie et en aspire le contenu, la contraignant à ne se nourrir que d'aliments liquides.

4) Un système multi parasites / multi hôtes intermédiaires / multi prédateurs

Cette thèse se propose d'apporter des éléments de réponse et de précision quant au caractère adaptatif des altérations comportementales et morphologique induites chez les gammares par les parasites acanthocéphales aussi bien par des expériences et des prélèvements *in natura* qu'en laboratoire. La particularité de la situation en Bourgogne où les deux espèces d'amphipodes *G. pulex* et *G. roeseli* vivent en sympatrie mais présentent des réponses différentes aux parasites acanthocéphales permet une approche comparative originale de la manipulation parasitaire.

Parasite	Hôte intermédiaire	Hôte définitif	Comportement modifié	références
<i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Gammarus pulex</i>	Poissons benthiques ou benthopélagiques (ex. Chevesne)	Phototactisme inversé	Bakker <i>et al.</i> 1997, Cézilly <i>et al.</i> 2000, Tain <i>et al.</i> 2006
<i>Pomphorhynchus tereticollis</i>	<i>Gammarus pulex</i>	Poissons pélagiques (ex. Barbeau)	Phototactisme inversé	Tain <i>et al.</i> 2006
<i>Polymorphus minutus</i>	<i>Gammarus pulex</i>	Oiseaux aquatiques	Géotactisme inversé	Cézilly <i>et al.</i> 2000

Figure 9. Etat des lieux des connaissances sur les différentes interactions entre les protagonistes du système étudié, dans les populations étudiées.

En effet, si les différences dans les effets de *P. laevis* observées expérimentalement sur le comportement des deux espèces de gammarus hôtes (Bauer *et al.* 2000) se répercutent dans le milieu, on peut prédire une prédation préférentielle des individus de *G. pulex* infectés par rapport aux individus non infectés, mais aussi par rapport à *G. roeseli* sain et parasité. Si tel était le cas, les altérations phénotypiques induites par *P. laevis* sur *G. pulex* seraient adaptatives et pourraient être considérées comme une manipulation parasitaire. De plus, *G. pulex* représente un hôte commun à des parasites aux contraintes de transmission très différentes, du fait des comportements des prédateurs hôtes aux différences marquées. Enfin, l'exposition des hôtes intermédiaires des différents parasites à un large spectre de prédateurs dans les cours d'eau étudiés (oiseaux, poissons, invertébrés aquatiques, grenouilles, écrevisses, etc.) permet d'aborder la spécificité de la manipulation parasitaire par une approche coûts/bénéfices sous deux angles différents. Dans un premier temps, l'exposition de différents parasites à un même prédateur, constituant un hôte définitif pour certains parasites et non pour d'autres, renseignera sur la spécificité de la manipulation et de la finesse de son ajustement. Dans un second temps, l'exposition d'hôtes intermédiaires à différents prédateurs, hôtes définitifs ou non pour les parasites considérés, renseignera sur le coût éventuel associé à la manipulation de l'hôte. Enfin l'étude de la spécificité de la manipulation sera approfondie par une approche « signalétique » et mettra l'accent sur deux signaux pouvant intervenir dans le phénomène de la manipulation de l'hôte, la perception chimique des prédateurs et le repérage visuel des proies par ceux-ci.

Chapitre 3 :
Résumé des principaux résultats et publications

Résumé des principaux résultats

La problématique première à résoudre était celle de **l'augmentation de la transmission trophique en conditions naturelles**, qui, comme souligné précédemment, reste maigrement documentée. Il convenait donc de vérifier que les hôtes définitifs prélèvent une fraction plus importante de proies parasitées par rapport à leur disponibilité dans le milieu. Ceci a été mis en évidence dans deux rivières distinctes et sur deux espèces différentes d'acanthocéphales de poissons, par comparaison de la prévalence au niveau des hôtes intermédiaires libres et dans les contenus stomacaux de ces poissons (Lafferty et Morris 1996). Une première étude (article 1) effectuée sur l'Ouche confirme que le parasite de poissons *P. laevis* induit chez son hôte intermédiaire *G. pulex* des altérations phénotypiques ayant pour effet d'augmenter son taux de transmission vers le chabot *Cottus gobio*, un de ses hôtes définitifs. En effet les *G. pulex* infectés par *P. laevis* dérivent plus dans le courant que les individus non infectés et deviennent de ce fait plus vulnérables à la prédation. Qui plus est, ce différentiel de dérive est beaucoup plus marqué aux heures de chasse des poissons ciblés, c'est-à-dire à l'aube et au crépuscule. Ceci se traduit par une prévalence 28 fois supérieure dans les contenus stomacaux des chabots que dans le fond de la rivière. Des cystacanthes de *P. laevis* sont également rencontrés dans l'espèce invasive *G. roeseli*, mais ces larves n'induisent pas de modifications du taux de dérive de *G. roeseli*, et donc pas d'augmentation de leur taux de transmission. Une étude complémentaire (article 2), moins exhaustive quant à l'échantillonnage *in natura*, a été réalisée sur la Bèze, à Noiron sur Bèze. Des résultats similaires ont été trouvés sur les *G. pulex* infectés à 1% par *P. tereticollis* dans le benthos mais présent à plus de 10% dans les contenus stomacaux de chabots prélevés sur ce même site. Ces prélèvements ont par contre été complétés par des expériences effectuées en laboratoire qui ont mis en évidence que la présence du prédateur dans l'environnement de l'hôte intermédiaire modulait la manipulation exercée par le parasite. L'utilisation des refuges en mésocosme ne différait entre les gammares non infectés et infectés par *P. tereticollis* que lorsqu'un chabot était présent dans l'aquarium.

Ceci nous a conduit à nous pencher sur la question des réponses anti prédateurs bien connues chez les amphipodes. La mise au point et l'utilisation d'un olfactomètre, dispositif de choix en Y, a permis de montrer que *P. laevis* et *P. tereticollis* induisent une **inversion du**

comportement anti-prédateur de *G. pulex* basé sur la perception olfactive du chabot dans son environnement (articles 2 et 3).

La troisième problématique concernait le **caractère spécifique de la manipulation** exercée par les parasites acanthocéphales sur leurs hôtes intermédiaires. Pour cela deux approches en laboratoire ont été adoptées. La première (article 3) a consisté à exposer deux espèces de parasites différant par le type d'hôte final à un même prédateur : des *G. pulex* infectés soit par l'acanthocéphale ichtyen *P. laevis* soit par l'acanthocéphale aviaire *P. minutus* ont ainsi été proposés indépendamment face à des *G. pulex* non infectés au chabot. Les gammares infectés par *P. laevis* étaient plus vulnérable que les gammares non infectés, ce qui confirme les résultats obtenus *in natura*. En revanche, les gammares infectés par *P. minutus* n'étaient eux pas plus consommés que les gammares non infectés par le chabot. L'infection par *P. laevis* diminuait, comme pour *P. tereticollis*, l'utilisation des refuges en présence du prédateur alors que l'infection par *P. minutus* était sans effet sur ce comportement. Il s'est avéré que l'infection par *P. laevis* inversait la réaction à l'odeur de prédateur tandis que *P. minutus* ne modifiait pas l'aversion à cette odeur rencontrée chez les gammares non infectés. La seconde approche (article 4) a consisté à envisager la question de la spécificité dans l'autre sens, en exposant les gammares infectés à deux prédateurs ne pouvant constituer un hôte définitif pour aucun des deux. Trois espèces de parasites acanthocéphales (*P. laevis*, *P. tereticollis* et *P. minutus*) ont ainsi été exposés indépendamment à deux espèces de prédateurs : l'écrevisse américaine *Orconectes limosus* et la nêpe cendrée *Nepa cinerea*. La sélectivité des prédateurs différait selon l'espèce de prédateur et de parasite : les écrevisses sur-consommaient les proies infectées par *P. laevis* indépendamment de la complexité de l'habitat, mais pas les autres types de proies ; les nêpes cendrées, quant à elles, sur-consommaient tous les types de proie, à l'exception de celles infectées par *P. minutus* qui étaient sous-consommées lorsque les proies disposaient d'un refuge. Cependant, et malgré la faiblesse de l'échantillon, d'autres résultats obtenus *in natura* (article 1) indiquent que les modifications induites par *P. laevis* n'augmentent pas le risque de prédation par des grenouilles vertes adultes *Rana esculenta*, également hôtes inappropriés pour ce parasite.

Nos travaux ont enfin **démenti le rôle du changement d'apparence dans l'augmentation de transmission trophique**. Les cystacanthes des trois parasites étudiés présentent en effet la particularité d'être visibles au travers de la cuticule du gammare et

forment une masse ronde de couleur jaune pâle à orange vif. Cette tache colorée peut être considérée comme une altération phénotypique de l'hôte et a de ce fait été interprétée comme une adaptation permettant d'augmenter le taux de transmission du parasite. Or les précédents résultats sur la spécificité tendent à contredire ce type de favorisation car aucune prédation différentielle n'a été trouvée sur les *G. pulex* infectés par *P. minutus*, dont la tache est souvent bien plus visible que celles de *P. laevis* et *P. tereticollis*. Une dernière étude (article 5) s'est donc attachée à mimer ou masquer *P. laevis* et *P. minutus* sur des gammares afin de découpler les rôles respectifs de changement d'apparence et de comportement dans la vulnérabilité accrue des hôtes intermédiaires face à la truite *Salmo trutta fario*. Le réalisme des peintures appliquées a été de surcroît augmenté par une caractérisation des couleurs et une reproduction de celles-ci assistées par spectrophotométrie. Cette étude a permis mettre en évidence encore une fois la spécificité de la manipulation, les gammares infectés étant surconsommés par les truites uniquement lorsqu'ils sont infectés par *P. laevis*, mais pas lorsqu'ils le sont par *P. minutus*. Le fait de mimer une infection sur des gammares non infectés en leur appliquant une tache de peinture de couleur la plus proche possible de celle des parasites n'a cependant pas rendu les gammares plus vulnérables à la prédation, tandis que le fait de masquer le parasite sur des gammares infectés n'a pas diminué cette vulnérabilité. L'augmentation de la transmission trophique ne serait donc pas liée à une modification de l'apparence du gammare mais essentiellement à la manipulation comportementale.

« Altered drift behavior and increased vulnerability to predation in intermediate hosts infected by an acanthocephalan parasite: field evidence for adaptive manipulation »

Clément Lagrue, Nicolas Kaldonski, Marie-Jeanne Perrot-Minnot, Sébastien Motreuil & Loïc Bollache

Ecology, sous-presse

« Altération du comportement de dérive et augmentation de la vulnérabilité à la prédation chez un hôte intermédiaire infecté par un parasite acanthocéphale : évidence *in natura* du caractère adaptatif de la manipulation »

Résumé : Les parasites qui comptent sur la transmission trophique pour achever leur cycle de vie induisent souvent des modifications sur le comportement de leur hôte. Ces modifications ont souvent été interprétées comme des adaptations du parasite : en effet, la manipulation du phénotype de l'hôte intermédiaire par les parasites peut fortement augmenter leur chance de transmission vers l'hôte définitif. Cependant, des contre-exemples suggèrent que les altérations phénotypiques ne sont pas toujours adaptatives et très peu d'études ont démontrées aujourd'hui que la manipulation de l'hôte confère un avantage au parasite en termes d'aptitude phénotypique. Généralement, le lien entre les modifications du phénotype de l'hôte consécutivement à l'infection et l'augmentation de transmission trophique vers l'hôte suivant n'est pas établi de manière claire. Ici, nous démontrons que le parasite acanthocéphale *Pomphorhynchus laevis* manipule son hôte intermédiaire, *Gammarus pulex*, d'une manière qui augmente significativement son taux de transmission vers l'hôte définitif. Les altérations comportementales induites par *P. laevis* rendent les *G. pulex* infectés plus dérivant et, par conséquent, leur vulnérabilité à la prédation. Les *G. pulex* infectés par *P. laevis* sont entre 26.3 et 28.3 fois plus prédatés par un poisson constituant un hôte définitif que les individus non infectés. De plus, nos résultats indiquent que les modifications induites par *P. laevis* sont spécifiques de l'hôte définitif et n'augmentent pas le risque de prédation par des hôtes inappropriés, ici des grenouilles vertes adultes *Rana esculenta*. Globalement, notre étude est la première à démontrer à la fois le caractère adaptatif et la spécificité de la manipulation comportementale dans une association entre parasite et hôte intermédiaire.

ALTERED DRIFT BEHAVIOR AND INCREASED VULNERABILITY TO PREDATION IN INTERMEDIATE
HOSTS INFECTED BY AN ACANTHOCEPHALAN PARASITE: FIELD EVIDENCE FOR ADAPTIVE
MANIPULATION

CLEMENT LAGRUE ¹, NICOLAS KALDONSKI, MARIE J. PERROT-MINNOT, SEBASTIEN MOTREUIL
AND LOÏC BOLLACHE

*Equipe Ecologie Evolutive, UMR CNRS 5561 Biogéosciences, Université de Bourgogne, 6
Blvd Gabriel, 21000 Dijon, France.*

Running title: ADAPTIVE MANIPULATION OF HOST BEHAVIOR

¹*Department of Zoology*

University of Otago

P.O. Box 56

Dunedin 9054

New Zealand

Telephone: +64-3-479-7964

Fax: +64-3-479-7584

Email: lagcl981@student.otago.ac.nz

Abstract. Parasites relying on trophic transmission to complete their life cycles often induce modifications of their host's behavior in ways that may increase their susceptibility to predation by final hosts. These modifications have often been interpreted as parasite adaptations, but very few studies have demonstrated that host manipulation has fitness benefits for the parasite. The aim of the present study was to address the adaptive significance of parasite manipulation by coupling observations of behavioural manipulation to estimates of trophic transmission to the definitive host in the natural environment. We show that the acanthocephalan parasite *Pomphorhynchus laevis* manipulates the drifting behavior of one of its intermediate hosts, the amphipod *Gammarus pulex*, but not of a sympatric host, the introduced amphipod *Gammarus roeseli*. We found a 26.3 to 28.3 times higher proportion of infected *G. pulex* in the stomach content of one of the definitive hosts of *P. laevis*, the bullhead *Cottus gobio*, than in the benthos. No such trend was observed for *G. roeseli*. The bell-shaped curve of mean parasite abundance (MPA) relative to host size observed in *G. pulex* also supported an increased predation mortality of *P. laevis*-infected individuals compared to uninfected amphipods. Again, no such pattern was observed in *G. roeseli*. Furthermore, our results indicate that the modifications induced by *P. laevis* are specific to the definitive host and do not increase the risk of predation by inappropriate hosts, here the adult edible frog *Rana esculenta*. Overall, our study is original in that it establishes, under field conditions, a direct link between parasitic manipulation and increased transmission to the definitive host, and more importantly, identifies the specificity of the manipulation both in the intermediate host species and towards the definitive host.

Key words: Adaptive manipulation; complex life cycles; trophic transmission; behavioral modifications; *Pomphorhynchus laevis*.

INTRODUCTION

Parasite-induced modifications of host behavior and appearance have commonly been reported in associations involving parasites with complex life cycles, particularly those relying on trophic transmission to reach their definitive host (Holmes and Bethel 1972, Poulin 1998, Lafferty 1999, Combes 2001, see review by Moore 2002). Nonetheless, evidence for the adaptive nature of parasite-induced modifications in host behavior is limited (Moore 1983, Lafferty and Morris 1996, Voříšek et al. 1998, Knudsen et al. 2001, Mouritsen and Poulin 2003). To be considered adaptive, parasite manipulation should effectively increase the transmission rate of the parasite and show some degree of specificity in the intermediate host's vulnerability to predation by the final host (Cézilly and Perrot-Minnot 2005, Varaldi et al. 2006).

Acanthocephalan parasites are well known for altering the behavior of their intermediate hosts (Bethel and Holmes 1973, 1974, 1977, Brown and Thompson 1986, Bauer et al. 2000, Cézilly et al. 2000) in ways that apparently enhance their trophic transmission to definitive hosts (Bakker et al. 1997, Kaldonski et al. 2007, Perrot-Minnot et al. 2007). However, behavioral and predation experiments performed under laboratory conditions, while controlling for a number of confounding variables and providing valuable information, may not be a perfect reflection of the processes occurring in the natural environment (Lafferty and Morris 1996, Nickol 2005, Thomas et al. 2005). A more powerful approach is to compare, in the field, the stomach contents of definitive host predators with available prey for prevalence of the manipulative parasite. *Pomphorhynchus laevis* is one of the most abundant and widely distributed acanthocephalan parasites in Europe (Kennedy 1999, Perrot-Minnot 2004). Adult *P. laevis* use a large number of freshwater fish species (mainly cyprinids) as final hosts where

they sexually reproduce (Moravec and Scholz 1991). Eggs are then released in the water with fish faeces and must be consumed by an appropriate crustacean intermediate host. The life cycle is completed when the infected crustacean is eaten by a fish definitive host. In the River Ouche (Burgundy, eastern France), *P. laevis* uses two sympatric species of amphipods as intermediate hosts, the native *Gammarus pulex*, and an established Balkan species, *Gammarus roeseli* (Bauer et al. 2000). Previous studies have shown that *P. laevis* induces various behavioral, phenotypic and physiologic changes in *G. pulex*, such as altered reaction to light (Bauer et al. 2000, Cézilly et al. 2000, Perrot-Minnot 2004, Tain et al. 2006), altered anti-predator behavior (Kaldonski et al. 2007), partial castration (Bollache et al. 2002), and lower immune activity (Rigaud and Moret 2003). In contrast, no such effects have been detected in *G. roeseli*, a result interpreted as a consequence of the lack of local co-evolution between *P. laevis* and the newly established host (Bauer et al. 2000, Rigaud and Moret 2003). Previous studies have also shown that *P. laevis*-infected *G. pulex* tend to be more common in the drift than uninfected individuals and it was suggested that this aberrant behavior could be driven by the parasite to increase its transmission to the definitive host (McCahon et al. 1991, Maynard et al. 1998, Wellnitz et al. 2003). Drift of gammarids is mostly nocturnal, and this is considered as an adaptive behavior to avoid predation by visually feeding diurnal fish (Waters 1962, Müller 1963). Thus, the drifting behavior of amphipods offers an opportunity to explore the effects of a parasite on its host behavior in the natural environment and the consequences for the parasite transmission rate.

The aim of the present study was to test the adaptive significance of parasite manipulation through field sampling, taking advantage of a multiple hosts-single parasite system. The originality of our study comes from the use of two intermediate host species: *G. pulex* displays *P. laevis*-induced modifications and *G. roeseli*, a non-manipulated host, was used as

a control (Nickol 2005). We investigated the effect of infection by *P. laevis* on the drifting behavior of these two species of crustacean amphipods and the consequences on the parasite transmission rate to a definitive host predator: the bullhead *Cottus gobio*. We also evaluated the specificity of parasite-induced trophic transmission by comparing the parasite prevalence in the diet of this appropriate host and in the diet of a dead-end host, the edible frog *Rana esculenta*. We predicted that (1) *G. pulex* infected by *P. laevis* should be over-represented in the drift and the diet of the bullhead compared to the benthos, (2) no such difference should be found in *G. roeseli*, (3) no departure from random foraging on infected and uninfected gammarids should be observed in the diet of the edible frog.

METHODS

We performed this study on the River Ouche in Dijon (Burgundy, France), a mid-size river (about 20 m mean width), where mixed populations of *G. pulex* and *G. roeseli* are found all year round. The sampling site was a typical riffle-pool section with a mean depth of 0.3 m and a mean surface water velocity of 0.8 m/sec. Chub (*Leuciscus cephalus*), barbel (*Barbus barbus*), minnow (*Phoxinus phoxinus*), bullhead (*Cottus gobio*), and secondarily brown trout (*Salmo trutta fario*), and perch (*Perca fluviatilis*) (Conseil Supérieur de la Pêche, Unpublished data) inhabit this river. The diurnal *L. cephalus* and *S. trutta fario* and the nocturnal *B. barbus* and *C. gobio*, are prime hosts for *P. laevis*. In these species, parasites attain their maximum size and can be found in very high densities (Unpublished data). Others species, like the diurnal *P. phoxinus* and *P. fluviatilis*, are also hosts for *P. laevis*, but the parasite does not achieve the same growth and density as in the above species (Conseil Supérieur de la Pêche, Unpublished data). During the course of our study (March – April 2004), water temperatures ranged from 8.5 to 14.5°C, dissolved oxygen levels were 75 to 80%, pH from 7.8 to 7.9,

conductivity was 500 to 741 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (MultiLine F / SET-3 Meter) and current velocity were 0.6 to 1 m/sec.

Benthos

We assessed the proportion of *P. laevis*-infected gammarids by three benthos sampling replicates collected between March and April 2004. We also used the benthos survey to test the prevalence of the parasite as a function of amphipod size and to detect a possible effect of *P. laevis* on the mortality of its hosts. Each sample consisted of 50 subsamples collected with a Surber net ($31 \times 33 \text{ cm} = 0.1 \text{ m}^2$ aperture; 500 μm mesh) placed every 5 m on a 25 m-transect across the river, upstream from each drift net (see below). We took the benthos samples the day after each drift experiment.

Drift

We analysed the effect of *P. laevis* on host drifting behavior following a standardized invertebrate drift sampling technique (see Waters (1962) for details). We estimated both amphipod species drift rates over three 24-hour periods on March 8-9th; March 29-30th and April 26-27th, 2004. We collected drifting amphipods using drift nets with a square-shaped opening of 0.25 m^2 ($0.5 \text{ m} \times 0.5 \text{ m}$) and a 500 μm mesh size (Waters 1962). Iron rods held drift nets in position with the bottom edge of the nets fitted closely against the riverbed, preventing gammarids from drifting underneath. We placed the ten drift nets every 1.5 m across the river, to collect samples along the whole stream flow. We emptied all nets every 30 min throughout the 24 h sampling period, to avoid loss of amphipods due to net-clogging by sediments and organic material transported in the water. We measured the light intensity at the river banks throughout each experiment. Light intensity ranged from 0.1 lux (full night) to 700 lux (dawn or dusk) for the weak intensity period, and from 700 lux to greater than 25000 lux for daylight (luxmeter CA811, Chauvin Arnoux Group).

Bullhead and frog diet

We analysed fish diet *in situ* by maintaining bullhead in enclosures and collecting their stomach content. We kept the fish in cages to be able to resample the same fish overtime and to make sure that these fish were feeding over the same area as the other survey types (benthos and drift) were conducted. Bullhead are a definitive host of *P. laevis* (Moravec and Scholz 1991) and are known to feed exclusively on aquatic invertebrates, including a high proportion of gammarids (Smyly 1957, Welton et al. 1991). Forty-five percent of bullhead captured at the same site in 2005 were naturally infected with *P. laevis*. In addition, because bullhead do not have pharyngeal teeth, the diet can be analyzed by collecting the bolus using stomach flushing techniques (Lagrué and Bollache 2006). We equally dispatched forty-two bullhead in 14 cages (50 cm length $\times$ 30 cm width $\times$ 20 cm height) placed on the bottom of the river. Although fish confinement might be an approximation of the natural situation in which fish forage, several arguments support the assumption that the bullhead maintained in our enclosure were allowed to make the same behavioral decisions as free-living fish. First, bullhead feeding behavior is unlikely to be affected by the confinement itself as they are “sit and wait” predators that forage over a small area (Andreasson 1969, 1971). Second, the density of 20 fish per m² in our cages was similar to densities found in natural populations (between 12 and 25 individuals per m²) (Andreasson 1971). Thus, the number of fish per cage was unlikely to affect their social behavior. We built the cages using plasticized wire netting, with a 14 mm mesh size, allowing all sizes of amphipods to pass through. We checked that all prey sizes were accessible to the fish by conducting a one-way ANOVA with the size of the amphipod used as the dependent variable and the survey type as the independent variable. We chose the location and size of cages to allow the exploitation of most of the water column by the fish. Because bullheads are nocturnal predators (Andreasson 1969, 1971), we collected

fish stomach bolus between 6 am and 7 am every Tuesday and Friday morning from March 30th to April 26th, 2004. In addition, on April 26th, we sampled the diet of edible frogs collected at the study site, using the same stomach flushing method. Although it would have been interesting to look at the frog diet over the same period as the fish, April nights were too cold for the frogs to be active. Because adult ranid frogs are opportunistic predators that are known to also feed actively during daytime (Hedeen 1972), we captured the frogs between 5 pm and 6 pm after a warm afternoon. We used a large dip net for the capture and collected their stomach content before they were released within 5 min following capture.

We immediately preserved all gammarid individuals collected in the benthos, the drift and the diet of bullhead and frogs in 70% ethanol. We later sexed, measured by linear dimensions (distance from the base of the fourth coxal plate to the individual dorsal limit) using a stereoscopic microscope and a video-analysis system (VTO 232 from Linkam Scientific Instruments (see Bollache et al. 2000)), and then dissected the amphipods under the microscope to record and identify their parasites. Following Bush et al. (1997), we estimated the prevalence of *P. laevis* (proportion of infected individuals) in each survey type defined as benthos, drift, fish diet or frog diet. In addition, we reported the mean parasite abundance of *P. laevis* in the benthos in relation to host size and species. We then compared the size-mean parasite abundance (MPA) curves, classically used as a population-based estimate of parasite-induced mortality between *G. pulex* and *G. roeseli* (Thomas et al. 1995, Rousset et al. 1996). We used logistic regressions to analyze the effect of sampling date, amphipod host species, and individual size on the presence or absence of *P. laevis*, expressed hereafter as the proportion of infected individuals (or prevalence), in each survey type (except frog diet, see below). We also introduced sex, light intensity, and cage position in the model for the analysis of benthos, drift, and bullhead diet respectively. We also analysed the effects of survey type

(benthos, drift and bullhead's diet) on the prevalence of *P. laevis* using a logistic regression. Non significant main effects were kept in the analyses whereas non significant interactions were removed. Because bullheads are nocturnal predators and we sampled their stomach content at dawn, we compared their diet composition only with the drift from the weak light period. In contrast, we sampled the stomach content of frogs at dusk on a single occasion (April 26th). Consequently, we compared prevalence between the third benthos and drift samples, and the diet of edible frogs using a Fisher's exact test. All analyses were performed using JMP v. 5.01 (SAS Institute Inc.).

RESULTS

Benthos

We collected a total of 6349 amphipods (5452 *G. pulex* and 897 *G. roeseli* respectively) in the benthos samples. Gammarid density increased over time with on average, 280 individuals per m² in the first sample, 635 individuals per m² in the second and 1257 individuals per m² in the last sample. Neither sampling date nor host sex had an effect on *P. laevis* infection of gammarids (Table 1). Amphipod species and individual size both significantly influenced the probability of infection (Table 1). The prevalence of *P. laevis* in *G. pulex* (0.38%) was three times lower than in *G. roeseli* (1.15%), and generally, larger individuals were more likely to be infected (Fig. 1). Infected individuals of both species were significantly larger than their uninfected conspecifics ($F_{1,3536} = 11.45$, $P < 0.0007$, and $F_{1,322} = 24.35$, $P < 0.0001$, respectively). There was also a significant interaction between amphipod species and size with a contrasting size distribution pattern of infected individuals between the two species (Fig. 1). Indeed, in *G. pulex*, the highest mean parasite abundance occurred in hosts of intermediate size, whereas, in *G. roeseli*, the mean parasite abundance increased with

amphipod size (Fig. 1). Thus, when comparing the size-MPA curve between *G. pulex* and *G. roeseli*, it seems that *P. laevis* is differentially affecting the survival of its two hosts, inducing mortality in *G. pulex* but not in *G. roeseli*.

Drift

The diel drift pattern was examined for the three samples (Fig. 2). All samples displayed a characteristic peak in the number of drifting uninfected *G. pulex* and *G. roeseli* soon after dusk. Logistic regression revealed a significant effect of size of individuals, *Gammarus* species, light intensity and interaction between species and light intensity, on *P. laevis* infection (Table 2). Infected amphipods were again significantly larger than their uninfected counterparts ($F_{1,2220} = 50.24$, $P < 0.0001$; and $F_{1,756} = 13.34$, $P = 0.0003$, respectively). The proportion of *P. laevis*-infected individuals in drift samples was 6.46% for *G. pulex* and 3.50% for *G. roeseli* and a distinct pattern in drift rates was detected (see Fig. 2). The proportion of *P. laevis*-infected *G. pulex* and *G. roeseli* varied with light intensity: during the strong light intensity period (between 700 to 25000 lux and more), the prevalence of *P. laevis* was 3.23% in *G. pulex* and 8.73% in *G. roeseli* while the opposite pattern was detected during the weak light intensity period (0.1 to 700 lux). Over the period of low light intensity, the prevalence of *P. laevis* was 7.36% in *G. pulex* and 2.80% in *G. roeseli*. The increased number of infected *G. pulex* found in the drift was primarily notable at the beginning of the weak light intensity period (Fig. 2b, c), whereas the number of infected *G. roeseli* captured in the drift was similar over the 24-hour period (Fig. 2a', b', c').

Bullhead diet

Amphipod size was not significantly different between drift and bullhead diet surveys ($F_{1,2373} = 0.91$, $P = 0.3394$). Thus, we found no effect of the cage mesh netting on the size of amphipods available to the captive bullhead. No significant influence of sampling date or fish

cage location on amphipod infection rate in the bullhead diet was detected (Table 3). We found an effect of individual size as infected *G. pulex* were significantly larger than uninfected individuals ($F_{1,492} = 6.74$, $P = 0.0095$), but no difference was detected between infected and uninfected *G. roeseli* ($F_{1,310} = 1.17$, $P = 0.2801$). More importantly, there was a strong effect of the *Gammarus* species on the proportion of *P. laevis*-infected individuals in the amphipods consumed by fish: 17.00% of *G. pulex* were parasitized while only 4.16% of *G. roeseli* were infected.

Comparison between samples

Because bullhead are size-selective predators (Newman and Waters 1984) and the parasite distribution in gammarid populations is affected by host size, we compared *P. laevis* infection rates between the different samples (benthos, drift and bullhead diet) using either gammarids of the same size range as those eaten by bullhead, or gammarids of the same size range as those infected by *P. laevis*. As in the previous analyses, size of individuals was strongly related to the infection status of gammarids (Table 4a). On average, parasitized amphipods were significantly larger than uninfected individuals ($F_{1,4712} = 188.51$, $P < 0.0001$; and $F_{1,1282} = 25.89$, $P < 0.0001$, for *G. pulex* and *G. roeseli* respectively). *Gammarus* species and sample type also contributed to the probability of being infected (Table 4a), and interactions indicated that the effect of sample type on infection probability was stronger for *G. pulex* than for *G. roeseli*. Thus, the proportion of *P. laevis*-infected *G. pulex* was clearly higher in the drift and bullhead diet samples than in the benthos, whereas we found no difference in *G. roeseli* (Fig. 3). In the bullhead diet and drift samples, the prevalence of *P. laevis* in *G. pulex* was 28.3 times higher than in the benthos, whereas, in *G. roeseli*, the prevalence found in the bullhead diet and drift was only 1.8 times higher. We found similar results when using gammarids of the same size range as those infected by *P. laevis* (Table 4b). In this situation, the proportion

of infected *G. pulex* in bullhead diet and drift was 26.3 times higher than in the benthos while it remained 1.8 times higher for *G. roeseli*. In accordance with the parasite manipulation hypothesis where changes in host behavior induced by a parasite should selectively increase the parasite's transmission to the final host, we found a higher proportion of *P. laevis*-infected *G. pulex* in bullhead diets than in the benthos. However, we found no difference for *G. roeseli*, the non-manipulated intermediate host.

Frog diet

Because the frog diet was sampled on April 26th, we compared the proportion of infected individuals found in the frog stomach contents with the samples of benthos and drift collected the same day. For the drift, we used the data collected between 5am (dawn) and 6pm (hour of the end of frog sampling). Using amphipods of the same size range as those consumed by frogs, we found no difference in the proportion of infected *G. pulex* between benthos and frog diet (Fisher's exact test $P = 0.2515$) and between daylight drift (5 am to 6 pm) and frog diet (Fisher's exact test $P = 0.7150$). The prevalence of *P. laevis* in *G. pulex* was 1.92% in the frog diet ($N = 52$), 0.39% in the benthos ($N = 514$) and 4% in the drift ($N = 775$). Because only 5 individuals of *G. roeseli*, all uninfected, were found in the frog diet, no comparison was conducted with benthos or drift samples.

DISCUSSION

The main goal of the present study was to test whether *P. laevis*-induced host modifications detected in laboratory experiments are observed in the natural environment, and whether they are adaptive for the parasite (Perrot-Minnot 2004). First, the difference in parasite prevalence and size distributions of infected individuals in the benthos suggest a differential mortality between *G. pulex* and *G. roeseli* infected by *P. laevis* (Thomas et al.1995, Rousset et al.

1996). Indeed, when host mortality is positively correlated with parasite accumulation or simply with parasite presence (Rousset et al., 1996, Outreman et al. 2007), a maximum level of infection occurs in hosts of intermediate age. Thus, the lower prevalence in the population and the drop in mean infection rates among larger size classes of *G. pulex* point to an effect of *P. laevis* on *G. pulex* mortality, whereas no such pattern was detected in *G. roeseli*, indicating a lesser effect of the parasite on infected *G. roeseli*. Lafferty (1992) suggested that an increase in host modification by a parasite could result in a decline in prevalence within the host population because manipulated prey should be rapidly removed from the population by the predators. This might be the case in the association between *P. laevis* and *G. pulex*. However, whether the differential mortality between infected *G. pulex* and infected *G. roeseli* is predator mediated or a direct effect of parasite virulence is unclear from these results. In fact, *G. roeseli* might just cope better with parasitism than *G. pulex*.

Second, the high parasite prevalence reported in *G. pulex* drifting at night can be directly linked to the increased number of infected individuals captured in night samples compared with daytime samples. Interestingly, the drift pattern of *G. roeseli* infected by *P. laevis* is clearly different. Indeed, the prevalence of *P. laevis* in *G. roeseli* is higher during day drift. Since the number of infected *G. roeseli* captured in drift samples was consistent along the 24 h period, the higher prevalence detected in *G. roeseli* during the day was due to the low number of uninfected *G. roeseli*. The increase in the number of infected *G. pulex* observed in the night drift may be parasite driven and could improve the host probability of capture by a fish definitive host predator. Still, alternative hypotheses exist. For example, drifting amphipods might be more likely to get infected. However, increased susceptibility of drifting individuals is unlikely with *P. laevis*. First, amphipods get infected by accidental ingestion of parasites eggs deposited in the river litter so drifting in the water column is unlikely to

increase exposure to the parasite eggs. Second, *G. pulex* and *G. roeseli* get infected the same way, but the drifting behavior of infected individuals reported in our study was clearly different between the two species. Therefore, it is more likely that the modification of drift behavior in *G. pulex* is a result of parasite manipulation.

Finally, the manipulation hypothesis predicts an enhanced parasite transmission rate to the definitive host when the phenotype of infected intermediate hosts is manipulated. On the other hand, intermediate hosts infected by parasites unable to modify host behavior should have the same probability of being predated as uninfected conspecifics (Moore and Gotelli 1990, Poulin 1995). Independently from host size, we reported a higher prevalence of *P. laevis* in *G. pulex* in the bullhead diet and night drift than in the benthos, whereas the same prevalence of *P. laevis* was found in *G. roeseli* in the three distinct surveys. *G. pulex* infected individuals were significantly more predated than uninfected individuals because they were more exposed to predation in the night drift, whereas no difference was found between infected and uninfected *G. roeseli* individuals. From these observations, it is likely that manipulation of infected individuals cause the over-predation of *P. laevis*-infected *G. Pulex* by the definitive host. Again, other factors could influence these results. Infected *G. roeseli* could simply be better at avoiding predation than *G. pulex*. Although it is unlikely as a previous study found no differences in antipredator behavior between the two species (Bollache et al. 2006). The two amphipods species might also show differences in their drift dispersal behavior. If infected *G. pulex* tend to accumulate in areas where predators abound while parasitized *G. roeseli* disperse in predator free areas, the difference in infected prey abundance in the fish diet detected in our study may be independent from parasite manipulation. Again, although possible, this alternative is unlikely. First, we controlled the position of the fish such as they

were equally dispersed over the study site. Second, a previous study found no significant difference in the drifting dispersal of *G. pulex* and *G. roeseli* (Meijering 1972).

Consistent with the hypothesis that manipulation should show some degree of specificity, a lower or equal vulnerability of infected intermediate hosts to predation by non-host predators compared to uninfected individuals was expected (Cézilly and Perrot-Minnot 2005, Thomas et al. 2005). Indeed, if phenotypic changes in infected intermediate hosts also increase the risk of predation by predators unsuitable as definitive hosts, the benefit of manipulation could be significantly reduced (Mouritsen and Poulin 2003). Our results indicate that in the daytime, host behavioral modifications induced by *P. laevis* do not increase the risk of being consumed by adult frogs, which are inappropriate hosts. In fact, we found no difference in the prevalence of *P. laevis* in *G. pulex* between the edible frog diet, day drift and benthos. In addition, the higher proportion of *P. laevis*-infected *G. pulex* in the night drift could also be interpreted as a strategy to avoid diurnal non-host predators such as water birds and frogs.

Our results are also important for quantifying the transmission rate of the manipulative parasite in the natural environment. Few previous field studies have simultaneously investigated the prevalence of parasites in the field, the effects of parasites on intermediate host behavior, and the predation rates by final hosts (Moore 1983, Voříšek et al. 1998, Knudsen et al. 2001). However, one source of error in these previous studies was to not consider the parasite distribution within the intermediate host population and the foraging behavior of the final host predator. In 2005, Nickol suggested that studies that examine the impact of parasite-induced behavioral alteration on trophic transmission should understand how the parasite population is partitioned within the intermediate host population and within the part of the host population predated by the definitive host before comparing prevalence. Our results, obtained when the gammarids used in the analysis were restricted either to the

same size range as those eaten by the final host predator or to the parasite distribution within the intermediate host population, suggest a 28.3 or 26.3-fold effect of parasitism on the predation rate of *G. pulex*. In the same analysis, if gammarids of all sizes were used, a 44-fold effect of parasitism on predation rate of *G. pulex* was detected, such that, in the absence of this correction, the effect of parasitism on predation rate would have been overestimated. In contrast to the mathematical model of behavioral modification developed by Lafferty (1992) that assumed a high value of differential predation of 10-fold, our results support the conclusion of Lafferty and Morris (1996) who found that the effect of a larval trematode on predation rate of killifish by birds was a 30-fold effect of parasitism on predation rate. A simple behavioral alteration can yield a high parasite transmission rate to the definitive host. Thus, by increasing the predation rate of infected hosts, manipulative parasites may act as potential regulatory factors of the density of prey populations. In an ecological context, such altered behaviors could also logically expose the manipulated host to various predators. Accordingly, a full understanding of the evolution of parasitic manipulation necessitates the consideration of the specificity of association between the type of altered behavior and the type of final host. A better knowledge of mechanisms by which parasites manipulate their host coupled with the specificity of alteration would be another way to check the adaptive nature of manipulation.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was funded by a grant from the Conseil Régional de Bourgogne. We thank Thierry Rigaud, Thierry Lefèvre, Olivier Blatter and Philippe Giraud for their help during field work, and Bernard Rousseau and Philippe Baran (Conseil Supérieur de la Pêche) for their help in

electric fishing. We also thank Robert Poulin and Devon B. Keeney for their help and comments on a previous version of the manuscript.

REFERENCES

- Andreasson, S. 1969. Locomotory activity patterns of *Cottus poecilopus* Heckel and *C. gobio* L., (Pisces). *Oikos* **20**:78-94.
- Andreasson, S. 1971. Feeding habits of the sculpin (*Cottus gobio*) population. Reports of the Swedish State Institute of Freshwater Research. Drottingholm **51**: 1-30.
- Bakker, T. C. M., D. Mazzi, and S. Zala. 1997. Parasite-induced changes in behavior and color make *Gammarus pulex* more prone to fish predation. *Ecology* **78**:1098-1104.
- Bauer, A., S. Trouvé., A. Grégoire., L. Bollache, and F. Cézilly. 2000. Differential influence of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) on the behavior of native and invader gammarid species. *International Journal for Parasitology* **30**:1453-1457.
- Bethel, W. M., and J. C. Holmes. 1973. Altered evasive behavior and responses to light in amphipods harboring acanthocephalan cystacanths. *Journal of Parasitology* **59**:945-956.
- Bethel, W. M., and J. C. Holmes. 1974. Correlation of development of altered evasive behavior in *Gammarus lacustris* (Amphipoda) harboring cystacanths of *Polymorphus paradoxus* (Acanthocephala) with the infectivity to the definitive host. *Journal of Parasitology* **60**:272-274.
- Bethel, W. M., and J. C. Holmes. 1977. Increased vulnerability of amphipods to predation owing to altered behavior induced by larval acanthocephalans. *Canadian Journal of Zoology* **55**:110-115.
- Bollache, L., G. Gambade, and F. Cézilly. 2000. The influence of micro-habitat segregation on size-assortative pairing in *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea, Amphipoda). *Archiv für Hydrobiologie* **147**:547-558.

- Bollache, L., T. Rigaud., and F. Cézilly. 2002. Effects of two acanthocephalan parasites on the fecundity and pairing status of female *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *Journal of Invertebrate Pathology* **79**:102-110.
- Bollache, L., Kaldonski, N., Troussard, J.P., Lagrue, C. and Rigaud, T. 2006. Spines and behaviour as defences against fish predators in an invasive freshwater amphipod. *Animal Behaviour* **72**:627-633.
- Brown, A. F., and A. F. Thompson. 1986. Parasite manipulation of host behavior: acanthocephalans and shrimps in the laboratory. *Journal of Biological Education* **20**:121-127.
- Bush, A. O., K. D. Lafferty, J. M. Lotz, and A. W. Shostak. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology* **83**:575-583.
- Cézilly, F., and M. J. Perrot-Minnot. 2005. Studying adaptive changes in the behavior of infected hosts: a long and winding road. *Behavioural Processes* **68**:283-287.
- Cézilly, F., A. Grégoire, and A. Bertin. 2000. Conflict between co-occurring manipulative parasites? An experimental study of the joint influence of two acanthocephalans on the behavior of *Gammarus pulex*. *Parasitology* **120**:625-630.
- Combes, C. 2001. *Parasitism: The Ecology and Evolution of Intimate Interactions*. The University of Chicago Press, Ltd., London.
- Hedeen, S.E. 1972. Food and feeding behavior of the mink frog, *Rana septentrionalis* Baird, in Minnesota. *American Midland Naturalist* **88**(2):291-300.
- Holmes, J. C., and W. M. Bethel. 1972. Modification of intermediate host behavior by parasites. *Zoological Journal of the Linnean Society* **51**(1):123-149.

- Kaldonski, N., M. J. Perrot-Minnot, and F. Cézilly. 2007. Differential influence of two acanthocephalan parasites on the anti-predator behaviour of their intermediate host. *Animal Behaviour*, in press.
- Kennedy, C. R. 1999. Post-cyclic transmission in *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *Folia Parasitologica* **46**:111-116.
- Knudsen, R., H. M. Gabler, A. M. Kuris, and P. A. Amundsen. 2001. Selective predation on parasitized prey - A comparison between two helminth species with different life-history strategies. *Journal of Parasitology* **87**:941-945.
- Lafferty, K. D. 1992. Foraging on prey that are modified by parasites. *American Naturalist* **140**:854-867.
- Lafferty, K. D. 1999. The evolution of trophic transmission. *Parasitology Today* **15**:111-115.
- Lafferty, K. D., and A. K. Morris. 1996. Altered behavior of parasitized killifish increases susceptibility to predation by bird final host. *Ecology* **77**:1390-1397.
- Laguerre, C., and L. Bollache. 2006. Effects of temperature on persistence times of native and invasive gammarid species in the stomachs of bullhead, *Cottus gobio*. *Journal of Fish Biology* **68**:318-322.
- Maynard, B. J., T. A. Wellnitz., N. Zanini., W. G. Wright., and B. S. Dezfouli. 1998. Parasite-altered behavior in a crustacean intermediate host: field and laboratory studies. *Journal of Parasitology* **84**:1102-1106.
- McCahon, C. P., S. J. Maund., and M. J. Poulton. 1991. The effect of the acanthocephalan parasite (*Pomphorhynchus laevis*) on the drift of its intermediate host (*Gammarus pulex*). *Freshwater Biology* **25**:507-513.
- Meijering, M.P.D. 1972. Experimental studies on drift and upstream movements of Gammarids in running waters. *Archiv für Hydrobiologie* **70**:133-205.

- Moore, J. 1983. Responses of an avian predator and its isopod prey to an acanthocephalan parasite. *Ecology* **64**:1000-1015.
- Moore, J. 2002. *Parasites and the Behavior of Animals*. Oxford University Press. New York.
- Moore, J., and N. J. Gotelli. 1990. A phylogenetic perspective on the evolution of altered host behaviors: a critical look at the manipulation hypothesis. Pp 193-223 in Barnard, C. J., J. M. Behnke (Eds). *Parasitism and Host Behavior*. Taylor and Francis, London.
- Moravec, F., and T. Scholz. 1991. Observations on the biology of *Pomphorhynchus laevis* (Zoega in Müller, 1776) (Acanthocephala) in the Rokytná River, Czech and Slovak Federative Republic. *Helminthologia* **28**:23-29.
- Mouritsen, K. M., and R. Poulin. 2003. Parasite-induced trophic facilitation exploited by a non-host predator: a manipulator's nightmare. *International Journal for Parasitology* **33**:1043-1050.
- Müller, K. 1963. Diurnal rhythm in 'organic drift' of *Gammarus pulex*. *Nature* **198**: 806-807.
- Newman, R. M., and T. F. Waters. 1984. Size-selective predation on *Gammarus pseudolimnaeus* by trout and sculpins. *Ecology* **65**:1535-1545.
- Nickol, B. B. 2005. Parasite manipulation: should we go anywhere? *Behavioural Processes* **68**:201-203.
- Outreman, Y., F. Cézilly., and L. Bollache. 2007. Field evidence of host size-dependent parasitism in two manipulative species. *Journal for Parasitology*. In Press.
- Perrot-Minnot, M. J. 2004. Larval morphology, genetic divergence, and contrasting levels of host manipulation between forms of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *International Journal for Parasitology* **34**:45-54.

- Perrot-Minnot, M. J., N. Kaldonski, and F. Cézilly. 2007. Susceptibility to predation and anti-predator behaviour in an acanthocephalan-infected amphipod: a test for the manipulation hypothesis. *International Journal for Parasitology* **37**: 645-651.
- Poulin, R. 1995. "Adaptive" change in the behavior of parasitized animals: a critical review. *International Journal for Parasitology* **25**:1371-1383.
- Poulin, R. 1998. *Evolutionary Ecology of Parasites: from Individuals to Communities*. Chapman and Hall, London.
- Rigaud, T., and Y. Moret. 2003. Differential phenoloxidase activity between native and invasive gammarids infected by local acanthocephalans: differential immunosuppression? *Parasitology* **127**:571-577.
- Rousset, F., F. Thomas, T. De Meeüs, and F. Renaud. 1996. Inference of parasite-induced host mortality from distributions of parasite loads. *Ecology* **77**:2203-2211.
- Smyly, W. J. P. 1957. The life-history of the bullhead or Miller's thumb (*Cottus gobio* L.). *Proceedings of the Zoological Society of London* **128**:431-453.
- Tain, L., M. J. Perrot-Minnot, and F. Cézilly. 2006. Altered host behavior and brain serotonergic activity caused by acanthocephalans: evidence for specificity. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* **273**:3039-3045.
- Thomas, F., F. Renaud., F. Rousset., F. Cézilly, and T. de Meeüs. 1995. Differential mortality of two closely related host species induced by one parasite. *Proceedings of the Zoological Society of London* **260**:349-352.
- Thomas, F., S. Alamo, and J. Moore. 2005. Parasitic manipulation: where are we and where should we go? *Behavioural Processes* **68**:185-199.

- Varaldi, J., S. Petit, M. Bouletreau, and F. Fleury. 2006. The virus infecting the parasitoid *Leptopilina boulardi* exerts a specific action on superparasitism behavior. *Parasitology* **132**:747-756.
- Voříšek, P., J. Votýpka., K. Zvára, and M. Svobodová. 1998. Heteroxenous coccidian increase the predation risk of parasitized rodents. *Parasitology* **117**:521-524.
- Waters, T. F. 1962. Diurnal periodicity in the drift of stream invertebrates. *Ecology* **43**:316-320.
- Wellnitz, T., L. Giari, B. Maynard, and S. Dezfuli. 2003. A parasite spatially structures its host population. *Oikos* **100**:263-268.
- Welton, J. A., C. A. Mills, and J. R. Pygott. 1991. The effect of interaction between stone loach *Noemacheilus barbatulus* (L.) and the bullhead *Cottus gobio* (L.) on prey and habitat selection. *Hydrobiologia* **220**:1-7.

Table 1. Logistic regression for the effects of sampling date (three dates in March-April 2004), *Gammarus* species and *Gammarus* size and sex on the prevalence of *P. laevis* in the benthos survey.

Source	<i>df</i>	Wald Chi-Square	P
Benthos sampling date	2	2.00	= 0.3672
<i>Gammarus</i> species	1	4.74	= 0.0293
Size	1	28.57	< 0.0001
Sex	2	2.46	= 0.2925
Interaction Size $\times$ <i>Gammarus</i> species	1	8.37	= 0.0038

Table 2. Logistic regression for the effects of sampling date (three dates in March-April 2004), light intensity and *Gammarus* species and size on the prevalence of *P. laevis* in the drift survey.

Source	<i>df</i>	Wald Chi-Square	P
Drift sampling date	2	4.12	= 0.1271
<i>Gammarus</i> species	1	7.40	= 0.0065
Size	1	77.42	< 0.0001
Light intensity	1	7.18	= 0.0073
<i>Gammarus</i> species $\times$ light intensity	1	32.05	< 0.0001

Table 3. Logistic regression for the effects of diet sampling date, cage, *Gammarus* species and size on the prevalence of *P. laevis* in bullhead diet ($N = 806$).

Source	<i>df</i>	Wald Chi-Square	P
Diet sampling date	9	4.17	= 0.8609
Cage	13	17.14	= 0.1927
<i>Gammarus</i> species	1	27.92	< 0.0001
Size	1	6.81	= 0.0090

Table 4. Logistic regression of the effects gammarid species, size of individuals and survey types (defined as benthos, drift under weak light intensity and fish diet) on the prevalence of *P. laevis* (a) using gammarids of the same size range as those preyed by bullhead ($N = 5998$), (b) using gammarids of the same size range as those infected by *P. laevis* ($N = 5473$).

Source	<i>df</i>	Wald Chi-Square	P
a			
<i>Gammarus</i> species	1	13.54	= 0.0002
Size	1	57.48	< 0.0001
Survey types	2	66.38	< 0.0001
<i>Gammarus</i> species × survey types	2	32.70	< 0.0001
Size × survey types	2	7.54	= 0.0230
b			
<i>Gammarus</i> species	1	12.16	= 0.0005
Size	1	62.68	< 0.0001
Survey types	2	72.40	< 0.0001
<i>Gammarus</i> species × survey types	2	37.42	< 0.0001

Fig. 1. Mean abundance of *P. laevis* in relation to host size in *G. pulex* males (a) and females (b), and *G. roeseli* males (c) and females (d), in the benthos survey. The sample size for each size class is indicated above each point.

Fig. 2. Number of amphipods collected in the three drift sampling replicates for *G. pulex*: (a), (b), (c) and *G. roeseli* (a'), (b'), (c'). *P. laevis*-infected individuals are denoted by black bars and uninfected ones by open bars. Grey areas refer to weak light intensity (0.1 to 700 lux).

Fig. 3. Comparison of the prevalence of *P. laevis* in *G. pulex* (open bars) and *G. roeseli* (black bars) between the three survey types using amphipods of the same size range than those preyed by bullhead. The numbers of amphipods in each sample are indicated above each bar.

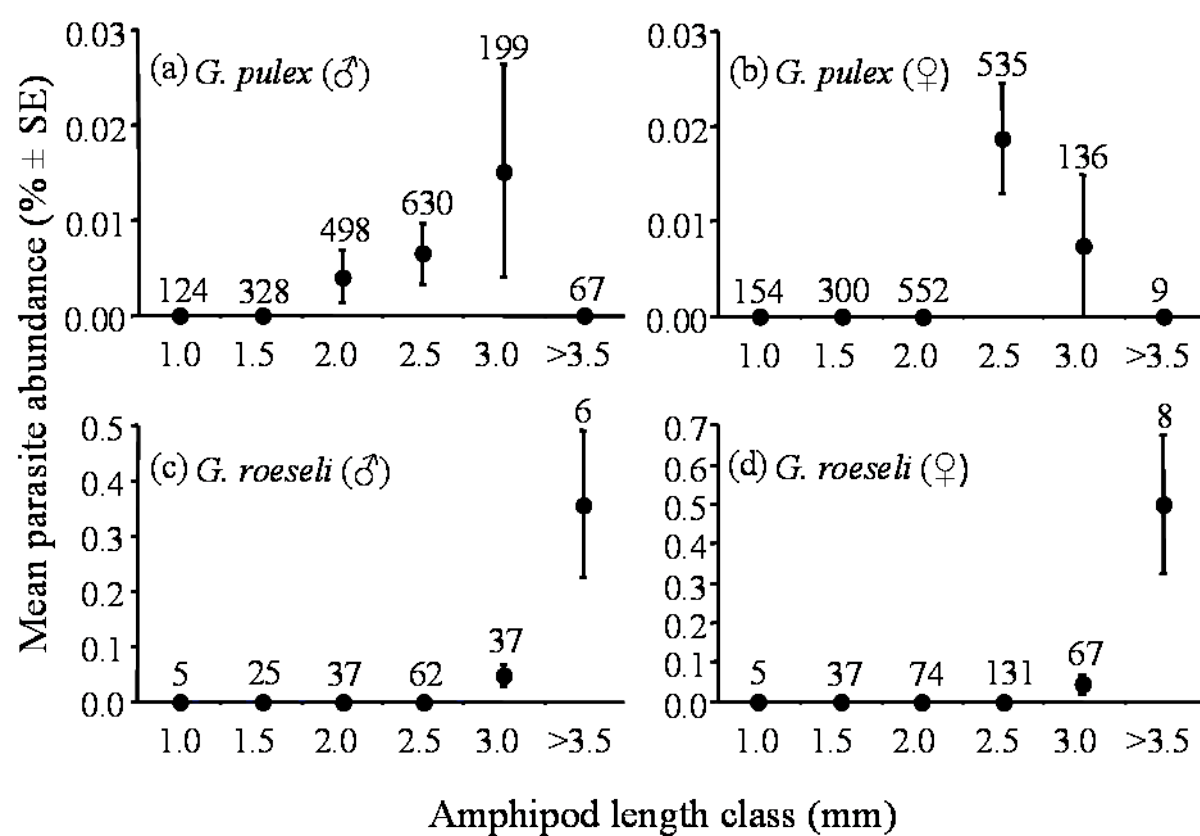


Figure 1.

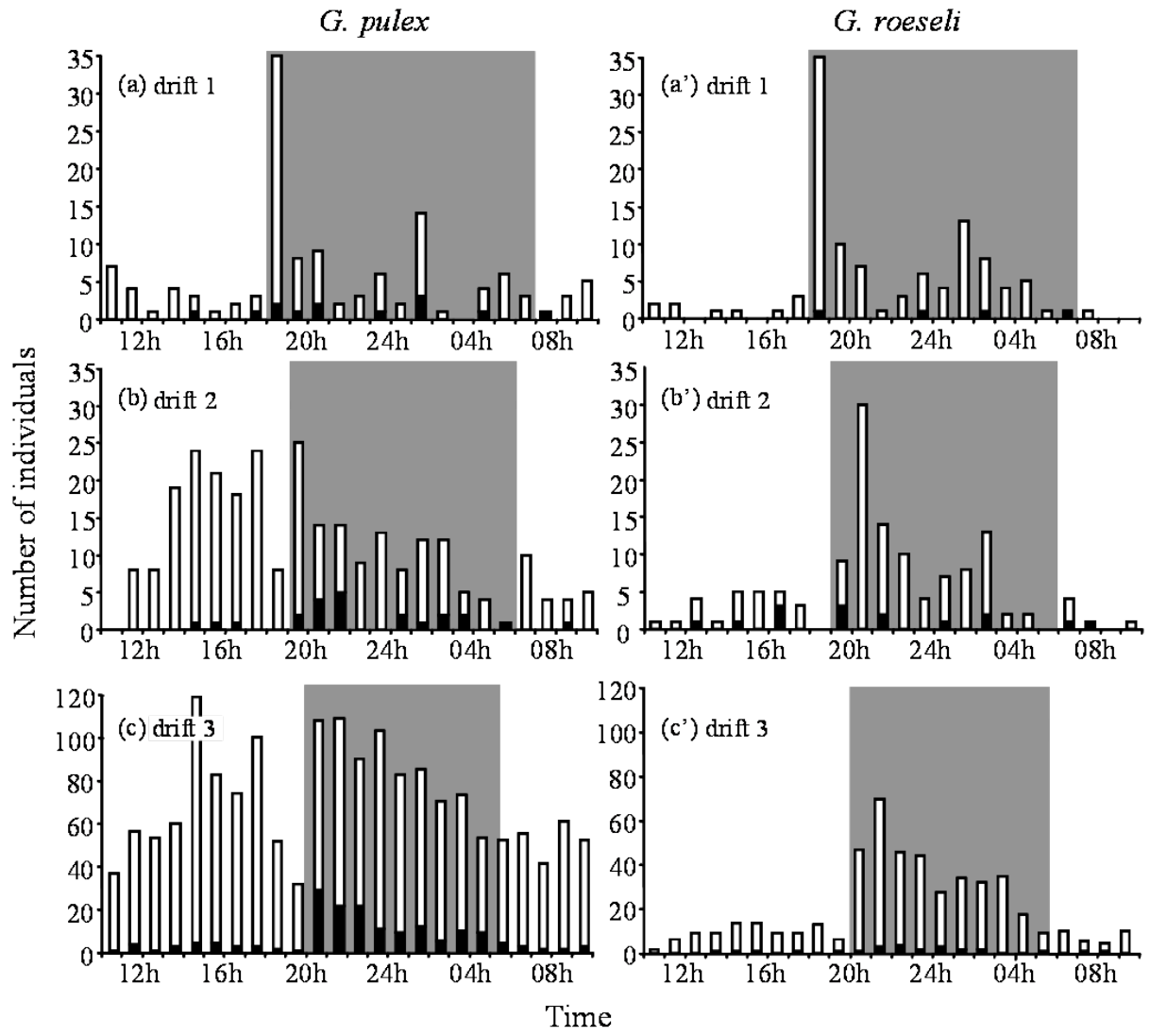


Figure 2.

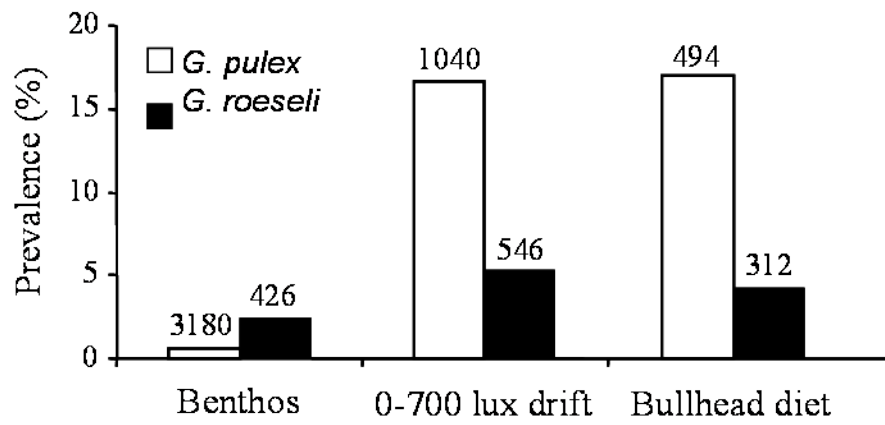


Figure 3.

« Increased susceptibility to predation and altered anti-predator behaviour in an acanthocephalan-infected amphipod »

M.-J. Perrot-Minnot, Nicolas Kaldonski, Frank Cézilly

International Journal for Parasitology, sous presse

« Augmentation de la susceptibilité à la prédation et alteration du comportement anti prédateur chez un amphipode infecté par un acanthocéphale »

Résumé : Selon l'hypothèse de la manipulation parasitaire, les altérations phénotypiques induites par les parasites sur leurs hôtes intermédiaires sont des moyens efficaces d'augmenter la transmission trophique vers l'hôte définitif. Une prédiction évidente, bien que rarement testée, est que l'augmentation de la vulnérabilité des proies infectées vers un prédateur approprié doit s'effectuer par une altération des comportements anti-prédateur de l'hôte intermédiaire. Dans cette étude, nous avons testé cette prédiction en utilisant l'acanthocéphale de poisson *Pomphorhynchus tereticollis* et l'amphipode d'eau douce *Gammarus pulex*. Nous avons d'abord estimé la vulnérabilité relative des proies infectées et non infectées à la prédation par le chabot *Cottus gobio* en conditions naturelles. Ensuite, nous avons étudié en conditions contrôlées comment deux comportements anti prédateur typiques des invertébrés aquatiques, à savoir l'utilisation des refuges et la réaction à courte distance à des signaux olfactifs de prédateur, étaient affectés par le statut infectieux. Nous avons trouvé que la prévalence *in natura* était dix fois supérieure chez les gammares récoltés dans les contenus stomacaux des chabots que dans le benthos de la même rivière. Dans un microcosme, les gammares non infectés, mais pas les gammares infectés, augmentaient l'utilisation des refuges en présence de chabots. Finalement, une expérience utilisant un olfactomètre en Y a montré des réactions opposées à l'odeur de prédateur. Alors que les gammares non infectés étaient significativement repoussés par l'odeur de prédateur, les gammares infectés étaient significativement attirés par l'odeur du prédateur. Regroupés, ces résultats suggèrent que l'altération des comportements anti prédateur chez les gammares infectés augmente leur prédation dans le milieu par les chabots. L'inversion des comportements anti prédateur peut être une composante efficace par laquelle les parasites à cycle complexe augmentent leur transmission vers l'hôte définitif. Des études devraient considérer plus en détail à la fois l'augmentation de la vulnérabilité des proies infectées dans la nature par l'hôte définitif du parasite et l'influence de l'infection sur le comportement anti prédateur de la proie infectée.

Increased susceptibility to predation and altered anti-predator behaviour in an acanthocephalan-infected amphipod

M.-J. Perrot-Minnot *, Nicolas Kaldonski, Frank Cézilly

Equipe Ecologie Evolutive, UMR CNRS 5561 Biogéosciences, Université de Bourgogne, 6 Blvd Gabriel, 21000 Dijon, France

Received 13 October 2006; received in revised form 4 December 2006; accepted 5 December 2006

Abstract

According to the ‘parasitic manipulation hypothesis’, phenotypic changes induced by parasites in their intermediate hosts are effective means of increasing trophic transmission to final hosts. One obvious prediction, although seldom tested, is that increased vulnerability of infected prey to an appropriate predator should be achieved by the parasite altering the anti-predator behaviour of its intermediate host. In this study, we tested this prediction using the fish acanthocephalan *Pomphorhynchus tereticollis* and the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. Firstly, we estimated the relative vulnerability of infected and uninfected gammarids to predation by the bullhead *Cottus gobio* in the field. Second, we investigated under experimental conditions how two common anti-predator behaviours of aquatic invertebrates, refuge use and short-distance reaction to predator chemical cues, were affected by infection status. We found that the prevalence of infection in the field was 10 times higher among gammarids collected from the stomach contents of bullheads compared with free-ranging individuals collected in the same river. In a microcosm uninfected gammarids, but not infected ones, increased the use of refuge in the presence of a bullhead. Finally, a behavioural experiment using an Y-maze olfactometer showed opposite reactions to predator odour. Whereas uninfected gammarids were significantly repulsed by the chemical cues originating from bullheads, infected ones were significantly attracted to the odour of the predator. Taken together, our results suggest that the alteration of anti-predator behaviour in infected *G. pulex* might enhance predation by bullheads in the field. Reversing anti-predator behaviour might thus be an efficient device by which parasites with complex life-cycles increase their trophic transmission to final hosts. Further studies should pay more attention to both the increased vulnerability of infected prey to an appropriate predator in the field and the influence of parasitic infection on the anti-predator behaviour of intermediate hosts.

© 2006 Australian Society for Parasitology Inc. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: Chemical ecology; Complex life-cycle; *Gammarus*; Host manipulation; *Pomphorhynchus*

1. Introduction

Predation is currently regarded as a driving force in the evolution of complex life-cycles in parasites (Parker et al., 2003). Firstly, any parasite adapting to survive accidental ingestion by, and to reproduce in, the predator of its current host might be selected (Parker et al., 2003). Second, once a complex life-cycle has been established, natural selection should favour the ability of parasites to increase the vulnerability of their intermediate hosts to predation

by final hosts (Holmes and Bethel, 1972; Combes, 1991). According to the so-called ‘manipulation hypothesis’, several parasite-induced phenotypic changes are indeed adaptive and benefit the parasite through increasing its trophic transmission to the final host (see reviews in Moore, 2002; Thomas et al., 2005). However, only a few empirical studies have provided unambiguous support for the adaptiveness of manipulation (Nickol, 2005; Thomas et al., 2005). Poulin (1995) listed a series of criteria by which true manipulation can be distinguished from accidental by-products of infection, in particular including increased vulnerability of infected hosts to predation by final hosts and purposive design of manipulation. However, such a distinction is not easy to make in practice

* Corresponding author. Tel.: +33 380 396340; fax: +33 380 396231.
E-mail address: mjperrot@u-bourgogne.fr (M.-J. Perrot-Minnot).

(Combes, 1991; Cézilly and Perrot-Minnot, 2005; Thomas et al., 2005). Its validity is actually reliant on field estimates of true predation rates by appropriate final hosts, and on the identification of the altered phenotypic traits specifically responsible for the increased trophic transmission. Consequently, studies addressing the link between manipulation and increased transmission rate are still scarce and sometimes equivocal (Nickol, 2005).

Increased predation by final hosts on infected intermediate hosts has been shown in several host-parasite associations (see review in Moore, 2002), in particular those involving acanthocephalan parasites and their arthropod intermediate hosts (Hindsbo, 1972; Holmes and Bethel, 1972; Bethel and Holmes, 1977; Kennedy et al., 1978; Camp and Huizinga, 1979; Moore, 1983; Brown and Thompson, 1986; Marriott et al., 1989; Bakker et al., 1997; Fuller et al., 2003). These studies generally consist of measuring differential predation on infected versus uninfected intermediate hosts by a putative final host in an experimental setting. However, such confined environments might be a weak approximation to conditions prevailing in the wild. In particular, in most studies the ratio of infected to uninfected hosts offered to the predator exceed parasite prevalence observed in nature, weakening the conclusions that can be drawn from such studies. Most field studies of predation on infected hosts have also experimentally manipulated the ratio of infected to uninfected prey (Lafferty and Morris, 1996; Thomas and Poulin, 1998; but see Moore, 1983). Parallel to this, evidence of purposive design in manipulation remains limited to reaction to abiotic stimulus or changes in general activity (Hindsbo, 1972; Cézilly et al., 2000; see references in Moore, 2002). To our knowledge, only four studies directly investigated the alteration of anti-predator behaviour specifically in response to predator visual or chemical cues (Hechtel et al., 1993; Berdoy et al., 2000; Wellnitz et al., 2003; Baldauf et al., 2006), despite the fact that suppressing or even inverting responses to anti-predator cues may represent an effective and potentially finely-tuned strategy to increase trophic transmission to the final host. Indeed, several prey species have evolved the ability to reduce activity level and increase the use of refuges upon visual and/or chemical detection of predator presence (for a review, see Kats and Dill, 1998). In freshwater food webs, in particular, chemosensory assessment of predation risk has been demonstrated in numerous species of arthropods, and appears to be of major importance in relation to water turbidity and low light conditions (Chivers et al., 1996; Dahl, 1998; Åbjörnsson et al., 2000; Wisenden, 2000). Such behaviours constitute ideal targets for natural selection acting on parasites to increase trophic transmission to their final hosts.

Acanthocephalans are among the best-studied parasites with respect to parasite-induced behavioural alterations and trophic transmission (Moore, 2002), in particular species using aquatic crustaceans as intermediate hosts (Holmes and Bethel, 1972; Bakker et al., 1997; Haye and

Ojeda, 1998; Cézilly et al., 2000). These helminths are known to change various taxes in their intermediate host under laboratory conditions, such as reaction to light or to gravity (Cézilly et al., 2000; Perrot-Minnot, 2004; Médoc et al., in press), but also to alter micro-habitat distribution of infected hosts in the field (MacNeil et al., 2003; Médoc et al., in press). Evidence exists that crustacean amphipods react to chemical stimuli originating from fish predators in a way that is adaptive (Mathis and Hoback, 1997; Wudkevich et al., 1997; Åbjörnsson et al., 2000). Acanthocephalan species successively exploiting freshwater amphipods and fish are therefore a good model to study whether and how parasites can alter the anti-predator behaviour of their intermediate hosts. In the present study, we address the link between increased transmission rate and the alteration of anti-predator behaviours in between the freshwater amphipod *Gammarus pulex* and the fish acanthocephalan *Pomphorhynchus tereticollis*. We first tested the prediction that infected hosts should be more vulnerable to predation by final hosts than uninfected ones in natural conditions. To this end, we compared the proportions of *P. tereticollis*-infected and uninfected *G. pulex* in the diet of field-collected bullheads with the prevalence of *P. tereticollis* in free-living gammarids from the same site at the same time. Second, we hypothesized that parasite manipulation involves the alteration of the host's anti-predator behaviour, and predicted that uninfected and *P. tereticollis*-infected gammarids should react differently to bullhead cues. In the first experiment, a 'microcosm-type' setting providing refuges to gammarids was designed to assess the general anti-predator response of gammarids to bullhead physical and chemical cues. We then assessed the response of uninfected and infected *G. pulex* to bullhead chemical cues at a short-distance, by conducting a bioassay with an Y-tube olfactometer. This is the first study, to our knowledge, to simultaneously consider in a single host-parasite association both the increased susceptibility of infected prey to predation by final hosts in the field and the influence of parasitic infection on reaction to predator cues.

2. Materials and methods

2.1. Study system

Local populations of *P. tereticollis* (sometimes confounded with the congeneric species *Pomphorhynchus laevis*) have been identified in Burgundy (eastern France), where they infect the amphipods *G. pulex* and *Gammarus roeseli* as intermediate hosts. Confirmation of taxonomic status was provided by both genetic data (Perrot-Minnot, 2004) and morphological inspection (comparison with type specimens, M. Spakulova, pers. comm.). A field experiment was conducted on the river Bèze at Noiron sur Bèze (Burgundy, eastern France), where only *G. pulex* is found as an intermediate host. In this population, gammarids are preyed upon by the bullhead, *Cottus gobio*, in which *P. tereticollis* can develop and reproduce (Rudolphi,

1819; M.-J. Perrot-Minnot and N. Kaldonski, unpublished data). Gammarids and bullheads used in laboratory experiments were sampled from the same population.

2.2. *In natura* prevalence and trophic transmission

In August, 2005, we estimated the local prevalence of *P. tereticollis* in a population of *G. pulex* from the river Bèze. Six samples of the benthic fauna were collected with a Surber net (500 µm mesh size) between 7 and 8 AM in a mixed zone of gravel and vegetation, and were immediately put in 70% ethanol. In the laboratory, gammarids were carefully separated from vegetation and other detritus. Their status (uninfected/*P. tereticollis*-infected) was determined under a binocular microscope after dissection. Three size classes were based on body length (small, under 8 mm; medium, from 8 to 15 mm; large, more than 15 mm).

One week later, we caught 44 adult bullheads with a dipnet in the same area between 7 and 8 AM and collected their gut content by stomach flushing. This non-destructive method provides 98.2% efficiency in obtaining the gut content, with 100% fish survival, both in natura and in the laboratory (Gaudin et al., 1981; Lagrue and Bollache, 2006). Regurgitated gammarids were fixed in 70% ethanol and their status and size were determined later in the laboratory under the binocular microscope. The proportions of infected gammarids in natura and in the gut content of the bullhead were compared using a Chi-square test.

2.3. Refuge use in microcosm

Uninfected and *P. tereticollis*-infected *G. pulex* were collected from July to September, 2005 in the river Bèze using the kick sampling method (Hynes, 1954). Only males were kept for the experiments (body length ranged from 11 to 15 mm). In the laboratory, gammarids were maintained in large, well aerated tanks filled with dechlorinated UV-treated tap water, and fed with elm leaves. All individuals were acclimatized for at least 1 week before starting the experiments. Bullheads, ranging from 75 to 85 mm in length, were caught with a dipnet in the same river, kept in the laboratory for 1 month before the experiments and fed with uninfected gammarids. They were starved for 24 h prior to the experiments. Room temperature was kept constant at 15 °C with a light:dark cycle of 12:12 h provided by overhead solar spectra fluorescent tubes (JBL Solar Natur, 25 W and 9000 K, illumination of 700 lux representing dawn or dusk light conditions).

The test aquaria (32 × 20 × 20 cm) were filled with 7 L of dechlorinated and oxygenated tap water and surrounded with opaque screens. A piece of air-brick (21.5 × 10 × 5 cm) provided a refuge for gammarids. A transparent microperforated enclosure (12 × 9 × 6 cm) was set in the aquaria to accommodate the predator when needed, and was equipped with an air-stone to maximize odour dispersal. Gammarids could thereby detect the bullhead's presence through both physical (visual or wave-like stimuli) and

chemical cues. Fifteen minutes before each trial, 10 gammarids of the same type (uninfected or *P. tereticollis*-infected) were placed into an aquarium. The predator was then introduced into the enclosure 5 min before starting the experiment. Each test lasted 90 min, during which time the number of gammarids outside the brick, i. e., those potentially available to a predator, was recorded at 0, 5, 10, 15, 30, 60, and 90 min. At the end of each trial, aquaria, air-brick, and air-stone were carefully washed with dechlorinated tap water. Eight replicates were made for each parasitic status and microcosm type. A three-factor ANOVA with repeated measures was performed to analyse the effect of bullhead presence/absence (hereafter referred to as microcosm type), infection status and time (repeated measures), on the arcsin-transformed proportion of gammarids seen out of the refuge. Since the effect of time was not significant (see Section 3), we generated a cumulative index of refuge use by summing up the number of gammarids seen out of the refuge at each time interval (seven measures). The effects of parasitic status and microcosm type were then analyzed using a two-factor ANOVA and Newman-Keuls multiple comparison test (JMP statistical software v. 5.0, SAS Institute Inc.).

2.4. Response to short-distance fish odour in an Y-maze olfactometer

Gammarids and bullheads were sampled from the same population as the one used for the previous experiment, and were maintained in the laboratory under the same conditions. The experiments were carried out in a Y-tube olfactometer made of clear glass tubes (4 cm diameter, two inflow-arms of 14 cm in length at an angle of 70°, and one outflow arm of 18 cm in length). Test solutions were introduced into each arm through silicone tubes (Saint-Gobain Tygon Sanitary Silicone Tubing Formula 3350, ABW00007) with a peristaltic pump (Gilson Minipuls 3). Preliminary tests with dyes showed that a flow rate of 10 ml.min⁻¹ allowed mixing of water from the two arms at the centre of the tube, but prevented mixing of water in the two forward arms. Inflowing water reached the point of confluence after 30 s, and water in the mixing zone had completely mixed after 60–75 s. The olfactometer was placed horizontally on a white table and surrounded with opaque screens. Solar spectra fluorescent tubes (JBL Solar Natur, 25 W and 9000 K, illumination of 700 lux) provided diffuse light from 40 cm above the olfactometer and parallel to the outflow arm.

Bullhead-conditioned water was prepared by leaving a single fish for 24 h in a clean aquarium filled with 250 ml of well oxygenated dechlorinated tap water per fish centimetre. The total length of the bullhead ranged from 80 to 90 mm. Oxygenated and dechlorinated tap water was used as control water. Fifteen infected and 15 uninfected gammarids were tested against the odour of a single bullhead, and six different bullheads were used for this experiment. We therefore performed 6 × 15 replicates per group of

infected and uninfected gammarids. All experiments were run between 9 AM and 5 PM. Each experimental trial lasted 11 min. After a pre-flow time of 1 min, a single specimen of *G. pulex* was introduced in the starting area and kept in the downstream part of the outflow arm (4 cm) for a 5 min acclimatization period. One arm of the olfactometer was then connected to the bullhead-conditioned water, while the other arm was connected to control water. The gammarid was released 30 s later, and its behaviour was directly recorded for 5 min using a Psion Workabout. After each run, the test gammarid was removed, the olfactometer and connecting tubes were carefully rinsed with dechlorinated tap water and 50 ml of dechlorinated tap water was added to the aquarium to refill the lost volume. The inflow arm with the bullhead odour was switched every five replicates to control for any side preference; the olfactometer was then cleaned with ethanol and tap water. During the experiment, the observer was blind to the infection status of the test individual. Gammarids that did not move for the first 2 min or that spent less than 20% of the total time in the two inflow arms were discarded from the data set. For each trial, we calculated the proportion of time spent in the arm with bullhead odour out of the total time spent in the two inflow arms. Then, for both uninfected and *P. tereticollis*-infected individuals, we calculated 95% confidence intervals (CIs) around the mean proportion of time spent in the scented arm. Data were arcsin-transformed to meet normality. Comparisons between uninfected and infected gammarids were made using ANOVA with individual fish as a co-factor. All tests were performed using JMP statistical software (v. 5.0, SAS Institute Inc.).

3. Results

3.1. In natura prevalence and trophic transmission

A total of 1604 gammarids were caught, among which 16 (1%) were infected with *P. tereticollis* cystacanths. None of the small-size gammarids (<8 mm) were infected. Considering only the medium- and large-size classes (586 gammarids), the prevalence reached 2.7%. Inside the stomach contents of bullheads, a total of 20 out of the 196 gammarids (10.2%) were infected by *P. tereticollis*, all of them in the medium- and large-size classes. This prevalence was significantly higher from the one observed in the benthos (Chi-square test $\chi^2_1 = 75.53$, $P < 0.0001$). Considering only the medium- and large-size class (140 gammarids), the prevalence was 14.3% and was still significantly higher than the one observed in the benthos (Chi-square test $\chi^2_1 = 32.02$, $P < 0.0001$).

3.2. Effect of infection status on refuge use in microcosm

A preliminary three-factor ANOVA with repeated measures showed that time had only a marginal effect on refuge use ($F_{6,23} = 2.49$, $P = 0.052$), and did not interact significantly with microcosm type (with or without a bullhead

in the enclosure) ($F_{6,23} = 1.66$, $P = 0.17$) or infection status ($F_{6,23} = 1.41$, $P = 0.25$). We therefore performed a two-factor ANOVA on the cumulative index of refuge use to assess the relative influence of microcosm type and infection status. Both factors had a significant effect on the hiding behaviour of gammarids, as well as their interaction ($F_{3,28} = 10.83$, $P < 0.0001$; microcosm type $F_{1,28} = 21.81$, $P < 0.0001$; infection status $F_{1,28} = 4.57$, $P = 0.04$; interaction between microcosm type and infection status $F_{1,28} = 6.10$, $P = 0.02$) (Fig. 1). Over time, there were significantly more infected gammarids out of the refuge than uninfected ones when a bullhead was present in the enclosure ($q = 4.59$, $P < 0.005$), compared with when the enclosure was empty (Fig. 1).

3.3. Effect of infection status on the response to short-distance fish odour

Uninfected gammarids spent significantly more time in the control arm with water than expected under the assumption of random movement between the two inflow arms (time spent in the control arm over the total time spent in the inflow arms, mean and 95% CI on back-transformed data = 60% [53.6%–66.1%], $n = 60$, Fig. 2). In contrast, *P. tereticollis*-infected gammarids spent more time in the arm with bullhead-conditioned water than expected under the assumption of random movement between the two inflow arms (time spent in the arm with bullhead odour over the total time spent in the inflow arms, mean and 95% CI on back-transformed data = 71.9% [65.8%–77.6%], $n = 58$, Fig. 2). The difference between uninfected and infected gammarids was highly significant (t test $t_{1,117} = 7.17$, $P < 0.001$). Finally, we compared the amplitude of the response to bullhead scent between groups of

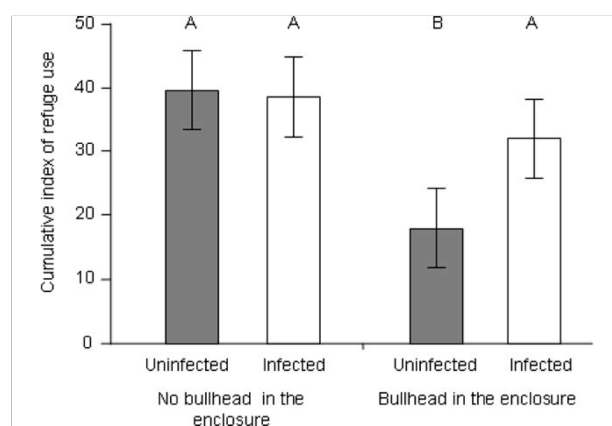


Fig. 1. Cumulative index of refuge use by uninfected and *Pomphorhynchus tereticollis*-infected *Gammarus pulex* in a microcosm setting when no bullhead was present in the enclosure, and when a bullhead was placed in the enclosure (mean and 95% confidence interval, over eight replicates). Groups not connected by the same letter are significantly different (see text for methods).

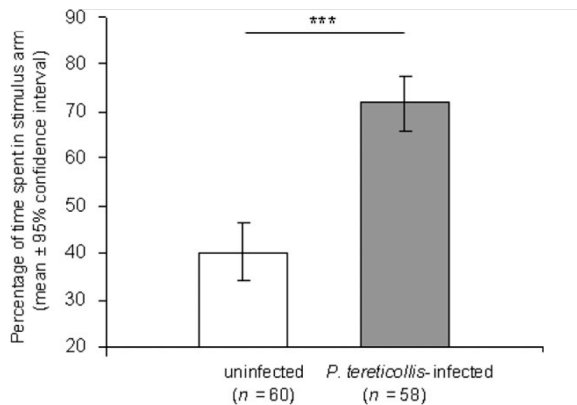


Fig. 2. Mean (95% confidence interval) proportion of time spent by a single gammarid in the arm of a Y-tube olfactometer flowed with bullhead chemical cues, relative to the total time spent in water arms containing water with bullhead odour and control water. The dashed line represents a random visit to both arms. *** $P < 0.001$.

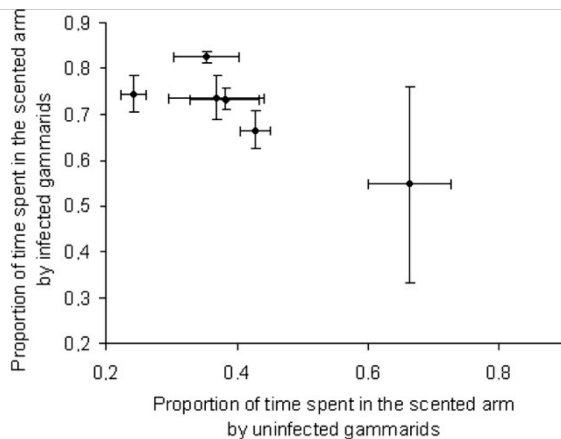


Fig. 3. Correlation between the proportion of time spent by uninfected and by *Pomphorhynchus tereticollis*-infected gammarids in the arm with kairomone odour from the same individual bullhead (means $\pm$ SD of backtransformed arcsin values). Six fish were used and eight to 12 gammarids of each infection status were analyzed per fish.

uninfected and infected gammarids tested against the same individual fish. The mean proportion of time spent by infected and uninfected gammarids in water scented by the same individual fish were negatively correlated (Spearman rank correlation $r_s = -0.94$, $P = 0.005$, significance established through permutation test ($n = 50,000$), $P = 0.009$, Fig. 3).

4. Discussion

The present study assessed, using a single host-parasite association, both the vulnerability of infected intermediate hosts to predation by an appropriate definitive host in the field, and the alteration of anti-predator behaviour in infected hosts. The proportion of *P. tereticollis*-infected

G. pulex in the stomach content of bullheads was 10 times higher than in free-ranging gammarids in natura. A deviation from random predation might arise independently of an effect of infection on the vulnerability of intermediate hosts to final hosts, if size-selective predation occurs and the probability of infection varies according to prey size (Moore, 1983; Lafferty and Morris, 1996; Nickol, 2005). However, when controlling for size differences in predation susceptibility and infection probability (through removing small gammarids from the analysis), prevalence of infection was still significantly higher among gammarids collected from stomach contents. Few field studies have documented predation rates on infected intermediate hosts by appropriate final hosts without manipulating natural prevalence (Moore, 2002). Heteroxenous coccidia increased the predation rate of infected rodents by two to 2.4 times (Hoogenboom and Dijkstra, 1987; Voříšek et al., 1998), whereas *Gammarus lacustris* infected with a larval cestode were preyed upon by the Arctic Char, *Salvelinus alpinus*, eight times more often than uninfected ones (Knudsen et al., 2001). The prevalence of *Plagiorhynchus cylindraceus* in woodlice was increased from 0.2% in the field site to 17.5% on average in the diet of nestling starlings, *Sturnus vulgaris* (Moore, 1983). However, only the last study investigated the parasite-induced behavioural changes potentially underlying the increased predation risk of intermediate hosts. Other field or laboratory studies designed to link predation risk with infection by a trophically-transmitted parasite (TTP) have manipulated the prevalence of infected prey above natural prevalence or did not even refer to it (Bethel and Holmes, 1977; Camp and Huizinga, 1979; Urdal et al., 1995; Lafferty and Morris, 1996; Bakker et al., 1997; Thomas and Poulin, 1998; Pulkkinen et al., 2000). This could lead to an overestimation of the predation rate on infected prey by predators such as birds or fish. Indeed, a search stimulus on infected prey might be more readily established with high prevalence compared with actual field prevalence. This could also be reinforced by the simplified patterns of prey distribution under experimental conditions compared with more complex distribution of prey found in natura.

The increased trophic transmission of *P. tereticollis* to one of its appropriate final hosts reported here can best be explained by the increased availability of infected *G. pulex* in the foraging area of bullhead. *C. gobio* is a cryptic benthic predator and adopts a “sit and wait” foraging strategy (Ladich, 1989; Chivers et al., 1996). Perception of, and response to, fish kairomones by prey such as amphipods are thus critical in reducing encounter rates with predators at short distances and, consequently, predation risk. Such behaviours in infected prey act to reduce transmission of TTP to their final host. Parasites are thus under selective pressure to suppress or even reverse the anti-predator behaviour of their intermediate hosts. To test this prediction, we compared a general response to predator cues, e.g., hiding behaviour of infected and uninfected gammarids from the same population, in a microcosm

setting. Uninfected *G. pulex* responded to the presence of a bullhead in the enclosure by increasing the use of refuge relative to controls without fish cues. This result is in agreement with previous studies on other amphipods showing various anti-predator behaviours, such as the use of riffle (Dahl and Greenberg, 1996) or reduced activity (Wudkevich et al., 1997; Åbjörnsson et al., 2000; Wellnitz et al., 2003). In contrast, gammarids infected with *P. tereticollis* did not increase the use of refuge when bullhead cues were present. The differential use of refuge was not due to difference in phototaxis, because the difference between uninfected and infected gammarids was only significant when predator cues were available. Hechtel et al. (1993) also showed that the normal hiding behaviour of the isopod *Caecidotea intermedius* in response to the presence of chubs was suppressed in isopods infected with the acanthocephalan *Acanthocephalus dirus*. Other studies have shown a lack (or increased latency) of anti-predator behaviours in infected prey, such as the use of refuge (Moore, 1983), or disturbance-evoked escape responses (Libersat and Moore, 2000; Fuller et al., 2003). However, such altered behaviours were not related to predator cues, nor were they linked to an increase in parasite transmission to final hosts.

Olfaction is likely to determine the predator–prey encounter rate, especially when visual cues are not available (e.g., dawn and dusk or nocturnal predators, such as bullhead). In a Y-maze olfactometer, the odour of bullhead was significantly repulsive to uninfected gammarids, whereas the opposite reaction, i.e. attraction, was evident in *P. tereticollis*-infected gammarids. Parasite-induced alteration of hosts' behaviour often corresponds to a reversion of oriented behaviours (taxes) such as photophobia or negative geotaxis (Cézilly et al., 2000; see review in Moore, 1983, 2002). Reversion of the repulsive response to fish odour reported here is in agreement with this observation. The evidence for a parasite-induced reversion of chemotaxis in *G. pulex* is strengthened by the fact that the more repulsive a fish odour was for uninfected gammarids, the more attractive it was for infected gammarids tested against the same individual bullhead. Such 'fatal attraction' of infected prey to the parasite's appropriate final host has been reported only once, in rats infected with the protozoan *Toxoplasma gondii* (Berdoy et al., 2000). Two studies have suggested that the alteration of chemosensory assessment of predation risk by crustacean hosts could be induced by acanthocephalan parasites (Hechtel et al., 1993; Wellnitz et al., 2003). However, none of these studies provided evidence for an actual increased vulnerability of infected hosts to predation by an appropriate final host. The attraction to fish odour in infected prey is probably one of the most spectacular behavioural manipulations in the range of behaviours reported to be altered by parasites. It also illustrates how, under certain conditions, predators as final hosts could benefit from TTP via easier food acquisition (Kuris, 2005).

In conclusion, we have shown that a trophically-transmitted parasite suppresses the sheltering behaviour of its

intermediate host and reverses its reaction to predator odour. Such alterations of anti-predator behaviours might contribute to increased transmission rate to a final host in the field, as reported herein. Many studies on manipulative parasites have concluded that behavioural modifications are adaptive (Moore and Gotelli, 1990; Combes, 1991; Thomas et al., 2005), although demonstrations are often weakened by incomplete data. In the future, studies should jointly address the vulnerability of infected prey to final hosts under field conditions and the effect of infection on anti-predator behaviours. Future research should also emphasize the physiological mechanisms of altered behaviours, to reveal the complexity and specificity predicted from the adaptive nature of parasitic manipulation (Poulin, 1995; Kuris, 2005; Thomas et al., 2005).

Acknowledgements

We thank Sébastien Motreuil for technical assistance, and two anonymous referees for comments on an earlier version of the manuscript. N. Kaldonski was supported through a MENRT doctoral grant. The experiments and fish sampling comply with the current laws of France.

References

- Åbjörnsson, K., Dahl, J., Nyström, P., Brönmark, C., 2000. Influence of predator and dietary chemical cues on the behaviour and shredding efficiency of *Gammarus pulex*. *Aquatic Ecol.* 34, 379–387.
- Bakker, T.C.M., Mazzi, D., Zala, S., 1997. Parasite-induced changes in behavior and color make *Gammarus pulex* more prone to fish predation. *Ecology* 78, 1098–1104.
- Baldauf, S.A., Thünken, T., Frommen, J.G., Bakker, T.C.M., Heupel, O., Kullmann, H., 2006. Infection with an acanthocephalan manipulates an amphipod's reaction to a fish predator's odour. *Int. J. Parasitol.* doi:10.1016/j.ijpara.2006.09.003.
- Berdoy, M., Webster, J.P., MacDonald, D.W., 2000. Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B* 267, 1591–1594.
- Bethel, W.M., Holmes, J.C., 1977. Increased vulnerability of amphipods to predation owing to altered behavior induced by larval acanthocephalans. *Can. J. Zool.* 55, 110–116.
- Brown, A.F., Thompson, D.B.A., 1986. Parasite manipulation of host behaviour, acanthocephalans and shrimps in the laboratory. *J. Biol. Education* 20, 121–127.
- Camp, J.W., Huizinga, H.W., 1979. Altered color, behavior and predation susceptibility of the isopod *Asellus intermedius* infected with *Acanthocephalus dirus*. *J. Parasitol.* 65, 667–669.
- Cézilly, F., Grégoire, A., Bertin, A., 2000. Conflict between co-occurring manipulative parasites? An experimental study of the joint influence of two acanthocephalan parasites on the behaviour of *Gammarus pulex*. *Parasitology* 120, 625–630.
- Cézilly, F., Perrot-Minnot, M.-J., 2005. Studying adaptive changes in the behaviour of infected hosts, a long and winding road. *Behav. Proc.* 68, 223–228.
- Chivers, D.P., Brown, G.E., Smith, R.J.F., 1996. The evolution of chemical alarm signals, attracting predators benefits alarm signal senders. *Am. Nat.* 148, 649–659.
- Combes, C., 1991. Ethological aspects of parasite transmission. *Am. Nat.* 138, 866–880.
- Dahl, J., 1998. Effect of a benthivorous and a drift-feeding fish on a benthic stream assemblage. *Oecologia* 116, 426–432.

- Dahl, J., Greenberg, L., 1996. Effects of habitat structure on habitat use by *Gammarus pulex* in artificial streams. *Freshw. Biol.* 36, 487–495.
- Fuller, C.A., Rock, P., Phillips, T., 2003. Behavior, color changes, and predation risk induced by acanthocephalan parasitism in the caribbean termite *Nasutitermes acajutlae*. *Caribbean J. Sci.* 39, 128–135.
- Gaudin, P., Martin, E., Caillère, L., 1981. Le tubage gastrique chez les poissons, mise au point d'un équipement et test chez le chabot (*Cottus gobio* L.) *Bull. Français Pisciculture* 282, 8–15.
- Haye, P.H., Ojeda, F.P., 1998. Metabolic and behavioural alterations in the crab *Hemigrapsus crenulatus* (Milne-Edwards 1837) induced by its acanthocephalan parasite *Proflicollis antarcticus* (Zdzitowiecki, 1985). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 228, 73–82.
- Hechtel, L.J., Johnson, C.L., Juliano, S.A., 1993. Modification of antipredator behavior of *Caecidotea intermedius* by its parasite *Acanthocephalus dirus*. *Ecology* 74, 710–713.
- Hindsbo, O., 1972. Effects of *Polymorphus* (Acanthocephala) on colour and behaviour of *Gammarus lacustris*. *Nature* 238, 333.
- Holmes, J.C., Bethel, W.M., 1972. Modification of intermediate host behaviour by parasites. In: Canning, E.U., Wright, C.A. (Eds.), *Behavioural Aspects of Parasite Transmission*. Academic Press, London, pp. 23–149.
- Hoogenboom, I., Dijkstra, C., 1987. *Sarcocystis cernae*, a parasite increasing the risk of predation of its intermediate host, *Microtus arvalis*. *Oecologia* 74, 86–92.
- Hynes, H.B.N., 1954. The ecology of *Gammurus duebeni* Lilljeborg and its occurrence in freshwater in western Britain. *J. Anim. Ecol.* 23, 38–84.
- Kats, L.B., Dill, L.M., 1998. The scent of death, chemosensory assessment of predation risk by prey animals. *Ecoscience* 5, 361–394.
- Kennedy, C.R., Broughton, P.F., Hine, P.M., 1978. The status of rainbow trout, *Salmo trutta* and *S. gairdneri*, as hosts of the acanthocephalan, *Pomphorhynchus laevis*. *J. Fish. Biol.* 13, 265–275.
- Knudsen, R., Gabler, H.-M., Kuris, A.M., Amudsen, P.-A., 2001. Selective predation on parasitized prey – a comparison between two helminth species with different life-history strategies. *J. Parasitol.* 87, 941–945.
- Kuris, A.M., 2005. Trophic transmission of parasites and host behavior modification. *Behav. Proc.* 68, 215–217.
- Ladich, F., 1989. Sound production by the river bullhead, *Cottus gobio* L. (Cottidae, Teleostei). *J. Fish. Biol.* 35, 531–538.
- Lafferty, K.D., Morris, K., 1996. Altered behavior of parasitized killifish increases susceptibility to predation by bird final hosts. *Ecology* 77, 1390–1397.
- Laguerre, C., Bollache, L., 2006. Effects of temperature on persistence times of native and invasive gammarid species in the stomachs of *Cottus gobio*. *J. Fish. Biol.* 68, 318–322.
- Libersat, F., Moore, J., 2000. The parasite *Moniliformis moniliformis* alters the escape response of its cockroach host *Periplaneta americana*. *J. Insect. Behav.* 13, 103–110.
- MacNeil, C., Fielding, N.J., Hume, K.D., Dick, J.T.A., Elwood, R.W., Hatcher, M.J., Dunn, A.M., 2003. Parasite altered micro-distribution of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *Int. J. Parasitol.* 33, 57–64.
- Marriott, D.R., Collins, M.L., Paris, R.M., Gudgin, D.R., Barnard, C.J., McGregor, P.K., Gilbert, F.S., Hartley, J.C., Behnke, J.M., 1989. Behavioural modifications and increased predation risk of *Gammarus pulex* infected with *Polymorphus minutus*. *J. Biol. Educ.* 2, 135–142.
- Mathis, A., Hoback, W.W., 1997. The influence of chemical stimuli from predators on precopulatory pairing by the amphipod, *Gammarus pseudolimnaeus*. *Ethology* 103, 33–40.
- Médoc, V., Bollache, L., Beisel, J.N., 2006. Host manipulation of a freshwater crustacean (*Gammarus roeseli*) by an acanthocephalan parasite (*Polymorphus minutus*) in a biological invasion context. *Int. J. Parasitol.* 36, 1351–1358.
- Moore, J., 1983. Response of an avian predator and its isopod prey to an acanthocephalan parasite. *Ecology* 64, 1000–1015.
- Moore, J., 2002. Parasites and the behavior of animals. *Oxford Series in Ecology and Evolution*. Oxford University press, New York.
- Moore, J., Gotelli, N.J., 1990. A phylogenetic perspective on the evolution of the altered behaviours, a critical look at the manipulation hypothesis. In: *Parasitism and Host Behaviour*. Taylor and Francis, London, pp. 193–233.
- Nickol, B.B., 2005. Parasitic manipulation: should we go anywhere? *Behav. Proc.* 68, 201–203.
- Parker, G.A., Chubb, J.C., Ball, M.A., Roberts, G.N., 2003. Evolution of complex life cycles in helminth parasites. *Nature* 425, 480–484.
- Perrot-Minnot, M.-J., 2004. Larval morphology, genetic divergence, and contrasting levels of host manipulation between forms of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *Int. J. Parasitol.* 34, 45–54.
- Poulin, R., 1995. “Adaptive” changes in the behaviour of parasitized animals: a critical review. *Int. J. Parasitol.* 25, 1371–1383.
- Pulkkinen, K., Pasternak, A.F., Hasu, T., Valtonen, E.T., 2000. Effect of *Triaenophorus crassus* (Cestoda) infection on behavior and susceptibility to predation of the first intermediate host *Cyclops strenuus* (Copepoda). *J. Parasitol.* 86, 664–670.
- Rudolphi, C.A., 1819. Entozoorum synopsis, cui accedunt mantissa duplex et indices locupletissimi. X. Berolini. Sumtibus A. Rücker.
- Thomas, F., Adamo, S.A., Moore, J., 2005. Parasitic manipulation: where are we and where should we go? *Behav. Proc.* 68, 185–199.
- Thomas, F., Poulin, R., 1998. Manipulation of a mollusc by a trophically transmitted parasite: convergent evolution or phylogenetic inheritance? *Parasitology* 116, 431–436.
- Urdal, K., Tierney, J.F., Jakobsen, P.J., 1995. The tapeworm *Schistocephalus solidus* alters the activity and response, but not the predation susceptibility of infected copepods. *J. Parasitol.* 81, 330–333.
- Voříšek, P., Votýpka J., Zvára, K., Svobodová, M., 1998. Heteroxenous coccidia increase the predation risk of parasitized rodents. *Parasitology* 117, 521–524.
- Wellnitz, T.A., Giari, L., Maynard, B., Dezfili, B., 2003. A parasite spatially structures its host population. *Oikos* 100, 263–268.
- Wisenden, B.D., 2000. Olfactory assessment of predation risk in the aquatic environment. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 355, 1205–1208.
- Wudkevich, K., Wisenden, B.D., Chivers, D.P., Smith, R.J.F., 1997. Reactions of *Gammarus lacustris* to chemical stimuli from natural predators and injured conspecifics. *J. Chem. Ecol.* 23, 1163–1173.

« Differential influence of two acanthocephalan parasites on the anti-predator behaviour of their intermediate host »

Nicolas Kaldonski, Marie-Jeanne Perrot-Minnot & Frank Cézilly

Animal Behaviour, sous presse

« Influences différentielles de deux parasites acanthocéphales sur le comportement anti prédateur de leur hôte intermédiaire commun, *Gammarus pulex* (Crustacé, Amphipode) »

Résumé: De nombreuses espèces de parasites altèrent le phénotype de leur hôte intermédiaire d'une manière qui semble augmenter la transmission trophique vers l'hôte final. En particulier, les acanthocéphales de poissons sont connus pour modifier le comportement anti prédateur de leurs hôtes intermédiaires crustacés en réponse à des signaux chimiques de prédateurs poissons. Cependant, il n'est pas clair que ce changement de comportement soit spécifique des parasites de poissons et donc adaptatifs, ou s'ils sont juste une conséquence de l'infection par un acanthocéphale. Nous adressons cette question dans une série d'expériences utilisant deux espèces d'acanthocéphales et leur hôte intermédiaire commun, le crustacé amphipode *Gammarus pulex*. Les deux espèces de parasites diffèrent par le type d'hôte final dans lequel ils achèvent leur cycle de reproduction. L'un, *Pomphorhynchus laevis*, utilise différentes espèces de poissons d'eau douce comme hôtes finaux, alors que l'autre, *Polymorphus minutus*, achève son cycle dans des oiseaux d'eau. Dans une première expérience, nous avons estimé la vulnérabilité des gammarus infectés par rapport aux non infectés à la prédation par un poisson d'eau douce, le chabot *Cottus gobio*. Les gammarus infectés par *P. laevis* étaient plus sensibles à la prédation que les non infectés, mais seulement lorsque les proies avaient un refuge à disposition. A contrario, nous n'avons pas trouvé de prédation sélective sur les proies infectées par *P. minutus*, indépendamment de la présence d'un refuge ou non. Dans une deuxième expérience, nous avons quantifié l'utilisation des refuges par les proies infectées ou non, et ce en la présence et en l'absence d'un chabot dans l'enceinte. Nous n'avons pas observé de différence significative dans l'utilisation du refuge entre les groupes en l'absence de prédateur. Alors que les individus de chaque groupe augmentaient significativement leur utilisation des refuges lorsqu'un chabot était introduit dans la cage, une plus grande proportion de gammarus infectés par *P. laevis* restaient hors du refuge par comparaison aux individus contrôles non infectés, alors qu'un tel effet n'était pas retrouvé chez les gammarus infectés par *P. minutus*. Dans une troisième expérience, nous avons estimé la réaction d'orientation d'individus non infectés et infectés face à l'odeur de chabot, en utilisant un dispositif de choix en Y. Les gammarus infectés par *P. laevis* passaient significativement plus de temps dans le bras diffusant l'odeur de prédateur alors que l'inverse a été observé chez les individus non infectés. A l'inverse, les individus infectés par *P. minutus* ne présentaient pas de réaction différente des individus non infectés. Nous discutons nos résultats en relation avec les bénéfices adaptatifs de la manipulation de l'hôte par les parasites.

Differential influence of two acanthocephalan parasites on the anti-predator behaviour of their common intermediate host

NICOLAS KALDONSKI¹, MARIE-JEANNE PERROT-MINNOT¹ & FRANK CEZILLY¹

¹ Equipe Ecologie-Evolutive, UMR CNRS 5561 Biogéosciences,

Université de Bourgogne, Dijon, France

Short title: Manipulation of host anti-predator behaviour

Corresponding author : F. Cézilly, Equipe Ecologie Evolutive, UMR CNRS 5561 Biogéosciences, Université de Bourgogne, 6 Blvd Gabriel, 21000 Dijon, France (email : frank.cezilly@u-bourgogne.fr)

Same adress for NK and MJPM

ABSTRACT

Several parasites alter their intermediate hosts' phenotype in ways that enhance trophic transmission to final hosts. In particular, fish acanthocephalans can modify the anti-predator behaviour of their hosts in response to cues from fish predators. However, it is still unclear whether such behavioural changes are adaptive, or are just the consequence of infection. We addressed this question through studying two acanthocephalans, *Pomphorhynchus laevis* and *Polymorphus minutus*, and their intermediate host, the crustacean amphipod *Gammarus pulex*. *P. laevis* completes its cycle in a freshwater fish, whereas *P. minutus* exploits waterbirds as final hosts. In a first microcosm experiment, we assessed the vulnerability of infected and uninfected gammarids to predation by a freshwater fish, the bullhead, *Cottus gobio*. *P. laevis*-infected gammarids were more susceptible to predation than uninfected ones, but only when a refuge was available. By contrast, no selective predation on *P. minutus*-infected individuals was recorded, independently of refuge availability. In a second experiment, we quantified refuge use by infected and uninfected individuals when a bullhead was present in an enclosure or when the enclosure was empty. No significant difference in refuge use was observed between groups in the absence of a predator. Although individuals of each group significantly increased refuge use in the presence of a bullhead, a larger proportion of *P. laevis* gammarids remained out of the refuge compared to uninfected controls, whereas no such effect was observed in *P. minutus*-infected ones. In a third experiment, we assessed reaction to bullhead olfactory cues in uninfected and infected gammarids, using a Y-maze apparatus. *P. laevis*-infected gammarids spent significantly more time in the predator-scented arm whereas the reverse was true in uninfected ones. *P. minutus*-infected individuals, however, did not differ from uninfected controls. We discuss our results in relation with the adaptive benefits of host manipulation by parasites.

Key words: acanthocephalan parasites, anti-predator behaviour, *Gammarus pulex*, increased trophic transmission, *Pomphorhynchus laevis*, *Polymorphus minutus*.

INTRODUCTION

Several species of parasites critically rely on a phase of trophic transmission from an intermediate host to a final host to complete their complex life cycle (Parker et al. 2003). Any alteration in the phenotype of the intermediate host that would result in increased vulnerability to predation by final hosts is thus supposed to benefit the parasite. Over the last thirty years, empirical evidence demonstrating the ability of some parasites to manipulate the phenotype of their intermediate hosts has accumulated (Moore 2002; Thomas et al. 2005). Parasites may change host appearance (Camp & Huizinga 1979; Oettinger & Nickol 1981; Bakker et al. 1997; Fuller et al. 2003), microhabitat choice (McNeil et al. 2003; Miura et al. 2006), behaviour (Bethel & Holmes 1973; Cézilly et al. 2000) and physiology (Plaistow et al. 2001; Tain et al. 2006). However, only a few empirical studies have convincingly demonstrated that changes in the phenotype of infected hosts, rather than a general decrease in stamina, are indeed responsible for the increased vulnerability of intermediate hosts to predation by appropriate final hosts (Cézilly & Perrot-Minnot 2005).

A particularly efficient way for parasites to achieve specificity in manipulation could be to target the anti-predator behaviour of their intermediate hosts (Hechtel et al. 1993; Berdoy et al. 2000). Many prey species have evolved a variety of adaptations to reduce predation risk, such as morphological structures, chemical repellents, crypsis and avoidance behaviours (Endler 1986; Sih 1987; Dodson et al. 1994; Kats & Dill 1998). In the presence of a specific predator, prey may alter their behaviour so that they are more difficult to encounter, detect or capture (Lima 1998). In the aquatic environment, in particular, olfactory assessment of predation risk can occur at distance and allow prey to react as to minimize the risk of encounter with predators (Peacor & Werner 1997; Turner 1997; Peckarsky & MacIntosh 1998; Huhta et al. 2000; Wisenden 2000). Aquatic prey organisms respond to predator-

associated chemical cues in a number of ways, most often by reducing activity level and increasing the use of refuge (for a review, see Kats & Dill 1998). In this context, any change induced by parasite on chemically-based predator recognition might be a fine-tuned strategy to reach a final host.

Recently, two independent studies (Baldauf et al. 2006; Perrot-Minnot et al. 2007) have provided direct evidence for manipulation of the anti-predator behaviour of the crustacean amphipod *Gammarus pulex* by acanthocephalan parasites. Baldauf et al. (2006) first showed that gammarids infected with the fish acanthocephalan parasite *Pomphorhynchus laevis* were attracted to the smell of a perch *Perca fluviatilis*, whereas uninfected individuals were repulsed by the same odour, independently of visual cues. Perrot-Minnot et al. (2007) went further through showing that infection of *G. pulex* with the congeneric parasite *Pomphorhynchus tereticollis* resulted in both increased vulnerability to predation by bullheads, *Cottus gobio*, in the field, and reversed anti-predator behaviour (as measured by use of refuges and reaction to chemical cues from the predator). However, whether such an alteration of host anti-predator behaviour is peculiar to fish parasites, or is just a by-product of infection with acanthocephalans remains so far unclear.

We addressed this question in a series of experiments using two species of acanthocephalan parasites and their common intermediate host, the crustacean amphipod *Gammarus pulex*. In Burgundy (eastern France), both *P. laevis* and *Polymorphus minutus*, a bird acanthocephalan, exploit the amphipod *G. pulex* as intermediate host. Each parasite is known to induce specific behavioural modifications in their intermediate host, with *P. laevis* affecting mainly phototactism whereas *P. minutus* reverses geotactism (Cézilly et al. 2000). *P. laevis* is known to establish in several fish species, including the bullhead (Rumpus 1975; Kennedy 1999). By contrast, being predated by a bullhead represents a dead-end for *P.*

minutus. We first compared in a series of controlled experiments the vulnerability of *P. laevis*-infected gammarids and *P. minutus*-infected ones to predation by bullhead, which is both an appropriate final host for the parasite and one of the main predators of amphipods in freshwater ecosystems (Andersson et al. 1986; Andersen et al. 1993; MacNeil et al. 1999). Second, as *G. pulex* is known to show marked anti-predator behaviour in response to predators' cues (Williams & Moore 1985; Holomuzki & Hoyle 1990; Wudkevich et al. 1997; Dahl et al. 1998; Baldauf et al. 2006; Perrot-Minnot et al. 2007), we assessed the influence of each parasite on the anti-predator behaviour of their common intermediate host using two different methods.

METHODS

Uninfected, *P. laevis* and *P. minutus*-infected *G. pulex* were collected from July to September in 2004 and 2005 in the river Ouche at Dijon (Burgundy, eastern France) using the kick sampling method (Hynes 1954). Adult males were selected for the experiments, within sizes ranging from 11 to 15 mm long. They were maintained in large, separated, well aerated tanks, filled with dechlorinated tap water and fed with leaves and fish food, for at least one week of acclimatization to room and water condition before experiments. Bullheads, with a size ranging from 75 to 85 mm were caught with a dipnet, kept in the room for one month before the experiments and fed with gammarids. They were starved for 24 hours prior to the experiments. Room temperature was kept constant at 15°C with a light:dark cycle of 12:12 hours.

Selectivity of bullheads toward infected preys

The selectivity of bullheads toward gammarids preys infected with either fish or bird acanthocephalans was assessed during predation tests performed in a controlled lab-microcosm. Predation tests were carried out in $32 \times 20 \times 20$ cm aquaria, filled with 7-l of dechlorinated and oxygenated tap water. A simple habitat set-up consisted of washed river sand substrate, whereas a complex habitat set-up was composed of a piece of air-brick ($21.5 \times 10 \times 5$ cm) placed on the sand substrate plus two *Apiacea* plants; both air-brick and plants could be used by gammarids as refuges. Aquaria were screened with brown plastic on four sides and at the bottom to avoid any lateral disturbance. Overhead solar spectra fluorescent tubes (JBL Solar Natur, 25W and 9000°K) provided an illumination of 700 lux. This light intensity is equivalent to dawn or dusk light conditions, under which bullheads show peak predatory activity in the field (Andreasson 1969). Predators were offered a 30:70 infected:uninfected prey ratio. To that end, we introduced 42 uninfected gammarids and either 18 *P. laevis* or 18 *P. minutus*-infected gammarids in the aquarium 15 min before introducing one individual bullhead. Each individual bullhead was used for only one test. Following preliminary experiments, the duration of each trial was set at 90 min. At the end of each trial, the bullhead and the remaining prey were removed, surviving gammarids counted, and we recorded the percentage of surviving infected prey. All material was then carefully rinsed with tap water. Bullheads were released in their habitat of origin at the end of the experiments.

Following Seppälä et al. (2004), differential of predation between the two prey types was assessed using the probabilistic approach described in Manly (1974) which allows for the depletion of prey during the course of the trial, and thus for changes in the proportions of available prey classes as prey are eaten. Only experiments where more than 6 preys had been eaten were kept for analysis (see Manly 1974). To determine predator selectivity for infected gammarids, we calculated Manly's alpha (α_i) for variable prey population using the equation

$$\alpha_i = \frac{\log_e p_i}{\sum_{j=1}^m \log p_j}$$

where α_i = Manly's alpha (preference index) for prey type I , p_i and p_j = proportion of prey i or j remaining at the end of the trial, and m = number of prey types. Manly's selectivity index ranges from 0 (when only uninfected prey are eaten) to 1 (when only infected prey are eaten), with a value of 0.5 for absence of preference. Observed values of α_i were compared to a situation of equal vulnerability ($\alpha_i = 0.5$) using a two-tailed nonparametric sign test, since the assumptions of parametric tests were not met.

Influence of infection on refuge use

Bullhead are known to emit both acoustic and olfactory signals. Acoustic 'knocking' sounds are produced by the males to attract a female (Ladich 1989) and have a territorial function in the sexual season, but are rare compared to chemical cues associated with mucus and urine production. Gammarids are known to respond to these stimuli, but in greater proportion to the later (Andersson et al. 1986). The typical reaction is a hiding behaviour under stones or any refuge around, and diminishing activity (Wudkevich et al. 1997).

Experiments were performed in the same experimental set-up than previously, except that this time only the piece of air brick was made available as refuge. For each test, 10 individual gammarids of the same type (uninfected, *P. laevis* or *P. minutus*-infected) were placed in the aquarium. The number of gammarids outside the refuge was then recorded after 90 min, either in a predator-free situation, or when a single bullhead had been placed in a microperforated enclosure inside the aquarium. Since data were not normally distributed, we used a Kruskal-Wallis test, followed by post hoc tests for comparison to a control (Siegel &

Castellan 1988), to assess the effect of each parasitic infection on the use of refuge, in the presence or in the absence of a predator. Mann-Whitney *U* tests were subsequently used to compare the use of refuge in the absence vs. in the presence of a predator within each group (uninfected, *P. laevis* or *P. minutus*-infected).

Response to fish odour

Water is an excellent medium for the solubilization and dispersal of chemical signals, and the anti-predator response of both vertebrate and invertebrate prey to predator chemical cue is well known to confer a fitness benefit (Wisenden et al. 1997). Response to fish odour is thus a critical component of susceptibility to predation. Experiments were carried out in a Y-maze olfactometre made of clear glass as described in Perrot-Minnot et al. (2007). Experiments were run between 9 AM to 5 PM. All observations were done behind a curtain to minimize interference with the observer. Bullhead-conditioned water was obtained through placing a single fish for 24 hours into a clean aquarium with 250 ml of dechlorinated tap water per fish cm. Total length of bullheads ranged from 80 to 90 mm. At the end of each trial, a small quantity of tap water was added to the aquarium to refill it from the lost volume. Oxygenated and dechlorinated tap water was used as control water.

Each experimental trial lasted 11 min. After a pre-flow time of 1 min, a single specimen of *G. pulex* was introduced in the starting area in the 4 downstream centimetres of the Y-maze. Following a 5 min acclimatization period, scented water was connected to the olfactometre, the door was simultaneously removed, releasing the gammarid that was expected to swim against the mild current of the inflow due to rheotaxis. Gammarid behaviour was directly observed for 5 min using a Psion Workabout. After each run, the test gammarid was removed and the olfactometre and connecting tubes were carefully rinsed with tap water. The inflow arm of the treatment water was switched after every 5 replicates to

control for any side preference, at which moment the olfactometre was cleaned with ethanol and tap water. We used a different gammarid for each replicate and a different bullhead every 30 gammarids (such that 10 gammarids of each group were tested with a single bullhead). Trials where gammarids showed no movement for 2 min following door-lifting or spent less than 20% of total time in the two inflow arms were not considered in the analysis. For each trial, the proportion of total time spent in the treated arm was calculated. Arcsin square root-transformed proportions met normality (Shapiro-Wilk test), thus allowing the use of parametric tests. We calculated 95% confidence intervals around the mean proportion of time spent in the scented arm. Comparison between uninfected, *P. laevis* and *P. minutus*-infected gammarids were made using an ANOVA (Sokal & Rohlf 1995).

All statistical tests were performed with JMP statistical software v. 5.0 (SAS Institute Inc.).

RESULTS

Selectivity of bullhead toward infected preys

A total of 823 gammarids were eaten by 62 different bullheads in the microcosm experiments. Figure 1 shows variation in specificity in predation towards infected prey in relation to parasite species and presence/absence of refuges, as assessed from Manly's α preference index. Selective predation on parasitized prey was significant in the case of *P. laevis*-infection only when a refuge was available (Sign test, without refuge: $P = 0.4545$; with refuge: $P = 0.0180$). By contrast, *P. minutus*-infected prey did not differ from uninfected ones in vulnerability to predation by bullheads, both in the absence ($P = 1.000$) and presence of a refuge ($P = 0.6072$). Vulnerability of *P. laevis*-infected gammarids was higher than that of *P.*

minutus-infected ones only in the presence of refuge (Mann-Whitney U test: with refuge: $U = 25.5$, $N_{P. laevis} = N_{P. minutus} = 15$, $P = 0.0003$; without refuge: $U = 68.5$, $N_{P. laevis} = N_{P. minutus} = 16$, $P = 0.07$).

Influence of infection on refuge use

Infection status had no significant influence on refuge use in the absence of a predator (Kruskal-Wallis test: $H_2 = 3.43$, $P = 0.18$; Fig. 2). The presence of a predator induced an increase in the use of refuge in all three groups (Mann-Whitney U test: uninfected: $U = 0$, $N_{without\ bullhead} = N_{with\ bullhead} = 8$, $P < 0.001$; *P. laevis*-infected: $U = 12$, $N_{without\ bullhead} = N_{with\ bullhead} = 8$, $P = 0.033$; *P. minutus*-infected: $U = 5$, $N_{without\ bullhead} = N_{with\ bullhead} = 8$, $P = 0.0037$), but not to the same extent. Indeed, refuge use in the presence of a predator differed between the three groups (Kruskal-Wallis test: $H_2 = 8.25$, $P = 0.016$). This difference was actually due to a lower use of refuge by *P. laevis*-infected individuals compared to uninfected (comparison to uninfected control: $q = 2.891$, $P < 0.01$) whereas *P. minutus*-infected individuals and uninfected did not differ ($q = 0.535$, $P > 0.05$).

Response to fish odour

Response to fish odour in a Y-maze olfactometre differed significantly between uninfected and infected gammarids (ANOVA, $F_{2,117} = 9.58$, $P < 0.0001$; Fig. 3). Percentage of time spent by uninfected gammarids was significantly lower in the arm with scented water than expected under the assumption of random choice (time spent in the scented arm over the total time spent in the inflow arms: mean and 95% confidence interval on back-transformed data =

39.2% [32.3% - 46.4%], $N = 41$; Fig. 3). By contrast, *P. laevis*-infected gammarids spent significantly more time in the arm with bullhead-conditioned water (mean and 95% confidence interval on back-transformed data = 60.6% [53.5% - 67.4%], $N = 43$; Fig. 3). The difference between the two groups was significant (least-square contrast post-hoc comparison: $F_{1,115} = 17.00$, $P < 0.0001$). *P. minutus*-infected individuals spent on average 43.1% ([35.2% - 51.2%], $N = 34$) of their time in the predator-scented arm, and did not differ from uninfected individuals (least-square contrast post-hoc comparison: $F_{1,115} = 0.48$, $P = 0.49$).

DISCUSSION

Overall, our results, together with those of previous studies (Hechtel et al. 1993; Bakker et al. 1997; Wellnitz et al. 2003; Baldauf et al. 2006; Perrot-Minnot et al. 2007), show that the modification of the anti-predator behaviour of crustacean intermediate hosts by fish acanthocephalans may contribute to increase the trophic transmission of parasites to fish final hosts. In addition, the present study indicates that, in the same conditions, gammarids infected by a bird acanthocephalan do not show increased vulnerability to a fish predator. Therefore, taken together, our results suggest that the alteration of the anti-predator behaviour of intermediate hosts might ensure trophic transmission to appropriate final hosts, thus providing evidence for some degree of specificity in parasitic manipulation. Such specificity in manipulation supports the hypothesis of adaptive manipulation according to one of the key criteria of fitness gain proposed by Poulin (1995).

Compared to several previous investigations of the influence of parasites on the anti-predator of their hosts (i.e. Hechtel et al. 1993; Berdoy et al. 2000; Wellnitz et al. 2003; Baldauf et al. 2006; but see Perrot-Minnot et al. 2007), the present study combined detailed analysis of anti-predator behaviour with predation tests in microcosms. One of the major criticisms of predation experiments made in microcosms is the use of unrealistic ratio of

parasitized prey, hence favorizing their overconsumption (Nickol 2005; Thomas et al. 2005). Indeed, in most previous studies (e.g. Bethel & Holmes 1977; Camp & Huizinga 1979; Bakker et al. 1997) infected and uninfected preys were offered in equal proportions, such that infected prey were over-represented compared to their natural prevalence. By contrast, in the present study, the proportions of infected and uninfected prey (30:70) were closer to field prevalence of infected gammarids in the drift (L. Bollache et al. unpublished data).

One particular interest of our results is the strong congruence between the results of predation experiments and those related to the use of refuge and response to predator chemical cues by uninfected and infected prey. No difference was observed in the use of refuge between uninfected gammarids, *P. laevis*-infected, and *P. minutus*-infected ones in the absence of a predator. A difference in the use of refuge was only observed in the presence of a predator. Although *P. laevis*-infected individuals increased their use of refuge in the presence of a predator, they did so with less intensity than uninfected and *P. minutus*-infected ones. Accordingly, differential predation on *P. laevis*-infected individuals was significant only when refuges were made available. The importance of reaction to predator chemical cues is further demonstrated by the experiments using the Y-maze olfactometer. Considered alone, the lesser use of refuge by *P. laevis*-infected gammarids in the presence of predator cues, compared to *P. minutus*-infected and uninfected ones, is open to alternative explanations. Infection with *P. laevis* may render gammarids less able to detect fish odour, or infected gammarids may remain able to detect it but not respond accordingly (see Wellnitz et al. 2003). Here, however, the use of a distant system of chemical predator perception allowed us to separate chemical cues from other factors. The significant attraction of *P. laevis*-infected individuals towards chemical cues from a bullhead clearly shows that infected individuals are

indeed able to perceive chemical stimuli, but differ from uninfected ones in their response to predator scent (see also Perrot-Minnot et al. 2007).

Infection by acanthocephalans can result in various alterations of the host phenotype (Bakker et al. 1997; Cézilly et al. 2000; Baldauf et al. 2006; this study) that may all contribute to increased vulnerability to predation by final hosts. It has been previously shown that *P. laevis* reverses photokinesis in *G. pulex*, whereas *P. minutus* strongly alters geotaxis (Cézilly et al. 2000). Both alterations of host behaviour may contribute to increase appropriate transmission to appropriate final hosts. However, the effect of manipulating parasites on host responses to light and gravity may not be sufficient to explain differential susceptibility in the field (Bakker et al. 1997; Levri & Fisher 2006). Other variables, such as cues from predators and increased conspicuousness of infected hosts (Camp & Huizinga 1979; Oettinger & Nickol 1981; Fuller et al. 2003), may be important and interact with physical cues to determine the behaviour of infected hosts. In this respect, the absence of differential predation between *P. laevis*-infected individuals and uninfected ones in the absence of refuge seems at first sight to contradict the results of Bakker et al. (1997) who found that the change in appearance of infected individuals (due to the orange cystacanth being visible through the host's translucent cuticle) contributed directly to their increased vulnerability to a fish predator. However, the two studies used different predator species. Bakker et al. (1997) studied predation by sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* who are active predators and in which females show a marked sensory bias for red-orange coloration in relation to male nuptial ornaments. By contrast, the bullhead is an ambush predator with no known sensory bias in colour perception. The precise importance of parasite coloration versus host modified behaviour in increasing vulnerability to predators deserves however further consideration. Cystacanths of *P. minutus* are bright orange and *P. minutus*-infected gammarids appear, at least to the human eye, even

more conspicuous than *P. laevis*-infected ones. If cystacanth coloration does increase vulnerability to fish predators, then the underconsumption of *P. minutus*-infected preys by bullheads observed in the present study suggests that parasitic manipulation of *G. pulex* by *P. minutus*, through an increased use of refuges, might compensate for increased conspicuousness. Alternatively, the presence of a yellow-orange cystacanths visible through the host's cuticle may not increase the conspicuousness of infected gammarids to bullheads. Clearly, additional experiments are required to evaluate the relative importance of parasite coloration and modified host behaviour in increased trophic transmission to final hosts.

The present study goes beyond earlier findings on parasitic manipulation of host anti-predator behaviour (Hechtel et al. 2003; Berdoy et al. 2000; Baldauf et al. 2006; Perrot-Minnot et al. 2007) through adding empirical evidence for specificity (see also Tain et al. 2006). Additional data on risk of predation by non-hosts in other host-parasite associations would be particularly valuable to evaluate the overall importance of specificity in trophic transmission for the evolution of host manipulation by parasites.

Acknowledgements

NK was funded by a doctoral grant from the MENRT. We thank Sébastien Motreuil for help with field sampling and Raphaël Dodet and Stéphanie Lecuelle for help with lab work.

References

Andersen, T. H., Friberg, N., Hansen, H. O., Iversen, T. M., Jacobsen, D. &

Krøjgaard, L. 1993. The effects of introduction of Brown Trout (*Salmo trutta* L.) on

- Gammarus pulex* L. drift and density in two fishless Danish streams. *Archiv für Hydrobiologie*, **126**, 361-371.
- Andersson, K. G., Brönmark, C., Herrmann, J., Malmqvist, B., Otto, C. & Sjöström, P.** 1986. Presence of sculpins (*Cottus gobio*) reduces drift and activity of *Gammarus pulex* (Amphipoda). *Hydrobiologia*, **133**, 209-215.
- Andreasson, S.** 1969. Locomotor activity patterns of *Cottus poecilopus* Heckel and *C. gobio* L., (Pisces). *Oikos*, **20**, 78-94.
- Bakker, T. C. M., Mazzi, D. & Zala, S.** 1997. Parasite-induced changes in behavior and color make *Gammarus pulex* more prone to fish predation. *Ecology*, **78**, 1098-1104.
- Baldauf, S. A., Thünken, T., Frommen, J. G., Bakker, T. C. M., Heupzl, O. & Kullmann, H.** 2006. Infection with an acanthocephalan manipulates an amphipod's reaction to a fish predator's odour. *International Journal for Parasitology*, in press.
- Berdoy, M., Webster, P. P. & Macdonald, D. W.** 2000. Fatal attraction in rats infected with *toxoplasma gondii*. *Proceeding of the royal society of London, Series B*, **267**, 1591-1594.
- Bethel, W. M. & Holmes, J. C.** 1973. Altered evasive behavior and responses to light in amphipods harboring acanthocephalan cystacanths. *Journal of Parasitology*, **59**, 945-956.
- Bethel, W. M. & Holmes, J. C.** 1977. Increased vulnerability of amphipods to predation owing to altered behaviour induced by larval acanthocephalans. *Canadian Journal of Zoology*, **55**, 110-116.
- Camp, J. W. & Huizinga, H. W.** 1979. Altered color, behavior and predation

- susceptibility of the isopod *Asellus intermedius* infected with *Acanthocephalus dirus*. *Journal of Parasitology*, **65**, 667-669.
- Cézilly, F., Grégoire, A. & Bertin, A.** 2000. Conflict between co-occurring manipulative parasites? An experimental study of the joint influence of two acanthocephalan parasites on the behaviour of *Gammarus pulex*. *Parasitology*, **120**, 625-630.
- Cézilly, F. & Perrot-Minnot, M.-J.** 2005. Studying adaptive changes in the behaviour of infected hosts: a long and winding road. *Behavioural processes*, **68**, 223-228.
- Dahl, J., Anders Nilsson, P. & Pettersson, L. B.** 1998. Against the flow: chemical detection of downstream predators in running waters. *Proceedings of the Royal society of London, Series B*, **265**, 1339-1344.
- Dodson, S. I., Crowl, T. A., Peckarsky, B. L., Kats, L. B., Covich, A. P. & Culp, J. M.** 1994. Non-visual communication in freshwater benthos: an overview. *Journal of the North American Benthological Society*, **13**, 268-282.
- Endler, J. A.** 1986. Defense against predators. In: *Predator-prey relationships: perspectives and approach from the study of lower invertebrates* (Ed. by Feder, M. E. & Lauder, G. V.), pp. 109-134. Chicago: University of Chicago press.
- Fuller, C. A., Rock, P. & Philips, T.** 2003. Behavior, color changes and predation risk induced by acanthocephalan parasitism in the Caribbean Termite *Nasutitermes acajutlae*. *Caribbean Journal of Science*, **39**, 128-135.
- Hechtel, L. J., Johnson, C. L. & Juliano, S. A.** 1993. Modification of antipredator behavior of *Caecidotea intermedius* by its parasite *Acanthocephalus dirus*. *Ecology*, **74**, 710-713.
- Holomuzki, J. R. & Hoyle, J. D.** 1990. Effect of predatory fish presence on habitat

- use and diel movement of stream amphipod, *Gammarus minus*. *Freshwater Biology*, **24**, 509-517.
- Huhta, A., Muotka, T. & Tikkanen, P.** 2000. Nocturnal drift of mayfly nymphs as a post-contact antipredator mechanism. *Freshwater Biology*, **45**, 33-42.
- Hynes, H. B. N.** 1954. The ecology of *Gammarus duebeni* Lilljeborg and its occurrence in fresh water in western Britain. *Journal of Animal Ecology*, **23**, 38-84.
- Kats, L. B. & Dill, L. M.** 1998. The scent of death: chemosensory assessment of predation risk by prey animals. *Ecoscience*, **5**, 361-394.
- Kennedy, C. R.** 1999. Post-cyclic transmission in *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *Folia Parasitologica*, **46**, 111-116.
- Ladich, F.** 1989. Sound production by the river bullhead, *Cottus gobio* L. (Cottidae, Teleostei). *Journal of fish biology*, **35**, 531-538.
- Levri, E. P. & Fisher, L. M.** 2000. The effect of a trematode parasite (*Microphallus* sp.) on the response of the freshwater snail *Potamopyrgus antipodarum* to light and gravity. *Behaviour*, **137**, 1141-1151.
- Lima, S. L.** 1998. Non-lethal effects in the ecology of predator-prey interactions. *Bioscience*, **48**, 25-34.
- MacNeil, C., Dick, J. T. A. & Elwood, R. W.** 1999. The dynamics of predation on *Gammarus* spp. (Crustacea: Amphipoda). *Biological Review*, **75**, 375-395.
- MacNeil, C., Fielding, N. J., Hume, K. D., Dick, J. T. A., Elwood, R. W., Hatcher, M. J. & Dunn, A. M.** 2003. Parasite altered micro-distribution of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *International Journal for Parasitology*, **33**, 57-64.
- Manly, B. F. J.** 1974. A model for certain types of selection experiments. *Biometrics*, **30**, 281-294.

Miura, O., Kuris, A. M., Torchin, M. E., Hechinger, R. F. & Chiba, S. 2006.

Parasite alter host phenotype and may create a new ecological niche for snail hosts. *Proceeding of the royal society of London, Series B*, **273**, 1323-1328.

Moore, J. 2002. *Parasites and the behavior of animals*. New-York: Oxford University press.

Nickol, B. B. 2005. Parasitic manipulation: should we go anywhere? *Behavioural processes*, **68**, 201-203.

Oetinger, D. F. & Nickol, B. B. 1981. Effects of acanthocephalans on pigmentation of freshwater isopods. *Journal of Parasitology*, **67**, 672-684.

Parker, G. A., Chubb, J. C., Ball, M. A. & Roberts, G. N. 2003. Evolution of complex life cycles in helminths parasites. *Nature*, **425**, 480-484.

Peacor, S. D. & Werner, E. E. 1997. Trait-mediated indirect interactions in a simple aquatic food web. *Ecology*, **78**, 1146-1156.

Peckarsky, B. L. & McIntosh, A. R. 1998. Fitness and community consequences of avoiding multiple predators. *Oecologia*, **113**, 565-576.

Perrot-Minnot, M.-J., Kaldonski, N. & Cézilly, F. 2007. Increased susceptibility to predation and altered anti-predator behaviour in an acanthocephalan-infected host. *International Journal for Parasitology*, **in press**.

Plaistow, S. J., Troussard, J.-P. & Cézilly, F. 2001. The effect of the acanthocephalan parasite *Pomphorhynchus laevis* on the lipid and glycogen content of its intermediate host *Gammarus pulex*. *International Journal for Parasitology*, **31**, 346-351.

Poulin, R. 1995. "Adaptive" changes in the behaviour of parasitized animals: a critical review. *International Journal for Parasitology*, **25**, 1371-1383.

- Rumpus, A. E.** 1975. The helminth parasites of the bullhead *Cottus gobio* (L.) and the stone loach *Noemacheilus barbatulus* (L.) from the River Avon, Hampshire. *Journal of Fish Biology*, **7**, 469-483.
- Seppälä, O., Karvonen, A. & Valtonen, E. T.** 2004. Parasite-induced change in host behaviour and susceptibility to predation in an eye fluke fish interaction. *Animal Behaviour*, **68**, 257-263.
- Siegel, S. & Castellan, N. J.** 1988. *Nonparametric statistics for the Behavioral Sciences*. New-York: McGraw-Hill.
- Sokal, E. R. & Rohlf, F. J.** 1995. *Biometry*. New-York: Freeman, W. H.
- Tain, L., Perrot-Minnot, M.-J. & Cézilly, F.** 2006. Altered host behaviour and brain serotonergic activity caused by acanthocephalans: evidence for specificity. *Proceeding of the royal society of London, Series B*, **273**, 3039-3045.
- Thomas, F., Adamo, S. A. & Moore, J.** 2005. Parasitic manipulation: where are we and where should we go? *Behavioural processes*, **68**, 185-199.
- Turner, A. M.** 1997. Contrasting short-term and long-term effects of predation on consumer habitat use and resources. *Behavioral Ecology*, **8**, 120-125.
- Wellnitz, T. A., Giari, L., Maynard, B. J. & Dezfuli, B. S.** 2003. A parasite spatially structures its host population. *Oikos*, **100**, 263-268.
- Williams, D. D. & Moore, K. A.** 1985. The role of semiochemicals in benthic community relationships of the lotic amphipod *Gammarus pseudolimnaeus*: a laboratory analysis. *Oikos*, **44**, 280-286.
- Wisenden, B. D.** 2000. Olfactory assessment of predation risk in the aquatic environment. *Philosophical Transactions of The Royal Society of London, Series B*, **355**, 1205-1208.

Wisenden, B. D., Chivers, D. P. & Smith, J. F. 1997. Learned recognition of predation risk by *Enallagma* Damselfly larvae (Odonata, Zygoptera) on the basis of chemical cues. *Journal of Chemical Ecology*, **23**, 137-151.

Wudkevich, K., Wisenden, B. D., Chivers, D. P. & Smith, J. F. 1997. Reactions of *Gammarus lacustris* to chemical stimuli from natural predators and injured conspecifics. *Journal of Chemical Ecology*, **23**, 1163-1173.

FIGURES

Figure 1. Box plot indicating median, interquartile range and range for differential predation on infected vs. uninfected *G. pulex* as assessed from Manly's α preference index (light bars: no refuge available; dark bars: refuge available). Values above the dashed line indicate over-consumption of infected prey. Numbers above the bars are sample size.

Figure 2. Box plot indicating refuge use by uninfected, *P. laevis*-infected, and *P. minutus*-infected *G. pulex* in a microcosm setting. Light bars: without predator; dark bars: with predator ($N = 8$ replicates for each group). Groups connected by above lines are significantly different (see text for methods).

Figure 3: Time spent by uninfected, *P. laevis*-infected, and *P. minutus*-infected gammarids in the predator scented arm in the Y-maze experiment. Dashed line represents random visit of control and stimulus arms. Means are given $\pm$ 95% confidence interval. Numbers in the bars are sample size.

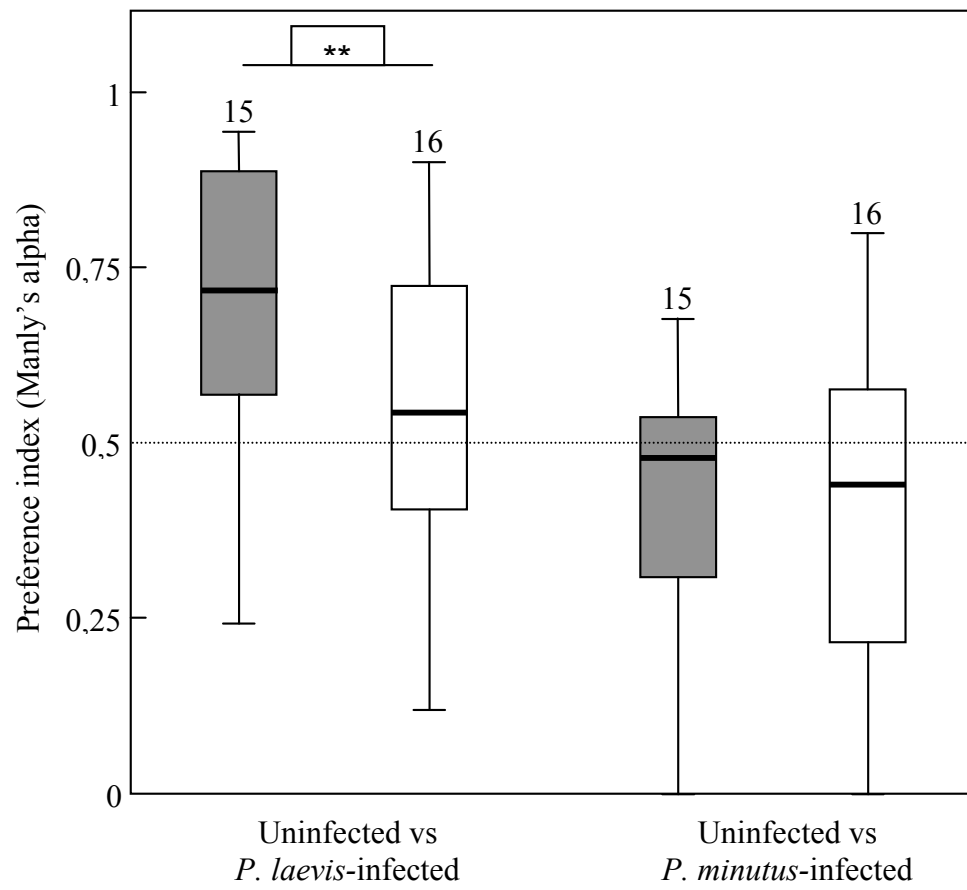


Figure 1

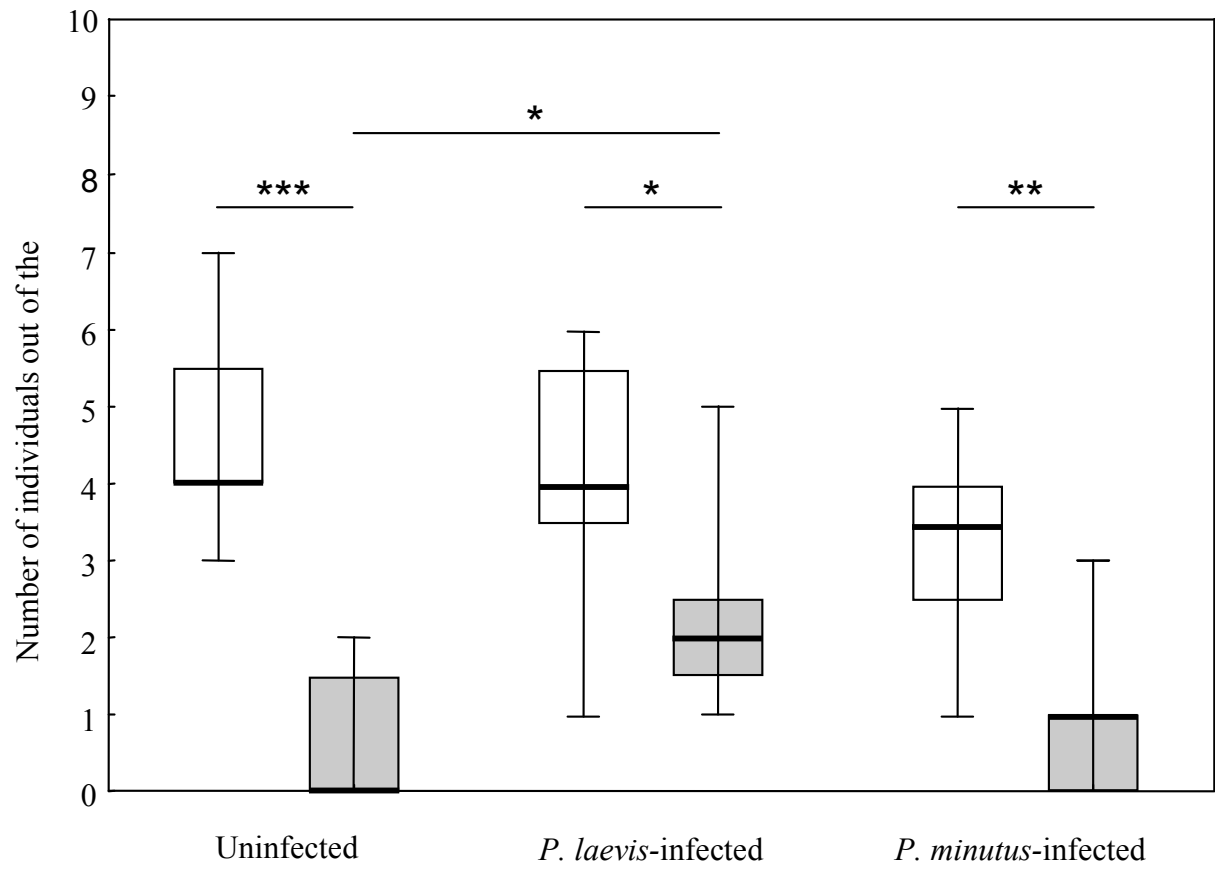


Figure 2

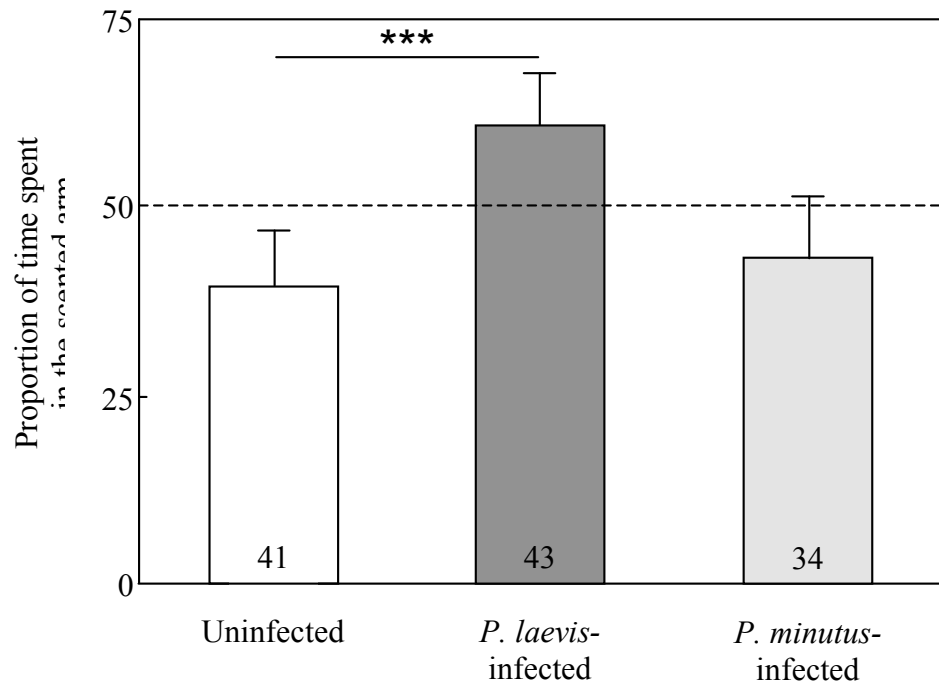


Figure 3

« Infection with acanthocephalans increases the vulnerability of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) to non-host invertebrate predators »

Nicolas Kaldonski, Marie-Jeanne Perrot-Minnot, Sébastien Motreuil & Frank Cézilly

Freshwater Biology, soumis

L'infection par des acanthocéphales augmente la vulnérabilité de *Gammarus pulex* (Crustacé, Amphipode) face à des prédateurs invertébrés non-hôtes

Résumé: 1. Alors que les parasites peuvent jouer un rôle majeur dans la structure des communautés et la stabilité des écosystèmes, en particulier en altérant le comportement de leurs hôtes et en les rendant plus vulnérables à la prédation, leur influence dans les écosystèmes aquatiques reste peu documentée.

2. De nombreuses espèces de parasites à cycle complexe exploitent des invertébrés aquatiques comme hôtes intermédiaires et comptent sur différentes espèces de poissons ou d'oiseaux d'eau pour achever leur cycle de vie. Selon l'hypothèse de la manipulation parasitaire, les altérations phénotypiques induites par ces parasites chez leurs hôtes intermédiaires contribuent à augmenter leur transmission à l'hôte final. Cependant, les infections parasitaires peuvent augmenter la vulnérabilité des hôtes intermédiaires à un large panel de prédateurs, y compris des espèces ne pouvant servir d'hôtes définitifs, et donc pouvant avoir des conséquences importantes au niveau des flux d'énergie dans les écosystèmes aquatiques.

3. Nous avons mené des expériences en microcosme afin d'étudier l'influence de l'infection par trois parasites manipulateurs différents (*Pomphorhynchus laevis*, *Pomphorhynchus tereticollis* et *Polymorphus minutus*, Acanthocéphales) sur la susceptibilité de l'amphipode *Gammarus pulex* à la prédation par deux prédateurs non hôtes différant par leur comportement alimentaire et leur utilisation de l'habitat.

4. Globalement, l'infection par les acanthocéphales augmente significativement la vulnérabilité des gammarus à la prédation par la nêpe cendrée *Nepa cinerea* et, dans une moindre mesure, par l'écrevisse américaine *Orconectes limosus*. Cependant, la sélectivité des prédateurs envers les proies infectées varie à la fois en fonction de l'espèce de parasite et de la disponibilité de refuges pour les proies.

5. L'infection par les parasites semblant augmenter la susceptibilité à la prédation par des prédateurs non-hôtes, les conséquences réelles des altérations phénotypiques associées à l'infection parasitaire, à la fois en terme d'augmentation de transmission trophique des parasites et de circulation d'énergie dans les écosystèmes demeurent peu claires.

Infection with acanthocephalans increases the vulnerability of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) to non-host invertebrate predators

Nicolas Kaldonski, Marie-Jeanne Perrot-Minnot, Sébastien Motreuil & Frank Cézilly

Equipe Ecologie-Evolutive, UMR CNRS 5561 Biogéosciences,
Université de Bourgogne, Dijon, France

Short title: vulnerability of infected prey to non-host predators

Correspondence : N. Kaldonski, Equipe Ecologie Evolutive, UMR CNRS 5561
Biogéosciences, Université de Bourgogne, 6 Blvd Gabriel, 21000 Dijon, France (email :
nicolas.kaldonski@u-bourgogne.fr)

Same address for MJPM, SM and FC

Keywords: trophic transmission, food webs, complex life-cycle, adaptive manipulation

SUMMARY

1. Although parasites can play a major role in community structure and ecosystem stability, in particular through altering the behaviour of their hosts and making them more vulnerable to predators, the influence of parasites in aquatic ecosystems remains poorly documented.
2. Several parasite species with complex life cycles exploit aquatic invertebrates as intermediate hosts while relying on various fish or aquatic bird species to complete their life cycle. According to the manipulation hypothesis, phenotypic alterations induced by parasites in their intermediate hosts contribute to enhance parasite transmission to appropriate final hosts. However, parasitic infection may increase the vulnerability of intermediate hosts to a large range of predators, including species that are not appropriate final hosts, and, thus, may have important consequences for energy flow in aquatic ecosystems.
3. We performed experiments in microcosms to study the influence of infection with three different manipulative parasites (*Pomphorhynchus laevis*, *Pomphorhynchus tereticollis*, and *Polymorphus minutus*, Acanthocephala) on the susceptibility of the amphipod *Gammarus pulex* to predation by two non-host predators differing in feeding behaviour and habitat-use. Overall, infection with acanthocephalans significantly increased the vulnerability of amphipods to predation by both water scorpions, *Nepa cinerea*, and, to a lesser extent, by crayfish, *Oronectes limosus*. However, selectivity for infected prey varied between predators according to both parasite species and the availability of refuges.
4. As infection with parasites appears to increase susceptibility to predation by non-hosts, the true consequences of phenotypic changes associated with parasitic infection, both in terms of increased trophic transmission of parasites and circulation of energy in ecosystems, remain unclear.

Introduction

The role of parasites in ecosystem stability, community structure, and biodiversity has recently gained considerable attention (Mouritsen & Poulin, 2005; Thomas, Renaud & Guégand, 2005; Hatcher, Dick & Dunn, 2006; Hudson, Dobson & Lafferty, 2006; Lafferty, Dobson & Kuris, 2006). Parasites can directly or indirectly influence interspecific competition and population dynamics (Fielding *et al.*, 2005; Hatcher *et al.*, 2006), increase connectance and nestedness in food webs (McCahon, Maund & Poulton, 1991; Lafferty *et al.*, 2006), and influence production (Hudson *et al.*, 2006). Parasites are however most likely to have ecosystem effects when they alter the behaviour of their hosts and/or make hosts more vulnerable to predators (Hudson *et al.*, 2006). Such effects may have important consequences for energy flow in ecosystems.

In aquatic ecosystems, various parasites, such as trematodes, cestodes and acanthocephalans, can have a major influence on trophic webs, in particular through increasing the vulnerability of their invertebrate intermediate hosts to various predators (Bratley, 1983; Webber, Rau & Lewis, 1987; Knudsen *et al.*, 2001; MacNeil *et al.*, 2003). Such parasites with complex life cycles critically rely on trophic transmission from an intermediate host to a final host to complete their complex life cycle (Lafferty & Morris, 1996; Thomas & Poulin, 1998; Seppälä, Karvonen & Valtonen, 2006a). Any influence of the parasite on its intermediate host phenotype that results in increased trophic transmission to an appropriate final host is thus thought to be favoured by natural selection (Dawkins, 1982; Combes, 1991; Poulin, 1995). Accordingly, several helminth species have been shown to bring about phenotypic changes in their intermediate hosts that appear to enhance trophic transmission to final hosts (Moore, 2002; Thomas, Adamo & Moore, 2005). However, it is not clear whether such alterations in host phenotype specifically enhance transmission to appropriate final hosts, or actually increase the susceptibility of intermediate hosts to a large range of predators, including non-host species (MacNeil, Dick & Elwood, 1999; Mouritsen & Poulin, 2003; Cézilly & Perrot-Minnot, 2005). Mouritsen and Poulin (2003) observed that the intertidal cockle *Austrovenus stutchburyi* manipulated by the bird trematode *Curtuteria australis* was actually exposed to a high risk of attack by a benthic feeding fish, *Notolabrus celidotus*. Quantitative estimations indicated that only 2.5% of the parasite population in manipulated cockles was transmitted to appropriate bird final hosts, whereas 17.1% was lost

to fish (Mouritsen & Poulin, 2003). Similarly, Ness and Foster (1999) observed that threespine sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*, parasitized by the bird tapeworm *Schistocephalus solidus* showed increased susceptibility to visually hunting predators, appropriate hosts and non-hosts (e.g. trout) alike. By contrast, Seppälä, Karvonen & Valtonen (2006b) found that uninfected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and trout infected with the eye fluke *Diplostomum spathaceum*, did not differ in their susceptibility to predation by a non-host species, the pike, *Esox lucius*. However, experimental evidence of increased susceptibility of eye fluke-infected fish to predation by appropriate final hosts (e.g. birds) remains ambiguous (Seppälä *et al.*, 2006a). Cost of predation by non-hosts might be reduced if a fraction of non-host predators are themselves preyed upon by appropriate final hosts (Nickol, Fuller & Rock, 2006). Parasites may eventually survive in such paratenic hosts, although the importance of paratenic hosts in the evolution of complex life cycles remains unclear (Zelmer & Esch, 1998; Kennedy, 1999; Choisy *et al.*, 2003). However, it is likely that in most cases predation of the intermediate host by a non-host species will constitute a dead end for the parasite (Marriott *et al.*, 1989; Mouritsen & Poulin, 2003). This is particularly true of non-host predators that do not swallow their prey, but feed on them through sucking their body fluids, such as some heteropteran insects, or pull them into pieces such as some crustaceans.

Most previous studies of parasite-induced trophic transmission in aquatic ecosystems relied on a measure of selective predation on infected hosts by appropriate vertebrate hosts (Bethel & Holmes, 1977; Camp & Huizinga, 1979; Lafferty & Morris, 1996; Bakker, Mazzi & Zala, 1997; Baldauf *et al.*, 2006; Perrot-Minnot, Kaldonski & Cézilly, 2007), but neglected to assess the vulnerability of infected prey to predation by non-hosts (see however Ness & Foster, 1999; Mouritsen & Poulin, 2003; Médoc, Bollache & Beisel, 2006; Seppälä *et al.*, 2006b; Kaldonski, Perrot-Minnot & Cézilly, 2007). Amphipods are key elements in the functioning of aquatic ecosystems both as detritivores and predators of other invertebrate species (Dick & Platvoet, 1996; MacNeil, Dick & Elwood, 1997; Maltby *et al.*, 2002; Elliott, 2005), and as prey to a wide range of predators (Stoner, 1979; Redmond & Scott, 1989; Boates *et al.*, 1995; MacNeil *et al.*, 1999; Corona, Soto & Sanchez, 2000; Wilhelm, Hamann & Burns, 2002; Amundsen *et al.*, 2003; Kelly & Dick, 2005; Griffen & Byers, 2006). They are also used by several trematode, cestode and acanthocephalan parasites as intermediate hosts before reaching birds or fish final hosts. Although the phenotypic alterations brought

about by parasites on amphipods appear to be consistent with their respective type of final host (Cézilly, Grégoire & Bertin, 2000), little is known about their consequences on susceptibility to predation by other, non-hosts predators. In particular, the effects of infection on vulnerability to predation by aquatic invertebrates remain undocumented. In this study, we examine the influence of infection with three different acanthocephalan parasites on the susceptibility of the amphipod *Gammarus pulex* to predation by two, non-host aquatic invertebrate predators differing in feeding behaviour and habitat-use. Mouritsen and Poulin (2003) provided evidence that infection with manipulative parasites can increase the vulnerability of intermediate hosts to predation by non hosts in the field. Here, using experiments in microcosms, we test the hypothesis that phenotypic changes induced by acanthocephalan parasites increases the susceptibility of amphipod hosts to predation by non-host predators.

Methods

Study species

Based on personal observations, we chose the water scorpion, *Nepa cinerea*, and the crayfish *Orconectes limosus* as experimental predators, though other invertebrate predators can be found in streams or ponds where amphipods are present, namely diving beetles (*Dysticus* spp.), dragonfly larvae (*Libellula* spp. or *Anax* spp. for example) and damselfly larvae (*Calopteryx* spp. or *Coenagrion* spp. for example). Water scorpions are predominantly surface predators, whereas crayfish are more benthic. Aquatic Hemiptera such as water scorpions, generally hold an intermediate place in food chains, and are often important predators (McCafferty, 1981; Ohba & Nakasuji, 2006). For example, in a study of a fishless spring in Arizona, the heteropteran *Belastoma bakeri* ate more prey (mostly amphipods) than other top predators, including dragonfly larvae (Runck & Blinn, 1994).

Water scorpions had an average length of $18.76 \text{ mm} \pm 1.9 \text{ mm}$ ($n = 95$) and crayfish had an average length of $61.8 \text{ mm} \pm 0.7 \text{ mm}$ ($n = 99$). Length for both predators was defined as the distance from head to abdomen terminus. Both were collected in the same place using the random kick sampling method (Hynes, 1954). These predators were kept separately and fed with gammarids, but were starved for 24 h prior to the experiments.

In Burgundy, eastern France, the amphipod *Gammarus pulex* is exploited as intermediate host by three acanthocephalan species. *Pomphorhynchus laevis* and the congeneric *Pomphorhynchus tereticollis* are fish parasites that modify reaction to both light (Cézilly *et al.*, 2000; Tain, Perrot-Minnot & Cézilly, 2006) and fish predator's odour in *G. pulex* (Baldauf *et al.*, 2006; Kaldonski *et al.*, 2007; Perrot-Minnot *et al.*, 2007). *Polymorphus minutus* is a bird acanthocephalan that modifies geotaxis in *G. pulex*, but has only weak or no effect on reaction to light or fish odour (Cézilly *et al.*, 2000; Kaldonski *et al.*, 2007). All *G. pulex* used in the experiments (uninfected, *P. laevis*-, *P. tereticollis*- and *P. minutus*-infected) were collected using the kick sampling method (Hynes, 1954) in the River Ouche in Dijon (Eastern France), during the summer of 2004 (from July to September). Only healthy and not damaged adults were kept for the experiments, within sizes ranging from 11 to 15 mm long. Gammarids were maintained in large, separated, well aerated tanks, filled with dechlorinated tap water and fed with elm leaves and pellet fish food. They were acclimatized to room and water conditions for at least one week before the experiments.

Predation experiments

Experiments were conducted in a climate room with a constant temperature of 15 °C and a light / dark cycle of 12 / 12 h. Observation tanks (35 × 15 × 20 cm) were filled with 7 L of dechlorinated tap water, oxygenated by an air-stone and lighted overhead by solar spectra fluorescent tubes (light T° = 9600°K). Aquarium sides were screened with brown plastic to avoid any lateral disturbance and to provide individuals with a natural colour. Experiments were conducted in either a simple or a complex microcosm habitat set-up. The simple habitat set-up consisted of washed river sand substrate whereas the complex habitat set-up was composed of the same sand substrate plus a piece of air-brick (21.5 × 10 × 5 cm) sunk into the sand and two *Apiacea* plants where gammarids could find refuge.

To assess the selectivity of predators for uninfected or infected gammarids, predation tests were performed in paired choice experiments involving an uninfected:infected prey ratio of 3:1, slightly above natural prevalence of parasites in the field. Each experimental test consisted of recording the relative numbers of infected and non-infected prey captured by a single predator during a given amount of time. Forty-two uninfected gammarids and 18 infected ones (parasitized by a single acanthocephalan species) were first introduced into the aquarium. After 15 min, one individual predator was introduced in the aquarium. Time

exposure of prey to different predators was adjusted to prevent a too great proportion of prey (more than 50%) being eaten (Fullick & Greenwood, 1979). Owing to preliminary experiments, the duration of each trial was set at 3.5 h for crayfish and 72 h for water scorpion. At the end of each trial, predators and remaining prey were removed, surviving gammarids counted, and all material rinsed well with tap water. Only trials where more than 6 preys were eaten were kept for analysis.

Because it was not possible to correctly identify which prey type were captured through direct observation, absolute as well as relative prey densities could not be kept constant over the course of predation trials. Differential of predation between the two prey types was therefore analysed by Manly's alpha probabilistic approach (Manly, 1974; Chesson, 1978). This method allows for the depletion of prey during the course of the trial, and thus for changes in the proportions of available prey classes as prey are eaten. Manly's alpha (α_i) for variable prey population is calculated using the equation:

$$\alpha_i = \frac{\log p_i}{\sum_{j=1}^m \log p_j}$$

where α_i = Manly's alpha (preference index) for prey type i , p_i and p_j = proportion of prey i or j remaining at the end of the trial, and m = number of prey types. Manly's selectivity index ranges from 0 (when only uninfected prey are eaten) to 1 (when only infected prey are eaten), with a value of 0.5 for absence of preference.

Preference index data were transformed using a Box-Cox function to meet the assumptions of parametric tests. The preference index for each group was tested using a t-test to a specified value (Sokal & Rohlf, 1995) to check whether predator significantly preyed upon infected prey. The influence of infection type, refuge availability, and interaction term was analysed using a two-way ANOVA and pair-wise differences were evaluated with Fisher's PLSD. All tests were performed using the *Statistica* statistical software (v. 6.0, Statsoft Inc.).

Results

A total of 2388 gammarids were eaten, 1127 by the 99 different crayfish and 1261 by the 95 different water scorpions. Crayfish (C) ate less gammarids (mean $\pm$ SD = 11.38 ± 4.70) than water scorpions (WS) (mean $\pm$ SD = 13.27 ± 5.93) per trial (Mann-Whitney test, $Z = -2.07$, $n_{WS} = 95$, $n_C = 99$, $P = 0.04$). However, for both series of tests, the number of prey eaten had no influence on selectivity of predator toward infected preys, neither for crayfish (Pearson correlation, $r < 0.001$, $F = 0.04$, $P = 0.84$) nor for water scorpions ($r = 0.003$, $F = 0.31$, $P = 0.58$).

Crayfish selectivity

Refuge availability had no effect on crayfish selectivity, irrespective of parasite species (Table 1; Fig. 1a). Crayfish selectivity for infected prey varied however significantly between trials (two-way ANOVA: $F_{5,93} = 7.52$, $P < 0.0001$; Fig. 1a). Crayfish selectivity for *P. laevis*-infected prey was highly significant (Table 2; Fig. 1a), and differed significantly from selectivity for *P. tereticollis*-infected (Fisher's PLSD: $P < 0.001$; Fig. 1a) or *P. minutus*-infected prey (Fisher's PLSD: $P < 0.001$; Fig. 1a). By contrast, crayfish showed no selectivity for either *P. minutus*- or *P. tereticollis*-infected prey (Table 2, Fig. 1a). No difference was observed between selectivity for *P. minutus*-infected prey and selectivity for *P. tereticollis*-infected ones (Fisher's PLSD: $P > 0.05$; Fig. 1a).

Water scorpion selectivity

Water scorpion selectivity for infected prey differed between trials (two-way ANOVA: $F_{5,89} = 15.15$, $P < 0.001$; Fig. 1b). A significant interaction between parasite species and refuge availability indicates that infected prey differed in their vulnerability to predation according to microcosm type (Table 3; Fig. 1b). When no refuge was available for prey, water scorpions' selectivity for infected prey was significant (Table 2; Fig. 1b) and did not differ according to parasite species (Fisher's PLSD: $P > 0.05$; Fig. 1b). When a refuge was available for infected prey, however, water scorpion selectivity for infected prey differed markedly between parasite species (Table 2; Fig. 1b). Both *P. tereticollis*-infected gammarids and *P. laevis*-infected ones were more predated than uninfected individuals, whereas the reverse was true of *P. minutus*-infected gammarids (all Fisher's PLSD: $P < 0.001$; Fig. 1b).

Discussion

Our results provide, for the first time, empirical evidence that infection with acanthocephalan parasites can increase the vulnerability of amphipods to non-host predators. However, the magnitude of the effect may depend on complex interactions between parasite species, the physical complexity of the environment, and predator species (see Holmlund, Peterson & Hay, 1990; Corona *et al.*, 2000). In particular, the observed differences between predators in selectivity for infected prey remain difficult to interpret. Water-scorpions, being poor swimmers, stay motionless at the water's surface for long periods of time, and capture prey using the ambush method, whereas crayfish are more benthic. Differences in hunting methods between the two predators might then contribute to explain the observed differences in selectivity. However, the vulnerability of uninfected and infected gammarids to predation by crayfish or water-scorpions is also dependent on their ability to modify their behaviour in response to the perceived risk of predation.

Overall, refuge availability had no influence on the vulnerability of infected gammarids to crayfish. Uninfected *G. pulex* are known to increase their use of refuge when in the presence of a fish predator (Perrot-Minnot *et al.*, 2007, Kaldonski *et al.*, 2007), but the effect of crayfish on refuge use by *G. pulex* has not been quantified so far. However, it has been previously observed that uninfected *G. pulex* decrease their activity when exposed to chemicals from predatory fish, but do not react to chemicals from the crayfish, *Pacifascatus leniusculus* (Åbjörnsson *et al.*, 2000). It is therefore possible that both infected and uninfected gammarids did not react to the presence of crayfish, thus explaining the absence of an effect of refuge availability on selectivity for infected prey. Actually, only gammarids infected by *P. laevis* showed an increased vulnerability to predation by crayfish compared to uninfected individuals. It has been shown that amphipods infected with *P. laevis* are more active than uninfected ones (Dezfuli, Maynard & Wellnitz, 2003), thus making them potentially more exposed to sit and wait predators such as crayfish. However, no data on activity levels are available for *P. tereticollis*- and *P. minutus*-infected amphipods.

Infection with both *P. laevis* and *P. tereticollis* had a highly significant effect on vulnerability of infected prey to predation by water scorpions, independently of refuge availability. In contrast, *P. minutus*-infected individuals were less vulnerable than uninfected ones to predation by water scorpions only in the presence of refuges, whereas the reverse was true in the absence of refuges. Data from previous studies (Kaldonski *et al.*, 2007, Perrot-

Minnot *et al.*, 2007) suggest that *P. minutus*-infected *G. pulex* spend more time in refuges, independently of predator presence, compared to *P. laevis*- and *P. tereticollis*-infected individuals. This may explain the difference between host-parasite associations in vulnerability to predation by water scorpions in relation to the presence/absence of refuges, although other factors may have contributed to the observed pattern of predation.

Parasite-induced trophic transmission to final hosts has received large empirical evidence (Moore, 2002; Thomas, Adamo & Moore, 2005). However, evidence for specificity in manipulation remains equivocal, such that the importance of parasitic manipulation for the population dynamics of both predators and prey remains unclear. Fitness consequences of parasite-induced behavioural alterations are likely to be complex (Vance & Peckarsky, 1997). On the one hand, increased vulnerability of infected prey is supposed to benefit both the parasite and its final host (Lafferty 1992; Bakker *et al.*, 1997). Final hosts may benefit from feeding and specializing on infected prey if the energy gain associated with the capture of easy prey outweighs the costs associated with the risk of transmission of the parasite from prey to predator (Lafferty, 1992; Bakker *et al.*, 1997). Even if manipulation does incur a cost to parasite (see Poulin *et al.*, 2005), this cost might be largely compensated for by the benefit of enhanced transmission to final hosts. On the other hand, when prey capture is facilitated by parasites and risk of transmission of the parasite from prey to predator is non-existent (as in this study), a large range of predators may benefit from selecting infected prey (Lafferty 1992), including many non-host species. Acanthocephalan-infected gammarids have previously been shown to be more susceptible than uninfected ones to predation by appropriate final hosts (birds: Bethel & Holmes, 1977; fish: Bakker *et al.*, 1997, Perrot-Minnot *et al.*, 2007, Kaldonski *et al.*, 2007). However, the present results suggest that infection with acanthocephalans might also increase vulnerability to non-host predators, such that the exact balance between benefits and costs of manipulation remains to be evaluated properly. One possibility is that the cost of non-host predation is limited because the overall impact of predation on intermediate hosts by appropriate final hosts is much higher than that by non-host predators. In addition, in the present experiment, each predator was tested in isolation, whereas interactions between predators may affect their selectivity in the wild (Nilsson, Nilsson & Nyström, 2000). Future work should then address this important question through combining long-term experiments in mesocosms and modelling (see Duffy *et al.*, 2005, Fenton & Rands, 2006).

Parasitism is known as the most common lifestyle (Combes 2001) but parasites are rarely included in studies of community structure and ecosystem stability (Lafferty *et al.*, 2006; Hatcher *et al.*, 2006). Our results, together with those of previous studies, suggest that so-called manipulative parasites may increase the vulnerability of their invertebrate intermediate hosts to a large range of aquatic predators. The consequences of parasitic manipulation in terms of community structure and stability of aquatic food webs obviously deserve further consideration.

Acknowledgments

NK was funded by a doctoral grant from the MENRT. We thank Emilie Guyonnet, Mélanie Jouhanneau, Stéphanie Lecuelle, Arnaud Germond, Romain Gueirero and Thomas Régnier for help with field sampling and lab work.

References

- Åbjörnsson K., Dahl J., Nyström P. & Brönmark C. (2000) Influence of predator and dietary chemical cues on the behaviour and shredding efficiency of *Gammarus pulex*. *Aquatic Ecology*, **34**, 379-387.
- Amundsen P.A., Knudsen R., Kuris A.M. & Kristoffersen R. (2003) Seasonal and ontogenetic dynamics in trophic transmission of parasites. *Oikos*, **102**, 285-293.
- Bakker T.C.M., Mazzi D. & Zala S. (1997) Parasite-induced changes in behavior and color make *Gammarus pulex* more prone to fish predation. *Ecology*, **78**, 1098-1104.
- Baldauf S.A., Thünken T., Frommen J.G., Bakker T.C.M., Heupzl O. & Kullmann H. (2006) Infection with an acanthocephalan manipulates an amphipod's reaction to a fish predator's odour. *International Journal for Parasitology*, **37**, 61-65.
- Bethel W.M. & Holmes J.C. (1977) Increased vulnerability of amphipods to predation owing to altered behavior induced by larval acanthocephalans. *Canadian Journal of Zoology*, **55**, 110-115.
- Boates J.S., Forbes M., Zinck M. & McNeil N. (1995) Male amphipods (*Corophium Volutator* [Pallas]) show flexible behavior in relation to risk of predation by sandpipers. *Ecoscience*, **2**, 123-128.

- Bratney J. (1983) The effects of larval *Acanthocephalus lucii* on the pigmentation, reproduction, and susceptibility to predation of the isopod *Asellus aquaticus*. *Journal of Parasitology*, **69**, 1172-1173.
- Camp J.W. & Huizinga H.W. (1979) Altered color, behavior and predation susceptibility of the isopod *Asellus Intermedius* infected with *Acanthocephalus Dirus*. *Journal of Parasitology*, **65**, 667-669.
- Cézilly F., Grégoire A. & Bertin A. (2000) Conflict between co-occurring manipulative parasites? An experimental study of the joint influence of two acanthocephalan parasites on the behaviour of *Gammarus pulex*. *Parasitology*, **120**, 625-630.
- Cézilly F. & Perrot-Minnot M.-J. (2005) Studying adaptive changes in the behaviour of infected hosts: a long and winding road. *Behavioural Processes*, **68**, 223-228.
- Chesson J. (1978) Measuring preference in selective predation. *Ecology*, **59**, 211-215.
- Choisy M., Brown S.P., Lafferty K.D. & Thomas F. (2003) Evolution of trophic transmission in parasites: Why add intermediate hosts? *American Naturalist*, **162**, 172-181.
- Combes C. (1991) Ethological aspects of parasite transmission. *American Naturalist*, **138**, 866-880.
- Combes C. (2001) *Parasitism: the Ecology and Evolution of Intimate Interactions*, The University of Chicago press, Chicago.
- Corona A., Soto L.A. & Sanchez A.J. (2000) Epibenthic amphipod abundance and predation efficiency of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) in habitats with different physical complexity in a tropical estuarine system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **253**, 33-48.
- Dawkins R. (1982) *The Extended Phenotype*, Oxford University Press, Oxford.
- Dezfuli B.S., Maynard B.J. & Wellnitz T.A. (2003) Activity levels and predator detection by amphipods infected with an acanthocephalan parasite, *Pomphorhynchus laevis*. *Folia Parasitologica*, **50**, 129-134.
- Dick J.T.A. & Platvoet D. (1996) Intraguild predation and species exclusions in amphipods: The interaction of behaviour, physiology and environment. *Freshwater Biology*, **36**, 375-383.
- Duffy M.A., Hall S.R., Tessier A.J. & Huebner M. (2005) Selective predators and their parasitized prey: Are epidemics in zooplankton under top-down control? *Limnology and Oceanography*, **50**, 412-420.

- Elliott J.M. (2005) Day-night changes in the spatial distribution and habitat preferences of freshwater shrimps, *Gammarus pulex*, in a stony stream. *Freshwater Biology*, **50**, 552-566.
- Fenton A. & Rands S.A. (2006) The impact of parasite manipulation and predator foraging behavior on predator-prey communities. *Ecology*, **87**, 2832-2841.
- Fielding N.J., MacNeil C., Robinson N., Dick J.T.A., Elwood R.W., Terry R.S., Ruiz Z. & Dunn A.M. (2005) Ecological impacts of the microsporidian parasite *Pleistophora mulleri* on its freshwater amphipod host *Gammarus duebeni celticus*. *Parasitology*, **131**, 331-336.
- Fullick T.G. & Greenwood J.J.D. (1979) Frequency-Dependent Food Selection in Relation to 2 Models. *American Naturalist*, **113**, 762-765.
- Griffen B.D. & Byers J.E. (2006) Intraguild predation reduces redundancy of predator species in multiple predator assemblage. *Journal of Animal Ecology*, **75**, 959-966.
- Hatcher M.J., Dick J.T.A. & Dunn A.M. (2006) How parasites affect interactions between competitors and predators. *Ecology Letters*, **9**, 1253-1271.
- Holmlund M.B., Peterson C.H. & Hay M.E. (1990) Does algal morphology affect amphipod susceptibility to fish predation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **139**, 65-83.
- Hudson P.J., Dobson A.P. & Lafferty K.D. (2006) Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends in Ecology & Evolution*, **21**, 381-385.
- Hynes H.B.N. (1954) The ecology of *Gammarus duebeni* lilljeborg and its occurrence in fresh water in western Britain. *Journal of Animal Ecology*, **23**, 38-84.
- Kaldonski N., Perrot-Minnot M.-J. & Cézilly F. Differential influence of two acanthocephalan parasites on the anti-predator behaviour of their common intermediate host. Accepted in *Animal Behaviour*.
- Kelly D.W. & Dick J.T.A. (2005) Introduction of the non-indigenous amphipod *Gammarus pulex* alters population dynamics and diet of juvenile trout *Salmo trutta*. *Freshwater Biology*, **50**, 127-140.
- Kennedy C.R. (1999) Post-cyclic transmission in *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *Folia Parasitologica*, **46**, 111-116.
- Knudsen R., Gabler H.M., Kuris A.M. & Amundsen P.A. (2001) Selective predation on parasitized prey - A comparison between two helminth species with different life-

- history strategies. *Journal of Parasitology*, **87**, 941-945.
- Lafferty K.D. (1992) Foraging on prey that are modified by parasites. *American Naturalist*, **140**, 854-867.
- Lafferty K.D., Dobson, A.P. & Kuris, A.M. (2006) Parasites dominate food web links. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**, 11211-11216.
- Lafferty K.D. & Morris A.K. (1996) Altered behavior of parasitized killifish increases susceptibility to predation by bird final hosts. *Ecology*, **77**, 1390-1397.
- MacNeil C., Dick J.T.A. & Elwood R.W. (1997) The trophic ecology of freshwater *Gammarus* spp. (Crustacea: Amphipoda): Problems and perspectives concerning the functional feeding group concept. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, **72**, 349-364.
- MacNeil C., Dick J.T.A. & Elwood R.W. (1999) The dynamics of predation on *Gammarus* spp. (Crustacea : Amphipoda). *Biological Reviews*, **74**, 375-395.
- MacNeil C., Fielding N.J., Dick J.T.A., Briffa M., Prenter J., Hatcher M.J. & Dunn A.M. (2003) An acanthocephalan parasite mediates intraguild predation between invasive and native freshwater amphipods (Crustacea). *Freshwater Biology*, **48**, 2085-2093.
- Maltby L., Clayton S.A., Wood R.M. & McLoughlin N. (2002) Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: Robustness, responsiveness, and relevance. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21**, 361-368.
- Manly B.F.J. (1974) A model for certain types of selection experiments. *Biometrics*, **30**, 281-294.
- Marriott D.R., Collins M.L., Paris R.M., Gudgin D.R., Barnard C.J., McGregor P.K., Gilbert F.S., Hartley J.C. & Behnke J.M. (1989) Behavioral modifications and increased predation risk of *Gammarus pulex* infected with *Polymorphus minutus*. *Journal of Biological Education*, **23**, 135-141.
- McCafferty W. (1981) *Aquatic Entomology*. Science Books International, Inc. Boston.
- McCahon C.P., Maund S.J. & Poulton M.J. (1991) The effect of the acanthocephalan parasite (*Pomphorhynchus laevis*) on the drift of its intermediate host (*Gammarus pulex*). *Freshwater Biology*, **25**, 507-513.
- Médoc V., Bollache L. & Beisel J.-N. (2006) Host manipulation of a freshwater crustacean (*Gammarus roeseli*) by an acanthocephalan parasite (*Polymorphus minutus*) in a

- biological invasion context. *International Journal for Parasitology*, **36**, 1351-1358.
- Moore J. (2002) *Parasites and the Behavior of Animals*, Oxford University press, New-York.
- Mouritsen K.N. & Poulin R. (2003) Parasite-induced trophic facilitation exploited by a non-host predator: a manipulator's nightmare. *International Journal for Parasitology*, **33**, 1043-1050.
- Mouritsen K.N. & Poulin R. (2005) Parasites boosts biodiversity and changes animal community structure by trait-mediated indirect effects. *Oikos*, **108**, 344-350.
- Ness J.H. & Foster S.A. (1999) Parasite-associated phenotype modifications in threespine stickleback. *Oikos*, **85**, 127-134.
- Nickol B.B., Fuller C.A. & Rock P. (2006) Cystacanths of *Oncicola venezuelensis* (Acanthocephala : Oligacanthorhynchidae) in Caribbean termites and various paratenic hosts in the US Virgin Islands. *Journal of Parasitology*, **92**, 539-542.
- Nilsson P.A., Nilsson K. & Nyström P. (2000) Does risk of intraspecific interactions induce shifts in prey-size preference in aquatic predators? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **48**, 268-275.
- Ohba S. & Nakasuji F. (2006) Dietary items of predacious aquatic bugs (Nepoidea : Heteroptera) in Japanese wetlands. *Limnology*, **7**, 41-43.
- Perrot-Minnot M.-J., Kaldonski N. & Cézilly F. (2007) Increased susceptibility to predation and altered anti-predator behaviour in an acanthocephalan-infected host. *International Journal for Parasitology*, **in press**.
- Poulin R. (1995) "Adaptive" changes in the behaviour of parasitized animals: A critical review. *International Journal for Parasitology*, **25**, 1371-1383.
- Poulin R., Fredensborg B.L., Hansen E. & Leung T.L.F. (2005) The true cost of host manipulation by parasites. *Behavioural Processes*, **68**, 241-244.
- Redmond M.S. & Scott K.J. (1989) Amphipod predation by the infaunal polychaete, *Nephtys incisa*. *Estuaries*, **12**, 205-207.
- Runck C. & Blinn D.W. (1994) Role of *Belostoma bakeri* (Heteroptera) in the trophic ecology of a fishless desert spring. *Limnology and Oceanography*, **39**, 1800-1812.
- Seppälä O., Karvonen A. & Valtonen E.T. (2006a) Susceptibility of eye fluke-infected fish to predation by bird hosts. *Parasitology*, **132**, 575-579.
- Seppälä O., Karvonen A. & Valtonen E.T. (2006b) Host manipulation by parasites and risk of non-host predation: is manipulation costly in an eye fluke-fish interaction?

- Evolutionary Ecology Research*, **8**, 871-879.
- Sokal E.R. & Rohlf F.J. (1995) *Biometry*, Freeman, W. H., New-York.
- Stoner A.W. (1979) Species-specific predation on amphipod crustacea by the pinfish *Lagodon rhomboides* mediated by macrophyte standing crop. *Marine Biology*, **55**, 201-207.
- Tain L., Perrot-Minnot M.-J. & Cézilly F. (2006) Altered host behaviour and brain serotonergic activity caused by acanthocephalans: evidence for specificity. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **273**, 3039-3045.
- Thomas F. & Poulin R. (1998) Manipulation of a mollusc by a trophically transmitted parasite: convergent evolution or phylogenetic inheritance? *Parasitology*, **116**, 431-436.
- Thomas F., Adamo S. & Moore J. (2005) Parasitic manipulation: where are we and where should we go? *Behavioural Processes*, **68**, 185-199.
- Thomas F., Renaud F. & Guégand J.-F. (2005) *Parasites and Ecosystems*, Oxford University Press, Oxford.
- Vance S.A. & Peckarsky B.L. (1997) The effect of mermithid parasitism on predation of nymphal *Baetis bicaudatus* (Ephemeroptera) by invertebrates. *Oecologia*, **110**, 147-152.
- Webber R.A., Rau M.E. & Lewis D.J. (1987) The Effects of *Plagiorchis noblei* (Trematoda, Plagiorchiidae) metacercariae on the susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to predation by guppies (*Poecilia reticulata*) and meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). *Canadian Journal of Zoology*, **65**, 2346-2348.
- Wilhelm F.M., Hamann J. & Burns C.W. (2002) Mysid predation on amphipods and Daphnia in a shallow coastal lake: prey selection and effects of macrophytes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **59**, 1901-1907.
- Zelmer D.A. & Esch G.W. (1998) Bridging the gap: The odonate naiad as a paratenic host for *Halipegus occidialis* (Trematoda : Hemiuridae). *Journal of Parasitology*, **84**, 94-96.

Captions for tables

Table 1 Results of a two-way ANOVA testing for differences in mean selectivity of crayfish in relation to parasite species and refuge availability.

Table 2 Selectivity of crayfish and water scorpions in relation to each combination of parasite species and refuge availability (+: significant selectivity for infected prey; -: significant selectivity for uninfected prey).

Table 3 Results of a two-way ANOVA testing for differences in mean selectivity of water scorpions in relation to parasite species and refuge availability.

Caption for figure

Fig. 1. Mean ($\pm$ 95% confidence interval) of preference index showing selectivity of (a) crayfish and (b) water scorpions toward uninfected versus gammarids infected by three different parasite species, either in a complex microcosm type setting (dark bars) or in a simple one (light bars). Values above the dashed line indicate over consumption of infected prey. Stars above the bars indicate a significant difference from equal susceptibility of infected and infected prey and bars not connected by the same letter are significantly different.

Table 1

Source	SS	d.f.	<i>F</i> -ratio	<i>P</i> -value
Parasite species (PS)	1.572	2	17.620	<0.001
Refuge (R)	0.018	1	0.405	0.526
PS $\times$ R	0.056	2	0.630	0.535
Error	4.15	93		

Table 2

Predator	Parasite	Refuge	d.f.	<i>t</i> -value	<i>P</i> -value
Crayfish	<i>P. laevis</i>	With	14	3.44	0.004 (+)
		Without	16	8.96	<0.001 (+)
	<i>P. tereticollis</i>	With	17	0.29	0.726
		Without	14	− 0.24	0.816
	<i>P. minutus</i>	With	16	− 1.86	0.081
		Without	16	− 1.32	0.207
Water scorpion	<i>P. laevis</i>	With	14	3.13	0.007 (+)
		Without	14	6.66	<0.001 (+)
	<i>P. tereticollis</i>	With	18	10.74	<0.001 (+)
		Without	14	4.80	0.001 (+)
	<i>P. minutus</i>	With	15	− 2.74	0.015 (-)
		Without	14	6.00	<0.001 (+)

Table 3

Source	SS	d.f.	<i>F</i> -ratio	<i>P</i> -value
Parasite species (PS)	0.689	2	14.491	<0.001
Refuge (R)	0.320	1	13.455	<0.001
PS $\times$ R	0.742	2	15.613	<0.001
Error	2.115	89		

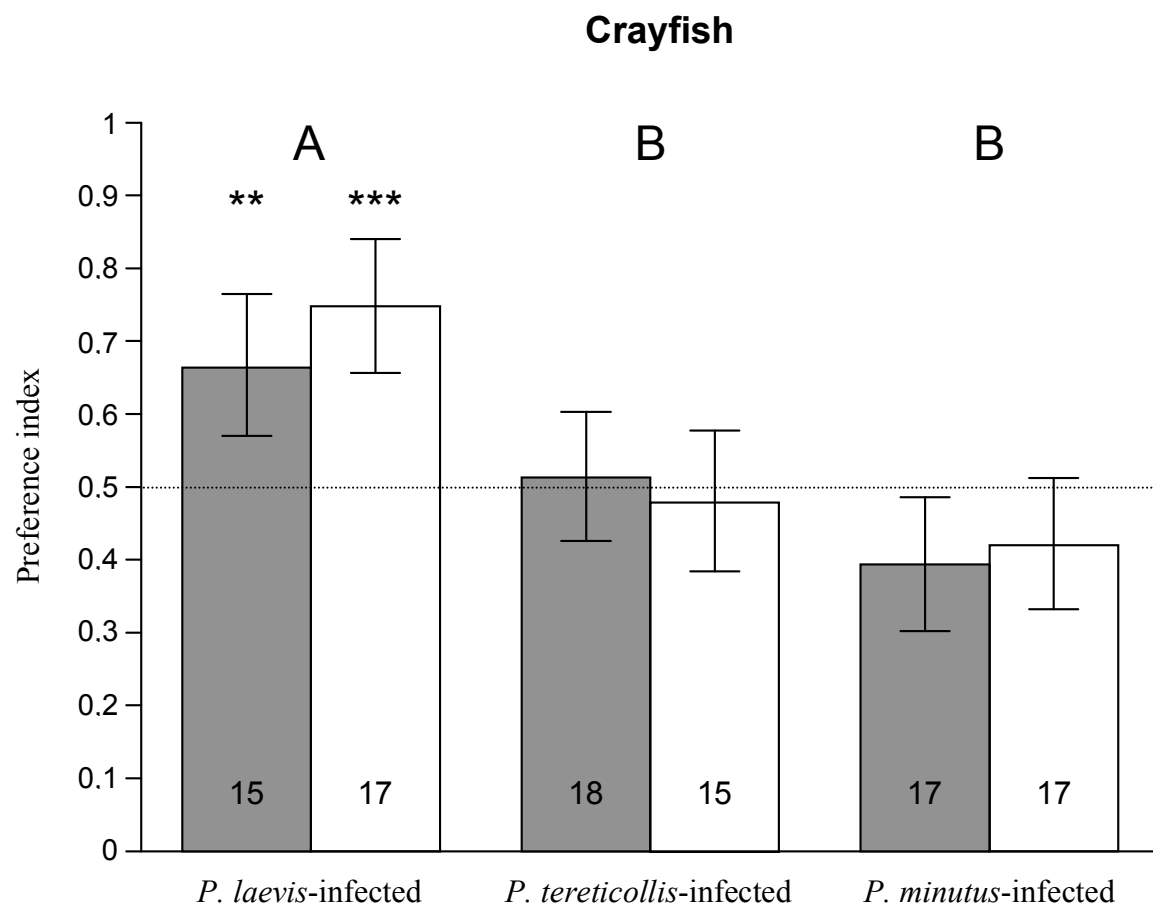


Figure 1a

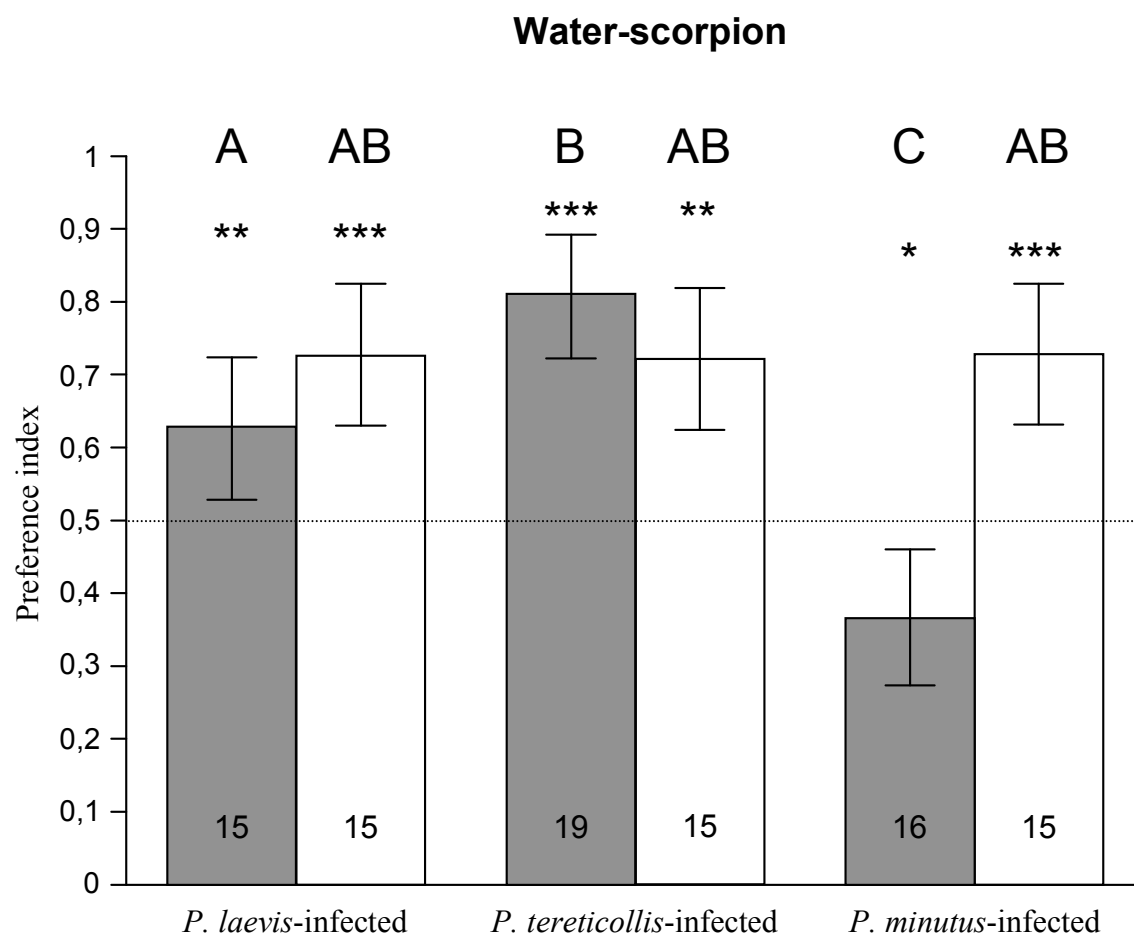


Figure 1b

**« Adaptive colouration in acanthocephalans:
a red-herring in host-manipulation by parasites? »**

Nicolas Kaldonski, Marie-Jeanne Perrot-Minnot, Raphaël Dodet, Guillaume Martinaud &
Frank Cézilly

A soumettre

Coloration adaptative chez les acanthocéphales : une fausse route dans la manipulation par les parasites

Résumé :

La manipulation de l'hôte par les parasites est un concept séduisant qui a été appliqué à un grand nombre d'altérations phénotypiques induites par les parasites chez leurs hôtes. Par exemple, il a été suggéré que la couleur de certains acanthocéphales, due à l'accumulation de caroténoïdes, est adaptative car elle augmenterait la visibilité de l'hôte intermédiaire, et donc sa vulnérabilité aux hôtes définitifs tels que les poissons. Nous avons testé l'hypothèse selon laquelle la coloration des parasites favoriserait leur transmission en rendant leur hôte intermédiaire plus repérable, en utilisant deux espèces d'acanthocéphales *Pomphorhynchus laevis* et *Polymorphus minutus* présentant des colorations basées sur des caroténoïdes. Ces parasites exploitent tous deux le même hôte intermédiaire, le crustacé amphipode *Gammarus pulex*, mais ont respectivement des poissons et des oiseaux aquatiques comme hôtes finaux. Ils diffèrent également dans le type d'altérations comportementales qu'ils induisent chez leur hôte intermédiaire. *P. laevis* inverse le phototactisme négatif de *G. pulex*, alors que *P. minutus* inverse son géotactisme. Dans des aquariums, les truites ont montré une prédation sélective pour les gammarus infectés par *P. laevis*, alors que ceux infectés par *P. minutus* n'étaient pas plus prédatés que les individus contrôles. Nous avons évalué l'effet de la coloration sur la transmission trophique en peignant un point jaune - orangé sur la cuticule de gammarus non infectés et en masquant le point jaune - orangé de gammarus infectés à l'aide d'une peinture marron. Afin d'augmenter le réalisme, la correspondance entre le point coloré formé par le parasite chez les gammarus infectés et les mimes de gammarus non infectés a été vérifiée par spectrophotométrie. Nous n'avons pas trouvé de rôle significatif de la coloration du parasite sur l'augmentation de la vulnérabilité du gammarus à la prédation par les truites. Les mimes peints ne différaient pas des gammarus non infectés dans leur vulnérabilité à la prédation par les truites. De plus, le fait de couvrir l'endroit où le parasite était visible à travers la cuticule n'affectait pas la vulnérabilité des gammarus infectés à la prédation, vulnérabilité qui restait significativement plus grande que celle de gammarus sains. Nous discutons des hypothèses alternatives à l'origine et au maintien de telles colorations basées sur les caroténoïdes chez les parasites acanthocéphales.

**Adaptive colouration in acanthocephalans:
a red-herring in host-manipulation by parasites?**

**Nicolas Kaldonski, Marie-Jeanne Perrot-Minnot, Raphaël Dodet, Guillaume Martinaud
& Frank Cézilly**

*Equipe Ecologie Evolutive, UMR CNRS 5561 Biogéosciences, Université de Bourgogne,
Dijon, France*

Host manipulation by parasites is a catchy concept that has been applied to a large range of phenotypic alterations brought about by parasites in their hosts. It has for instance been suggested that the carotenoid-based colour of some acanthocephalans is adaptive through increasing the conspicuousness of infected intermediate hosts and, hence, their vulnerability to appropriate final hosts such as fish predators. We revisited the evidence in favour of adaptive coloration of acanthocephalan parasites in relation to increased trophic transmission using the crustacean amphipod *Gammarus pulex* and two species of acanthocephalans, *Pomphorhynchus laevis* and *Polymorphus minutus*. Both species show carotenoid-based colorations, but rely respectively on freshwater fish and aquatic bird species as final hosts. In addition, the two parasites differ in the type of behavioural alteration brought to their common intermediate host. *P. laevis* reverses negative phototaxis in *G. pulex*, whereas *P. minutus* reverses geotaxis. In aquariums, trout showed selective predation for *P. laevis*-infected gammarids, whereas *P. minutus*-infected ones did not differ from uninfected controls in their vulnerability to predation. We tested for an effect of parasite coloration on increased trophic transmission by painting a yellow-orange spot on the cuticle of uninfected gammarids and by masking the yellow-orange spot of infected individuals with inconspicuous brown paint. To enhance realism, match of colour between painted mimics and true parasite colour was carefully checked using a spectrometer. We found no evidence for a role of parasite coloration in the increased vulnerability of gammarids to predation by trout. Painted mimics did not differ from control uninfected gammarids in their vulnerability to predation by trout. In addition, covering the place through which the parasite was visible did not reduce the vulnerability of infected gammarids to predation by trout. We discuss alternative evolutionary explanations for the origin and maintenance of carotenoid-based colorations in acanthocephalan parasites.

Keywords: colour, *Gammarus pulex*, host manipulation, *Polymorphus minutus*, *Pomphorhynchus laevis*, predation

Several parasite species with complex life cycles bring about phenotypic changes in their intermediate hosts that appear to enhance trophic transmission to final hosts (Moore 2002, Thomas et al. 2005). One particular type of host-manipulation by parasites is the alteration of host visual appearance and conspicuousness. For instance, the trematode parasite *Leucochloridium paradoxum* increases the conspicuousness of its intermediate host, the terrestrial gastropod *Succinea*, through producing colourful sporocysts that invade the snail's antennae. The colour and pulsating movements of sporocysts make the antennae of infected snails look like caterpillars, hence the suggestion that it increases their vulnerability to predation by birds, the definitive host of the trematode. However, evidence that infected snails are more vulnerable to predation by birds than uninfected ones remains elusive, thus casting doubt on the adaptiveness of colourful sporocysts (Moore 2002). In contrast, the increased conspicuousness of amphipods infected with acanthocephalan parasites (Bakker et al. 1997) is regularly cited as a convincing example of adaptive manipulation of host phenotype (Moore 2002, Van der Veen 2005, Sanchez et al. 2006). Several acanthocephalan species show carotenoid-based colorations (Van Cleave & Rausch 1950, Barrett & Butterworth 1968, 1973, Ravindranathan & Nadakal 1971, Gaillard et al. 2004) that are most often visible through the translucent cuticle of their intermediate hosts, and, presumably, make infected hosts more conspicuous to predators that are appropriate final hosts for the parasite. Many fish species, including potential predators of amphipods, have visual pigments suited to the dominant wavelengths in their natural environment (Levine & MacNichol 1982, Gehrke 1994). Natural light in underwater environments is attenuated at increasing depths, particularly in turbid waters, with the result that the underwater light field is often dominated by yellow to orange light (Kirk 1979). Therefore, the yellow-orange coloration of acanthocephalan parasites visible through their intermediate host's cuticle might reasonably appear to be an effective

device to attract the attention of fish predators, and possibly increase trophic transmission to an appropriate final host. However empirical evidence supporting the adaptive coloration of acanthocephalans comes essentially from a single study on the vulnerability of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) infected with *Pomphorhynchus laevis* to predation by sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* (Bakker 1997). Using uninfected painted mimics that looked alike infected gammarids, Bakker et al. (1997) found that the mere presence of an orange spot on the cuticle of uninfected amphipods increased their detectability and predation by sticklebacks. Conversely, infected gammarids, whose parasite orange dot was masked through applying brown opaque paint on their cuticle, were less exposed to predation by sticklebacks than untouched infected controls.

However appealing the adaptiveness of the carotenoid-based colorations of acanthocephalans in relation to enhanced trophic transmission remains questionable (Nickol 2005). First, Bethel & Holmes (1977) pointed out that cystacanths (the final larval stage that is infective to the definitive host) of *Polymorphus minutus*, an acanthocephalan species using amphipods as intermediate hosts and wildfowl as definitive hosts, are bright orange, although ducks do not rely on vision to capture their crustacean preys. Second, based on growth and maturation of the adult parasite, Hine & Kennedy (1974) have shown that sticklebacks are not suitable hosts for *P. laevis*. Third, Bakker et al. (1997) provided no quantitative information regarding how closely the painted orange or brown dots matched the true colours of *P. laevis* cystacanth and *G. pulex* cuticle, respectively.

Here, we test again for a role of cystacanth coloration in the susceptibility of acanthocephalan-infected amphipods to predation by final hosts. We address this question using two different parasites with yellow-orange colorations, *P. laevis* and *P. minutus*, that both infect the amphipod *G. pulex* (Cézilly et al. 2000), and the trout *Salmo trutta* as predator.

Salmo trutta is both a regular predator of *G. pulex* (MacNeil 1999), and an appropriate final host only for *P. laevis* (Kennedy 1978). Following Bakker et al. (1997), we used painted mimics, to assess the role of cystacanth colour in increased susceptibility to predation, independently of the modified behaviour of infected hosts. The quality of mimics was however enhanced through adjusting their colour to that of each parasite species seen through the host's cuticle, using a spectrometer. We show that, contrary to previous claims (Bakker et al. 1997), cystacanth colour plays no role in the differential vulnerability of amphipods infected with acanthocephalans.

Methods

Sampling and maintenance of amphipods

Uninfected and *P. laevis*-infected *G. pulex* were collected from two localities on the River Ouche, Dijon and Trouhans (Burgundy, eastern France), and uninfected and *P. minutus*-infected *G. pulex* were collected from the River Bèze in Noiron sur Bèze (Burgundy, eastern France). We sampled gammarids from May 2006 to March 2007 using the kick sampling method (Hynes 1954). In the laboratory, gammarids were maintained in large, well aerated tanks filled with dechlorinated UV-treated tap water, and fed with elm leaves.

Colour characterization of acanthocephalan parasites and gammarid cuticle

We first characterized the colour of acanthocephalan cystacanths as seen through the host's cuticle and the colour of the cuticle itself, by reflectance spectrometry. A Nikon SMZ 1500 stereo microscope with a DXM 1200F Nikon camera was equipped with a S-2000 spectrometer (Ocean Optics, Eerbeek, The Netherlands), and cold light was delivered by a Schott 1500 KL LCD fiber optic halogen source. Twenty individuals were used for parasite

colour characterization through the gammarid cuticle and 27 uninfected gammarids were used for characterization of the cuticle colour. To get a mean reflectance spectrum for each acanthocephalan individual through host cuticle, we took ten measurements at random locations on the cystacanth for each infected gammarid (probe diameter = 0.14mm). Parasite reflectance was then calculated between 400 and 700 nm relative to a WS-2 white standard (Ocean Optics), and the corresponding reflectance spectra were imported into Lucia G 4.82 software (LIM Laboratory imaging Ltd). We compared spectra among samples using similarity module of spectra shape integrated in the software. Brightness was the sum of reflectance data in the interval 400-700 nm, chroma and hue were calculated following the segment classification method (Endler 1990). As data did not meet normality, a Y box cox transformation was performed before ANOVA.

Painted mimics

Mimics of infected amphipods were obtained through applying a dot of quick-drying paint to the cuticle of uninfected amphipods. In order to obtain realistic mimics, we characterized the colour of several different paints, ranging from yellow to orange (RAL colour chart) by reflectance spectrometry, as previously described. Match between paints and the true colour of *P. laevis* or *P. minutus* cystacanths, as seen through their intermediate host's cuticle, was performed using the module for spectral comparisons of the Lucia software. We then compared the spectral value of the selected paints to the mean spectral value for each parasite species using a t-test to a specified value. We used the same procedure to mask the presence of the cystacanth inside infected individuals through covering the orange spot visible through the intermediate host's cuticle with a dot of brown paint.

Gammarids were anaesthetized with CO₂ and their cuticle was quickly dried. A dot was applied on one side of the individual and dried with an air pump. The overall handling of gammarids did not exceed 2 minutes, and 24 hours later, 80% of painted mimics had survived and kept their dot.

Predation experiments

We choose the Brown trout (*Salmo trutta fario*) for predation experiments because it is a suitable final host for *P. laevis* (Kennedy 1978), and is a visually foraging predator (Baglinière & Maisse 1991). The trout also possess visual pigments allowing to see up to 600 nm (Bowmaker et Kuntz 1987).

Gammarids came from the same location than those used for colour characterization, with body length ranging from 11 to 15 mm. All individuals were acclimatized in standard conditions (see above) for at least one week before starting the experiments.

For predation experiments, brown trout ranging from 120 to 150 mm in length were purchased from the federal fish farm of Velars sur Ouche (eastern France). They were kept in the laboratory at least one week before the experiment under constant temperature (15°C) and a light: dark cycle of 12:12 hrs, and regularly fed with uninfected gammarids. Trouts were individually isolated and starved for 24 hours prior to the experiments.

The test aquaria (80 x 30 x 40cm) were filled with 60-l of dechlorinated and oxygenated tap water, surrounded with opaque screens and illuminated by overhead solar spectra fluorescent tubes (Trulite & Danaos, providing together more than 90% of solar spectrum with a 5500°K colour temperature). A transparent micro perforated net was covering the aquaria to let full spectrum lighting above the experimental area. Aquaria were divided in two unequal parts by a perforated plastic partition, allowing chemical and visual

cues but no physical contact between the trout predator and the gammarid preys. Two pieces of air-brick (21.5 x 10 x 5cm) were provided as a refuge to gammarids. One hour before experiments begin, a single fish predator was introduced in the one third part and sixty gammarids in the other part. Following this acclimatization period, the plastic partition was removed and the trout was allowed to feed on gammarids for 90 min. Then, the predator was removed, and the remaining gammarids were counted.

We performed three kinds of experiments to investigate the effects of parasite colour and host behaviour on the predation risk of *P. laevis* and *P. minutus* infected *G. pulex*. In a first experiment, 20 *P. laevis* or *P. minutus* infected and 40 uninfected *G. pulex* were offered to brown trout to assess the vulnerability of each type of infected prey. In a second experiment, we assessed the role of each parasite colour in increased vulnerability to predation, through exposing 20 painted mimics and 40 uninfected control harbouring a cuticle (brown) colour dot, to predation by trout. A third experiment consisted in assessing the role of the behavioural alteration through exposing 20 infected *G. pulex*, whose orange dot had been masked with brown paint, and 40 uninfected individuals harbouring a brown dot, to predation by trout. We analyzed selectivity of predation using the Manly's alpha index for variable prey population (see Manly 1974, Kaldonski et al. 2007). Selective predation on infected prey or painted mimics was assessed through comparing the observed values of α to a situation of equal vulnerability ($\alpha = 0.5$), using a t-test to a specified value (Sokal & Rohlf, 1995). The influence of prey type (infected, simulated infection or masked infection), parasite species, and interaction term was analysed using a two-way ANOVA and pair-wise differences were evaluated with Fisher's PLSD. All tests were performed using the *Statistica* statistical software (v. 6.0, Statsoft Inc.).

RESULTS

Colour characterization of acanthocephalan parasite spots and gammarid cuticle

We characterized the colour of acanthocephalan cystacanths as seen through the host's cuticle and the colour of the cuticle itself, by reflectance spectrometry. Spectra comparisons were performed based on three parameters: saturation, chroma and hue. All three were highly different between uninfected, *P. laevis*- and *P. minutus*-infected gammarids (all $P < 0.001$). No difference of saturation was found between parasite spots through the cuticle although both were more saturated than cuticle alone (Post hoc, *P. laevis* / cuticle $F_{1,64}=31.07$, $P < 0.0001$; Post hoc, *P. minutus* / cuticle $F_{1,64}=40.26$, $P < 0.0001$). *P. minutus* spot had a higher chroma than *P. laevis* spot (Post hoc, $F_{1,64}=15.03$, $P = 0.0002$) and than cuticle (Post hoc, *P. minutus* / cuticle $F_{1,64}=8.94$, $P = 0.0004$). Hue of *P. minutus* spot was lower than hue of *P. laevis* spot (Post hoc, $F_{1,64}=13.40$, $P = 0.0005$) and than hue of cuticle (Post hoc, $F_{1,64}=13.87$, $P = 0.0004$).

We then chose paints according to these spectra characteristic, based on the european RAL colour chart. All saturation, chroma and hue of chosen paints to mimic or mask parasites were comprised within the 95% confidence interval of respective living individuals colour (Fig. 1). RAL 1012 paint mixed to RAL 8025 (3:2) was approaching the most *P. laevis* spot, *P. minutus* spot matching was also very good with RAL 2000 paint, and the browner colour of cuticle matched with the RAL 8025 paint mixed pur black Lechsys 29.081 (3: 0.05). The maximum wavelength of the three parasite species was comprised between 570 and 595 nm, within the range of wavelengths detected by the brown trout (Bowmaker & Kuntz 1987).

Predation experiments

A total of 831 gammarids out of 3660 offered were eaten by 61 different trout in the predation experiments. Figure 2 shows variation in specificity of predation towards infected, mimic or simulated prey in relation to parasite species, as assessed from Manly's α preference index. No selective predation was detected on *P. minutus*-infected, masked or simulated gammarids. By contrast, trout preyed significantly more on both *P. laevis*-infected prey ($n = 9$, t-test to a specified value, $t=3.79$, $P=0.005$) and on *P. laevis*-infected prey with orange dot masked ($n = 8$, t-test to a specified value, $t=4.81$, $P=0.002$; Fig. 2). Trout selectivity for prey differed between prey types (two-way ANOVA: $F_{5,60} = 5.19$, $P < 0.001$; Fig. 2). A significant interaction ($F_{2,52}=3.68$, $P=0.03$) between parasite species and treatment indicates that selectivity of trout was not the same among treatment between parasite species. Trout showed no preference for any type of prey either *P. minutus*-infected or simulated, but did show a preference among the three types of *P. laevis*-infected or uninfected prey. Whether the orange dot was visible or masked, *P. laevis*-infected prey were more vulnerable to predation (Fisher's PLSD: $P > 0.05$; Fig. 2) whereas a simulated infection did not increase predation upon uninfected mimics

Discussion

Acanthocephalan parasites are known to alter the appearance of their intermediate hosts in different ways (Hindsbo 1972, Bethel & Holmes 1973, Bakker et al. 1997, Latham & Poulin 2001, Fuller et al. 2003). In certain cases, the parasites interfere with the formation of integumental pigmentation in the intermediate host (Hindsbo 1972, Camp & Huizinga 1979, Oetinger & Nickol 1981, Amato et al. 2003, Fuller et al. 2003), whereas in others the

parasites themselves are brightly pigmented (Barrett & Butherworth 1968, 1973, Podesta & Holmes 1970, Gaillard et al. 2004). However, linking changes in appearance to increased trophic transmission to final hosts is complicated by the fact that infected hosts often show alterations in behaviour in addition to manipulated appearance, hence the need to perform careful experiments to separate the effects of modified appearance from those induced by altered behaviour.

The marked discrepancy between our results and those of Bakker et al. (1997) can be confidently ascribed to methodological issues. Bakker et al. (1997) relied on sticklebacks as predators, whereas trout were used in the present study. Large evidence exists for a sensory bias in sticklebacks (Cronly-Dillon & Sharma 1968, Smith et al. 2004). Extreme sensitivity of sticklebacks for long wavelengths corresponding to yellow to red colours may thus contribute to explain the results obtained by Bakker et al. (1997), especially as sticklebacks have been shown to respond more strongly to orange-red objects in a foraging context (Smith et al. 2004). In that respect, predation by sticklebacks may not be quite representative of the predation pressure encountered by gammarids infected by acanthocephalans in their environment. In addition, the suitability of sticklebacks as final hosts for *P. laevis* is dubious (see Hine & Kennedy 1974), whereas the trout is both a regular predator of amphipods (Billard 1997) and an appropriate definitive host for *P. laevis* (Kennedy 1978). Interestingly, the results obtained in the present study on the differential vulnerability of *P. laevis*-infected and *P. minutus*-infected gammarids compared to uninfected individuals are totally congruent with those recently obtained using another appropriate final host of *P. laevis*, the bullhead, *Cottus gobio*, as predator (Kaldonski et al. 2007). Because the cystacanths of both parasite species are brightly coloured, but only gammarids infected with fish parasites are more vulnerable to predation by fish predators, one may conclude that the increased trophic

transmission of infected intermediate hosts to final hosts is essentially due to the effect of *P. laevis* on the behaviour of its intermediate host (Baldauf et al. 2007, Kaldonski et al. 2007, Perrot-Minnot et al. 2007), and not to the parasite's colour. Interestingly, Ruff and Maier (2000) found that the increased conspicuousness of *Gammarus fossarum* harbouring calcium carbonate deposits had no effect on their vulnerability to predation by salamander larvae.

Another, non-alternative, possibility is that the orange paint used by Bakker et al. (1997) to simulate infection did not match quite exactly the colour of the parasite seen through the host's cuticle, thus increasing the conspicuousness of painted mimics beyond that of naturally infected gammarids. Using realistic mimics is however a pre-requisite in studies of the adaptive value of animal colorations (Kauppinen & Mappes 2003, Soler et al. 2003, Byers 2006). Here, we used a spectrometer to analyze both the colour of parasites seen through the cuticle of their host and the colour of the cuticle itself, and adjusted the colour of mimics accordingly. We are thus confident that the painted mimics were highly similar in appearance to infected individuals. Because painted uninfected mimics did not differ in vulnerability to predation by trout from intact, uninfected individuals, we conclude that the yellow-orange coloration of acanthocephalans plays no adaptive role in trophic transmission to final hosts.

The absence of an effect on trophic transmission does not preclude the possibility that the carotenoid-based colorations of acanthocephalan parasites have indeed an adaptive value. It has been suggested that carotenoids may provide protection of cystacanths against UV radiation and oxidative damage (Barrett & Butterworth 1973, Bakker *et al.* 1997), although direct evidence is lacking. This hypothesis might be particularly relevant for acanthocephalan species that, through manipulating their host behaviour to make them more vulnerable to predation by appropriate definitive hosts (Cézilly et al. 2000, Moore 2002), become more

exposed to UV radiation. *Pomphorhynchus laevis* is known to reverse the phototaxis in *G. pulex*, from negative to positive, while gammarids infected with *P. minutus* tend to swim closer to the water surface (Cézilly et al. 2000). Both behavioural alterations are likely to result in increased exposition of both hosts and parasites to UV radiation. However, although the biological actions and functions of carotenoids depend upon their chemical and physical properties (Britton 1995), little is known about the variation in pigmentation among acanthocephalan parasite species, particularly between species that differ in definitive hosts and ability to manipulate the phenotype of their intermediate host. The identification of the carotenoid content of cystacanths is thus a prerequisite to understand the adaptive significance of acanthocephalan colorations. An alternative non-adaptive hypothesis for cystacanth pigmentation in these acanthocephalan species is to consider carotenoid storage as a side-product of lipid uptake during larval growth. Acanthocephalans are storing large amount of lipids, constituting more than 25 % of the dry mass of *P. minutus* cystacanths for instance (Taraschewski 2000). In *P. minutus*, the carotenoids are exclusively found in the lipid radial layer of the cystacanth and its derivatives (Barrett & Butterworth 1968). Carotenoids are circulating in crustaceans' haemolymph in a free state, either bound to proteins to form carotene-protein complexes or dissolved in fat droplets (Barrett & Butterworth 1968; Łotocka & Styczyńska-Jurewicz 2001), hence their likely uptake and storage together with lipids. Carotenoid uptake is however selective (Barrett & Butterworth 1968; Gaillard et al. 2004) and vary among pigmented acanthocephalan species (Perrot-Minnot et al. unpublished data). A comparative analysis of lipid content in acanthocephalan species sharing the same intermediate host but differing in carotenoid content is therefore necessary to test this hypothesis.

Although the precise function of carotenoid-based colorations in acanthocephalan parasites deserves further consideration, the present study indicates that they play no role in the increased trophic transmission of intermediate hosts to final hosts. Adaptive explanations require rigorous testing, if only to protect evolutionary ecology from red herrings and naïve adaptationism (Gould & Lewontin 1979, Peters 1991, Orzack & Sober 2001). Because parasitic manipulation is a fascinating phenomenon but also a catchy topic, its study should not escape to this rule (Poulin 1995, Thomas et al. 2005, Cézilly & Perrot-Minnot 2005).

References

- Amato, J.F.R., Amato, S.B., Araujo, P.B. & Quadros, A.F. 2003. First report of pigmentation dystrophy in terrestrial isopods, *Atlantoscia floridana* (van Name) (Isopoda, Oniscidae), induced by larval acanthocephalans. *Revista Brasileira de Zoologia* 20: 711-716.
- Baglinière, J.L. & Maisse, G. 1991. *La Truite, Biologie et Ecologie*. Paris: INRA Editions.
- Bakker, T.C.M., Mazzi, D. & Zala, S. 1997. Parasite-induced changes in behavior and color make *Gammarus pulex* more prone to fish predation. *Ecology* 78, 1098-1104.
- Barrett, J. & Butterworth, P.E. 1968. The carotenoids of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) and its intermediate host, *Gammarus pulex*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 27, 575-581.
- Barrett, J. & Butterworth, P.E. 1973. The carotenoid pigments of six species of adult Acanthocephala. *Experientia* 29, 651-653.
- Bethel, W. M. & Holmes, J. C. 1977. Increased vulnerability of amphipods to predation owing to altered behaviour induced by larval acanthocephalans. *Canadian Journal of Zoology*, 55, 110-116.

- Bowmaker, J. K. & Kunz, Y. W. 1987. Ultraviolet receptors, tetrachromatic colour vision and retinal mosaics in the brown trout (*Salmo trutta*): age-dependent changes. *Vision Research* 27, 2101-2108.
- Britton, G. 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB Journal* 9, 1551-1558.
- Byers, J.A. 2006. Analysis of insect and plant colors in digital images using java software on the internet. *Annals of the Entomological Society of America* 99: 865-874.
- Camp, J. W. & Huizinga, H. W. 1979. Altered color, behavior and predation susceptibility of the isopod *Asellus intermedius* infected with *Acanthocephalus dirus*. *Journal of Parasitology* 65, 667-669.
- Cézilly, F., Grégoire, A. & Bertin, A. 2000. Conflict between co-occurring manipulative parasites? An experimental study of the joint influence of two acanthocephalan parasites on the behaviour of *Gammarus pulex*. *Parasitology*, 120, 625-630.
- Cézilly, F. & Perrot-Minnot, M.-J. 2005. Studying adaptive changes in the behaviour of infected hosts: a long and winding road. *Behavioural Processes*, 68, 223-228.
- Cronly-Dillon, J.R. & Sharma, S. 1968. Effect of season and sex on the photopic spectral sensitivity of the three-spine stickleback. *Journal of Experimental Biology* 49: 679-687.
- Fuller, C.A., Rock, P. & Philips, T. 2003. Behavior, color changes and predation risk induced by Acanthocephalan parasitism in the Carribean Termite *Nasutitermes acajutlae*. *Carribean Journal of Science*, 39, 128-135.
- Gaillard, M., Juillet, C., Cézilly, F. & Perrot-Minnot, M.-J. 2004. Comparative study of carotenoid content of two freshwater amphipod species (*Gammarus pulex* and *G. roeseli*) and their common Acanthocephalan parasite *Polymorphus minutus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, serie B*, 129, 129-136.

- Gehrke, P. C. 1994. Influence of light intensity and wavelength on phototactic behaviour of larval silver perch *Bidyanus bidyanus* and golden perch *Macquaria ambigua* and the effectiveness of light traps. *Journal of Fish Biology* 44, 741-751.
- Gould, S.J. & Lewontin, R.C. 1979. The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: A critique of the adaptationist programme. *Proceedings of the Royal Society London B*. 205: 581-598.
- Hine, P.M. & Kennedy, C. R. 1974. Observations of the distribution, specificity and pathogenicity of the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis*. *Journal of Fish Biology* 6, 521-535.
- Kauppinen, J. & Mappes, J. 2003. Why are wasps so intimidating: field experiments on hunting dragonflies (Odonata: *Aeshma grandis*). *Animal Behaviour* 66: 505-511.
- Kennedy, C. R., Broughton, P. F. & Hine, P. M. 1978. The status of rainbow trout, *Salmo trutta* and *S. gairdneri* as hosts of the acanthocephalan, *Pomphorhynchus laevis*. *Journal of Fish Biology* 13, 265-275.
- Kirk, J.T.O. 1979. Spectral distributions of photosynthetically active radiation in some south-eastern Australian waters. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 18, 137-153.
- Levine, J.S. & MacNichol, E.F.Jr. 1982. Colour vision in fishes. *Scientific American* 246: 140-149.
- Łotocka, M. & Styczyńska-Jurewicz, E. 2001. Astaxanthin, canthaxanthin and astaxanthin esters in the copepod *Acartia bifilosa* (Copepoda, Calanoida) during ontogenetic development. *Oceanologia* 43: 487-497
- MacNeil, C., Dick, J. T. A. & Elwood, R. W. 1999. The dynamics of predation on *Gammarus* spp. (Crustacea: Amphipoda). *Biological Review*, 75, 375-395.

- Moore, J. 2002. *Parasites and the Behaviour of Animals*. Oxford : Oxford University Press.
- Nickol, B. B. 2005. Parasitic manipulation: should we go anywhere? *Behavioural Processes*, 68, 201-203.
- Oetinger, D.F. & Nickol, B.B. 1981. Effects of acanthocephalans on pigmentation of freshwater isopods. *Journal of Parasitology*, 67, 672-684.
- Orzack, S.H. & Sober, E.R., (eds.) 2001. *Adaptationism and Optimality*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Peters, R.H. 1991. *A Critique for Ecology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Podesta, R.B. & Holmes, J.C. 1970. The life cycles of three polymorphids (Acanthocephala) occurring as juveniles in *Hyalella azteca* (Amphipods) at Cooking Lake, Alberta. *Journal of Parasitology* 56: 1118-1123.
- Poulin, R. 1995. "Adaptive" changes in the behaviour of parasitized animals: a critical review. *International Journal for Parasitology* 25:1371-1383.
- Ruff, H. & Maier, G. 2000. Calcium carbonate deposits reduce predation pressure on *Gammarus fossarum* from salamander larvae. *Freshwater Biology* 43: 99-105.
- Sanchez, M.I., Georgiev, B.B., Nikolov, P.N., Vsileva, G.P. & Green, A.J. 2006. Red and transparent brine shrimp (*Artemia parthenogenetica*): a comparative study of their cestode infections. *Parasitology Research* 100: 111-114.
- Smith, C., Barber, I., Wootton, R.J. & Chittka, L. 2004. A receiver bias in the origin of three-spined stickleback mate choice. *Proceedings of the Royal Society London B* 271: 949-955.
- Soler, J.J., Aviles, J.M., Soler, M. & Møller, A.P. 2003. Evolution of host egg mimicry in a brood parasite, the great spotted cuckoo. *Biological Journal of the Linnean Society* 79: 551-563.

- Taraschewski, H. 2000. Host-parasite interactions in acanthocephalan: a morphological approach. *Advances in Parasitology* 46: 1-179.
- Thomas, F., Adamo, S.A. & Moore, J. 2005. Parasitic manipulation: where are we and where should we go?. *Behavioural Processes* 68, 185-199.
- Van der Veen, I.T. 2005. Costly carotenoids: a trade-off between predation and infection risk? *Journal of Evolutionary Biology* 18: 992-999.

Captions for figures

Figure 1. Reflectance spectra for living parasites through gammarids cuticle and paint used on mimics (a, cuticle spectra; b, *P. laevis* spectra; c, *P. minutus* spectra). Error bars indicate 95% confidence interval.

Figure 2. Mean ($\pm$ 95% confidence interval) of preference index showing selectivity of trout on infected unpainted versus uninfected (control) gammarids, mimics versus uninfected with a brown paint (control) and infected but masked versus uninfected gammarids with a brown paint (control). Above graph deals with *P. laevis* prey types and bottom graph with *P. minutus* ones. Values above the dashed line indicate over consumption of infected prey. Stars above the bars indicate a significant difference from equal susceptibility of infected and infected prey and bars connected by above lines are significantly different.

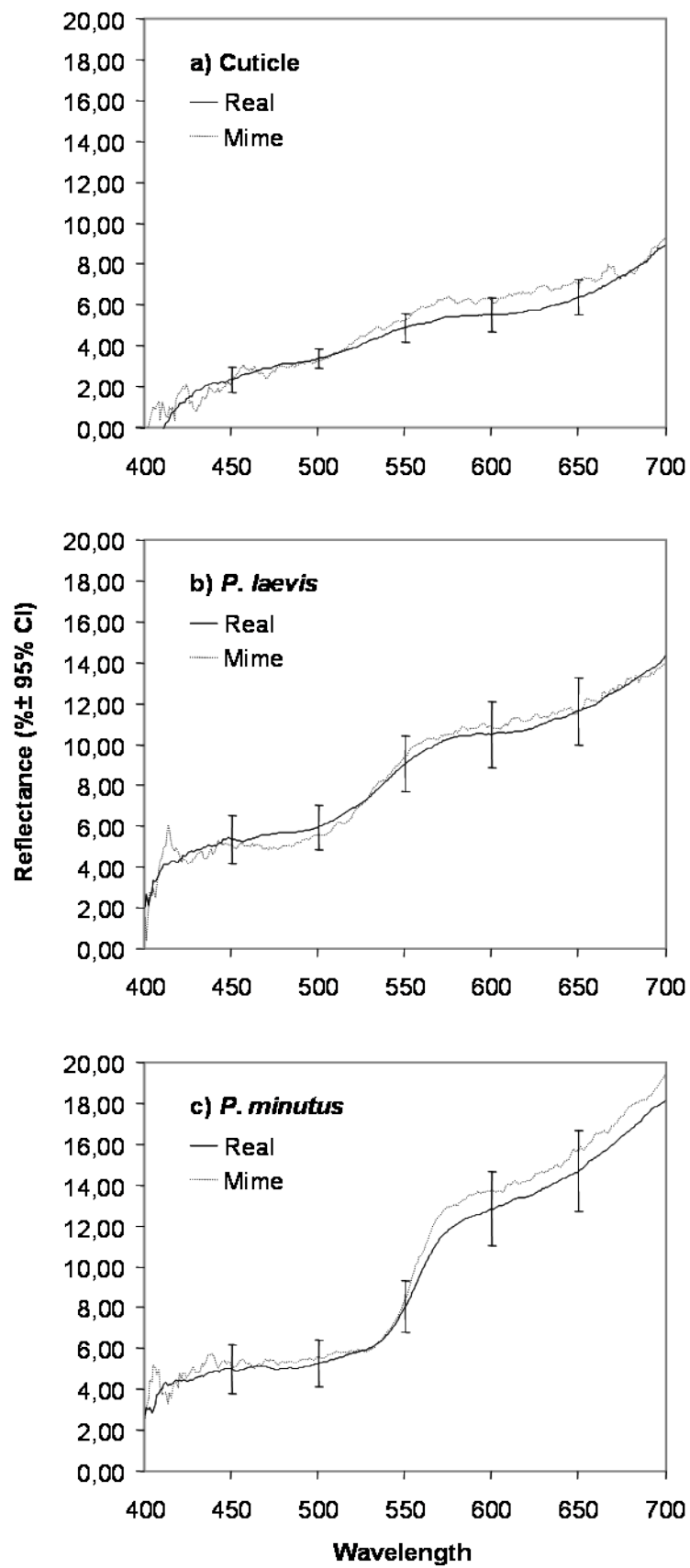


Figure 1

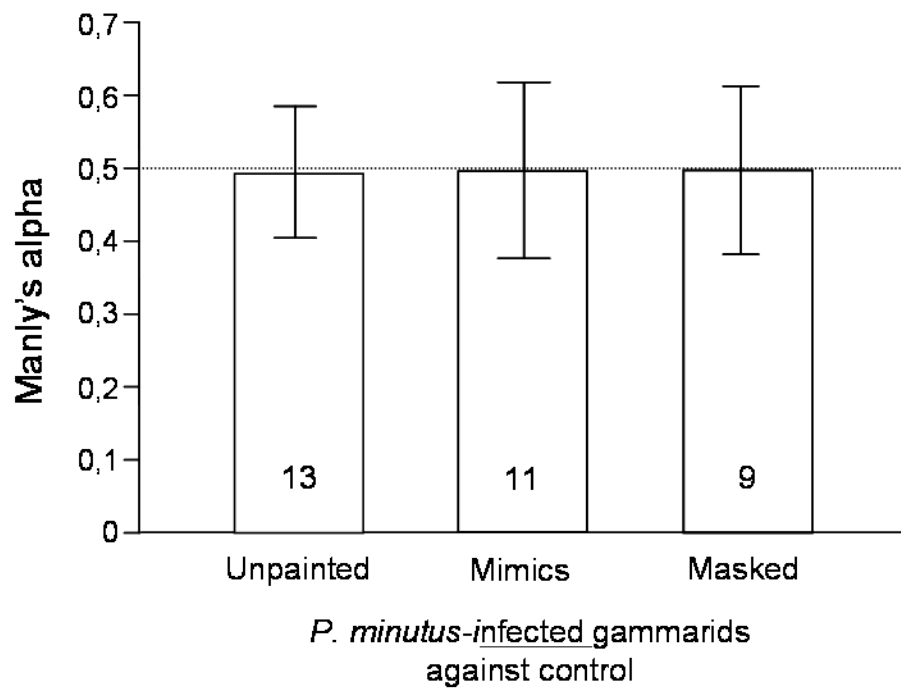
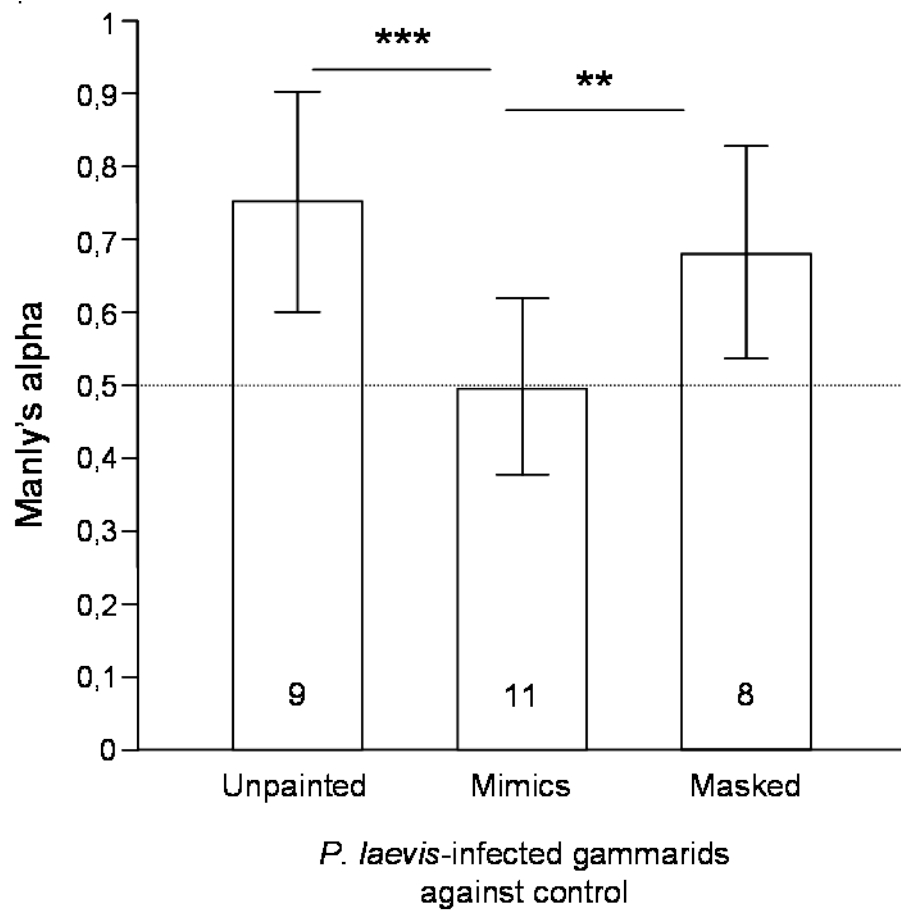


Figure 2

Chapitre 4 :
Discussion générale

Les modifications comportementales induites par le parasite augmentent sa transmission par voie trophique

Les résultats présentés dans cette thèse corroborent l'hypothèse du caractère adaptatif de la manipulation comportementale induite par les parasites acanthocéphales chez leur hôte intermédiaire *G. pulex*. L'augmentation de transmission trophique vers le chabot est démontrée d'une part en condition naturelle dans deux populations différentes et pour deux espèces différentes de parasites, et d'autre part en conditions contrôlées en laboratoire, avec un réplicat sur un second hôte définitif, la truite de rivière. La manipulation de l'hôte intermédiaire confère donc un avantage certain au parasite en terme d'aptitude phénotypique, car elle lui permet d'atteindre son hôte définitif plus efficacement que par le fait du hasard (Poulin 1995). De plus, les poissons utilisés sont assurément des hôtes définitifs des populations de parasites étudiés, contrairement à d'autres études pour lesquelles le doute subsiste (Webber *et al.* 1987, Bakker *et al.* 1997). Les poissons dans lesquels on trouve les plus fortes charges parasitaires en Bourgogne sont cependant les chevesnes pour *P. laevis* et les barbeaux pour *P. tereticollis* (Guyonnet 2005), et il aurait pu paraître plus judicieux d'utiliser ces prédateurs dans les expériences de transmission trophique. Ces poissons sont néanmoins beaucoup plus difficiles à utiliser, aussi bien en cage sur le terrain qu'en aquarium en laboratoire, car ils sont beaucoup plus sensibles au stress qu'induit le confinement, leur comportement alimentaire s'en trouvant fortement affecté. La nécessité d'aquariums de plus grande contenance s'impose donc pour effectuer des expériences de prédation sélective avec ces espèces. D'autres contraintes compromettent la démonstration d'une augmentation de transmission trophique accrue de *P. minutus* vers des oiseaux aquatiques comme les canards qui, eux, ont besoin de beaucoup d'espace pour s'alimenter normalement. Ces oiseaux consomment de surcroît des quantités de gammarès telles qu'il semble difficile de récolter suffisamment d'individus parasités, pour obtenir un nombre raisonnable de réplicats. Malgré ces remarques, nos études sur l'augmentation de la transmission trophique se démarquent tout de même clairement des autres (Bakker *et al.* 1997) de par leur précision et leur réalisme accru, et évitent en cela des biais reconnus dans la plupart des études (Nickol 2005). Aucune étude n'avait par exemple démontré jusqu'alors l'augmentation de la transmission trophique en conditions de laboratoire avec des prévalences approchant celles rencontrées dans la nature. Ces prévalences sont néanmoins fluctuantes selon l'heure, le jour ou encore l'habitat

et les régimes des rivières. Il serait donc intéressant de voir s'il existe un seuil de prévalence en deçà duquel la manipulation n'induit plus une transmission trophique accrue, par des expériences de type « switching » par exemple (Murdoch 1969, Ayala & Campbell 1974, Hugues & Croy 1993).

Le parasite altère plusieurs perceptions de signaux ou les réactions comportementales afférentes chez son hôte intermédiaire

Les altérations phénotypiques impliquées dans cette augmentation de transmission trophique et mises en avant dans la présente thèse furent de deux ordres :

-la première concerne l'ajustement temporel de la manipulation à l'optimum de transmission : elle confirme que des mécanismes mettent en jeu la modification de la réaction à la lumière crépusculaire des gammares par les acanthocéphales de poissons, et ont pour résultat d'augmenter le taux de dérive des hôtes intermédiaires (McCahon *et al.* 1991, Wellnitz *et al.* 2003). Cette augmentation de dérive, décuplée aux heures préférentielles de chasse des poissons hôtes, accroît la vulnérabilité des proies face aux prédateurs chassant dans le courant et / ou à l'affût. Notre étude est la première à démontrer ce phénomène aussi clairement en conditions naturelles, avec notamment une taille d'échantillon de plus de 20000 gammares, tous sexes, mesurés et vérifiés pour leur statut parasitaire et une intégration novatrice de la notion de cycle nyctéméral dans la manipulation.

-la seconde concerne les réactions anti prédateur des gammares, notamment l'utilisation des refuges et les réactions de fuite, initiées par la perception olfactive d'un prédateur (Dahl 1998). *P. laevis* et *P. tereticollis* inversent l'effet répulsif de l'odeur du chabot chez leur hôte intermédiaire, qui se surexpose ainsi à la prédation par rapport aux individus non infectés. La manipulation ne semble donc opérer que lorsqu'une opportunité de transmission se présente au parasite. Une seule étude, toute récente (Baldauf *et al.* 2006), présente des résultats similaires. Notre approche par olfactométrie montrant l'inversion de la réaction anti prédateur est cependant plus précise car elle permet de réduire le contact entre la proie et le prédateur à la seule communication chimique. Cette altération comportementale renforce l'idée de la spécificité de la manipulation (Cézilly & Perrot-Minnot 2005) car l'inversion des réactions anti prédateur en réponse à l'odeur de chabot n'a été trouvée parmi les trois espèces

d'acanthocéphales étudiées que chez les parasites de poissons et non d'oiseaux. La compréhension de la finesse de cette spécificité de la réaction pourrait être améliorée en reproduisant ces expériences avec d'autres poissons dans lesquels les parasites ne se développent pas ou peu, ou encore d'autres prédateurs comme les écrevisses. Tous ces résultats concernant les modifications comportementales indiquent une réelle multidimensionalité de la manipulation (Cézilly & Perrot-Minnot 2005), affectant à la fois la réaction à la lumière des gammares, leurs cycles de dérive et leurs réactions anti prédateurs. L'étude des mécanismes physiologiques impliqués devrait élucider les étapes auxquelles ces effets multiples sont induits : très en amont (plusieurs voies de manipulation) ou très en aval (affectant des molécules intervenant dans différentes voies physiologiques).

Cette multidimensionalité au niveau des altérations comportementales ne semble cependant pas s'étendre aux altérations morphologiques dans notre système. L'hypothèse avancée par Bakker *et al.* (1997), selon laquelle la tache colorée que forment les trois espèces de parasite à travers la cuticule de leur hôte intermédiaire augmente la vulnérabilité du gammare a en effet été démentie, indiquant que seule la manipulation comportementale, et non la modification de l'apparence, profite à la transmission du parasite. Il semble compréhensible qu'en environnement aquatique, cette tache ne puisse pas apparaître aussi visible qu'on veuille bien l'assumer. En effet la turbidité d'une part et la pénétration différentielle des longueurs d'ondes en fonction de la profondeur d'autre part, font que les prédateurs ne doivent pas la distinguer aussi précisément. Il faut cependant noter ici que ni la caractérisation du spectre de réflectance des parasites ni la reproduction de la couleur n'ont intégré la zone UV. Certains poissons sont pourtant connus pour voir dans cette région du spectre (Loew et McFarland 1990, Hunt 2001) dont les longueurs d'onde, au contraire de l'infra rouge, pénètrent dans l'eau. La truite possède en particulier des pigments visuels lui permettant de voir dans l'UV lors de sa première année et parfois un peu plus longtemps (Bowmaker et Kunz 1987), période où elle se nourrit essentiellement de petits invertébrés aquatiques (Baglinière et Maisse 1991). Des études mettant en œuvre des matériels permettant d'explorer cette région du spectre sont donc prévues à court terme pour compléter ces premiers résultats dans le « visible ».

Cette transmission trophique est ciblée vers les hôtes définitifs

Au-delà de cette transmission trophique accrue, le point capital de la démonstration de la spécificité des altérations phénotypiques a également renforcé le caractère adaptatif de la manipulation comportementale (Poulin 1995) : *P. laevis* n'induit pas de prédation accrue par les grenouilles *in situ* et *P. minutus* n'induit pas de prédation accrue par les poissons en conditions de laboratoire. Ce type d'étude devrait être idéalement réalisé en conditions naturelles pour mieux prendre en compte le comportement d'approvisionnement des prédateurs et leurs interactions entre eux. Il est néanmoins difficile à mettre en œuvre sur le modèle acanthocéphales / gammares pour deux raisons principales. (i) La première tient au choix des prédateurs à utiliser qui fait que toutes les expériences n'ont pas la même faisabilité. Si les travaux de cette thèse ont exposé des parasites de poissons (*P. laevis* et *P. tereticollis*) et d'oiseaux aquatiques (*P. minutus*) à un même prédateur poisson, l'expérience inverse consistant à exposer ces trois mêmes parasites à un oiseau n'est pas aussi facile. Comme évoqué précédemment, maintenir un canard en captivité est en effet bien plus difficile et contraignant que des poissons et les quantités de proies ingérées par ces volatiles, même sur un laps de temps très court, sont trop conséquentes pour mettre en œuvre de telles expériences. Quant à maintenir des canards en environnement clos en conditions naturelles (sur une portion de rivière par exemple) et analyser leur régime alimentaire, ce serait une expérience demandant une infrastructure très importante. Une alternative pourrait être d'ancrer par exemple des canards sur un site (tels des appelants), de leur poser des colliers à la gorge et de récupérer leur repas avant qu'il n'atteigne l'estomac (Willson 1966, Moore 1984). La spécificité de la manipulation n'a donc été abordée *in natura* que sur la grenouille verte, un des rares prédateurs vertébrés pouvant être capturé et forcé à régurgiter leur repas récent. Les individus capturés ne présentaient pas de prévalence plus importante en *P. laevis* dans leurs estomacs que dans la nature. Indirectement, les quantités de *G. pulex* infectés par *P. minutus* dans les contenus stomacaux de chabots collectés dans la Bèze étant presque nulles, il peut être admis que ce parasite n'augmente pas la vulnérabilité de son hôte intermédiaire vers un prédateur non hôte. (ii) La deuxième condition limitante à l'étude de la spécificité *in natura* tient au fait que les prédateurs non hôtes potentiels sont pour la plupart des invertébrés, qui consomment les gammares de manière très différente des poissons. Alors que ces derniers « gobent » majoritairement leurs proies, qui se retrouvent entières dans l'estomac, le mode

d'alimentation des prédateurs invertébrés ne permet pas de retrouver des proies intactes dans leurs estomacs pour quantifier avec précision la prévalence dans les contenus stomacaux. Le taux de sélectivité de ces prédateurs sur les gammarés infectés ne pouvant pas non plus s'établir par observation directe, la seule solution restante est l'analyse de la différence entre ce qui était à disposition du prédateur initialement et ce qui restait à la fin de l'expérience. De telles expériences en milieu naturel sont presque impossibles du fait de la perturbation qu'il faudrait faire subir au milieu pour contrôler les quantités de proies et tout autres paramètres tels que le courant, la luminosité ou les variations de micro habitat. Face aux contraintes imposées par le terrain, les approches en laboratoire et en microcosme semblaient être une approximation permettant d'avoir une idée préliminaire de l'impact de prédateurs non hôtes sur les hôtes manipulés.

D'autres prédateurs peuvent tirer bénéfice de cette vulnérabilité accrue

La prédation accrue de la nêpe et de l'écrevisse sur les proies parasitées laisse à penser que la manipulation est tout de même coûteuse pour le parasite, car ces deux prédateurs présentaient une préférence globalement marquée (malgré quelques variations) pour les proies infectées par rapport aux proies non infectées. Cependant cette préférence doit être relativisée par rapport au taux de prélèvement par heure de ces prédateurs, qui est vraisemblablement bien inférieur à celui des hôtes définitifs tels le chabot ou la truite. La nêpe comme l'écrevisse sont de plus des prédateurs qui ne courent aucun risque d'infection en consommant un gammaré infecté par un acanthocéphale car leur mode d'alimentation, piqueur suceur pour la nêpe et broyeur pour l'écrevisse, ne permettent pas au cystacanthe de pénétrer dans la cavité générale de ces prédateurs. Le parasite ne pourra donc en aucun cas avoir l'opportunité de s'engager dans une co-évolution avec ces prédateurs. Nous envisageons de réaliser des expériences en mésocosme sur des bassins de plus grande envergure afin de combiner plusieurs prédateurs (qu'ils soient de la même espèce ou non) et / ou plusieurs espèces de parasites, afin de mieux comprendre le coût réel que représentent ces prédateurs non hôtes. En revanche la manipulation permet à ce type de prédateurs de consommer des proies dont la qualité intrinsèque ne semble pas différer de celle des proies non infectées (Franz & Kurtz 2002), tout en dépensant beaucoup moins d'énergie que pour attraper les proies non infectées (Lafferty *et*

al. 2006). De ce fait, la manipulation crée des connexions entre des proies et des prédateurs qui ne sont pas établies hors infection, et peut influencer plus ou moins la structuration et le fonctionnement des réseaux trophiques (Hatcher *et al.* 2006). A cet égard, les analyses classiques de structuration des communautés et des chaînes alimentaires accordent souvent trop peu d'intérêts à l'impact des parasites et leur intégration augmenterait la complexité des structures mais également et surtout leur niveau de compréhension (Lafferty *et al.* 2006). Pour être exhaustive, une étude portant sur une chaîne alimentaire dans une communauté donnée ne devrait donc plus faire l'économie des parasites. Il est à noter enfin que les expériences en microcosme n'ont fait intervenir qu'un seul prédateur d'une seule espèce, et de nombreuses expériences sont encore nécessaires pour notamment explorer les interactions entre prédateurs sur leur sélectivité. Quid notamment du comportement alimentaire de prédateurs lorsqu'ils se retrouvent eux-mêmes face à un risque de prédation ou lorsque des structures hiérarchiques s'établissent entre eux par exemple ? C'est pourquoi des expériences en mésocosme permettant d'accroître le nombre d'individus prédateurs, d'espèces de prédateurs et de parasites s'avèrent encore une fois très utiles dans l'avenir pour mieux comprendre l'impact des parasites sur les réseaux trophiques.

Pour conclure, une étude approfondie de la spécificité de la manipulation doit donc prendre en compte à la fois l'accroissement de transmission trophique aux hôtes définitifs appropriés, mais aussi la prédation accrue par des prédateurs non hôtes. La question de la spécificité de la manipulation renvoie donc à la notion de filtre de rencontre et de compatibilité développée par Combes (2001). Pour des prédateurs tels que les invertébrés, le filtre de rencontre est ouvert mais le filtre de compatibilité est fermé, la situation est assez claire pour expliquer que les parasites ne s'établissent pas dans ces prédateurs. A l'inverse, il se peut que pour d'autres prédateurs le filtre de compatibilité soit ouvert mais pas le filtre de rencontre, et dans bien des cas il est difficile d'établir si c'est l'une ou l'autre des situations qui est en cause dans l'échec de l'établissement du parasite. Kuris *et al.* (2007) ont pu tester ces deux cas de figure grâce à deux espèces de crabe, *Carcinus maenas* et *Pachygrapsus marmoratus*, exposés à la sacculine (*Sacculina carcini*). Ils ont démontré que celle-ci, bien qu'en contact naturel avec une seule des deux espèces de crabe, pouvait pénétrer dans la seconde de la même manière, mais ne pouvait y atteindre le stade adulte et se retrouvait

enkystée. Dans ce cas, le filtre de compatibilité est donc fermé, et même si un évènement naturel ou artificiel venait à mettre en contact la sacculine avec *P. mormoratus*, son établissement y serait impossible. Dans notre système hôte – parasites de poissons, il semble qu'il y ait les deux cas de figure, à savoir le filtre de rencontre ouvert mais le filtre de compatibilité fermé dans le cas des prédateurs invertébrés, et le filtre de rencontre fermé mais le filtre de compatibilité ouvert chez certains prédateurs poissons. En effet, les deux espèces de Pomphorhynchus ont des gammes d'hôtes restreintes à quelques espèces de poissons, en grande partie disjointe même en sympatrie (Guyonnet 2005) : majoritairement le chevesne pour *P. laevis* et le barbeau pour *P. tereticollis*. Lorsque néanmoins *P. laevis* et *P. tereticollis* sont occasionnellement trouvés dans le barbeau ou le chevesne respectivement, leur croissance et leur reproduction ne semblent pas affectées (Guyonnet 2005). Pour vérifier si une fermeture du filtre de rencontre est responsable de ces répartitions contrastées, il conviendrait d'ouvrir expérimentalement le filtre de rencontre par une mise en contact forcée de cystacanthos (stade infestant) de ces deux espèces de parasites avec les deux espèces de poissons (Kuris *et al.* 2007), et de comparer la maturation et la reproduction des adultes entre les deux hôtes définitifs. Le cas échéant, pourquoi le filtre de rencontre serait-il fermé ? Un élément explicatif pourrait être que ces poissons présentent des choix de micro habitats différents, le chevesne étant plutôt pélagique alors que le barbeau est benthique, coïncidant ou non avec les distributions spatio-temporelles des proies manipulées par *P. laevis* et *P. tereticollis*. Une alternative pourrait être que l'altération des réactions anti prédateur du gammare par les acanthocéphales module l'ouverture de ce filtre de rencontre. Ce filtre pourrait donc être ouvert par sélection naturelle si les hôtes définitifs se raréfient dans l'environnement du parasite, et au contraire se fermer si ceux-ci augmentent en fréquence dans la population.

Tester la valeur adaptative des altérations phénotypiques induites par les parasites est donc possible à une échelle micro évolutive, et ce par des études liant différentes approches d'écologie comportementale ainsi que de parasitologie évolutive. L'étude de la manipulation est donc loin d'être terminée et doit se prolonger dans des directions aussi variées que l'étude des mécanismes sous-jacents (Thomas *et al.* 2005) ou de l'écologie des communautés (Lafferty *et al.* 2006).

Chapitre 5 :
Références bibliographiques

- Abjörnsson, K., Dahl, J., Nyström, P. & Brönmark, C. 2000. Influence of predator and dietary chemical cues on the behaviour and shredding efficiency of *Gammarus pulex*. *Aquatic Ecology*, 34, 379-387.
- Abjörnsson, K., Wagner, B. M. A., Axelsson, A., Bjerselius, R. & Olsen, K. H. 1997. Responses of *Acilius sulcatus* (Coleoptera: Dytiscidae) to chemical cues from perch (*Perca fluviatilis*). *Oecologia*, 111, 166-171.
- Adamo, S. A. 2002. Modulating the modulators: Parasites, neuromodulators and host behavioral change. *Brain Behavior and Evolution*, 60, 370-377.
- Andersen, T. H., Friberg, N., Hansen, H. O., Iversen, T. M., Jacobsen, D. & Krojgaard, L. 1993. The effects of introduction of brown trout (*Salmo trutta* L) on *Gammarus pulex* L drift and density in 2 fishless Danish streams. *Archiv Für Hydrobiologie*, 126, 361-371.
- Andersson, K. G., Brönmark, C., Herrmann, J., Malmqvist, B., Otto, C. & Sjöström, P. 1986. Presence of sculpins (*Cottus gobio*) reduces drift and activity of *Gammarus pulex* (Amphipoda). *Hydrobiologia*, 133, 209-215.
- Ayala, F. J. & Campbell, C. A. 1974. Frequency-dependant selection. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 5, 115-138.
- Baer, J. C. 1961. Embranchement des acanthocéphales. In: *Traité de Zoologie* (Ed. by Grassé, P.), pp. 731-782. Paris: Masson.
- Baglinière, J. L. & Maisse, G. 1991. *La Truite, Biologie et Ecologie*. Paris: INRA Editions.
- Bakker, T. C. M., Mazzi, D. & Zala, S. 1997. Parasite-induced changes in behavior and color make *Gammarus pulex* more prone to fish predation. *Ecology*, 78, 1098-1104.
- Baldauf, S. A., Thünken, T., Frommen, J. G., Bakker, T. C. M., Heupzl, O. & Kullmann, H. 2006. Infection with an acanthocephalan manipulates an amphipod's reaction to a fish predator's odour. *International Journal for Parasitology*, 37, 61-65.
- Bandi, C., Anderson, T. J. C., Genchi, C. & Blaxter, M. L. 1998. Phylogeny of Wolbachia in filarial nematodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 265, 2407-2413.
- Barnard, J.L. & Barnard, C.M. 1983. Freshwater Amphipoda of the World. I. Evolutionary Patterns. Virginia: Hayfield Associates.
- Barrett, J. & Butterworth, P. E. 1968. The carotenoids of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) and its intermediate host, *Gammarus pulex*. *Comparative*

- Biochemistry and Physiology*, 27, 575-581.
- Bartoli, P. 1976. Modification de la croissance et du comportement de *Venereupis aurea* parasité par *Gymnophallus fossarus* P. Bartoli, 1965 (Trematoda, Digenea). *Haliotis*, 7, 23-28.
- Bartoli, P. & Prévot, G. 1978. Recherche écologique sur les cycles évolutifs de trématodes dans une lagune de Provence (France). II. Le cycle de *Maritrema misenensis* (A. Palombi, 1940). *Annales De Parasitologie Humaine Et Comparée*, 53, 181-193.
- Bauer, A., Trouvé, S., Grégoire, A., Bollache, L. & Cézilly, F. 2000. Differential influence of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) on the behaviour of native and invader gammarid species. *International Journal for Parasitology*, 30, 1453-1457.
- Baumgärtner, D., Koch, U. & Rothhaupt, K. O. 2003. Alteration of kairomone-induced antipredator response of the freshwater amphipod *Gammarus roeseli* by sediment type. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 1391-1401.
- Begon, M., Townsend, C. R. & Harper, J. 2005. *Ecology: From Individuals to Ecosystems*. Oxford: Blackwell Science.
- Benesh, D. P., Duclos, L. M. & Nickol, B. B. 2005. The behavioral response of amphipods harboring *Corynosoma constrictum* (Acanthocephala) to various components of light. *Journal of Parasitology*, 91, 731-736.
- Berdoy, M., Webster, J. P. & Macdonald, D. W. 2000. Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 267, 1591-1594.
- Berg, M. L., Beintema, N. H., Welbergen, J. A. & Komdeur, J. 2006. The functional significance of multiple nest-building in the Australian Reed Warbler *Acrocephalus australis*. *Ibis*, 148, 395-404.
- Bertram, B. C. R. 1978. Living in groups. In: *Behavioural Ecology* (Ed. by Krebs, J. R. & Davies, N. B.). Oxford: Blackwell Science.
- Bethel, W. M. & Holmes, J. C. 1973. Altered evasive behavior and responses to light in amphipods harboring acanthocephalan cystacanths. *Journal of Parasitology*, 59, 945-956.
- Bethel, W. M. & Holmes, J. C. 1974. Correlation of development of altered evasive behavior in *Gammarus lacustris* (Amphipoda) harboring cystacanths of *Polymorphus paradoxus* (Acanthocephala) with the infectivity to the definitive host. *The Journal of*

- Parasitology*, 60, 272-274.
- Bethel, W. M. & Holmes, J. C. 1977. Increased vulnerability of amphipods to predation owing to altered behavior induced by larval acanthocephalans. *Canadian Journal of Zoology*, 55, 110-115.
- Billard, R. 1997. *Les Poissons d'Eau Douce des Rivières de France: Identification, Inventaire et Répartition des 83 Espèces*. Lausanne: Delachaux et Niestlé.
- Boersma, M., Spaak, P. & De Meester, L. 1998. Predator-mediated plasticity in morphology, life history, and behavior of *Daphnia*: The uncoupling of responses. *American Naturalist*, 152, 925-927.
- Bollache, L., Gambade, G. & Cézilly, F. 2000. The influence of micro-habitat segregation on size assortative pairing in *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea, Amphipoda). *Archiv für Hydrobiologie*, 147, 547-558.
- Bollache, L., Kaldonski, N., Troussard, J. P., Lagrue, C. & Rigaud, T. 2006. Spines and behaviour as defences against fish predators in an invasive freshwater amphipod. *Animal Behaviour*, 72, 627-633.
- Bonner, J. T. 1993. *Life cycles*. Princeton Princeton University Press.
- Bousfield, E. L. 1958. Freshwater amphipod crustaceans of glaciated North America. *Canadian Field Naturalist*, 72, 55-113.
- Bowmaker, J. K. & Kunz, Y. W. 1987. Ultraviolet receptors, tetrachromatic color-vision and retinal mosaics in the brown trout (*Salmo trutta*) - Age-dependent changes. *Vision Research*, 27, 2101-2108.
- Brassard, P., Rau, M. E. & Curtis, M. A. 1982. Parasite-induced susceptibility to predation in *Diplostomiasis*. *Parasitology*, 85, 495-501.
- Brodeur, J. & McNeil, J. N. 1989. Seasonal microhabitat selection by an endoparasitoid through adaptive modification of host behavior. *Science*, 244, 226-228.
- Brown, A. F. & Thompson, D. B. A. 1986. Parasite manipulation of host behavior - Acanthocephalans and shrimps in the laboratory. *Journal of Biological Education*, 20, 121-127.
- Brown, S. P. 1999. Cooperation and conflict in host-manipulating parasites. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 266, 1899-1904.
- Brown, S. P., Renaud, F., Guegan, J. F. & Thomas, F. 2001. Evolution of trophic transmission in parasites: the need to reach a mating place? *Journal of Evolutionary Biology*, 14,

815-820.

- Burks, R. L., Jeppesen, E. & Lodge, D. M. 2000. Macrophyte and fish chemicals suppress *Daphnia* growth and alter life-history traits. *Oikos*, 88, 139-147.
- Bush, A. O., Fernandez, J. C., Esch, G. W. & Seed, J. R. 2001. *Parasitism, the Diversity and Ecology of Animal Parasites*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Camp, J. W. & Huizinga, H. W. 1979. Altered color, behavior and predation susceptibility of the Isopod *Asellus intermedius* infected with *Acanthocephalus dirus*. *Journal of Parasitology*, 65, 667-669.
- Carmichael, L. M. & Moore, J. 1991. A comparison of behavioral alterations in the brown cockroach, *Periplaneta brunnea*, and the american cockroach, *Periplaneta americana*, infected with the acanthocephala, *Moniliformis moniliformis*. *Journal of Parasitology*, 77, 931-936.
- Carney, W. P. 1969. Behavioral and morphological changes in carpenter ants harboring dicrocoelid metacercariae. *American Midland Naturalist*, 82, 605-611.
- Carroll, L. 1872. *Through the Looking-Glass*. Hants: MacMillan.
- Casey, S. P., Bakke, T. A., Harris, P. D. & Cable, J. 2003. Use of ITS rDNA for discrimination of European green- and brown-banded sporocysts within the genus *Leucochloridium* Carus, 1835 (Digenea : Leucochloriidae). *Systematic Parasitology*, 56, 163-168.
- Cassier, P., Brugerolle, G., Combes, C., Grain, J. & Raibaut, A. 2001. *Le Parasitisme, un Equilibre Dynamique*. Paris: Masson.
- Cézilly, F., Grégoire, A. & Bertin, A. 2000. Conflict between co-occurring manipulative parasites? An experimental study of the joint influence of two acanthocephalan parasites on the behaviour of *Gammarus pulex*. *Parasitology*, 120, 625-630.
- Cézilly, F. & Perrot-Minnot, M. J. 2005. Studying adaptive changes in the behaviour of infected hosts: a long and winding road. *Behavioural Processes*, 68, 223-228.
- Chernin, E. 1970. Behavioral responses of miracidia of *Schistosoma mansoni* and other trematodes to substances emitted by snails. *Journal of Parasitology*, 56, 287-296.
- Chevreaux, E. & Fage, L. 1925. *Faune de France. Volume 9, Amphipodes*. Paris.
- Chivers, D. P., Brown, G. E. & Smith, R. J. F. 1996. The evolution of chemical alarm signals: Attracting predators benefits alarm signal senders. *American Naturalist*, 148, 649-659.
- Choisy, M., Brown, S. P., Lafferty, K. D. & Thomas, F. 2003. Evolution of trophic

- transmission in parasites: Why add intermediate hosts? *American Naturalist*, 162, 172-181.
- Combes, C. 1968. Über die Rolle des Verhaltens der zweiten Zwischenwirte im biologischen Zyklus der Gorgoderiden. *Parasitologische Schriftenreihe*, 21, 183-185.
- Combes, C. 1991. Ethological aspects of parasite transmission. *American Naturalist*, 138, 866-880.
- Combes, C. 1995. *Interactions Durables. Ecologie et Evolution du Parasitisme*. Paris: Masson.
- Combes, C. 2001. *Parasitism: the Ecology and Evolution of Intimate Interactions*. Chicago: University Chicago press.
- Combes, C. 2005. Manipulations: variations on the themes of signalling and exaptation. *Behavioural Processes*, 68, 211-213.
- Cram, E. R. 1931. Developmental stages of some nematodes of the Spiruroidea parasitic in poultry and game birds In: *USDA Technical Bulletin* Department of agriculture, Beltsville, MD.
- Dahl, J. 1998. The impact of vertebrate and invertebrate predators on a stream benthic community. *Oecologia*, 117, 217-226.
- Dahl, J., Nilsson, P. A. & Pettersson, L. B. 1998. Against the flow: chemical detection of downstream predators in running waters. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 265, 1339-1344.
- Dawkins, R. 1982. *The Extended Phenotype: The Long Reach of the Gene*. New-York: Oxford University Press.
- Dawkins, R. 1986. *The Blind Watchmaker*. New-York: Norton & co.
- de Meeûs, T. & Renaud, F. 2002. Parasites within the new phylogeny of eukaryotes. *Trends in Parasitology*, 18, 247-251.
- Dobson, A. P. 1988. The population biology of parasite-induced changes in host behavior. *Quarterly Review of Biology*, 63, 139-165.
- Dobson, A. P. & Keymer, A. E. 1985. Life history models. In: *Acanthocephalan biology* (Ed. by Crompton, D. W. T. & Nickol, B. B.), pp. 347-384. Cambridge: Cambridge University Press.
- Duclos, L. M., Danner, B. J. & Nickol, B. B. 2006. Virulence of *Corynosoma constrictum* (Acanthocephala : Polymorphidae) in *Hyaella azteca* (Amphipoda) throughout

- parasite ontogeny. *Journal of Parasitology*, 92, 749-755.
- Eberhard, W. G. 1990. Function and phylogeny of spider webs. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 21, 341-372.
- Eberhard, W. G. 2000. Spider manipulation by a wasp larva. *Nature*, 406, 255-256.
- Edelaar, P., Drent, J. & de Goeij, P. 2003. A double test of the parasite manipulation hypothesis in a burrowing bivalve. *Oecologia*, 134, 66-71.
- Edmunds, M. 1974. *Defence in Animals. A Survey of Anti-Predator Defences*. New-York: Longman.
- Elgar, M. A. 1989. Predator vigilance and group-size in mammals and birds - a critical-review of the empirical-evidence. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 64, 13-33.
- Elliott, J. M. 1994. *Quantitative Ecology and the Brown Trout*. New-York: Oxford University Press.
- Euzet, L. & Combes, C. 1980. Les problèmes de l'espèce chez les animaux parasites. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 40, 239-245.
- Fenton, A. & Rands, S. A. 2006. The impact of parasite manipulation and predator foraging behavior on predator-prey communities. *Ecology*, 87, 2832-2841.
- Fitze, P. S., Clobert, J. & Richner, H. 2004. Long-term life-history consequences of ectoparasite-modulated growth and development. *Ecology*, 85, 2018-2026.
- Franz, K. & Kurtz, J. 2002. Altered host behaviour: manipulation or energy depletion in tapeworm-infected copepods? *Parasitology*, 125, 187-196.
- Friberg, N., Andersen, T. H., Hansen, H. O., Iversen, T. M., Jacobsen, D., Krojgaard, L. & Larsen, S. E. 1994. The effect of brown trout (*Salmo trutta* L) on stream invertebrate drift, with special reference to *Gammarus pulex* L. *Hydrobiologia*, 294, 105-110.
- Fuller, C. A., Rock, P. & Philips, T. 2003. Behavior, color changes, and predation risk induced by acanthocephalan parasitism in the Caribbean termite *Nasutitermes acajutlae*. *Caribbean Journal of Science*, 39, 128-135.
- Futuyma, D. J. 1998. *Evolutionary Biology*. Inc. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associate.
- Gaillard, M., Juillet, C., Cezilly, F. & Perrot-Minnot, M. J. 2004. Carotenoids of two freshwater amphipod species (*Gammarus pulex* and *G. roeseli*) and their common acanthocephalan parasite *Polymorphus minutus*. *Comparative Biochemistry and*

- Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 139, 129-136.
- Gaudin, P. 1981. Éco-éthologie d'un poisson benthique, le Chabot, *Cottus gobio* L. (Cottidae) : distribution, alimentation et rapports avec la truite, *Salmo trutta* L., pp. 178. Lyon: Université Lyon 1.
- Giles, N. 1983. Behavioral-effects of the parasite *Schistocephalus solidus* (Cestoda) on an intermediate host, the 3-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. *Animal Behaviour*, 31, 1192-1194.
- Gillespie, J. P., Kanost, M. R. & Trenczek, T. 1997. Biological mediators of insect immunity. *Annual Review of Entomology*, 42, 611-643.
- Godin, J. G. J. & Sproul, C. D. 1988. Risk-taking in parasitized sticklebacks under threat of predation - Effects of energetic need and food availability. *Canadian Journal of Zoology*, 66, 2360-2367.
- Golvan, Y. J. 1969. Systématique des Acanthocéphales (*Acanthocephala* Rudolphi 1801). L'ordre des Palaeacanthocephala Meyer 1931. La superfamille des Echinorhynchoidea (Cobbold 1876). In: *Mémoires du Museum d'Histoire Naturelle série A Zoologie, tome LVI* (Ed. by Houin, G. e.). Paris: Editions du Museum.
- Gould, S. J. & Vrba, E. S. 1982. Exaptation - a missing term in the science of form. *Paleobiology*, 8, 4-15.
- Guyonnet, E. 2005. La notion de spécificité chez deux parasites acanthocéphales : *Pomphorhynchus laevis* et *Pomphorhynchus tereticollis*. Dijon: Université de Bourgogne.
- Hafner, M. S. & Nadler, S. A. 1988. Phylogenetic trees support the coevolution of parasites and their hosts. *Nature*, 332, 258-259.
- Hamilton, W. D. 1964. The genetical evolution of social behaviour 1. *Journal of Theoretical Biology*, 1-16.
- Hamilton, W. D. 1972. Altruism and related phenomena, mainly in social insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 3, 193-232.
- Harwood, C. L., Young, I. S., Lee, D. L. & Tringham, J. D. 1996. The effect of *Trichinella spiralis* infection on the mechanical properties of the mammalian diaphragm. *Parasitology*, 113, 535-543.
- Hatcher, M. J., Dick, J. T. A. & Dunn, A. M. 2006. How parasites affect interactions between competitors and predators. *Ecology Letters*, 9, 1253-1271.

- Haye, P. A. & Ojeda, F. P. 1998. Metabolic and behavioral alterations in the crab *Hemigrapsus crenulatus* (Milne-Edwards 1837) induced by its acanthocephalan parasite *Profilicollis antarcticus* (Zdzitowiecki 1985). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 228, 73-82.
- Hechtel, L. J., Johnson, C. L. & Juliano, S. A. 1993. Modification of antipredator behavior of *Caecidotea intermedius* by its parasite *Acanthocephalus dirus*. *Ecology*, 74, 710-713.
- Helluy, S. 1983. Host-parasite interfaces of the trematode *Microphallus papillorobustus* .2. Altered behavior in *Gammarus* intermediate hosts and location of metacercariae. *Annales De Parasitologie Humaine Et Comparee*, 58, 1-17.
- Helluy, S. 1983. Un mode de favorisation de la transmission parasitaire: la manipulation du comportement de l'hôte intermédiaire. *Revue d'écologie (Terre Vie)*, 38, 210-223.
- Helluy, S. 1984. Host-parasite interfaces of the trematode *Microphallus papillorobustus* (Rankin, 1940) .3. Factors involved in the behavioral alterations of the *Gammarus* intermediate hosts and predator tests. *Annales De Parasitologie Humaine Et Comparée*, 59, 41-56.
- Helluy, S. & Thomas, F. 2003. Effects of *Microphallus papillorobustus* (Platyhelminthes : Trematoda) on serotonergic immunoreactivity and neuronal architecture in the brain of *Gammarus insensibilis* (Crustacea : Amphipoda). *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 270, 563-568.
- Henry, J. E. & Oma, E. A. 1981. Pest control by *Nosema locustae*, a pathogen of grasshoppers and crickets. In: *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980* (Ed. by Burges, H. D.), pp. 573-586. London: Academic Press.
- Herre, E. A. 1993. Population-structure and the evolution of virulence in nematode parasites of fig wasps. *Science*, 259, 1442-1445.
- Hindsbo, O. 1972. Effects of *Polymorphus* (Acanthocephala) on colour and behaviour of *Gammarus lacustris*. *Nature*, 238, 333.
- Holmes, J. C. & Bethel, W. M. 1972. Modification of intermediate host behaviour by parasites. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 51, 123-149.
- Holomuzki, J. R. & Hoyle, J. D. 1990. Effect of predatory fish presence on habitat use and diel movement of the stream amphipod, *Gammarus minus*. *Freshwater Biology*, 24, 509-517.
- Hoogenboom, I. & Dijkstra, C. 1987. *Sarcocystis cernae* - a parasite increasing the risk of

- predation of its intermediate host, *Microtus arvalis*. *Oecologia*, 74, 86-92.
- Hudson, P. J., Dobson, A. P. & Lafferty, K. D. 2006. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends in Ecology & Evolution*, 21, 381-385.
- Hughes, R. N. & Croy, M. I. 1993. An experimental analysis of frequency-dependent predation (switching) in the 15-spined stickleback, *Spinachia spinachia*. *Journal of Animal Ecology*, 62, 341-352.
- Hunt, D. M., Wilkie, S. E., Bowmaker, J. K. & Poopalasundaram, S. 2001. Vision in the ultraviolet. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58, 1583-1598.
- Huxham, M., Raffaelli, D. & Pike, A. 1995. Parasites and food-web patterns. *Journal of Animal Ecology*, 64, 168-176.
- Hynes, H. B. N. & Nicholas, W. L. 1963. The importance of the acanthocephalan *Polymorphus minutus* as a parasite of domestic ducks in the United Kingdom. *Journal of Helminthology*, 37, 185-198.
- Jaenike, J., Benway, H. & Stevens, G. 1995. Parasite-induced mortality in mycophagous *Drosophila*. *Ecology*, 76, 383-391.
- Jakobsen, P. J. & Wedekind, C. 1998. Copepod reaction to odor stimuli influenced by cestode infection. *Behavioral Ecology*, 9, 414-418.
- Janetzky, W. G. 1994. Distribution of the genus *Gammarus* (Amphipoda, Gammaridae) in the river Hunte and Its tributaries (Lower Saxony, Northern Germany). *Hydrobiologia*, 294, 23-34.
- Jazdzewski, K. 1980. Range extension of some gammaridean species in european inland waters caused by human activity. *Crustaceana suppl*, 6, 84-106.
- Jazdzewski, K. & Roux, A. L. 1988. Biogéographie de *Gammarus roeseli* Gervais en Europe, en particulier répartition en France et en Pologne. 272-277.
- Karaman, G. S. & Pinkster, S. 1977. Freshwater *Gammarus* species from Europe, North Africa and adjacent regions of asia (Crustacea-Amphipoda). Part I. *Gammarus pulex*-group and related species. *Bijdragen tot de Dierkunde*, 47, 1-97.
- Kats, L. B. & Dill, L. M. 1998. The scent of death: Chemosensory assessment of predation risk by prey animals. *Ecoscience*, 5, 361-394.
- Kavaliers, M. & Choleris, E. 2001. Antipredator responses and defensive behavior: ecological and ethological approaches for the neurosciences. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25, 577-586.

- Kavaliers, M., Colwell, D. D. & Choleris, E. 2000. Parasites and behaviour: An ethopharmacological perspective. *Parasitology Today*, 16, 464-468.
- Kennedy, C. R. 1996. Colonization and establishment of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) in an isolated English river. *Journal of Helminthology*, 70, 27-31.
- Kennedy, C. R., Broughton, P. F. & Hine, P. M. 1978. The status of brown and rainbow trout, *Salmo trutta* and *S. gairdneri* as hosts of the acanthocephalan, *Pomphorhynchus laevis*. *Journal of Fish Biology*, 13, 265-275.
- Keymer, A. E. & Read, A. F. 1991. Behavioral ecology: the impact of parasitism. In: *Parasite-Host Associations: Coexistence of Conflict?* (Ed. by Toft, C. A.), pp. 37-61. New-York: Oxford University Press.
- Knudsen, R., Gabler, H. M., Kuris, A. M. & Amundsen, P. A. 2001. Selective predation on parasitized prey - A comparison between two helminth species with different life-history strategies. *Journal of Parasitology*, 87, 941-945.
- Kuris, A. M., Godard, J. H. R., Torchin, M. E., Murphy, N., Gurney, R. & Lafferty, K. D. 2007. An experimental evaluation of host specificity: The role of encounter and compatibility filters for a rhizocephalan parasite of crabs. *International Journal for Parasitology*, 37, 539-545.
- Lacroix, R., Mukabana, W. R., Gouagna, L. C. & Koella, J. C. 2005. Malaria infection increases attractiveness of humans to mosquitoes. *Plos Biology*, 3, 1590-1593.
- Lafferty, K. D. 1992. Foraging on prey that are modified by parasites. *American Naturalist*, 140, 854-867.
- Lafferty, K. D. 1999. The evolution of trophic transmission. *Parasitology Today*, 15, 111-115.
- Lafferty, K. D., Dobson, A. P. & Kuris, A. M. 2006. Parasites dominate food web links. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 11211-11216.
- Lafferty, K. D. & Morris, A. K. 1996. Altered behavior of parasitized killifish increases susceptibility to predation by bird final hosts. *Ecology*, 77, 1390-1397.
- Leiby, P. D. & Dyer, W. G. 1971. Cyclophyllidean tapeworms of wild carnivores. In: *Parasitic Diseases of Wild Mammals* (Ed. by Davis, J. W. & Anderson, R. C.), pp. 175-234. Ames, Iowa: Iowa state University Press.
- Levri, E. P. 1998. Perceived predation risk, parasitism, and the foraging behavior of a freshwater snail (*Potamopyrgus antipodarum*). *Canadian Journal of Zoology-Revue*

- Canadienne De Zoologie*, 76, 1878-1884.
- Levri, E. P. & Fisher, L. M. 2000. The effect of a trematode parasite (*Microphallus* sp.) on the response of the freshwater snail *Potamopyrgus antipodarum* to light and gravity. *Behaviour*, 137, 1141-1151.
- Levri, E. P. & Lively, C. M. 1996. The effects of size, reproductive condition, and parasitism on foraging behaviour in a freshwater snail, *Potamopyrgus antipodarum*. *Animal Behaviour*, 51, 891-901.
- Lewis, P. D. J. 1977. Adaptations for the transmission of species of *Leucochloridium* from molluscan to avian hosts. *Proceedings of the Montana Academy of Science* 37, 70-81.
- Li, D. Q. 2005. Spiders that decorate their webs at higher frequency intercept more prey and grow faster. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 272, 1753-1757.
- Li, H. W. & Moyle, P. B. 1976. Feeding ecology of the pit sculpin, *Cottus pitensis*, in Ash Creek, California. *Bulletin of the Southern Californy Academy of Science*, 75, 111-118.
- Libersat, F. & Moore, J. 2000. The parasite *Moniliformis moniliformis* alters the escape response of its cockroach host *Periplaneta americana*. *Journal of Insect Behavior*, 13, 103-110.
- Lind, J. & Cresswell, W. 2005. Determining the fitness consequences of antipredation behavior. *Behavioral Ecology*, 16, 945-956.
- Loew, E. R. & MacFarland, W. N. 1990. The underwater visual environment. In: *The Visual System of Fish* (Ed. by H., D. R. & M., D.), pp. 1-43. New-York: Chapman & Hall.
- Lyndon, A. R. 1996. The role of acanthocephalan parasites in the predation of freshwater isopods by fish. *Aquatic predators and their prey*, 26-32.
- MacArthur, R. H. & Wilson, E. O. 1967. *The Theory of Island Biogeography*. Princeton: Princeton University Press.
- MacNeil, C., Dick, J. T. & Elwood, R. W. 1997. The trophic ecology of freshwater *Gammarus* spp. (Crustacea: Amphipoda): Problems and perspectives concerning the functional feeding group concept. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 72, 349-364.
- MacNeil, C., Dick, J. T. A. & Elwood, R. W. 1999. The dynamics of predation on *Gammarus* spp. (Crustacea : Amphipoda). *Biological Reviews*, 74, 375-395.
- Magurran, A. E. 1999. The causes and consequences of geographic variation in antipredator

- behavior: perspectives from fish populations. In: *Geographic variation in behavior: perspectives on evolutionary mechanisms* (Ed. by Foster, S. A. & Endler, J. A.). New-York: Oxford University Press.
- Maillard, C. 1976. Distomatoses de poissons en milieu lagunaire. Montpellier: Université Montpellier 2.
- Maitland, D. P. 1994. A parasitic fungus infecting yellow dungflies manipulates host perching behavior. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 258, 187-193.
- Marcogliese, D. J. & Cone, D. K. 1997. Food webs: A plea for parasites. *Trends in Ecology & Evolution*, 12, 320-325.
- Maynard, B. J., Wellnitz, T. A., Zanini, N., Wright, W. G. & Dezfili, B. S. 1998. Parasite-altered behavior in a crustacean intermediate host: field and laboratory studies. *Journal of Parasitology*, 84, 1102-1106.
- McCahon, C. P., Maund, S. J. & Poulton, M. J. 1991. The effect of the acanthocephalan parasite (*Pomphorhynchus laevis*) on the drift of its intermediate host (*Gammarus pulex*). *Freshwater Biology*, 25, 507-513.
- Médoc, V., Bollache, L. & Beisel, J. N. 2006. Host manipulation of a freshwater crustacean (*Gammarus roeseli*) by an acanthocephalan parasite (*Polymorphus minutus*) in a biological invasion context. *International Journal for Parasitology*, 36, 1351-1358.
- Meerhoff, M., Fosalba, C., Bruzzone, C., Mazzeo, N., Noordoven, W. & Jeppesen, E. 2006. An experimental study of habitat choice by *Daphnia*: plants signal danger more than refuge in subtropical lakes. *Freshwater Biology*, 51, 1320-1330.
- Milinski, M. 1985. Risk of predation of parasitized sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L) under competition for food. *Behaviour*, 203-216.
- Minchella, D. J. 1985. Host life-history variation in response to parasitism. *Parasitology*, 90, 696-704.
- Molloy, S., Holland, C. & Oregan, M. 1995. Population biology of *Pomphorhynchus laevis* in brown trout from 2 lakes in the west of Ireland. *Journal of Helminthology*, 69, 229-235.
- Moore, J. 1983. Altered behavior in cockroaches (*Periplaneta americana*) infected with an archiacanthocephalan, *Moniliformis moniliformis*. *Journal of Parasitology*, 69, 1174-1176.

- Moore, J. 1983. Responses of an avian predator and its isopod prey to an acanthocephalan parasite. *Ecology*, 64, 1000-1015.
- Moore, J. 1984. Altered behavioral responses in intermediate hosts - an acanthocephalan parasite strategy. *American Naturalist*, 123, 572-577.
- Moore, J. 1995. The behavior of parasitized animals. *Bioscience*, 45, 89-96.
- Moore, J. 2002. *Parasites and the Behavior of Animals*. New-York: Oxford University Press.
- Moore, J. & Gotelli, N. J. 1990. A phylogenetic perspective on the evolution of the altered behaviours : a critical look at the manipulation hypothesis. In: *Parasitism and Host Behaviour* (Ed. by Barnard, C. J. & Behnke, J. M.), pp. 193-233. London: Taylor and Francis.
- Moore, J. & Gotelli, N. J. 1992. *Moniliformis moniliformis* increases cryptic behaviors in the cockroach *Supella longipalpa*. *Journal of Parasitology*, 78, 49-53.
- Moore, J. & Gotelli, N. J. 1996. Evolutionary patterns of altered behavior and susceptibility in parasitized hosts. *Evolution*, 50, 807-819.
- Moravec, F. & Scholz, T. 1991. Observations on the biology of *Pomphorhynchus laevis* (Zoega in Müller, 1776) (Acanthocephala) in the Rokytna River, Czech and Slovak Federative Republic. *Helminthologia*, 28, 23-29.
- Morin, P. J. 2003. Community ecology and the genetics of interacting species. *Ecology*, 84, 577-580.
- Mouritsen, K. N. & Jensen, K. T. 1997. Parasite transmission between soft-bottom invertebrates: Temperature mediated infection rates and mortality in *Corophium volutator*. *Marine Ecology-Progress Series*, 151, 123-134.
- Mouritsen, K. N. & Poulin, R. 2003. Parasite-induced trophic facilitation exploited by a non-host predator: a manipulator's nightmare. *International Journal for Parasitology*, 33, 1043-1050.
- Mouritsen, K. N. & Poulin, R. 2005. Parasites boosts biodiversity and changes animal community structure by trait-mediated indirect effects. *Oikos*, 108, 344-350.
- Mueller, J. F. 1974. The biology of *Spirometra*. *Journal of Parasitology*, 60, 3-14.
- Murdoch, W. W. 1969. Switching in general predators: experiments on predator specificity and stability of prey populations. *Ecological Monographs*, 39, 335-354.
- Near, T. J., Garey, J. R. & Nadler, S. A. 1998. Phylogenetic relationships of the Acanthocephala inferred from 18S ribosomal DNA sequences. *Molecular*

- Phylogenetics and Evolution*, 10, 287-298.
- Ness, J. H. & Foster, S. A. 1999. Parasite-associated phenotype modifications in threespine stickleback. *Oikos*, 85, 127-134.
- Nickol, B. B. 2005. Parasitic manipulation: should we go anywhere? *Behavioural Processes*, 68, 201-203.
- Nickol, B. B., Fuller, C. A. & Rock, P. 2006. Cystacanths of *Oncicola venezuelensis* (acanthocephala: oligacanthorhynchidae) in caribbean termites and various paratenic hosts in the u.s. virgin islands. *Journal of Parasitology*, 92, 539-542.
- Nilsson, D. E. & Pelger, S. 1994. A pessimistic estimate of the time required for an eye to evolve. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 256, 53-58.
- Nyström, P. & Abjörnsson, K. 2000. Effects of fish chemical cues on the interactions between tadpoles and crayfish. *Oikos*, 88, 181-190.
- Oetinger, D. F. & Nickol, B. B. 1981. Effects of acanthocephalans on pigmentation of freshwater isopods. *Journal of Parasitology*, 67, 672-684.
- Parker, G. A., Chubb, J. C., Ball, M. A. & Roberts, G. N. 2003. Evolution of complex life cycles in helminth parasites. *Nature*, 425, 480-484.
- Parker, G. A., Chubb, J. C., Roberts, G. N., Michaud, M. & Milinski, M. 2003. Optimal growth strategies of larval helminths in their intermediate hosts. *Journal of Evolutionary Biology*, 16, 47-54.
- Perrier, R. 1929. *Cours élémentaire de Zoologie*. Paris: Masson.
- Perrot-Minnot, M.-J. 2004. Larval morphology, genetic divergence, and contrasting levels of host manipulation between forms of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *International Journal for Parasitology*, 34, 45-54.
- Pianka, B. R. 1970. On r-and K- selection. *American Naturalist*, 104, 592-597.
- Plaistow, S. J., Bollache, L. & Cézilly, F. 2003. Energetically costly precopulatory mate guarding in the amphipod *Gammarus pulex*: causes and consequences. *Animal Behaviour*, 65, 683-691.
- Plaistow, S. J., Troussard, J. P. & Cézilly, F. 2001. The effect of the acanthocephalan parasite *Pomphorhynchus laevis* on the lipid and glycogen content of its intermediate host *Gammarus pulex*. *International Journal for Parasitology*, 31, 346-351.
- Ponton, F., Lebarbenchon, C., Lefèvre, T., Biron, D. G., Duneau, D., Hughes, D. P. &

- Thomas, F. 2006. Parasite survives predation on its host. *Nature*, 440, 756-756.
- Ponton, F., Lefèvre, T., Lebarbenchon, C., Thomas, F., Loxdale, H. D., Marche, L., Renault, L., Perrot-Minnot, M. J. & Biron, D. G. 2006. Do distantly related parasites rely on the same proximate factors to alter the behaviour of their hosts? *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 273, 2869-2877.
- Poulin, R. 1992. Altered behavior in parasitized bumblebees: parasite manipulation or adaptive suicide. *Animal Behaviour*, 44, 174-176.
- Poulin, R. 1994. The evolution of parasite manipulation of host behavior: a theoretical analysis. *Parasitology*, 109, S109-S118.
- Poulin, R. 1994. Meta-analysis of parasite-induced behavioral changes. *Animal Behaviour*, 48, 137-146.
- Poulin, R. 1995. "Adaptive" changes in the behaviour of parasitized animals: A critical review. *International Journal for Parasitology*, 25, 1371-1383.
- Poulin, R. 1998. *Evolutionary Ecology of Parasites: From Individuals to Communities*. Heidelberg: Springer.
- Poulin, R. 2000. Manipulation of host behaviour by parasites: a weakening paradigm? *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 267, 787-792.
- Poulin, R., Hecker, K. & Thomas, F. 1998. Hosts manipulated by one parasite incur additional costs from infection by another parasite. *Journal of Parasitology*, 84, 1050-1052.
- Price, P. W. 1974. Strategies for egg production. *Evolution*, 28, 76-84.
- Pulkkinen, K., Pasternak, A. F., Hasu, T. & Valtonen, E. T. 2000. Effect of *Triaenophorus crassus* (Cestoda) infection on behavior and susceptibility to predation of the first intermediate host *Cyclops strenuus* (Copepoda). *Journal of Parasitology*, 86, 664-670.
- Raffaelli, D. & Hall, S. J. 1992. Compartments and predation in an estuarine food web. *Journal of Animal Ecology*, 61, 551-560.
- Rauch, G., Kalbe, M. & Reusch, T. B. H. 2006. One day is enough: rapid and specific host-parasite interactions in a stickleback-trematode system. *Biology Letters*, 2, 382-384.
- Rennie, J. 1992. Living together. *Scientific American*, 266, 122-133.
- Ridley, M. 2003. *Evolution*. Oxford: Blackwell Science.
- Rigaud, T. & Moreau, M. 2004. A cost of Wolbachia-induced sex reversal and female-biased sex ratios: decrease in female fertility after sperm depletion in a terrestrial isopod.

- Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 271, 1941-1946.
- Roberts, T. M., Ward, S. & Chernin, E. 1979. Behavioral responses of *Schistosoma mansoni* miracidia in concentration gradients of snail-conditioned water. *Journal of Parasitology*, 65, 41-49.
- Rousset, F., Bouchon, D., Pintureau, B., Juchault, P. & Solignac, M. 1992. Wolbachia endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 250, 91-98.
- Roux, A. L. 1969. L'extension de l'aire de répartition géographique de *Gammarus roeseli* en France nouvelles données. *Annales de limnologie*, 5, 123-127.
- Roux, C. & Roux, A. L. 1980. Répartition écologique et métabolisme respiratoire de *Gammarus roeseli* Gervais 1935. *Crustaceana*, Suppl. 6, 148-159.
- Schmid-Araya, J. M., Schmid, P. E., Robertson, A., Winterbottom, J., Gjerlov, C. & Hildrew, A. G. 2002. Connectance in stream food webs. *Journal of Animal Ecology*, 71, 1056-1062.
- Schmid-Hempel, P. 2003. Variation in immune defence as a question of evolutionary ecology. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 270, 357-366.
- Schmidt-Rhaesa, A. 2001. The life cycle of horsehair worms (Nematomorpha). *Acta Parasitologica*, 46, 151-158.
- Schmidt-Rhaesa, A., Thomas, F. & Poulin, R. 2000. Redescription of *Gordius paranensis* Camerano, 1892 (Nematomorpha), a species new for New Zealand. *Journal of Natural History*, 34, 333-340.
- Seppälä, O., Karvonen, A. & Valtonen, E. T. 2004. Parasite-induced change in host behaviour and susceptibility to predation in an eye fluke - fish interaction. *Animal Behaviour*, 68, 257-263.
- Seppälä, O., Karvonen, A. & Valtonen, E. T. 2005. Manipulation of fish host by eye flukes in relation to cataract formation and parasite infectivity. *Animal Behaviour*, 70, 889-894.
- Seppälä, O., Karvonen, A. & Valtonen, E. T. 2006. Susceptibility of eye fluke-infected fish to predation by bird hosts. *Parasitology*, 132, 575-579.
- Sih, A. & Wooster, D. E. 1994. Prey behavior, prey dispersal, and predator impacts on stream prey. *Ecology*, 75, 1199-1207.

- Smily, W. J. P. 1956. The life-history of Bullhead Miller's thumb (*Cottus gobio* L.). *Freshwater Biological Association* 431-453.
- Smith Trail, D. R. 1980. Behavioral interactions between parasites and hosts: host suicide and the evolution of complex life cycles. *American Naturalist*, 116, 77-91.
- Stearns, S. C. 1992. *The Evolution of Life Histories*. New-York: Oxford University Press.
- Strickberger, M. 1990. *Evolution*. Boston, Massachusetts: Jones & Bartlett.
- Szidat, L. 1969. Structure, development and behaviour of new strigeatoid metacercariae from subtropical fishes of South America. *Journal of Fisheries and Research Board of Canada*, 26, 753-786.
- Tain, L., Perrot-Minnot, M. J. & Cézilly, F. 2007. Differential influence of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) on brain serotonergic activity in two congeneric host species. *Biology Letters*, 3, 68-71.
- Tain, L., Perrot-Minnot, M.-J. & Cézilly, F. 2006. Altered host behaviour and brain serotonergic activity caused by acanthocephalans: evidence for specificity. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 273, 3039-3045.
- Terofal, F. 1979. *British and European Fishes, Freshwater and Marine Species: Illustrated and Identified with Colour Photographs*. London: Chatto and Windus.
- Thomas, F., Adamo, S. & Moore, J. 2005. Parasitic manipulation: where are we and where should we go? *Behavioural Processes*, 68, 185-199.
- Thomas, F., Brown, S. P., Sukhdeo, M. & Renaud, F. 2002. Understanding parasite strategies: a state-dependent approach? *Trends in Parasitology*, 18, 387-390.
- Thomas, F., Renaud, F. & Cézilly, F. 1996. Assortative pairing by parasitic prevalence in *Gammarus insensibilis* (Amphipoda): Patterns and processes. *Animal Behaviour*, 52, 683-690.
- Thomas, F., Renaud, F. & Guégan, J. F. 2005. *Parasitism and Ecosystems*. Oxford: Oxford University Press.
- Thomas, F., Schmidt-Rhaesa, A., Martin, G., Manu, C., Durand, P. & Renaud, F. 2002. Do hairworms (Nematomorpha) manipulate the water seeking behaviour of their terrestrial hosts? *Journal of Evolutionary Biology*, 15, 356-361.
- Thomas, F., Ulitsky, P., Augier, R., Dusticier, N., Samuel, D., Strambi, C., Biron, D. G. & Cayre, M. 2003. Biochemical and histological changes in the brain of the cricket

- Nemobius sylvestris* infected by the manipulative parasite *Paragordius tricuspidatus* (Nematomorpha). *International Journal for Parasitology*, 33, 435-443.
- Thomas, F., Verneau, O., Santalla, F., Cézilly, F. & Renaud, F. 1996. The influence of intensity of infection by a trematode parasite on the reproductive biology of *Gammarus insensibilis* (Amphipoda). *International Journal for Parasitology*, 26, 1205-1209.
- Thompson, R. M. & Townsend, C. R. 2003. Impacts on stream food webs of native and exotic forest: An intercontinental comparison. *Ecology*, 84, 145-161.
- Tierney, J. F., Huntingford, F. A. & Crompton, D. W. T. 1993. The relationship between infectivity of *Schistocephalus solidus* (Cestoda) and antipredator behavior of its intermediate host, the 3-Spined Stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Animal Behaviour*, 46, 603-605.
- Timm, R. M. & Clauson, B. L. 1988. Coevolution: mammalia. In: *McGraw-Hill Yearbook of Science & Technology* (Ed. by Company, M.-H. B.), pp. 212-214.
- Trabalon, M., Plateaux, L., Péru, L., Bagnères, A. G. & Hartmann, N. 2000. Modification of morphological characters and cuticular compounds in worker ants *Leptothorax nylanderii* induced by endoparasites *Anomotaenia brevis*. *Journal of insect physiology*, 46, 169-178.
- Urdal, K., Tierney, J. F. & Jakobsen, P. J. 1995. The tapeworm *Schistocephalus solidus* alters the activity and response, but not the predation susceptibility of infected copepods. *Journal of Parasitology*, 81, 330-333.
- Van Dobben, W. H. 1952. The food of the cormorant in the Netherlands. *Ardea*, 40, 1-63.
- Van Valen, L. 1973. A new evolutionary law. *Evolutionary Theory*, 1, 1-30.
- Wakelin, D. 1996. Immunology and genetics of zoonotic infections involving parasites. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*, 19, 255-265.
- Webber, R. A., Rau, M. E. & Lewis, D. J. 1987. The effects of *Plagiorchis noblei* (Trematoda, Plagiorchiidae) metacercariae on the susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to predation by guppies (*Poecilia reticulata*) and meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). *Canadian Journal of Zoology*, 65, 2346-2348.
- Webster, J. P., Gowntage-Sequeira, S., Berdoy, M. & Hurd, H. 2000. Predation of beetles (*Tenebrio molitor*) infected with tapeworms (*Hymenolepis diminuta*): a note of caution for the manipulation hypothesis. *Parasitology*, 120, 313-318.

- Wellnitz, T., Giari, L., Maynard, B. & Dezfuli, B. S. 2003. A parasite spatially structures its host population. *Oikos*, 100, 263-268.
- Welton, J. S. 1979. Life-history and production of the amphipod *Gammarus pulex* in a Dorset Chalk stream. *Freshwater Biology*, 9, 263-275.
- Welton, J. S., Mills, C. A. & Pygott, J. R. 1991. The effect of interaction between the stone loach *Noemacheilus barbatulus* (L) and the bullhead *Cottus gobio* (L) on prey and habitat selection. *Hydrobiologia*, 220, 1-7.
- Werren, J. H., Windsor, D. & Guo, L. R. 1995. Distribution of Wolbachia among neotropical arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 262, 197-204.
- Werren, J. H., Zhang, W. & Guo, L. R. 1995. Evolution and phylogeny of Wolbachia - reproductive parasites of arthropods. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 261, 55-63.
- Wessenberg-Lund, C. 1931. Contributions to the development of the trematoda digenea. Part I. The biology of *Leucochloridium paradoxum*. *Mémoires de l'Académie Royale des Sciences et des Lettres du Danemark, Copenhagen, section des sciences*, 4, 90-142.
- Wijnhoven, S., van Riel, M. C. & van der Velde, G. 2003. Exotic and indigenous freshwater gammarid species: physiological tolerance to water temperature in relation to ionic content of the water. *Aquatic Ecology*, 37, 151-158.
- Williams, D. D. & Moore, K. A. 1985. The role of semiochemicals in benthic community relationships of the lotic amphipod *Gammarus pseudolimnaeus* - a laboratory analysis. *Oikos*, 44, 280-286.
- Windsor, D. A. 1998. Most of the species on Earth are parasites. *International Journal for Parasitology*, 28, 1939-1941.
- Winkler, D. W. & Sheldon, F. H. 1993. Evolution of nest construction in swallows (Hirundinidae) - a molecular phylogenetic perspective. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 5705-5707.
- Wisenden, B. D., Chivers, D. P. & Smith, J. F. 1997. Learned recognition of predation risk by *Enallagma* Damselfly larvae (Odonata, Zygoptera) on the basis of chemical cues. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 137-151.
- Wright, C. A. 1971. *Flukes and Snails*. London: Allen & Unwin.
- Wudkevich, K., Wisenden, B. D., Chivers, D. P. & Smith, R. J. F. 1997. Reactions of

Gammarus lacustris to chemical stimuli from natural predators and injured conspecifics. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1163-1173.

Zelmer, D. A. & Esch, G. W. 1998. Bridging the gap: The odonate naiad as a paratenic host for *Halipegus occidualis* (Trematoda : Hemiuridae). *Journal of Parasitology*, 84, 94-96.

La manipulation de l'hôte par les parasites acanthocéphales, aspects éco-éthologiques

NICOLAS KALDONSKI

Les parasites à cycle complexe sont confrontés au problème de leur transmission de l'hôte amont à l'hôte aval. Des modifications comportementales induites par ces parasites sont fréquemment observées chez les hôtes intermédiaires, et ont pour conséquence d'augmenter la transmission trophique du parasite à son hôte définitif. De telles modifications doivent satisfaire à certains critères pour être considérées comme adaptatives. Nous avons étudié le caractère adaptatif de la manipulation parasitaire en nous appuyant sur deux critères principaux : un bénéfice en terme d'aptitude pour le parasite manipulateur et l'existence d'un lien logique entre le comportement modifié et l'hôte ciblé.

Les acanthocéphales sont des helminthes parasites de vertébrés qui ont été historiquement les premiers modèles d'études portant sur les modifications comportementales liées à l'infection parasitaire. Trois espèces, *Pomphorhynchus laevis*, *Pomphorhynchus tereticollis* et *Polymorphus minutus*, exploitent *Gammarus pulex* (Crustacés, Amphipodes) comme hôte intermédiaire en Bourgogne. Nos résultats démontrent que les modifications comportementales induites par *P. laevis* et *P. tereticollis* sur *G. pulex* augmentent leur transmission par voie trophique vers deux hôtes définitifs, le chabot et la truite. Nous avons ensuite mis en évidence le caractère multidimensionnel des altérations, entraînant principalement un ajustement temporel de la manipulation à l'optimum de transmission des parasites et une inversion de la réaction anti prédateur initiée par la perception olfactive d'un poisson. Cette multidimensionnalité ne s'étend pas en revanche à l'hypothèse du rôle de la tache colorée du parasite dans l'augmentation de vulnérabilité des proies. Les altérations comportementales présentent enfin un certain niveau de spécificité quant à l'hôte ciblé, corroborant le caractère adaptatif de la manipulation. Elles permettent en outre d'établir des connexions entre proies et prédateurs qui ne semblaient pas être intégrées jusqu'alors dans l'étude des réseaux trophiques et des écosystèmes.

Mots-clés : manipulation comportementale, acanthocéphales, spécificité, transmission trophique, olfaction, réseaux trophiques

The behavioural ecology of host manipulation by acanthocephalan parasites

Complex life cycle parasites critically rely on a phase of trophic transmission from upstream to downstream host. Behavioural modifications induced by these parasites are frequently observed among intermediate hosts, and increase parasite trophic transmission to final hosts. Such modifications must satisfy some criteria to be considered adaptive for parasites. We studied adaptiveness of manipulation using two main criteria: fitness effects and purposiveness of design.

Acanthocephalan are helminths parasites that have been historically the first models on behavioural modifications owing to parasite infection. Three species, *Pomphorhynchus laevis*, *Pomphorhynchus tereticollis* and *Polymorphus minutus*, uses *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) as intermediate hosts in Burgundy. Our results demonstrate that behavioural but not morphological modifications induced by *P. laevis* and *P. tereticollis* on *G. pulex* increase parasite trophic transmission to two final hosts, bullhead and brown trout. We then show the multi dimension of alterations, mainly adjusting temporally the manipulation to an optimum of transmission for parasites and an inversion of anti predator reaction initiated by chemical perception of a fish. However, the colour hypothesis for enhanced vulnerability of infected prey is refuted. These behavioural alterations are almost specific toward targeted host, reinforcing the adaptive hypothesis of manipulation. They are also establishing some predator prey connexions under estimated among food web and ecosystems studies.

Keywords: behavioural manipulation, acanthocephalan, specificity, trophic transmission, olfaction, food webs

Discipline: Biologie des populations et écologie