



HAL
open science

Gammarès et acanthocéphales : un système multi-hôtes (cryptiques) et multi-parasites ?

Alexandre Bauer

► **To cite this version:**

Alexandre Bauer. Gammarès et acanthocéphales : un système multi-hôtes (cryptiques) et multi-parasites ?. Biodiversité et Ecologie. Université Bourgogne Franche-Comté, 2022. Français. NNT : 2022UBFCK018 . tel-04078762

HAL Id: tel-04078762

<https://theses.hal.science/tel-04078762>

Submitted on 24 Apr 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE DE DOCTORAT DE L'ÉTABLISSEMENT UNIVERSITÉ BOURGOGNE FRANCHE-COMTÉ

PRÉPARÉE A L'UMR 6282 BIOGÉOSCIENCES

École doctorale n°554 environnements - santé

Doctorat de sciences de la vie

par Alexandre Bauer

Gammarès et acanthocéphales, un système multi-hôtes (cryptiques) et multi-parasites ?

Thèse présentée et soutenue à Dijon le 31 mai 2022

Composition du Jury :

M. Jean-Nicolas Beisel, professeur, université de Strasbourg
M. Thierry Lefèvre, chargé de recherche UMR MIVEGEC, Montpellier
M. Jérôme Boissier, professeur IHPE UMR 5244, université de Perpignan
Mme Marie-Jeanne Perrot-Minnot, maître de conférence, université de Bourgogne
M. Thierry Rigaud, directeur de recherche CNRS, université de Bourgogne

rapporteur
rapporteur
examineur ; président
examinatrice
directeur de thèse

Table des matières

Chapitre 1	Introduction générale	7
1.1.	Communautés d'hôtes et communautés de parasites : des interactions complexes.....	8
1.1.1.	Parasites multi hôtes et hôtes multi parasites : des systèmes éminemment complexes	9
1.1.2.	Parasites spécialistes ou généralistes ?	10
1.1.3.	Hôte clé, hôte réservoir, hôte puits... ..	11
1.1.4.	Effets de dilution, d'amplification et d'évitement.....	12
1.2.	Parasites à cycle complexe et notion d'hôte intermédiaire	14
1.2.1.	Une stratégie de transmission particulière chez les parasites à transmission trophique, la manipulation.....	14
1.3.	La diversité spécifique cryptique et ses implications	16
1.3.1.	Concept d'espèce, reconstitution phylogéographique.....	16
1.3.2.	Diversité cryptique et conservation.....	17
1.3.3.	Diversité cryptique et parasitisme (hôtes cryptiques, parasites cryptiques).....	17
1.4.	Gammarès et acanthocéphales : des hôtes multi-parasités et des parasites manipulateurs multi-hôtes	18
1.4.1.	Acanthocéphales parasites de gammarès en Europe de l'ouest.....	18
1.4.2.	Brève description des principaux changements phénotypiques induits par la présence d'acanthocéphales chez les gammarès.....	22
1.4.3.	Les origines de la variation dans la manipulation comportementale des gammarès	23
1.5.	Objectifs de la thèse	27
Chapitre 2	Étude <i>in natura</i> : suivi temporel de la disponibilité d'hôtes multiples pour les parasites.....	29
2.1.	Introduction	30
2.1.1.	Différentes espèces de gammarès comme environnement pour les acanthocéphales.....	30
2.1.2.	La diversité cryptique, une nouvelle conception du spectre d'hôtes.....	31
2.2.	Objectifs du chapitre	38
2.3.	Matériels et méthodes	40
2.3.1.	Collecte des amphipodes	40
2.3.2.	Génotypage	41
2.3.3.	Analyses statistiques.....	42
2.4.	Résultats	43
2.4.1.	Effectifs retenus pour les mesures de lignées d'hôtes et les mesures de prévalences.....	43
2.4.2.	Évolution des proportions des lignées de gammarès en fonction du temps.....	44
2.4.3.	Toutes les lignées d'hôtes se reproduisent-elles sur les sites ?	46
2.4.4.	Cohortes.....	51

2.4.5.	Variations dans les prévalences en acanthocéphales.....	56
2.4.6.	Répartition acanthes / cystacantes.....	58
2.5.	Discussion	65
2.5.1.	Un système multi-hôte permanent	65
2.5.2.	Un système multi-parasite permanent.....	67
Chapitre 3	Contribution de <i>Gammarus roeselii</i> au cycle parasitaire de <i>Pomphorhynchus laevis</i> , comparativement à <i>G. fossarum</i>	73
3.1.	Transition et résumé en français.....	74
3.2.	Summary.....	75
3.3.	Introduction	75
3.4.	Methods.....	77
3.4.1.	Amphipod collection and prevalence in the field.....	77
3.4.2.	Experimental infection.....	78
3.4.3.	Gammarid genotyping	79
3.4.4.	Statistical analyses	80
3.5.	Results.....	80
3.5.1.	Genetic diversity among <i>G. fossarum</i> -like gammarids	80
3.5.2.	Natural infection: direct field prevalence vs. field prevalence protected from predation	80
3.5.3.	Experimental infection.....	81
3.6.	Discussion	82
3.7.	Acknowledgments	83
3.8.	Financial support.....	83
3.9.	References	83
Chapitre 4	Infections expérimentales de différentes lignées d'hôtes (cryptiques) sympatriques.....	85
4.1.	Introduction	86
4.2.	Objectifs du chapitre	87
4.3.	Matériels et méthodes	88
4.3.1.	Collecte des gammares	88
4.3.2.	Collecte et typage des acanthores de parasites.....	89
4.3.3.	Préparation des suspensions d'œufs et protocole d'infestation	91
4.3.4.	Maintien des gammares et suivi de mortalité.....	91
4.3.5.	Mesures de comportement	93
4.3.6.	Typage moléculaire des gammares et des parasites	94
4.3.7.	Analyses statistiques.....	95
4.4.	Résultats	96
4.4.1.	Résultats globaux.....	96
4.4.2.	Les différents hôtes montrent-ils une sensibilité équivalente à l'infection ?	97

4.4.3.	Virulence des parasites	101
4.4.4.	Analyse des données de comportement	109
4.5.	Discussion	115
4.5.1.	Sensibilité des différentes lignées d'hôtes à l'infection par les parasites.....	115
4.5.2.	Virulence	117
4.5.3.	Manipulation	120
Chapitre 5	Discussion générale	125
5.1.	Résumé des épisodes précédents	126
5.2.	Diversité génétique chez les gammares et spécificité parasitaire	129
5.2.1.	Infectivité des parasites	129
5.2.2.	Variabilité dans la manipulation ?	131
5.2.3.	Importance de l'historique des interactions ?	132
5.2.4.	Globalement.....	133
5.3.	Le patron d'infection des hôtes intermédiaires est-il modulé par la présence d'hôtes définitifs « clés » ?	134
5.4.	Pour aller plus loin : diversité génétique chez les parasites	135
5.5.	Le mot de la fin.....	136
Bibliographie	138
Annexes.....	155
Annexe A.	Températures relevées lors du suivi temporel	156
Annexe B.	Protocoles de génotypage	157
B.1.	Extraction	157
B.2.	Amplification	157
B.3.	Vérification des amplicons	158
B.4.	Séquençage	158
B.5.	RFLP	159
Annexe C.	Analyse détaillée des cohortes.....	160
C.1.	Albane, <i>Gf 2</i> , 1350 individus	160
C.2.	Albane, <i>Gf 6</i> , 772 individus	161
C.3.	Albane, <i>Gp D</i> , 361 individus	162
C.4.	Albane, <i>G. roeselii</i> , 1573 individus.....	163
C.5.	Ouche, <i>Gf 3</i> , 550 individus	164
C.6.	Ouche, <i>Gf 7</i> , 39 individus	165
C.7.	Ouche, <i>Gp D</i> , 1682 individus	166
C.8.	Ouche, <i>G. roeselii</i> , 340 individus	167
Annexe D.	Comparaison des modèles d'analyse des prévalences, tableaux complets	168
Remerciements	174

Chapitre I

Introduction générale

Ce que l'on conçoit bien s'énonce clairement,
Et les mots pour le dire viennent aisément.

Nicolas Boileau, « Chant I », L'Art poétique, 1815

Pffff mytho !

Alexandre Bauer, thèse, 2022

Dracula, Alien et autres créatures dégoûtantes, les parasites et parasitoïdes ont inspiré un pan entier de la littérature du XIX^e siècle et de la cinématographie de science-fiction et d'horreur... Ces petits trucs, presque aussi repoussants que les araignées et les vers de terre (voire plus) pour le commun des mortels, représentent pourtant un univers fascinant : sur les organismes qu'ils exploitent, dedans, voire même à l'intérieur des cellules de leurs hôtes, ils sont partout !

Ces virus, protozoaires, champignons, plantes ou animaux, qui vivent pendant au moins une partie de leur vie au dépens d'un organisme d'une autre espèce (l'hôte), ont développé des adaptations, morphologiques et physiologiques entre autres, particulières à leur habitat (pas facile de vivre dans un intestin...) Et ils se sont également souvent débarrassés des fonctions devenues inutiles ou fournies par leur hôte. Ce mode de vie, malgré ses contraintes, est un des plus répandus et efficaces du vivant (Lucius *et al.*, 2017).

Si le rôle du parasitisme dans l'évolution biologique, allant jusqu'à l'origine du sexe ou l'organisation cellulaire des métazoaires, est maintenant largement accepté, cette reconnaissance n'est que relativement récente, et ce phénomène reste encore très sous-étudié par rapport à d'autres phénomènes évolutifs tels que la dispersion. Il en est de même pour le rôle des parasites dans l'écologie de leurs hôtes, pourtant la variole a éliminé l'adversité lors de la colonisation de l'Amérique aussi efficacement que les fusils des conquistadors... (Cook & Lovell, 1992)

I.1. Communautés d'hôtes et communautés de parasites : des interactions complexes

En 1949, John Burdon Sanderson Haldane a suggéré que les parasites non spécifiques peuvent jouer un rôle très important dans les interactions compétitives entre différentes espèces-hôtes (Lederberg, 1999). Mais c'est seulement une trentaine d'années plus tard, dans le premier article du premier numéro de la revue *Trends in Ecology & Evolution*, que Dobson & Hudson (1986) saluaient la toute nouvelle reconnaissance dans les ouvrages d'écologie des parasites et des pathogènes comme espèces courantes dans les règnes animal et végétal. Dans ce même article, ils suggéraient que l'introduction ou l'élimination d'un parasite peut affecter les interactions à l'échelle de toute une communauté d'espèces. Depuis, de nombreux travaux ont montré que les parasites ont effectivement un rôle structurant dans les écosystèmes, en étant à la base d'interactions complexes et d'effets en cascade dans les communautés dans lesquelles ils se trouvent : réseaux trophiques et flux d'énergie, structuration des communautés, compétition apparente, prédation intraguilde (MacNeil *et al.*, 2003 ; voir les synthèses de Hatcher *et al.*, 2006; Hudson *et al.*, 2006; Lefèvre *et al.*, 2009; et Giari *et al.*, 2020).

I.I.I. Parasites multi hôtes et hôtes multi parasités : des systèmes éminemment complexes

La plupart des pathogènes sont capables d'infecter plusieurs espèces hôtes et, surtout, la plupart de ces dernières peuvent héberger différents parasites/pathogènes (Woolhouse *et al.*, 2001). Rigaud *et al.* (2010) ont fait le constat que cette complexité des interactions multi-hôtes et multi-parasites était à l'époque trop peu étudiée, en particulier dans un contexte évolutif. Si l'évolution de systèmes mono-parasite et multi-hôtes (Dobson, 2004; Gandon, 2004), ou pluri-parasites et mono-hôte (Dobson, 1990; Dobson & Roberts, 1994; Roberts & Dobson, 1995) a déjà été abondamment modélisée, très peu d'études s'intéressaient de manière théorique à des systèmes multi-parasites et multi-hôtes. Pendant la dizaine d'années qui a suivi le constat de Rigaud *et al.* (2010), les choses ont évolué, surtout au niveau théorique, avec de nombreuses études portant sur les implications sur la virulence (par exemple Alizon *et al.*, 2013; Alizon, 2013). Rabajante *et al.* (2015) ont également replacé la dynamique de la reine rouge dans un contexte multi-parasites et multi-hôtes. Les études empiriques ont été plus rares, surtout concernant celles en conditions contrôlées, souvent invoquées comme étant les plus efficaces pour étudier les diverses facettes des relations hôtes-parasites (Poulin & Maure, 2015). La difficulté de maintenir simultanément plusieurs espèces d'hôtes et de parasites explique certainement la relative rareté de ce type d'études. Auld *et al.* (2017) ont proposé un des rares résultats d'infection en laboratoire multi-hôte et multi-parasite. Ils ont étudié la transmission de deux parasites, une bactérie et un champignon, chez deux espèces de daphnies, l'une étant l'hôte préféré et l'autre étant un hôte de substitution par débordement de la niche normale du parasite (« *spillover* »), les quatre protagonistes vivant en sympatrie en milieu naturel. Ces travaux ont confirmé que l'étude de la dynamique complexe des communautés multi-hôtes et multi-parasites demeure un défi majeur.

En revanche cette complexité a été bien plus fortement intégrée dans les études épidémiologiques, dans un contexte vétérinaire ou de santé publique, dans le cadre des maladies à vecteurs ou des maladies infectieuses émergentes, à la fois dans un cadre théorique (Streicker *et al.*, 2013; Fountain-Jones *et al.*, 2017) et empirique (DiRenzo *et al.*, 2021). Plusieurs outils ont été récemment proposés, principalement pour de l'aide décisionnelle sur le contrôle des épidémies. Par exemple, l'« *ecomultiplex model* » est une méthode permettant d'identifier quelle espèce augmente la propagation de parasite (Stella *et al.*, 2018) ; le « cadre éco-phylogénétique » proposé par Fountain-Jones *et al.* (2018) doit aider à mieux comprendre et prédire les menaces ; ou bien la modélisation de co-infections pour aider leur contrôle (Yakob *et al.*, 2013). Cortez et Duffy (2021), pour leur part, proposent un cadre théorique permettant d'unifier les modèles de transmission environnementale et ceux de transmission directe (dans un système à deux hôtes). Carrau *et al.* (2021) décrivent un système multi-hôte (4 espèces de ruminants) et multi-parasite (7 espèces de nématodes) pour comprendre l'épidémiologie et l'écologie de cette communauté de parasites. Walker *et al.* (2017), eux, ont par exemple comparé des prédictions obtenues par modélisation avec des observations réelles de réseaux d'interactions entre des nématodes d'Afrique du sud et leurs hôtes, espèces sauvages et bétail. Cet article appartient d'ailleurs à un numéro spécial des *Philosophical Transactions of the Royal Society B* intitulé *Opening the black box: re-examining the ecology and evolution of parasite transmission*. Ce numéro fait suite à la réunion d'un groupe de travail de 34

chercheurs et chercheuses en 2015 qui a fait le point sur cette notion complexe de transmission dans des contextes de réseaux hôtes-parasites, caractéristique fondamentale des parasites et pathogènes, particulièrement difficile à mesurer et presque impossible à observer directement (Lello & Fenton, 2017). Buhnerkempe *et al.* (2015) ont par ailleurs listé 8 défis à relever pour la modélisation de l'écologie des maladies : qu'est-ce qui définit une population de maintien ? ; qu'est-ce qui définit une communauté de maintien ? ; quels mécanismes sous-tendent l'effet de dilution, et quand s'appliquent-ils ? ; comment estimer la transmission entre espèces en conditions naturelles ? ; comment des cycles multi-hôtes (= hétéroxènes) complexes affectent-ils le maintien de l'infection ? ; comment la dynamique d'une communauté de parasites et pathogènes au sein d'individus hôtes peut-elle s'extrapoler à l'échelle de processus populationnels ? ; comment des agents infectieux affectent-ils la structure et la stabilité des réseaux trophiques ? ; comment gérer la « matière noire », non observée (c'est-à-dire les hôtes ou agents infectieux qui n'ont pas encore été découverts), dans les systèmes multi-hôtes ou multi-agents ? D'après ces auteurs, l'équilibre entre la prise en compte de cette complexité et des simplifications appropriées permettra de relier les perceptions déjà obtenues à partir de travaux sur des systèmes simples (mono-hôte et mono-agent) aux intuitions sur la compréhension des systèmes multi-hôtes, multi-agents.

1.1.2. Parasites spécialistes ou généralistes ?

Un parasite multi-hôtes va faire face à des hôtes de qualités différentes et d'abondances différentes, ayant potentiellement des stratégies de défense différentes (Gervasi *et al.*, 2015). L'hôte idéal offrira alors une faible résistance à l'infection et une forte tolérance au développement du parasite (Martin *et al.*, 2016). Mais, de par la coévolution antagoniste, les pathogènes monospécifiques subissent une forte pression de sélection de leur hôte favori et peuvent être sélectionnés pour franchir la barrière des espèces et exploiter des populations hôtes supplémentaires, devenant ainsi pathogènes multi-hôtes (Woolhouse *et al.*, 2001). Le niveau de stabilité de l'environnement est alors un critère fondamental pour la sélection d'une stratégie généraliste ou spécialiste (Haaland *et al.*, 2020) et pendant longtemps, l'hétérogénéité de la disponibilité en hôtes a été sous-estimée comme facteur d'évolution chez leurs parasites (Crossan *et al.*, 2007). Ainsi, même si les parasites ont toujours intérêt, à court terme, à se spécialiser sur un hôte sur/dans lequel ils sont les plus efficaces, les variations en disponibilité de ce dernier dans le temps ou dans un environnement changeant vont maintenir un intérêt évolutif au fait de ne pas trop se spécialiser (Ruiz-González *et al.*, 2012).

Le choix d'une stratégie parasitaire dépend donc fortement de la structuration de la communauté d'hôtes. La disponibilité des hôtes, sera très souvent environnementale, voire climatique (Shearer & Ezenwa, 2020), des phénomènes de cyclicité temporelle dans l'occurrence des parasites étant couramment observés dans la nature (Altizer *et al.*, 2006). Par exemple, la saisonnalité dans l'occurrence des microsporidies *Octospora bayerides*, parasites des daphnies, est liée à celle de leur hôte, qui exprime une diapause estivale (Lass & Ebert, 2006). Les moustiques *Culex tarsalis*, vecteurs de la fièvre du virus du Nil occidental (West Nile virus), eux, changent d'hôte préféré pour leurs repas de sang en fonction de leur disponibilité saisonnière (Thiemann *et al.*, 2011). Un système singulier, comprenant un parasite et ses multiples oiseaux hôtes, possède des caractéristiques qui

le rendent très propice à une étude détaillée de l'écologie des interactions hôte-parasite dans la nature (Manzoli *et al.*, 2021). Dans cette étude, il a été montré que la larve parasite de la mouche *Philornis*, qui a la capacité de choisir activement et de manière très précise son hôte, n'utilise des hôtes alternatifs de moindre qualité que lorsque son hôte optimal n'est pas disponible. Dans ce système, la stratégie d'exploitation d'hôtes est ainsi plastique et contexte-dépendante. Il a également été montré que des stratégies différentes sont globalement observées entre les grands groupes de parasites, liées à leur stratégie de transmission : virus, protozoaires et helminthes (Pedersen *et al.*, 2005).

Être généraliste est cependant coûteux (Leggett *et al.*, 2013). Tout d'abord, les parasites généralistes sont souvent moins efficaces dans l'exploitation de leurs hôtes que des spécialistes. De plus, le risque est accru pour un généraliste de coinfecter son hôte et de se retrouver en conflit avec un autre parasite, ce qui peut impacter sa fitness. Enfin, les généralistes sont également plus susceptibles d'infecter de nouveaux hôtes avec lesquels ils n'ont pas coévolué, ce qui peut générer une virulence maladaptative.

Pour évaluer le niveau de spécialisation d'un parasite, il faudrait idéalement mesurer la fitness liée à l'exploitation de chaque hôte de son spectre, décomposée en plusieurs paramètres : infectivité, exploitation des ressources de l'hôte, virulence, échappement immunitaire et succès de transmission (Lievens *et al.*, 2018). En effet, observer qu'une espèce est infectée ne suffit pas si ensuite la transmission du parasite n'est pas assez efficace pour lui permettre de se maintenir dans la population (l'hôte considéré est alors une impasse ou un puits). Un exemple de cette situation a été abordé sur deux crustacés du genre *Artemia*, tous deux infectés en milieu naturel par deux espèces de microsporidies (Lievens *et al.*, 2018). En comparant leur infectivité, le taux de transmission et la virulence dans chaque hôte, les auteurs ont montré que d'après la seule mesure d'infectivité, l'une pouvait apparaître comme spécialiste et l'autre généraliste, mais qu'à la lumière des autres paramètres mesurés, chaque microsporidie est plus performante sur une espèce d'artémie différente. Ils ont également montré que la dichotomie souvent postulée entre stratégies spécialiste et généraliste n'est pas si évidente quand on mesure différentes composantes de la fitness.

1.1.3. Hôte clé, hôte réservoir, hôte puits...

Il a été proposé il y a une vingtaine d'années de clarifier le concept de réservoir d'hôtes, jusque-là utilisé de plusieurs manières, « déroutantes, conflictuelles et souvent incomplètes » (sic) (Haydon, 2002). Si l'on s'en réfère aux 469 citations dans le *Web of Knowledge* en novembre 2021, cet article a fait soit autorité, soit polémique depuis sa publication. Les auteurs insistent sur la nécessité de définir une population cible, d'intérêt ou que l'on veut soigner, le contrôle de la maladie devant s'effectuer sur le réservoir. La notion de taille critique de communauté est importante pour cette définition : il y aura, au sein de la communauté d'hôtes sensibles au parasite, soit au moins une population de maintien de taille critique suffisante pour la persistance du pathogène et jouant le rôle de source pour la population cible, soit une communauté de maintien où chaque population d'hôtes la constituant est individuellement de taille critique insuffisante. Si la population cible n'est

pas de taille suffisante pour le maintien du pathogène mais qu'il arrive à perdurer, c'est qu'il existe un réservoir. De plus, cette notion n'a de valeur que dans un contexte écologique particulier considéré et ne peut pas être définie dans l'absolu comme un trait d'histoire de vie (Poulin & Forbes, 2012; Roberts & Heesterbeek, 2020). Il a par exemple été modélisé théoriquement que l'ajout ou le retrait d'une seule espèce non-hôte dans la communauté peut complètement changer l'issue des interactions (Roberts & Heesterbeek, 2020). De plus, l'attention est attirée dans cette étude sur le fait qu'il faut bien distinguer les termes de « maintien », qui désigne la persistance du pathogène, et de « réservoir », qui constitue la source pour la cible considérée, cette source n'étant pas nécessairement indispensable au maintien du pathogène.

Quand une espèce hôte contribue de manière disproportionnée à la transmission d'un parasite et qu'elle est responsable du maintien du parasite à long terme et de l'infection d'autres espèces, on peut également parler d'hôte clé (Streicker *et al.*, 2013). C'est le cas par exemple du merle d'Amérique, *Turdus migratorius*, responsable à lui seul de la majorité des contaminations des moustiques par le virus du Nil occidental (Marm Kilpatrick *et al.*, 2006), ou de celui (exemple abordé plus haut) de la mouche parasite *Philornis torquans*, capable d'exploiter la moitié des espèces de passereaux d'Argentine centrale mais qui est très fortement associée au tyran quiquivi, *Pitangus sulphuratus* (Manzoli *et al.*, 2021).

I.1.4. Effets de dilution, d'amplification et d'évitement

Les impacts des activités humaines sur le climat et la nature font de notre époque une période merveilleuse pour l'étude des effets des changements de biodiversité... Dans le cadre des invasions biologiques, il est reconnu que les espèces envahissantes peuvent être avantagées si elles sont résistantes aux ennemis naturels de leurs compétiteurs locaux (« enemy release hypothesis », Torchin *et al.*, 2003), mais elles peuvent également favoriser ces derniers via un effet de dilution si elles agissent comme hôtes puits pour les parasites locaux (Kopp & Jokela, 2007; Tierney *et al.*, 2020). Dans le contexte actuel d'érosion de la biodiversité, Manzoli *et al.*, (2021) ont proposé également le concept d'effet d'évitement (« deflection effect ») : tant que des hôtes plus appropriés sont disponibles, les hôtes alternatifs ne sont pas ciblés par un parasite donné. Ce type de patron a été observé dans une invasion biologique impliquant des amphipodes : le parasite microsporidien ayant accompagné l'invasion de *Dikerogammarus villosus* en Europe de l'ouest est capable d'infecter à faible dose des hôtes locaux, mais reste très majoritairement inféodé à son hôte d'origine tant que celui-ci est abondant dans les communautés envahies (Bacela-Spychalska *et al.*, 2012). Mais si les hôtes appropriés viennent à disparaître, alors les hôtes alternatifs peuvent devenir les cibles des parasites. Cette situation engendre des questions de santé publique importantes lorsque les hôtes alternatifs sont les humains (Manzoli *et al.*, 2021).

L'hypothèse de l'effet de dilution a été avancée pour la première fois dans le cadre de la maladie de Lyme. Cet énoncé a été la source d'échanges nourris dans la communauté des écologistes (la transcription des matchs est relatée de manière humoristique sur le blog [Parasite Ecology](#)) et les

auteurs originaux viennent de publier une nouvelle synthèse dans un cadre plus large (Keesing & Ostfeld, 2021). La maladie de Lyme est causée par une bactérie, *Borrelia burgdorferi*, qui est transmise par les tiques du genre *Ixodes* à l'occasion de leurs repas de sang sur leurs hôtes mammifères. L'hôte le plus compétent (celui qui transmet la bactérie le plus efficacement) est en Amérique du nord la souris à pattes blanches, *Peromyscus leucopus*. L'hypothèse de base de l'effet de dilution est que l'augmentation de la diversité des espèces hôtes peut diluer la capacité des souris à pattes blanches à infecter les tiques, les autres espèces sur lesquelles ces dernières vont se nourrir étant des réservoirs de *Borrelia* moins efficaces. Une grande diversité d'espèces devrait donc entraîner une prévalence plus faible de l'infection chez les tiques, et par conséquent, un risque plus faible d'exposition humaine à la maladie de Lyme. Le concept a été repris depuis les années 2000 et appliqué à d'autres espèces de parasites (voir par exemple la méta-analyse de Civitello *et al.*, 2015).

La dilution peut s'opérer directement, par la régulation de la densité des hôtes compétents (via la compétition ou la prédation) ou indirectement par une réduction de leur taux de rencontre avec le pathogène, le « dilueur » détournant alors une partie des parasites (Strauss *et al.*, 2018). Quand ces deux facteurs opèrent de concert, et fréquemment, on parle alors de « compétition amicale » (Hall *et al.*, 2009). Mais il a été montré également (et modélisé ; Strauss *et al.*, 2015) que si l'augmentation de la diversité des hôtes peut entraîner une diminution de la prévalence de l'infection chez un hôte focal, elle peut également produire une augmentation, on parle alors d'amplification (Keesing *et al.*, 2006). Plusieurs caractéristiques vont jouer pour définir le résultat des interactions : la compétence des hôtes (c'est-à-dire la capacité d'un individu à transmettre le pathogène à un autre individu) et les caractéristiques source/puits (la production nette de propagules infectieux par hôte). Ces deux grandeurs sont contexte-dépendantes : elles peuvent varier selon l'environnement des hôtes pour induire soit une dilution soit une amplification (Cortez & Duffy, 2021). L'échelle spatiale d'observation des études semble toutefois déterminer les résultats observés : on observerait plus facilement de la dilution à petite échelle et de l'amplification à grande échelle (Rohr *et al.*, 2020).

L'effet de débordement (« *spillover* »), lui, dépend forcément de la présence d'une espèce hôte réservoir dans laquelle le parasite peut persister. Il caractérise le passage du parasite vers une espèce hôte dans laquelle il n'arriverait pas à se maintenir s'il n'avait qu'elle à sa disposition (Fountain-Jones *et al.*, 2018). L'effet de débordement a été particulièrement étudié dans le cadre du transfert de maladies infectieuses vers les populations humaines (Fountain-Jones *et al.*, 2018).

Le système à deux hôtes (artémies) et deux parasites (microsporidies), déjà présenté plus haut, a permis, en situation de métapopulations dans les salins d'Aigues Mortes, l'étude d'une dynamique de débordement sur le terrain (Lievens *et al.*, 2019). Il a été montré que la microsporidie *Anostracospira rigaudi* ne peut pas se maintenir sans l'espèce d'artémie *Artemia parthenogenetica*, alors qu'elle montre pourtant une forte infectivité chez ses deux hôtes alternatifs.

I.2. Parasites à cycle complexe et notion d'hôte intermédiaire

De nombreux parasites ont un cycle de vie simple (monoxène), au cours duquel ils n'exploitent qu'une seule espèce hôte. De nombreuses autres espèces, dites hétéroxènes, ont besoin d'infecter plusieurs espèces d'hôtes successives avant de pouvoir se reproduire. L'hôte dans lequel le parasite débutera son développement est appelé hôte intermédiaire (il peut aussi s'agir d'une succession d'hôtes intermédiaires, amonts et aval si le cycle implique au moins trois hôtes successifs, Combes, 1991) et l'hôte dans lequel la reproduction aura lieu est appelé hôte définitif. Chaque étape de transmission, du milieu naturel à un hôte ou bien d'un hôte au suivant est critique pour le parasite.

I.2.1. Une stratégie de transmission particulière chez les parasites à transmission trophique, la manipulation

Une des stratégies des parasites à cycle complexe pour passer d'un hôte au suivant est la transmission par prédation, le parasite étant ingéré en même temps que son hôte intermédiaire par l'hôte suivant. De nombreux groupes de tels parasites ont évolué des moyens permettant d'augmenter la probabilité de cette prédation par un hôte approprié, en modifiant le phénotype de leur hôte intermédiaire. Si les scientifiques ont remarqué de longue date des différences d'apparence ou de comportement chez les hôtes intermédiaires quand ils étaient parasités, la « manipulation » par les parasites a commencé à être activement étudiée suite à la publication en 1972 des travaux de Holmes & Bethel dans lesquels ils ont souligné pour la première fois la possibilité d'une valeur adaptative de la manipulation (Holmes & Bethel, 1972).

La manipulation, via un ensemble de stimuli, amènera soit l'hôte amont dans la niche trophique de l'hôte aval, soit incitera l'hôte aval à se déplacer vers l'hôte amont (Combes, 1991). Le cas classiquement donné en exemple pour cette deuxième situation est celui du trématode *Leucochloridium paradoxum*, qui fait se contracter spasmodiquement les tentacules rétractiles (antennes) de son hôte intermédiaire, un escargot, de manière à attirer son hôte définitif, un oiseau, qui va le confondre avec une chenille. En plus de modifier l'apparence de son hôte intermédiaire, ce parasite manipule également son comportement d'une manière qui augmente encore un peu plus ses chances de transmission (Wesołowska & Wesołowski, 2014). En effet, les mollusques infectés sont plus mobiles, se placent dans des zones plus éclairées et se positionnent plus haut dans la végétation, ce qui les rend encore plus ostensibles pour les hôtes définitifs. La manipulation peut également induire un comportement complètement nouveau chez l'hôte infecté. C'est le cas par exemple des vers nématomorphes qui induisent, une fois devenus adultes, le 'suicide' de leur hôte grillon. En se jetant à l'eau, ces derniers vont permettre à leur passager de rejoindre le milieu dans lequel il va pouvoir se reproduire (Thomas *et al.*, 2002). Il semblerait dans ce cas que l'attraction des grillons pour des taches claires (que représentant les plans d'eau) soit induite dans le cerveau des hôtes par la présence des parasites (Biron *et al.*, 2006).

Plusieurs critères ont été proposés pour distinguer cette manipulation, active, des simples conséquences de l'infection qui pourraient induire passivement une modification du comportement

de l'hôte (Poulin, 1995). Tout d'abord un trait adaptatif doit être complexe, les traits simples ayant plus de probabilité d'arriver par hasard (même s'il est plutôt subjectif de juger de la complexité d'une modification de comportement sans en connaître les mécanismes). Ensuite, si des adaptations similaires sont apparues de manière indépendante dans des groupes taxonomiquement différents, cette convergence est un indice que le trait pourrait être adaptatif. Troisièmement, le trait doit se conformer à une solution qui aurait été trouvée pour répondre à un problème et non juste par chance : il est beaucoup moins probable que le trait soit adaptatif si on doit lui chercher une explication *a posteriori*. L'auteur de ces propositions est revenu sur ces critères en dressant un nouveau bilan quinze ans plus tard (Poulin, 2010) ; suite à cette révision, il lui apparaît que le seul critère qui compte vraiment soit finalement le quatrième, qui suppose qu'un trait adaptatif doit se traduire en termes de bénéfices sur la fitness de celui qui le porte, et donc que les parasites capables de manipuler le comportement de leurs hôtes doivent avoir un meilleur succès de survie et de reproduction que ceux qui n'en sont pas capables. Ainsi, de simples effets secondaires de l'infection qui sont avantageux pour le parasite peuvent devenir des adaptations. De plus, le phénomène d'exaptation (détournement d'une fonction sélectionnée pour un autre but, à l'instar des plumes des oiseaux) reste possible (Thomas *et al.*, 2012).

Un cadre conceptuel complémentaire a été proposé pour distinguer réponses passives de l'hôte et adaptations évoluées par les parasites. Parker *et al.* (2009) ont en effet proposé que la manipulation parasitaire pouvait inclure une diminution de la probabilité de prédation (appelée « suppression de prédation ») avant que le parasite n'atteigne la maturité pour le passage dans l'hôte aval, puis une augmentation de prédation après la maturité (Parker *et al.*, 2009). Dans ce contexte, la manipulation par suppression réduit une des formes les plus fréquentes de mortalité de l'hôte en renforçant les défenses anti-prédatrices, tandis que la manipulation par favorisation de prédation ne devrait cibler une augmentation de la prédation que par le prochain hôte dans le cycle de vie du parasite pour être efficace. Étant donné cette dichotomie, où la favorisation de prédation inclut le coût de la prédation par un prédateur non-hôte, alors que la suppression de prédation protège de toute façon l'hôte d'une forte probabilité de décès quel que soit le prédateur, Parker *et al.* (2009) prédisent que l'évolution de la manipulation par suppression est plus facile à être sélectionnée que la manipulation par favorisation, et devrait donc être plus fréquente. Ceci dit, la stratégie de manipulation la plus efficace est celle où les deux phénomènes sont présents successivement. L'évolution vers de telles stratégies dépend alors de la probabilité de mortalité de l'hôte infecté : si elle est indépendante de son âge (prédation aléatoire) alors il y aura évolution uniquement vers une favorisation de la prédation si la manipulation augmente suffisamment la prédation (par le bon prédateur, l'hôte définitif) pour compenser les coûts de sa mise en place. Mais si le parasite a une probabilité de mourir plus tôt que son hôte, alors augmenter la prédation sera sélectionné dans tous les cas, que cette prédation soit « bonne » ou « mauvaise ». En revanche la suppression n'a pas besoin d'être sélective et est donc plus simple à mettre en place. Depuis la proposition de ce modèle, de nombreuses démonstrations expérimentales ou empiriques de ce phénomène adaptatif (manipulation par suppression puis favorisation de la prédation) ont été mises en évidence, soit totalement, en étudiant les modifications de comportement et les taux de prédation de façon concomitante (Dianne *et al.*, 2011; Weinreich *et al.*, 2013), soit indirectement, en n'étudiant que les modifications de comportement (Gopko *et al.*, 2015; Bailly *et al.*, 2018).

I.3. La diversité spécifique cryptique et ses implications

Avec la démocratisation de l'outil moléculaire depuis le début des années 2000 et la création des codes-barres génétiques (DNA barcoding), une diversité cryptique (animaux impossibles à discriminer sur des critères morphologiques, mais appartenant à des lignées génétiquement divergentes) a été révélée chez de nombreuses espèces animales, des mammifères aux parasites (Hebert *et al.*, 2003; Fišer *et al.*, 2018). La découverte de cette diversité « cachée » a révolutionné l'étude des interactions entre espèces, entre autres dans un contexte évolutif (Bickford *et al.*, 2007).

I.3.1. Concept d'espèce, reconstitution phylogéographique

La systématique classique, permettant d'inventorier les espèces en fonction de leurs liens de parenté et de leur histoire évolutive, est principalement basée sur des descriptions morphologiques, ce qui biaise considérablement la classification. En effet, certaines contraintes évolutives peuvent par exemple imposer aux organismes des convergences morphologiques, masquant des espèces différentes (Bickford *et al.*, 2007), et on sait que les animaux utilisent toute une gamme d'informations non visuelles (acoustiques ou chimiques par exemple) pour se reconnaître en tant que partenaires reproductifs ou discriminer des entités trop éloignées pour se reproduire. Les notions de concepts morphologiques, génétiques et biologiques pour décrire les espèces devraient donc, dans l'idéal, être utilisés afin de tenter de décrire différentes espèces (par exemple Lagrue *et al.*, 2014)

La découverte des espèces cryptiques relance de plus belle le débat sur le concept d'espèce, car d'une part les différentes méthodes génétiques utilisables donnent des résultats différents (il n'existe pas de moyen de délimiter de manière universelle les espèces) et d'autre part la diversité génétique observée par construction d'unités taxonomiques sur la base de distances génétiques arbitraires n'est pas toujours mise en parallèle avec la diversité fonctionnelle (Fišer *et al.*, 2018). Cette approche peut cependant être particulièrement intéressante pour aborder des groupes peu étudiés, même sans être expert en taxonomie (comme par exemple chez les poissons du genre *Rineloricaria* ; Kekkonen & Hebert, 2014).

La diversité hyper cryptique (c'est à dire des dizaines de lignées cryptiques regroupées sous le même nom d'espèce morphologique) que l'on trouve chez certains taxons, peut même être utilisée pour inférer la diversification spatiale et temporelle d'espèces à très grande échelle géographique. La diversité hyper cryptique observée chez l'amphipode *Gammarus fossarum* a ainsi permis de reconstruire l'histoire phylogéographique de ce genre en Europe (Wattier *et al.*, 2020).

I.3.2. Diversité cryptique et conservation

La lutte contre la perte d'habitat est le levier principal de la conservation de la biodiversité, il faut donc prioriser les mesures de protection des espèces en fonction de leur richesse spécifique et de leur endémisme (Bickford *et al.*, 2007). Des espèces initialement considérées comme généralistes sont souvent des complexes cryptiques de spécialistes. De telles espèces, si elles sont menacées, peuvent ainsi cacher des lignées encore plus rares, ou bien qui requièrent des mesures de protection différentes (Bickford *et al.*, 2007), ou encore qui peuvent avoir des tolérances très différentes aux mêmes facteurs de stress (Feckler *et al.*, 2014). Ces « unités représentatives de biodiversité » (Cook *et al.*, 2008) ou « unités évolutivement significatives » (Feckler *et al.*, 2014) peuvent ainsi être beaucoup plus petites que ce qui était estimé et les endémismes cryptiques très localisés vont devoir être pris en compte de manière différente dans les stratégies de conservation.

Les conséquences de cette diversité sont également fortes dans le cadre des mesures de lutte biologique, les programmes de contrôle de ravageurs ou les campagnes de vaccination ciblées, puisque les différentes espèces sont susceptibles de répondre différemment aux traitements (Bickford *et al.*, 2007). Les efforts de protection et de gestion nécessitent donc d'identifier correctement les espèces à cibler (Pérez-Ponce de León & Poulin, 2018).

I.3.3. Diversité cryptique et parasitisme (hôtes cryptiques, parasites cryptiques)

La diversité cryptique a été trouvée dans la plupart des groupes de parasites (Nadler & Pérez-Ponce de León, 2011), et les preuves montrant que des parasites réputés généralistes cachent en fait des lignées plus spécialisées sur chacun des hôtes alternatifs s'accumulent. Pérez-Ponce de León & Poulin (2018) ont montré que les trématodes sont le groupe d'helminthes chez lequel le plus d'espèces cryptiques ont été recensées (sur la base de marqueurs génétiques nucléaires). Par exemple, chez le trématode responsable de la schistosomiase humaine en Chine, *Schistosoma japonicum*, un fort polymorphisme est observé dans les lignées exploitant les différents hôtes définitifs potentiels, mais avec deux grands groupes génétiques distincts : le premier infecte le buffle des marais, le bétail et les humains et le second groupe infecte les chèvres, cochons, chiens et chats (Wang *et al.*, 2006). Un autre exemple, chez les acanthocéphales cette fois, concerne le parasite d'oiseaux *Polymorphus minutus*, capable d'infecter plusieurs espèces d'amphipodes lui servant d'hôtes intermédiaires. Il a été récemment montré qu'il existe en fait plusieurs lignées cryptiques de *P. minutus*, chacune semblant être fortement spécifique d'un hôte intermédiaire différent (Zittel *et al.*, 2018).

Si la diversité cryptique chez les parasites a été étudiée, de la même manière, des hôtes morphologiquement semblables peuvent montrer une forte diversité génétique et présenter des différences physiologiques, comportementales ou écologiques auxquelles les parasites pourraient être sensibles (Galipaud *et al.*, 2017). Mais, à part chez les amphipodes (Westram *et al.*, 2011a; Galipaud *et al.*, 2017), l'influence du cryptisme des hôtes sur l'infection par les parasites a été très

peu étudiée. L'identification précise des spectres d'hôtes est pourtant importante, non seulement pour identifier des hôtes clés ou des réservoirs d'infection pour des questions épidémiologiques et de santé publique, mais également de manière fondamentale, pour mieux comprendre les processus évolutifs de spécificité ou d'adaptation locale (Westram *et al.*, 2011a). Les parasites sont en effet susceptibles d'évoluer localement pour exploiter plus efficacement l'hôte local le plus abondant et on peut s'attendre à observer des prévalences plus fortes en parasites dans les zones où leurs hôtes préférés sont les plus abondants.

Les parasites ayant affaire à des hôtes cryptiques peuvent également développer un cryptisme, chaque lignée parasite étant spécialiste d'une lignée hôte, mais à notre connaissance cette situation n'a pas encore été explorée.

Un nouveau questionnement se pose dès lors à la lumière de cette nouvelle dimension des interactions entre hôtes et parasites : quelles sont les conséquences pour les parasites de la présence de plusieurs espèces hôtes cryptiques ? La diversité cryptique chez les hôtes est-elle du même ordre pour les parasites que la diversité « non cryptique » ? Les parasites sont-ils capables de sélectionner un hôte clé parmi ces hôtes cryptiques ? Si oui, cette sélection se fera à quel niveau : sensibilité à l'infection, virulence, manipulation ? Dans l'étude existante la plus complète sur la relation entre hôtes cryptiques et parasites (Galipaud *et al.*, 2017), le cliché est pris d'une situation à un moment donné alors que nous avons vu la temporalité (saisonnalité dans l'occurrence des hôtes ou dans les prévalences parasitaires) peut être un facteur important. Cet aspect *snapshot* est partiellement compensé par le grand nombre de populations échantillonnées, mais il manque tout de même une information importante sur la stabilité des communautés d'hôtes.

I.4. Gammare et acanthocéphales : des hôtes multi-parasités et des parasites manipulateurs multi-hôtes

I.4.1. Acanthocéphales parasites de gammare en Europe de l'ouest

Un modèle d'étude de choix pour l'étude de l'écologie des parasites à cycle complexe est constitué par le *tandem* hôtes gammaridés et parasites acanthocéphales qui les infectent. Les acanthocéphales, parasites à cycle complexe, donc multi hôtes par définition, sont également connus pour avoir plusieurs hôtes potentiels à chaque étape de leur cycle de vie. Suite aux travaux fondateurs de Holmes & Bethel publiés en 1972, de nombreuses études ont décrit la capacité de ces organismes à modifier le comportement et/ou l'apparence de leurs hôtes intermédiaires (Moore, 1984), ce qui en fait un modèle de référence pour l'étude de la manipulation parasitaire.

Les acanthocéphales sont des vers (embranchement des Némathelminthes, classe des Acanthocephala) dont toutes les espèces ont des cycles de vie similaires ; ils dépendent tous d'une transmission trophique pour compléter leur cycle de vie (Crompton & Nickol, 1985). L'œuf fusiforme et d'environ 100 µm de long, contenant une larve appelée acanthor (figure 1.1), est le seul stade de vie libre : ces œufs sont lâchés dans le milieu par les parasites adultes, avec les fèces de l'hôte. Après ingestion par un hôte intermédiaire arthropode, la larve digère ses membranes embryonnaires et perce le tube digestif de son hôte pour s'installer dans la cavité générale. Elle grandit en passant par plusieurs stades de développement regroupés sous le terme générique d'acanthelle, puis invagine son rostre pour atteindre le stade cystacanthe, stade infectieux pour l'hôte définitif. C'est une fois ce stade atteint que le parasite devient capable de manipuler l'arthropode dans lequel il se trouve, pour augmenter la probabilité de rencontre avec l'hôte suivant (favorisation de prédation) (Franceschi *et al.*, 2008). Les gammares infectés par des stades acanthelles montrent également un comportement altéré, mais qui à l'inverse les protège de la prédation (suppression de prédation) (Dianne *et al.*, 2011).

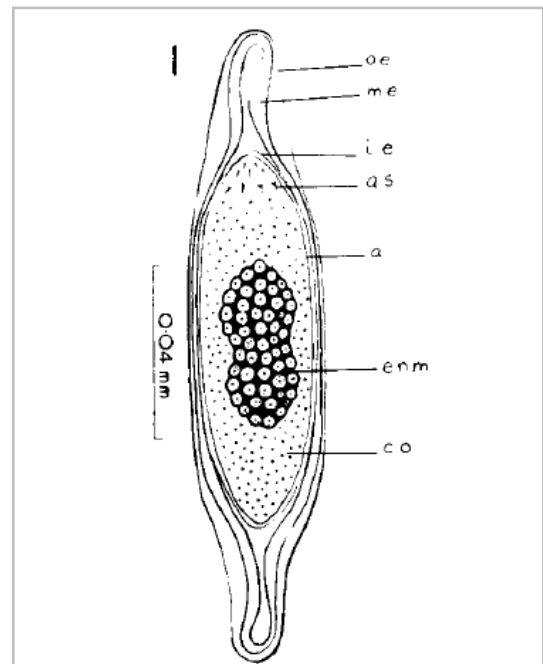
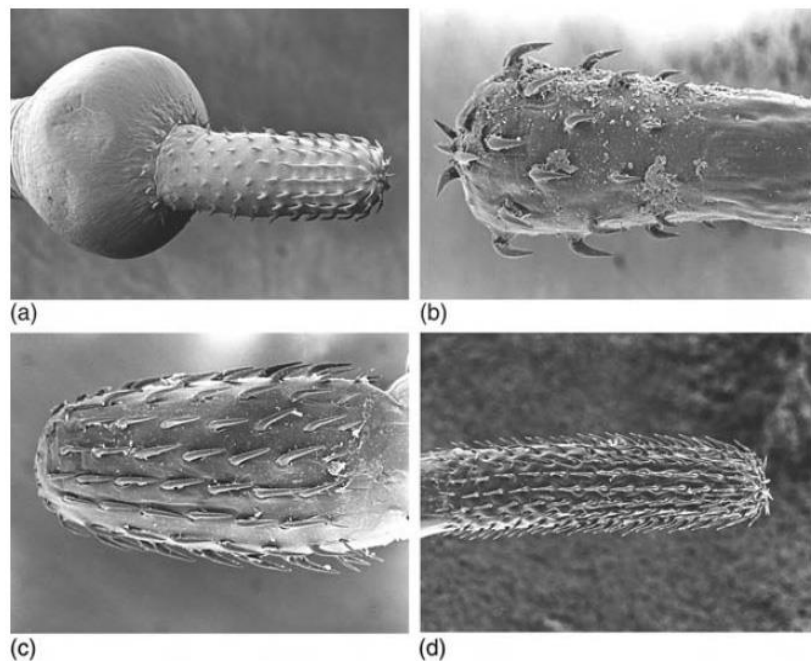


Figure 1.1 - Œuf d'*Echinorhynchus truttae*, contenant la larve acanthor (a). oe : outer envelope of egg ; me : middle shell of egg ; ie : inner envelope of egg ; as : spine of acanthor ; enm : embryonic nuclear mass ; co : cortex. Dessin emprunté à Schmidt, 1985.

Figure 1.2 – Microphotographies des rostres de différentes espèces d'acanthocéphales adultes prélevés chez leurs hôtes définitifs :

- a) *Pomphorhynchus laevis* ;
- b) *Acanthocephalus anguillae* ;
- c) *Acanthocephalus lucii* ;
- d) *Acanthocephalus clavula*.

Illustration empruntée à Kennedy 2006.



Après prédation par un hôte définitif vertébré approprié, le parasite dévagine son rostre et se fixe dans l'intestin grâce aux crochets portés par ce rostre (figure 1.2). L'activation et la dévagination du cystacanthe se fait dans des conditions physiologiques précises : sels biliaries, température, pH et pression osmotique (Crompton & Nickol, 1985). Le parasite termine sa croissance, devient adulte et se reproduit sexuellement. Les œufs sont évacués dans le milieu naturel soit au fur et à mesure de leur maturation, soit à la mort de la femelle et sont alors relargués dans le milieu après la dégradation du cadavre (Hynes & Nicholas, 1963; Crompton & Nickol, 1985). De nombreuses espèces de vertébrés peuvent servir d'hôtes définitifs à une ou plusieurs espèces d'acanthocéphales : poissons, oiseaux, reptiles, amphibiens, mammifères (Kennedy, 2006). Plusieurs espèces d'acanthocéphales peuvent également avoir des hôtes vertébrés paraténiques (voire post-cycliques, Kennedy, 1999; Taraschewski, 2000), toujours facultatifs, dans lesquels les cystacanthes s'installeront en position extra intestinale et ne se développeront pas. De tels hôtes vont permettre l'accumulation des parasites avant prédation par un hôte définitif (Taraschewski, 2000; Médoc *et al.*, 2011b). Dès 1956, Petrochenko les évoquait en utilisant le terme de « *transport hosts* » (Hynes & Nicholas, 1963). Il est à noter cependant, que dans de nombreux cas, la présence de parasites en zones extra intestinales s'accompagne de réactions immunitaires des hôtes. Certains de ces hôtes semblent donc être maladaptés.

Trois espèces d'acanthocéphales utilisant les gammarus comme hôtes intermédiaires sont très communes en France (figure 1.3). Elles sont capables d'exploiter plusieurs espèces de gammarus, dont certaines qui leur sont communes. Ces trois espèces sont également décrites comme généralistes chez leurs hôtes définitifs, mais avec des patrons évoquant des spécialisations.

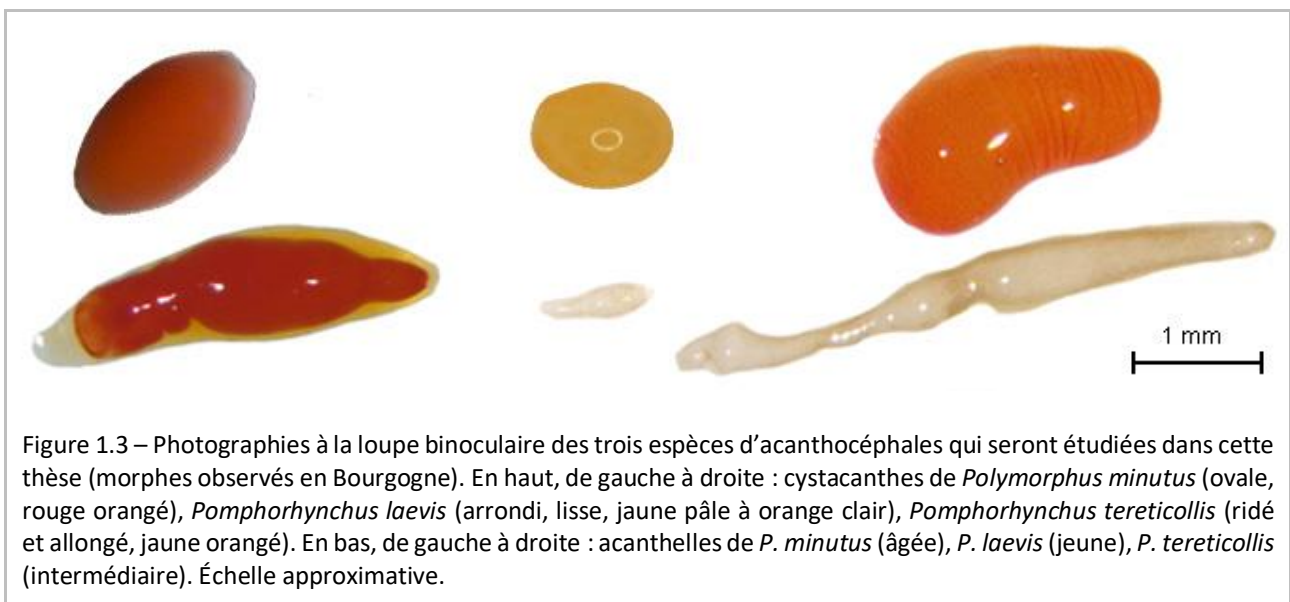


Figure 1.3 – Photographies à la loupe binoculaire des trois espèces d'acanthocéphales qui seront étudiées dans cette thèse (morphes observés en Bourgogne). En haut, de gauche à droite : cystacanthes de *Polymorphus minutus* (ovale, rouge orangé), *Pomphorhynchus laevis* (arrondi, lisse, jaune pâle à orange clair), *Pomphorhynchus tereticollis* (ridé et allongé, jaune orangé). En bas, de gauche à droite : acanthelles de *P. minutus* (âgée), *P. laevis* (jeune), *P. tereticollis* (intermédiaire). Échelle approximative.

Polymorphus minutus est un parasite de diverses espèces d'oiseaux d'eau (par exemple canards colverts (Hynes & Nicholas, 1963), autres anatidés (Crompton & Harrison, 1965), cygnes (Pennycott, 1998), eiders (Itämies *et al.*, 1980)). Il est connu pour être capable d'infecter, en Europe continentale et au Royaume-Uni, *Gammarus fossarum* (Chen *et al.*, 2015), *Gammarus lacustris* (Hynes, 1955), *Gammarus pulex* (Hynes & Nicholas, 1957; Hirsch, 1979), *Gammarus roeselii* (Bauer *et al.*, 2005),

Echinogammarus berilloni (Jacquin *et al.*, 2014) et *Echinogammarus stammeri* (Dezfuli & Giari, 1999).

Les espèces du genre *Pomphorhynchus* sont quant à elles des parasites de poissons d'eau douce (Amin *et al.*, 2003). *Pomphorhynchus laevis* utilise diverses espèces de poissons : anguille *Anguilla anguilla*, barbeau *Barbus barbus*, chevesne *Leuciscus cephalus* (*Squalius cephalus*), vandoise *Leuciscus leuciscus*, truite commune *Salmo trutta*, voire même le flet, *Platichthys flesus*, dans les estuaires de la mer du Nord et de la mer Baltique (Kennedy, 2006).

Pomphorhynchus tereticollis, proche de *P. laevis*, infecte également diverses espèces de poissons. La saga (car c'en est une...) de *P. tereticollis* est détaillée par Špakulová *et al.* (2011). Pour faire bref, initialement décrit sous le nom d'*Echinorhynchus tereticollis* par Rudolphi en 1809 (collecté dans des spécimens de *Pleuronectes flesus*, renommé depuis *Platichthys flesus*...), cette espèce a été déplacée dans le genre *Pomphorhynchus* en 1932. Deux formes de *P. laevis*, la forme *tereticollis* et la forme *intermedius* ont ensuite été distinguées, sur la base de différences de forme de la base des crochets du rostre (figure 1.4). Ces deux formes deviennent des espèces à part entière en 1969 puis disparaissent en 2003, seule l'espèce *P. laevis* étant conservée. En 2004, Perrot-Minnot suggère, à partir de données morphologiques, moléculaires et en mesurant les modifications comportementales induites chez leurs hôtes intermédiaires, que les deux formes observées en Bourgogne, aisément distinguables au stade cystacanthe pourraient en fait correspondre aux deux espèces *P. laevis* (anciennement *P. laevis intermedius*) et *P. tereticollis* (anciennement *P. laevis tereticollis*). L'intensité des modifications comportementales induites par *P. laevis* est plus élevée que *P. tereticollis* et questionne donc les hôtes définitifs réellement utilisés. Il a depuis été proposé que les deux espèces, quand elles coexistent, auraient des hôtes préférentiels différents (Perrot-Minnot *et al.*, 2019).

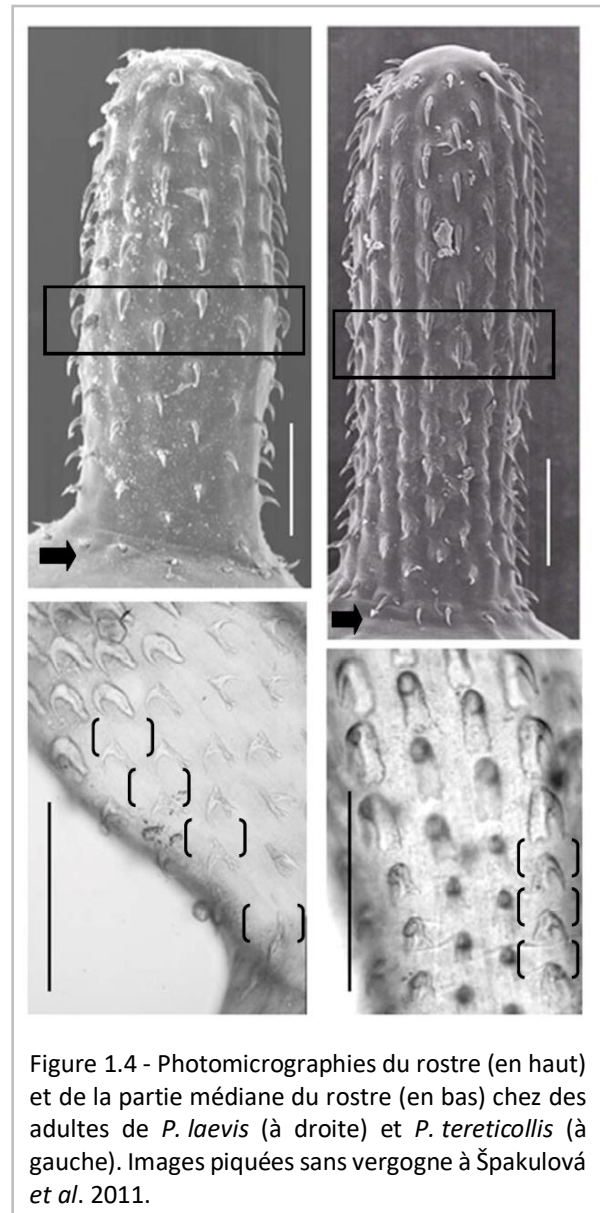


Figure 1.4 - Photomicrographies du rostre (en haut) et de la partie médiane du rostre (en bas) chez des adultes de *P. laevis* (à droite) et *P. tereticollis* (à gauche). Images piquées sans vergogne à Špakulová *et al.* 2011.

Comme précisé dans le paragraphe ci-dessus, la systématique des acanthocéphales se fait traditionnellement sur des critères morphologiques (du rostre en particulier : nombre de rangées de crochets, nombre de crochets par rangée, et forme des crochets) qui peuvent être très variables. La réalisation de phylogénies moléculaires a révélé un certain nombre d'erreurs de classification

dans les travaux antérieurs. Par exemple, la distinction morphologique entre les deux espèces proches de *Pomphorhynchus* est basée sur la forme des bases des crochets, qui n'est visible que sur des individus frais (non fixés) (Špakulová *et al.*, 2011). Les descriptions des hôtes intermédiaires et définitifs sont donc sujettes à caution dans les régions dans lesquelles la détermination n'a pas été suffisamment pointilleuse et où aucune confirmation génétique n'a été réalisée depuis la publication des résultats initiaux. Par exemple, les deux souches de *P. laevis* identifiées dans les îles britanniques correspondent en fait à deux lignées de *P. tereticollis* (Perrot-Minnot *et al.*, 2018; Harris, 2020). Des mesures morphologiques couplées à des analyses génétiques ont même récemment mis en évidence l'existence d'une troisième espèce, *P. bosniacus* en Autriche (Reier *et al.*, 2019).

L'histoire biogéographique des deux espèces de *Pomphorhynchus* a été inférée à partir de données moléculaires (Perrot-Minnot *et al.*, 2018). Elles ont divergé d'un ancêtre commun à la fin du Miocène, probablement depuis la zone péri-méditerranéenne. Leurs histoires évolutives sont ensuite très distinctes : *P. laevis* montre 5 lignées génétiques se répartissant de manière presque non chevauchante à l'échelle de l'Europe sur autant de grandes régions, à l'exception du bassin versant du Danube. Leur diversification semble s'être effectuée depuis la péninsule italienne. Inversement, *P. tereticollis* ne montre pas une structuration géographique aussi nette, avec une diversité génétique beaucoup plus faible que le premier, et sa diversification aurait plutôt pour origine le bassin rhodanien. Cette espèce a colonisé récemment le bassin du Rhin via l'espèce de gobie envahissante *Neogobius melanostomus*, utilisée comme hôte paraténique (Emde *et al.*, 2012).

Une caractéristique notable des acanthocéphales est que, contrairement à de nombreux autres helminthes, ils ne font pas de multiplication asexuée dans leur hôte intermédiaire, ce qui fait que la virulence qu'ils peuvent induire est seulement liée à leur installation dans l'hôte, leur croissance et la manipulation qu'ils induisent.

1.4.2. Brève description des principaux changements phénotypiques induits par la présence d'acanthocéphales chez les gammares

En fonction de l'espèce de parasite considérée, les altérations principales qu'induisent les acanthocéphales chez leurs hôtes gammaridés, en tout cas celles qui sont liées à une augmentation de la transmission trophique du parasite, sont les suivantes.

Polymorphus minutus, le parasite dont les oiseaux sont les hôtes définitifs, induit une géotaxie négative chez les gammaridés (qui ont tendance à monter dans la colonne d'eau, alors qu'ils restent au fond lorsqu'ils ne sont pas infectés), assortie d'un phénomène d'accrochage aigu : les gammares s'accrochent à tout objet flottant (Bauer *et al.*, 2005). La modification de ces comportements est corrélée à une augmentation de prédation, qui, même si elle n'est pas spécifique, favorise tout de même la prédation par les hôtes définitifs (Jacquin *et al.*, 2014). Cette composante de facilitation de la prédation, qui est induite par les cystacanthes de *P. minutus*, est précédée, au stade acanthelle, par une modification comportementale inverse : les gammares parasités ont une géotaxie plus positive que les individus non-parasités (Bailly *et al.*, 2018).

Les acanthocéphales de poissons, *Pomphorhynchus laevis* et *P. tereticollis* n'induisent que peu de modifications du comportement de géotaxie des gammares qu'ils infectent (Cézilly *et al.*, 2000). En revanche, ils modifient la phototaxie de leurs hôtes. Les gammares sains préfèrent l'obscurité alors que les gammares parasités deviennent au pire neutres vis-à-vis de la lumière ou passent au contraire beaucoup de temps exposés à la lumière (Cézilly *et al.*, 2000; Franceschi *et al.*, 2008), bien que cette composante de la manipulation ne soit pas à elle seule liée à une augmentation de prédation par certains poissons (Perrot-Minnot *et al.*, 2012). Par contre la phototaxie doit jouer un rôle dans une autre des composantes de la manipulation parasitaire induite par *P. laevis* et *P. tereticollis* : l'intensité de l'utilisation de refuges. Les deux espèces de parasites induisent en effet le relâchement de l'utilisation par les hôtes de refuges mis à leur disposition (Perrot-Minnot *et al.*, 2007; Dianne *et al.*, 2011). Cette utilisation moindre des refuges induit une probabilité de prédation plus forte des individus parasités (Kaldonski *et al.*, 2007; Dianne *et al.*, 2011). À l'instar de ce qui a été montré avec *P. minutus*, ces favorisations de prédation ne sont évidentes que lorsque les parasites sont au stade cystacanthe, alors qu'un phénomène de suppression de prédation au stade acanthelle a été bien démontré pour *P. laevis* : les gammares infectés avec des parasites à ce stade utilisent plus intensément les refuges et se font moins manger que leurs congénères non infectés (Dianne *et al.*, 2011). Ces mêmes espèces de parasites de poissons induisent également une caractéristique certainement liée à la favorisation de transmission : les gammares infectés par des cystacanthes deviennent attirés par l'odeur de leur prédateur hôte (Kaldonski *et al.*, 2007; Perrot-Minnot *et al.*, 2007). Il est à noter que les *P. minutus*, parasites d'oiseaux, n'induisent pas une telle inversion de préférence olfactive pour l'odeur de poissons.

Les acanthocéphales induisent beaucoup d'autres changements chez leurs hôtes : les trois espèces immunodépriment les gammares, ce qui les rend plus sensibles à des surinfections bactériennes (Rigaud & Moret, 2003; Cornet *et al.*, 2009), ils changent les balances physiologiques en réserves énergétiques (Plaistow *et al.*, 2001), ils induisent une forte diminution de la reproduction des hôtes, allant même jusqu'à une castration pour *P. minutus* (Bollache *et al.*, 2002), etc. (voir Fayard *et al.* (2020) pour une revue plus exhaustive de ces modifications). Cette multitude de changements phénotypiques a conduit certains auteurs à parler de multidimensionnalité de la manipulation parasitaire (voir par exemple Cézilly *et al.* (2013) pour une discussion sur ce thème). Il semble cependant, d'après la méta-analyse de Fayard *et al.* (2020), que les inversions de taxie soient les changements phénotypiques les plus cruciaux dans la manipulation comportementale induite par les acanthocéphales.

I.4.3. Les origines de la variation dans la manipulation comportementale des gammares

La manipulation parasitaire, ayant pour résultat l'augmentation de la prédation des proies parasitées, est une caractéristique commune à toutes les espèces d'acanthocéphales, et a dû être héritée de l'ancêtre commun du groupe (Moore, 1984). Trois catégories principales de facteurs susceptibles d'induire de la variabilité dans les traits associés à la manipulation ont été identifiées : ceux liés à l'hôte, au parasite, et les facteurs environnementaux (Thomas *et al.*, 2011). Dans cet

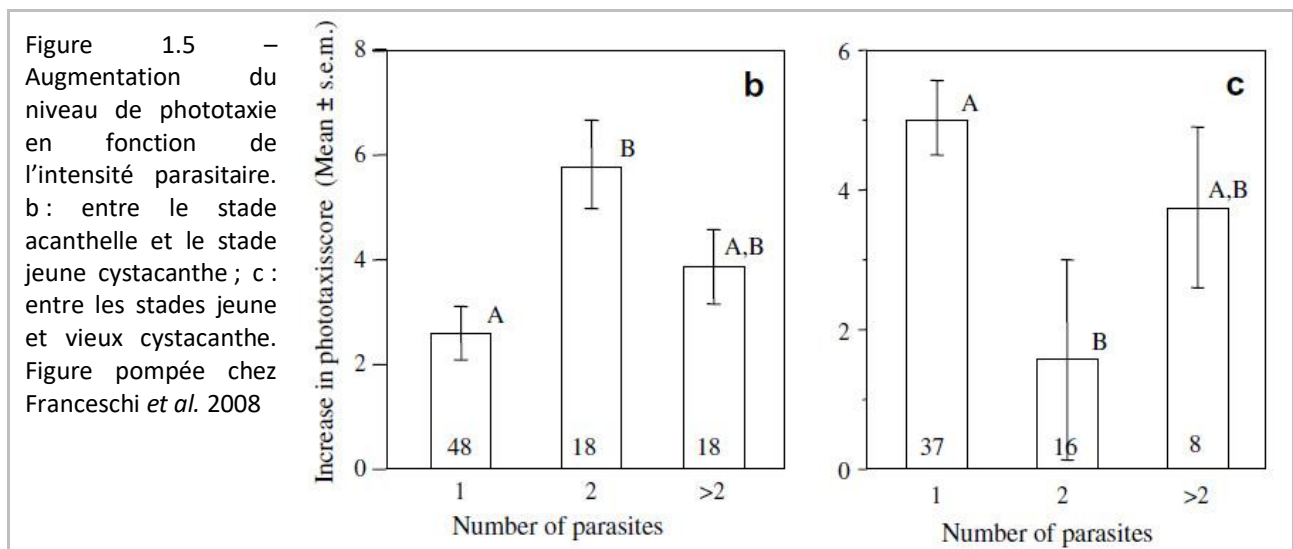
article de synthèse, le constat est fait qu' « un nombre croissant de travaux montrent que la variation liée aux conditions environnementales pourrait être plus importante que la variation génétique, masquant par là même les processus coévolutifs ou créant des mosaïques géographiques d'adaptations locales ».

Entre les gammarés et leurs acanthocéphales, un grand nombre de facteurs susceptibles d'induire de la variation ont déjà été étudiés (*nota bene* : quand le terme phototaxie est utilisé ci-dessous, il se rapporte toujours aux résultats obtenus grâce à un même dispositif expérimental, qui sera présenté de manière détaillée au chapitre 4).

1.4.3.1. Diversité des facteurs expliquant la variation de la manipulation comportementale

Les facteurs liés à l'hôte ont été étudiés. Le sexe des hôtes a un effet sur la proportion d'échecs de développement des parasites *P. laevis* et la survie des hôtes, mais pas sur le succès d'infection ou la durée de développement des parasites infectant *G. pulex*, ni sur le comportement des hôtes infectés (Franceschi *et al.*, 2008). Dans ces conditions expérimentales, les femelles souffrent d'une mortalité accrue après que les parasites aient atteint le stade acanthelle (20 % de survie contre 80 % chez les mâles) et les parasites qui n'atteignent pas le stade cystacanthe sont presque deux fois plus nombreux chez les femelles. L'état nutritionnel des gammarés, s'il peut influencer la taille des parasites, l'intensité d'infection ou la mortalité des hôtes, ne joue pas sur l'intensité de la manipulation en termes d'utilisation de refuge, de géotaxie ou d'activité locomotrice (Labaude *et al.*, 2015a; Sanchez-Thirion *et al.*, 2019).

Plusieurs facteurs liés aux parasites eux-mêmes ont aussi été testés, en conditions expérimentales également, chez *G. pulex*. L'âge des cystacanthés de *P. laevis* module très fortement l'intensité de la manipulation induite : la phototaxie mesurée chez des gammarés hébergeant de jeunes cystacanthés est plus faible et beaucoup plus variable entre gammarés que celle mesurée chez les mêmes individus 4 semaines plus tard (Franceschi *et al.*, 2008).



L'intensité d'infection (c'est-à-dire le nombre de parasites par hôte infecté), quant à elle, influe à la fois sur la durée de développement des parasites et sur le niveau de manipulation (Franceschi *et al.*, 2008; Dianne *et al.*, 2010), mais pas systématiquement (voir Franceschi *et al.*, 2010; Dianne *et al.*, 2012). La durée de développement pour atteindre le stade cystacanthé est plus longue chez les gammarés hébergeant deux parasites que chez ceux mono infectés, mais lorsqu'il y a plus de deux parasites, la durée de développement est intermédiaire. La phototaxie entre le stade acanthelle et le stade jeune cystacanthé augmente davantage quand le gammaré héberge deux parasites que s'il en héberge un seul et l'augmentation est de niveau intermédiaire quand l'intensité est supérieure. En revanche, l'augmentation de phototaxie est plus faible entre les stades jeune et vieux cystacanthé et là encore, l'augmentation est intermédiaire quand plus de deux parasites sont hébergés par les gammarés (figure 1.5). Différents génotypes de parasite ont également été testés pour savoir s'il existe une variation génétique sur la manipulation parasitaire, en réalisant des infections expérimentales avec des œufs de *P. laevis* issus de différentes femelles adultes gravides (que nous appellerons « fratries » ; Franceschi *et al.*, 2010a). Des différences de capacité de manipulation entre fratries, faibles mais significatives, ont été mises en évidence. Dans cette même expérience, les auteurs ont trouvé des différences de succès d'infection et de nombre de multi infections en fonction des fratries. La taille des parasites, qui dépend de la fratrie de parasite et de l'intensité d'infection, a un rôle faible mais significatif sur la phototaxie, les cystacanthés âgés induisant une manipulation plus forte (Dianne *et al.*, 2012). Dans un autre système (parasite *Acanthocephalus lucii* - isopode *Asellus aquaticus*), l'effet du sexe du parasite a été mis en évidence (Benesh *et al.*, 2009). Les parasites femelles grandissent plus vite que les mâles et deviennent plus grands ; si aucune différence de comportement de camouflage des hôtes n'a été observée selon le sexe du parasite, en revanche les mâles induisent une modification de coloration de leur hôte plus forte quand ces derniers sont de petite taille seulement.

Dans le cas de coinfection asynchrone d'un même hôte (les parasites sont d'âges différents), la phototaxie présentée par les gammarés hébergeant un cystacanthé et une acanthelle est intermédiaire entre celles présentées par des gammarés hébergeant un ou deux cystacanthés et par des individus non infectés (Dianne *et al.*, 2010). Il y a donc un conflit entre les parasites qui ne sont pas au même stade de maturation, mais le sabotage induit par une acanthelle n'est pas complet. Cette situation, qui peut arriver dans la nature quand les gammarés ingèrent régulièrement des œufs de parasites, peut elle aussi expliquer une partie de la variation dans le niveau de manipulation de gammarés infectés naturellement. Ce cas de figure est cependant suffisamment rare pour qu'il n'y ait pas une sélection plus forte pour un sabotage efficace. Plus la prévalence est faible et moins cet événement est probable.

Une expérience de *jardin commun*, croisant des facteurs *hôte* et *parasite*, a également été réalisée en effectuant des infections expérimentales à partir de gammarés issus de 6 populations distinctes et des parasites des mêmes populations (Franceschi *et al.*, 2010b). De fortes différences de taux d'infection ont été mises en évidence à la fois en fonction de l'origine des hôtes et de celle des parasites. Les infections par les parasites sympatriques des hôtes ont eu globalement un meilleur succès par rapport aux combinaisons allopatriques, montrant donc un patron d'adaptation des parasites à leurs hôtes locaux. En revanche, bien que le niveau de manipulation de la phototaxie

était variable entre populations, le fait d'être infecté par un parasite local ou provenant d'une autre population n'a pas donné lieu à des différences de comportement. Contrairement aux résultats d'infectivité, aucune adaptation locale dans la manipulation n'a donc été observée lors de cette expérience.

Dans les études présentées ci-dessus, plusieurs facteurs environnementaux ayant opéré avant la récolte des amphipodes et des parasites ont pu conduire aux résultats observés. Par exemple, dans l'expérience (Franceschi *et al.*, 2010a), les conditions vécues par les parasites adultes *in natura* avant l'expérience pourraient expliquer la différence dans les capacités de manipulation induites par les jeunes acanthes.

Parmi les facteurs environnementaux, la température, qui joue un rôle fondamental chez les organismes aquatiques poïkilothermes (Sutcliffe *et al.*, 1981; Pöckl, 1992; Atkinson, 1995) est effectivement à la base de nombreux effets sur les parasites et les hôtes (diminution de la survie des hôtes, augmentation du métabolisme et de l'approvisionnement, accélération du développement des parasites ; (Labaude *et al.*, 2017b, 2020). Cependant, au niveau du comportement, la température ne semble pas avoir d'influence sur l'utilisation de refuge, alors que des résultats contrastés ont été obtenus sur des mesures d'activité de gammares sains et infectés à deux températures différentes (Labaude *et al.*, 2020). Ainsi, à 14 °C les individus infectés étaient plus actifs, mais la relation avait tendance à s'inverser à 17 °C. La phototaxie n'a pas été mesurée dans le système *G. pulex* / *P. laevis*, en revanche chez des gammares infectés par *P. tereticollis* ou *P. minutus*, la phototaxie augmente avec la température (Labaude *et al.*, 2017a). Mais dans cette même étude, aucun effet de la température n'a été observé sur l'utilisation de refuge ou la géotaxie des gammares sains ou parasités.

L'ensemble des études présentées ici, ainsi qu'une revue plus générale de la littérature (Thomas *et al.*, 2011), montrent donc que la manipulation du comportement est un phénomène dépendant fortement de conditions intrinsèques, voire extrinsèques (mais différents niveaux de température ou de ressources trophiques ne semblent pas induire de variation de manipulation).

1.4.3.2. Un facteur supplémentaire potentiel de variation de la manipulation parasitaire : la diversité cryptique chez l'hôte

La découverte d'une forte diversité cryptique chez de nombreux amphipodes du genre *Gammarus* (Witt *et al.*, 2006; Westram *et al.*, 2011b; Lagrue *et al.*, 2014; Mamos *et al.*, 2016; Wattier *et al.*, 2020) est récemment venue ajouter une source de variation dans l'observation de la manipulation parasitaire. En effet, des populations d'hôtes que l'on supposait homogènes sont donc susceptibles d'héberger plusieurs espèces cryptiques vivant en sympatrie. Dans l'expérience de jardin commun présentée plus haut (Franceschi *et al.*, 2010b) par exemple, 4 lignées différentes de *Gammarus* spp. ont été révélées ultérieurement dans 3 des populations utilisées, dont certaines vivant en sympatrie. Or, Galipaud *et al.* (2017), suite à une étude suisse antérieure montrant que les différentes lignées cryptiques de *Gammarus fossarum* (certaines pouvant être considérées comme des espèces différentes étant donné leur distance génétique) n'avaient pas toutes la même écologie (Cothran *et al.*, 2013), ont montré que différentes lignées cryptiques de *G. fossarum* et *G. pulex*

montrent des patrons d'infection différents pour les acanthocéphales *P. minutus*, *P. laevis* et *P. tereticollis* évoqués ci-dessus (cet exemple sera repris et [illustré](#) dans le chapitre 2, page 33).

Leurs résultats sont issus d'échantillonnages effectués *in natura* et aucune mesure comportementale ou expérimentale n'a été faite. Cependant, ces résultats suggèrent une différence de sensibilité des lignées cryptiques à l'infection par ces espèces de parasites. L'analyse des patrons d'infection en fonction de la taille des gammares (la taille étant un proxy de l'âge) montre également des différences de mortalités induites par une même espèce de parasite entre lignées cryptiques d'hôtes (Galipaud *et al.*, 2017). Ceci suggère soit l'expression d'une virulence différente entre lignées, soit une manipulation parasitaire différente entre lignées (la mortalité plus forte chez certaines lignées d'hôtes pouvant être due à une plus forte manipulation et donc un plus fort taux de prédation).

MOTU ou lignée ?

Dans la suite de ce document, j'ai préféré utiliser le terme de *lignée* plutôt que MOTU (abréviation anglaise d'unité taxonomique moléculaire opérationnelle). Ce terme comprendra indifféremment les MOTUs *G. fossarum* et *G. pulex*, mais également l'espèce distincte *G. roeseli* quand elle sera considérée en conditions sympatriques de ces dernières.

Il semble donc que pour l'étude du système gammares – acanthocéphales en Europe de l'ouest, la diversité cryptique des hôtes doit être prise en compte et analysée afin de mieux comprendre toute l'étendue des variations de succès parasitaire et, par extension, la variation de la manipulation comportementale.

1.5. Objectifs de la thèse

La question centrale de la thèse est de mieux comprendre les patrons d'infection et analyser les causes du succès parasitaire entre les communautés d'hôtes gammaridés (allant jusqu'à prendre en compte la diversité cryptique) et leurs communautés de parasites acanthocéphales. Nous verrons dans l'introduction du premier chapitre que les prévalences en parasites, observées sur le terrain, sont la résultante d'un ensemble de processus intriqués – pouvoir infectieux des parasites, résistance des hôtes à l'infection, mortalité induite par les parasites : virulence et manipulation – qui peuvent varier d'un hôte à l'autre et entre parasites. L'objectif global de la thèse est de commencer à ouvrir cette boîte noire pour mieux comprendre l'influence relative de chacun de ces facteurs de variation dans un contexte multi-hôtes et multi-parasites. Le travail présenté ici ne s'intéressera qu'à la relation entre les parasites et leurs hôtes intermédiaires, mais les mêmes questions peuvent bien évidemment être posées concernant les hôtes définitifs.

Le chapitre 2 abordera la question de structuration temporelle des communautés d'hôtes potentiels pour les parasites acanthocéphales. En effet, la littérature ne donne pas (ou très peu) d'informations sur la stabilité de la coexistence, saisonnière ou à moyen terme, des différentes espèces et lignées cryptiques de gammares en milieu naturel. Cette information sur la structuration et l'éventuelle

dynamique ou stabilité des communautés d'hôtes est pourtant essentielle à la compréhension des stratégies parasitaires, généraliste ou spécialiste, qui seront sélectionnées pour l'exploitation des hôtes. Si certains hôtes sont disponibles selon des saisonnalités fortes et asynchrones par rapport à d'autres hôtes sympatriques, les patrons d'apparition de parasites peuvent suivre cette saisonnalité si les parasites sont spécifiques sur cette espèce. Si hôtes et parasites sont tous disponibles en même temps, un phénomène de dilution peut apparaître pour des parasites relativement généralistes mais avec un hôte « clé », ou, au contraire, une possibilité d'évolution vers de la spécificité peut être sélectionnée : tel parasite pourra se spécialiser sur tel hôte... Un suivi temporel *in natura* a donc été réalisé pour répondre à cette question préliminaire de la structuration dans le temps des communautés d'hôtes potentiels.

Dans le chapitre 3, un premier niveau de la complexité des communautés d'hôtes sera abordé pour expliquer les différents patrons d'infection observés dans la nature en fonction de l'espèce hôte. Les sensibilités relatives à l'infection par le parasite *P. laevis* entre l'espèce de gammare native *G. fossarum* et une espèce introduite en France depuis les années 1850, *G. roeselii* sera investiguée à l'aide d'infestations expérimentales. La mesure de prévalences naturelles, à partir d'échantillons prélevés dans deux populations où ces hôtes vivent en sympatrie, permettra également d'inférer la mortalité induite par le parasite *in natura*. Ces patrons suggèrent une contribution inégale des espèces d'hôtes à la complétion des cycles de vie des acanthocéphales et l'existence possible d'un effet de dilution.

Dans le chapitre 4, nous proposons d'étudier les rôles respectifs des trois facteurs susceptibles d'expliquer la variation observée dans les prévalences *in natura* de différentes lignées (cryptiques) de gammarus : la sensibilité des hôtes à l'infection, la virulence du parasite et la manipulation comportementale. Cette étude sera menée sur les deux parasites acanthocéphales de poissons, *P. laevis* et *P. tereticollis*, dans une communauté d'hôtes sympatriques du complexe d'espèces *Gammarus pulex/fossarum* d'une des rivières étudiées lors du suivi temporel. Des infections expérimentales, permettant de contrôler les conditions d'infection et de suivre la survie des gammarus, seront réalisées avec les deux parasites. Les taux d'infection en laboratoire seront, là encore, comparés avec les prévalences obtenues *in natura*.

Chapitre 2

Étude *in natura* : suivi temporel de la disponibilité d'hôtes multiples pour les parasites

**VAINCRE
L'ANGOISSE DE LA PAGE BLANCHE
EN
40
ÉTAPES**



Ou comment faire une pause rédactionnelle tout en culpabilisant !

» [la suite du strip...](#)

2.1. Introduction

2.1.1. Différentes espèces de gammares comme environnement pour les acanthocéphales

On l'a vu dans l'introduction générale, plusieurs espèces de gammaridés, *Gammarus fossarum*, *Gammarus pulex* et *Gammarus roeselii*, sont susceptibles de servir d'hôtes intermédiaires à trois espèces de parasites acanthocéphales très courantes en France – *Polymorphus minutus*, *Pomphorhynchus laevis* et *Pomphorhynchus tereticollis*. Les acanthocéphales sont donc typiquement des parasites multi-hôtes. Si leurs hôtes sont capables de coexister spatialement (c'est-à-dire dans les mêmes rivières) mais également temporellement (non seulement au même endroit, mais aussi en même temps), les parasites seront alors confrontés à des hôtes de qualités potentiellement différentes. Plusieurs études mentionnées par Blackman *et al.* (2017) ont décrit les distributions respectives de *G. fossarum* et *G. pulex* dans les cours d'eau, qui se répartissent selon un gradient altitudinal, en fonction de préférences écologiques. Le premier préférerait les sources et les cours d'eau rapides bien oxygénés, le second dominerait dans les portions plus basses, et il existerait des zones de chevauchement entre les deux espèces. Dans ces zones, *G. fossarum* occuperait plutôt les zones peu profondes, de courant plus fort avec pas ou peu de végétation, alors que *G. pulex* se trouverait plutôt dans des parties plus profondes et de faible courant, au niveau des berges et des zones avec de la végétation. Cependant, la discrimination entre *G. pulex* et *G. fossarum* se fait bien souvent sur des critères morphologiques principalement quantitatifs, et les différencier n'est donc pas une chose évidente (Karaman & Pinkster, 1977). Une étude très récente montre bien la difficulté qu'il y a à déterminer avec précision l'identité d'une morpho-espèce de gammare sur la seule base morphologique (Mamos *et al.*, 2021). Il n'est pas impossible que certaines erreurs se soient glissées dans la littérature quant aux répartitions respectives de *G. pulex* et *G. fossarum*. Notre propre expérience montre que *G. pulex* peut occuper des petites résurgences très oxygénées (site de Val-Suzon, voir plus loin), alors que *G. fossarum* peut occuper des rivières plus lentes (site de Trochères, voir plus loin). De plus, l'étude de Lagrue *et al.* (2014), utilisant des marqueurs moléculaires pour distinguer les deux morpho-espèces, a montré des situations de sympatrie entre ces deux morpho-espèces plus fréquentes que précédemment estimées.

Contrairement aux parasites mobiles, où la sélection naturelle a pu mener à une sorte de préférence envers leur hôte favori (plus précisément une attraction envers certains hôtes) (Sears *et al.*, 2012), les acanthocéphales ont une transmission passive : les œufs n'ont pas la possibilité de « choisir » activement l'hôte qu'ils vont infecter. En revanche, de nombreuses autres différences peuvent conduire à ce que les hôtes puissent être des hôtes de qualités différentes : des différences de comportements de nourrissage ou des quantités d'œufs ingérés par les gammares ; des différences de taux d'infectivité du parasite et de résistance des hôtes (compatibilité hôte/parasite) ; des différences de tolérance de l'hôte ; mais également, une fois le stade infectieux atteint, des différences de capacités de manipulation des hôtes d'un parasite donné.

2.1.2. La diversité cryptique, une nouvelle conception du spectre d'hôtes

Dès 1989, une forte différenciation génétique (allozymique) était répertoriée au sein de la morpho espèce *G. fossarum* (voir Westram *et al.*, 2011 pour l'historique). Depuis, en France, Lagrue *et al.* (2014) ont répertorié 8 lignées (MOTUs) différentes chez *Gammarus fossarum* et 4 chez *Gammarus pulex*, dont certaines vivent en sympatrie. Ces unités taxonomiques, qui constituent des espèces cryptiques, ont été construites à partir de distances génétiques de séquences codant pour la première sous-unité de la cytochrome oxydase (CO1), gène classiquement utilisé en barcoding chez les amphipodes (Jazdzewska *et al.*, 2021).

La délimitation des MOTUs se fait sur la base de seuils arbitraires de divergence génétique, estimés suffisants pour distinguer des espèces différentes. Le seuil choisi par Lagrue *et al.* (2014) et proposé par ailleurs dans la littérature pour délimiter les espèces du genre *Gammarus* est de 3 %.

Ils ont montré que les espèces biologiques recoupent en fait plusieurs MOTUs et qu'il peut y avoir jusqu'à 16 % de divergence entre les individus accouplés au laboratoire. En analysant la proximité génétique des couples prélevés en milieu naturel et surtout, en réalisant des expériences d'accouplement, Lagrue *et al.* (2014) ont identifié quatre groupes reproducteurs (lignées cryptiques) vraiment distincts chez *G. fossarum* et deux chez *G. pulex* (figurés par les rectangles bleus dans la figure 2.1), qui, s'ils étaient décrits très finement morphologiquement, pourraient peut-être être considérés comme des morpho-espèces différentes (Mamos *et al.*, 2021). Certaines de ces lignées sont trouvées en sympatrie dans les cours d'eau français.

Chez *G. fossarum*, cette variation a été récemment analysée de manière plus poussée au niveau européen (Wattier *et al.*, 2020), révélant d'autres espèces cryptiques, mais ne remettant pas en cause cette description (voir ci-dessous).

2.1.2.1. Coexistence de lignées cryptiques de gammares dans l'espace : conséquences pour les acanthocéphales...

Un gros travail de synthèse a été publié récemment sur la diversité cryptique chez *G. fossarum* (Wattier *et al.*, 2020). Les génotypes de près de 5000 individus, collectés au niveau de 498 sites répartis dans 19 pays d'Europe ont été analysés. Différentes méthodes d'estimation de diversité

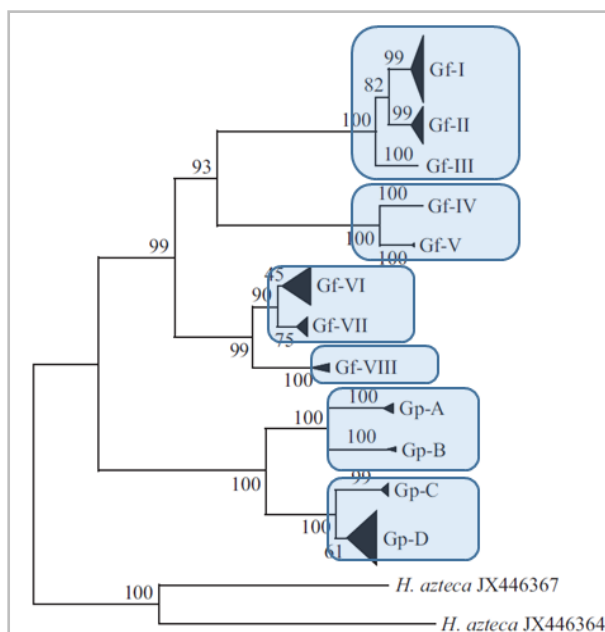


Figure 2.1 - Diversité cryptique (motus) chez *G. fossarum* et *G. pulex* en France, illustration empruntée à Lagrue *et al.* (2014). Les cadres bleus figurent les groupes effectivement reproducteurs.

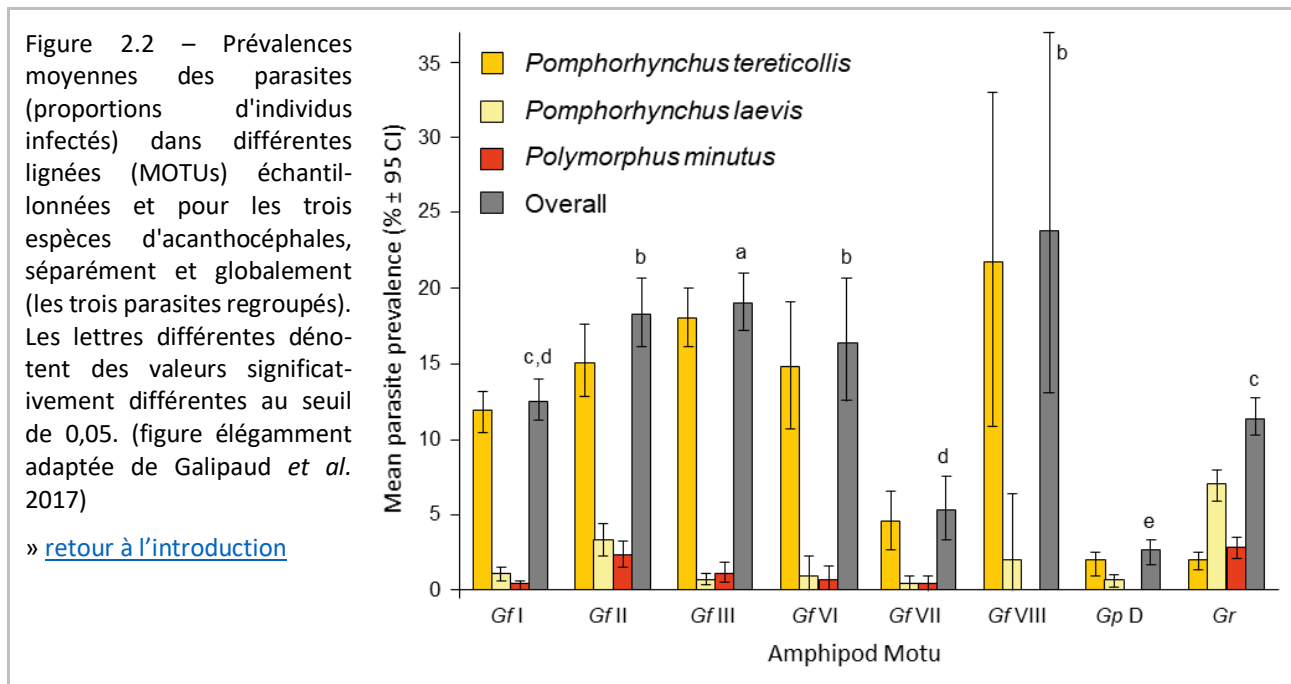
» [retour aux matériels et méthodes](#)

généétique à partir de séquences CO1 ont été utilisées pour analyser la diversité cryptique déjà répertoriée à ce jour : automatic barcode gap discovery (ABGD), barcode index number (BIN), bayesian implementation of the Poisson tree processes (bPTP) et les groupes reproducteurs dits « de Lagrue » (dont la distance génétique sur ce marqueur CO1 est supérieure à 10 %). Ce travail a donc permis de réaliser une correspondance entre les différents typages réalisés jusqu'alors : les types A, B et C des travaux allemands et suisses (initialement obtenus à partir de séquences d'ARN 16S (Westram et al., 2013) et réassignés par la méthode ABGD), et les motus proposés par la 'méthode Lagrue'. Il a également montré que la sympatrie entre lignées de *G. fossarum*, rarement mise en évidence auparavant (hormis en France et en Suisse : Müller, 2000; Lagrue et al., 2014; Eisenring et al., 2016), est en fait relativement fréquente à l'échelle de l'Europe, et plus particulièrement dans la partie occidentale des Carpates et en France.

Les patrons observés pour *G. fossarum* pourraient bien être généralisés à l'ensemble des espèces de gammaridés : une très forte diversité cryptique a été détectée dans le Caucase et dans la zone montagneuse entre l'Iran et l'Anatolie au sein des morpho-espèces présentes localement, en particulier *Gammarus komareki* et *Gammarus lacustris* (Katouzian et al., 2016). *G. roeselii* montre également, dans son aire d'origine, une forte diversité génétique cachée : 13 motus ont ainsi été mis en évidence dans la région des Balkans (Grabowski et al., 2007). En revanche, la diversité génétique est beaucoup plus faible dans son aire d'extension récente vers l'Ouest de l'Europe, et un seul motu est présent en France (Csapó et al., 2020). Un tel travail n'a pas encore été réalisé pour *G. pulex*, à l'exception du travail de Lagrue et al. (2014) en France.

Pour la première fois, Westram et al. (2011b) ont cherché à savoir si les parasites acanthocéphales sont sensibles à cette diversité génétique cryptique chez les gammares. En effet, des espèces morphologiquement similaires ne sont pas toujours biologiquement similaires (ce qui a été confirmé par Lagrue et al., 2014), et donc pas non plus nécessairement cryptiques pour leurs parasites. L'intégration de cette diversité cryptique peut ainsi amener à reconsidérer le niveau de spécificité des parasites ainsi que leur spectre d'hôtes. Westram et ses collègues (2011b) ont ainsi testé, à partir d'une étude de terrain dans des rivières de Suisse d'une part, et d'infections *in situ* (gammares encagés en milieu naturel) d'autre part, si *G. fossarum* et *G. pulex* montraient des prévalences en *P. tereticollis* différentes. L'étude de terrain a montré que les deux espèces cryptiques *Gf* A et B (types définis par Müller, 2000) peuvent être infectées par plusieurs espèces d'acanthocéphales, dont *P. tereticollis* et *P. minutus*, avec des prévalences plus fortes chez *Gf* B, indiquant potentiellement une certaine spécificité des parasites pour cet hôte. Cependant, les conditions de l'étude n'ont pas permis d'éliminer d'autres causes aux différences observées, comme par exemple des préférences écologiques différentes des gammares, aboutissant à une probabilité d'infection différentielle. Les expériences d'infestation en milieu naturel ont quant à elles montré des prévalences beaucoup plus fortes chez *Gf* A que chez *G. pulex*. Mais, là encore, les conditions expérimentales ne permettent pas de démêler s'il s'agit d'un processus d'adaptation locale à l'hôte le plus fréquent ou d'une meilleure adaptation de *P. tereticollis* à *G. fossarum*. Les prévalences obtenues à partir des expériences d'encagement étaient beaucoup plus élevées que les prévalences naturelles, la mortalité due à la prédation étant supprimée. Les auteurs ont ainsi suggéré que la fréquence des infections en acanthocéphales peut être largement sous-estimée si les mesures sont

effectuées seulement sur le stade cystacanthe. Ils n'ont cependant pas pu éliminer la possibilité que les conditions de maintien en cage aient mis les gammarés plus fréquemment en contact avec des œufs de parasites par rapport aux gammarés libres de tous mouvements.



Dans une étude indépendante, un suivi de terrain sur quinze rivières en Bourgogne et aux alentours, Galipaud *et al.*, (2017) ont évalué les niveaux d'infection en cystacanthés d'acanthocéphales chez les lignées de *G. pulex/fossarum* et *G. roeselii* (figure 2.2). Ils ont montré que les niveaux d'infection chez *G. roeselii* sont globalement plus faibles que chez les deux autres hôtes pour le parasite *P. tereticollis*, mais plus fort pour *P. laevis* et n'ont pas trouvé, en mesurant l'abondance des parasites en fonction de la taille des hôtes (voir plus loin chapitre 2.1.2.3), de mortalité induite par les parasites chez cet hôte, validant ainsi l'hypothèse de compétition apparente portée par les parasites. Ils ont également trouvé des prévalences très variables entre les lignées des complexes *G. pulex* et *G. fossarum*. *G. roeselii* a été trouvé moins parasité que les lignées *Gf 2*, *Gf 3*, *Gf 6* et *Gf 8*, montrait des prévalences comparables avec *Gf 1*, et était plus infecté que *Gf 7* et *Gp D*. Les auteurs ont souligné le fait que ces différences de prévalences ne dépendent pas toujours du niveau de proximité génétique des différentes lignées. Par exemple, *Gf 2* est plus sensible à *P. laevis* et *P. minutus* que *Gf 1* et *Gf 3*, même si elles sont toutes trois sensibles de manière similaire à *P. tereticollis*. Ils ont trouvé une mortalité liée à l'infection chez les lignées *Gf 1*, *Gf 2*, *Gf 6*, *Gf 8* et *Gp D*, mais pas chez les autres lignées.

De toute évidence, les différentes lignées de gammarés ne sont pas cryptiques pour les acanthocéphales, sur l'ensemble des sites étudiés par Galipaud *et al.*, (2017). Mais une question encore imparfaitement résolue était celle d'une spécificité que pourraient exprimer les parasites quand ils ont plusieurs hôtes à leur disposition dans un même environnement proximal. À partir d'un sous-échantillon de leur première étude, constitué uniquement de sites dans lesquels au moins deux « lignées » de *G. fossarum/pulex/roeselii* ont été trouvées en sympatrie, Galipaud *et al.*, (2019) ont effectué des mesures de prévalence et d'abondance en acanthocéphales. Ils ont montré que les patrons d'infection dépendent plus de la lignée d'hôte que des sites de provenance des échantillons.

P. minutus, par exemple, n'est jamais trouvé chez *Gp D* alors qu'il est trouvé de manière assez variable chez les différentes lignées *G. fossarum* et beaucoup plus fréquemment chez *G. roeselii*. *P. laevis* est très fréquent chez *G. roeselii*, présent de manière variable chez *Gf 1*, *Gf 3* et *Gp D* mais jamais chez *Gf 7*. Des prévalences élevées en *P. tereticollis* ont été reportées chez *Gf 1* et *Gf 3*, et plus sporadiquement chez les autres lignées.

Aucune de ces études n'a exploré la prévalence de ces différentes espèces de parasites au stade acanthelle. Il est donc impossible de savoir précisément si les variations de fréquence entre hôtes des parasites au stade cystacanthé résultent d'une sensibilité différente des hôtes à l'infection, ou si elles résultent d'une prédation différentielle des parasites dès le stade cystacanthé atteint.

2.1.2.2. ... Et dans le temps ?

Si de nombreuses études s'intéressent à la structuration spatiale des gammaridés cryptiques (Westram *et al.*, 2013 : *G. fossarum* types A et B ; Lagrue *et al.*, 2014, Mamos *et al.*, 2016, etc.), aucune ne donne d'information sur leur coexistence dans le temps. On sait pourtant qu'entre morpho-espèces proches sympatriques, il peut y avoir une limitation de la compétition par décalage dans le temps des cycles biologiques. Ceci a par exemple été montré chez les amphipodes entre *G. pulex* et *Echinogammarus berilloni* (Goedmakers & Pinkster, 1981). Le seul travail temporel sur un amphipode montrant de la diversité cryptique que j'ai pu trouver dans la littérature porte sur *Hyalella azteca* (espèce nord-américaine) et n'a considéré la coexistence des différentes lignées que sur une période de temps limitée (entre juin et octobre d'une même année ; Dionne *et al.*, 2017). Ce travail a montré que n'étant pas en situation de compétition pour leurs ressources (habitats et régimes alimentaires), aucun décalage de niche n'était observé, les espèces de ce complexe peuvent donc cohabiter de manière stable.

Galipaud *et al.* (2017) ont fait le constat que l'aspect « cliché instantané » de leur échantillonnage n'a permis de tester ni la stabilité dans le temps de la coexistence des lignées cryptiques, ni celle des patrons d'infection et des mécanismes impliqués dans les différences de mortalité liée à l'infection par les acanthocéphales. Effectivement, comme expliqué en introduction générale, la dynamique dans le temps de la répartition des lignées d'hôtes aura une influence fondamentale sur la sélection d'une stratégie spécialiste/généraliste des parasites. Une dynamique imprévisible aura ainsi tendance à privilégier des parasites généralistes, et une dynamique rythmique (saisonnnière) dans l'occurrence des hôtes pourra induire une spécialisation. Des cycles saisonniers ont déjà été couramment décrits dans l'occurrence de nombreux acanthocéphales, à la fois chez leurs hôtes intermédiaires et définitifs (Pennycuick, 1971; Muzzal, 1978; Helle & Valtonen, 1981; Moravec & Scholz, 1991; Kennedy, 2006), il est donc important de prendre en compte d'éventuelles variations de prévalence au cours du temps. En effet, les variations saisonnières, de température de l'eau entre autres, peuvent affecter la physiologie et l'immunité des hôtes (Lamková *et al.*, 2007) et leur changement de régime alimentaire (Kennedy, 2006) ou même des stades libres des parasites. Elles peuvent donc impacter aussi les taux d'infection ainsi que la reproduction des parasites acanthocéphales.

2.1.2.3. Mesurer la prévalence de parasites manipulateurs

Nombreux sont les travaux publiés ces vingt dernières années qui présentent des mesures de prévalence en acanthocéphales chez leurs hôtes intermédiaires en recensant uniquement les stades cystacanthes (voir tableau 2.1). Dans les études antérieures, les mesures de proportions relatives entre stades de développement chez les hôtes intermédiaires ont souvent été utilisées uniquement pour en tirer des informations sur l'éventuelle saisonnalité dans l'occurrence des parasites. Hine et Kennedy (1974) par exemple, remarquent que si l'on trouve majoritairement des cystacanthes de *P. laevis* toute l'année, par contre l'occurrence de stades plus précoces est saisonnière : de jeunes acanthelles s'accumulent en hiver et grandissent au printemps et en été.

La prévalence en cystacanthes est la conséquence d'un ensemble de processus qui n'est pas forcément représentatif du taux de présence réel du parasite (puisque c'est le stade qui manipule, plus ou moins bien suivant son âge, Franceschi *et al.* (2008), et également suivant son espèce-hôte, Bauer *et al.* (2000)). Ces stades larvaires, infectieux pour les hôtes définitifs, sont censés avoir développé la capacité de manipuler leur hôte intermédiaire, et sont par conséquent censés disparaître du milieu plus ou moins rapidement sous l'effet de la prédation accrue par leurs hôtes définitifs (Thomas *et al.*, 1998). Une prévalence élevée en cystacanthes peut donc provenir effectivement d'une forte présence d'un parasite très infectieux, mais également d'une accumulation d'un parasite moins infectieux mais dont la mortalité induite par prédation est faible. Pour mettre en évidence une mortalité induite par les parasites à partir de données de terrain, il a été proposé de mesurer la distribution de

leur abondance en fonction de l'âge de leurs hôtes (Anderson & Gordon, 1982) – ou de leur taille chez les espèces à croissance continue (Rousset *et al.*, 1996). Les modèles développés supposent que, avec un taux d'infection constant au cours du temps, la charge parasitaire moyenne va diminuer s'il existe une mortalité induite. La distribution de l'abondance en parasites en fonction de la taille des hôtes doit donc suivre une courbe en cloche chez les hôtes infectés par des parasites manipulateurs : les jeunes (petits) individus, qui n'ont pas encore été confrontés au parasite, sont faiblement infectés ; les individus de taille moyenne sont fortement parasités ; la prévalence est

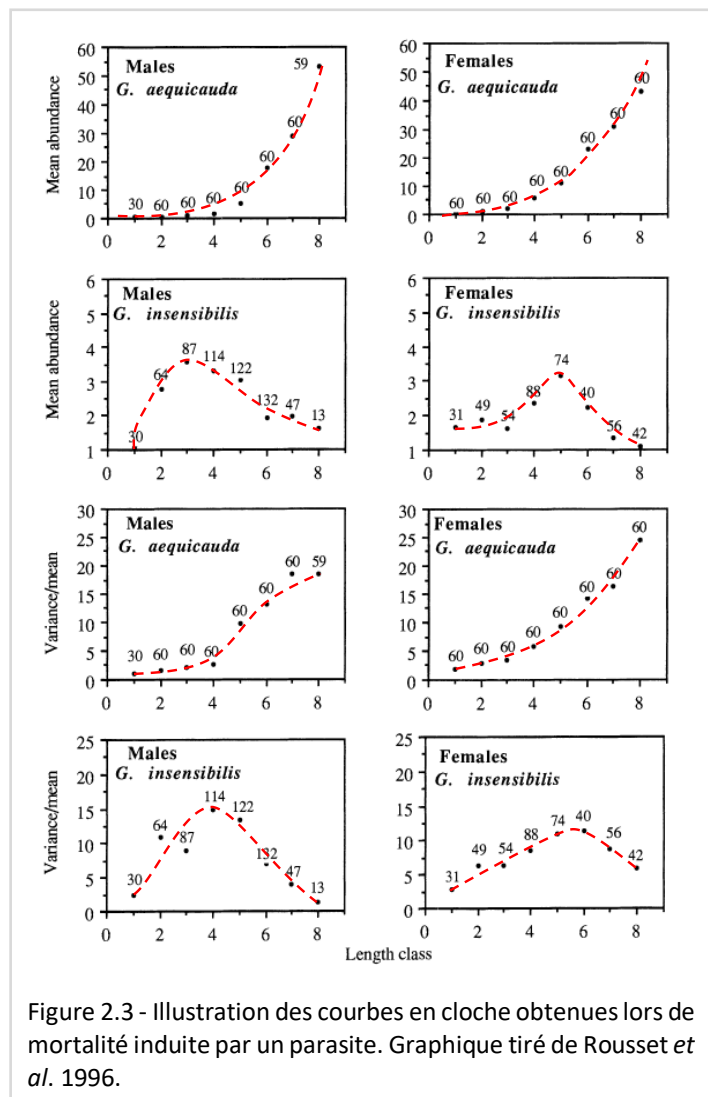


Figure 2.3 - Illustration des courbes en cloche obtenues lors de mortalité induite par un parasite. Graphique tiré de Rousset *et al.* 1996.

faible chez les grands (vieux) puisque la manipulation empêche les gammares infectés de vieillir sous l'effet de la prédation. Si les grands gammares sont plus infectés que les moyens, c'est qu'ils ne sont pas manipulés, et les parasites s'accumulent dans leurs hôtes avec l'âge. Cette hypothèse a été testée à partir de données d'infection du trématode *Microphallus papillorobustus* en fonction de la taille de deux espèces de gammares, *G. insensibilis* et *G. aequicauda*, seul le premier étant connu pour être manipulé par ce parasite, et donc induire une mortalité chez ses hôtes (Rousset *et al.*, 1996). Une courbe en cloche caractéristique (figure 2.3) est effectivement obtenue chez *G. insensibilis* alors qu'une augmentation de l'abondance en parasites est observée chez *G. aequicauda*.

Ces vingt dernières années, seules quelques études ont pris la précaution de tester, de manière indirecte en mesurant l'abondance en parasites en fonction de la taille des gammares, la mortalité induite chez les hôtes par les parasites qu'ils hébergent (Médoc *et al.*, 2006; Lagrue *et al.*, 2007; Galipaud *et al.*, 2017).

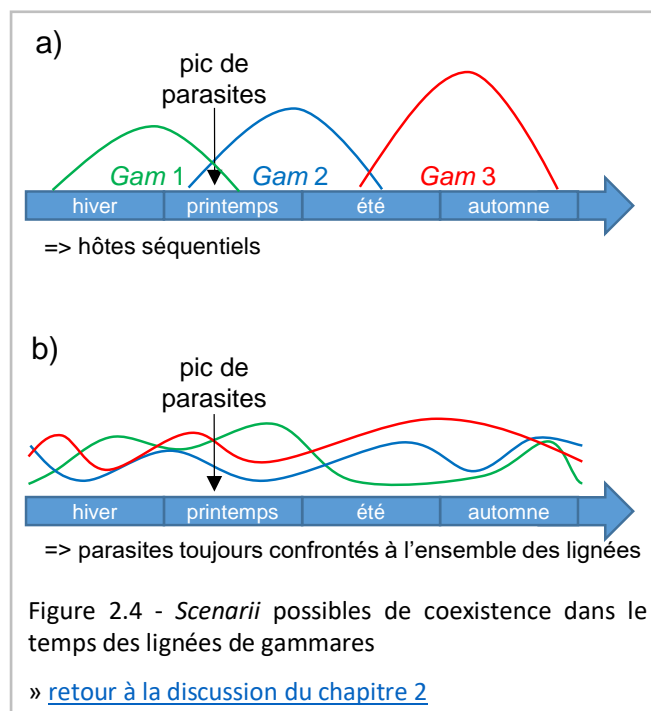
Tableau 2.1 - Détail des stades de développement mesurés dans des études de terrain pour établir les prévalences chez les hôtes intermédiaires, amphipodes et isopodes, de parasites acanthocéphales en Europe continentale et au Royaume-Uni. Les études sont présentées dans l'ordre chronologique. ac ; acanthelle ; cys ; cystacanthé.

source	parasite	hôtes intermédiaire	stades mesurés	conclusion
(Hynes, 1955)	<i>Polymorphus minutus</i>	<i>Gammarus duebeni</i> <i>Gammarus lacustris</i>	non précisé	saisonnalité (pic en été)
(Hynes & Nicholas, 1963)	<i>Polymorphus minutus</i>	<i>Gammarus pulex</i>	ac / cys	saisonnalité liée au comportement de l'hôte définitif
(Awachie, 1965)	<i>Echinorhynchus truttae</i>	<i>Gammarus pulex</i>	4 stades différents	majorité de cystacanthes toute l'année ; 1 pic annuel
(Hine & Kennedy, 1974a)	<i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Gammarus pulex</i>	3 stades ac, cys	saisonnalité acanthelles
(Muzzal, 1978)	<i>Fessisentis friedi</i>	isopode	non précisé	(discussion seulement)
(van Maren, 1979)	<i>Pomphorhynchus laevis</i> <i>Polymorphus minutus</i>	<i>Gammarus fossarum</i>	non précisé dans les méthodes ; (acanthors), ac, cys dans les résultats	saisonnalité ; majorité de cystacanthes toute l'année
(Camp & Huizinga, 1980)	<i>Acanthocephalus dirus</i>	isopode	ac / cys	saisonnalité
(Valtonen <i>et al.</i> , 1983)	<i>Echinorhynchus gadi</i>	<i>Gammarus zaddachi</i> <i>Pontoporeia affinis</i>	ac / cys	données non présentées (most of...)
(Bratney, 1986)	<i>Acanthocephalus lucii</i>	isopode	acanthor / ac / cys	pas de saisonnalité
(Brown, 1989)	<i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Gammarus pulex</i>	3 stades ac ; cys	majorité de cystacanthes toute l'année ; pas de saisonnalité
(Dezfuli <i>et al.</i> , 1991)	<i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Echinogammarus stammeri</i>	ac / cys	pas de suivi régulier
(McCahon <i>et al.</i> , 1991)	<i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Gammarus pulex</i>	cystacanthes	comportement, dérive
(Moravec & Scholz, 1991)	<i>Pomphorhynchus laevis</i> <i>Polymorphus minutus</i>	<i>Gammarus roeseli</i>	ac / cys	majorité de cystacanthes ; suivi sur quelques mois
(Kennedy, 1996)	<i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Gammarus pulex</i>	3 stades ac / cys	données non présentées

(Dunn & Dick, 1998)	<i>Polymorphus minutus</i>	<i>Gammarus pulex</i> , <i>Gammarus d celcticus</i> , <i>Gammarus tigrinus</i>	cystacanthes	différences de prévalences entre hôtes
(Dezfuli & Giari, 1999)	<i>Polymorphus minutus</i>	<i>Echinogammarus stammeri</i>	ac / cys	prévalence faible
(Dezfuli et al., 1999)	<i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Echinogammarus stammeri</i>	ac / cys	données non présentées
(Dezfuli et al., 2000)	<i>Acanthocephalus clavula</i> <i>Polymorphus minutus</i> <i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Echinogammarus stammeri</i>	non précisé	association entre parasites ; différences de prévalences
(Outreman et al., 2002)	<i>Polymorphus minutus</i> <i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Gammarus pulex</i>	cystacanthes	mesure de prévalence ; variations saisonnières
(Dudiňák & Špakulová, 2003)	<i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Gammarus balcanicus</i>	ac / cys	saisonnalité
(MacNeil et al., 2003b)	<i>Echinorhynchus truttae</i>	<i>Gammarus pulex</i>	cys (pas d'ac ?)	choix d'habitat entre sains et parasités
(Médoc et al., 2006)	<i>Polymorphus minutus</i>	<i>Gammarus roeseli</i>	Non précisé	mesure de prévalence ; expériences de prédation
(Moret et al., 2007)	<i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Gammarus roeseli</i>	cystacanthes	mesure de prévalence ; mesures de comportement-
(Perrot-Minnot et al., 2007)	<i>Pomphorhynchus tereticollis</i>	<i>Gammarus pulex</i>	cystacanthes	comparaison de prévalence entre hôte intermédiaire et définitif
(Médoc & Beisel, 2009)	<i>Polymorphus minutus</i>	<i>Gammarus roeseli</i>	cystacanthes	prévalence, sélection d'habitat
(Dick et al., 2010)	<i>Echinorhynchus truttae</i>	<i>Gammarus pulex</i>	cystacanthes	suivi mensuel de prévalence
(Emde et al., 2012)	<i>Pomphorhynchus tereticollis</i>	<i>Dikerogammarus villosus</i>	ac (pas de cys trouvé)	mesure de prévalence
(Bauer & Rigaud, 2015)	<i>Pomphorhynchus laevis</i>	<i>Gammarus fossarum</i> <i>Gammarus roeseli</i>	cystacanthes	comparaison de prévalences en laboratoire
(Bojko et al., 2017)	<i>Polymorphus minutus</i>	<i>Gammarus roeseli</i>	non précisé	mesure de prévalence
(Galipaud et al., 2017)	<i>Polymorphus minutus</i> <i>Pomphorhynchus laevis</i> <i>Pomphorhynchus tereticollis</i>	<i>Gammarus fossarum</i> <i>Gammarus pulex</i> <i>Gammarus roeseli</i>	cystacanthes	mesures de prévalence
(Hohenadler et al., 2018)	<i>Pomphorhynchus laevis</i> <i>Pomphorhynchus tereticollis</i>	<i>Dikerogammarus villosus</i> <i>Gammarus pulex</i>	cystacanthes	mesures de prévalence
(Perrot-Minnot et al., 2019)	<i>Pomphorhynchus laevis</i> <i>Pomphorhynchus tereticollis</i>	<i>Gammarus</i> spp.	non précisé	mesures de prévalence
(Harris, 2020)	<i>Pomphorhynchus tereticollis</i>	<i>Gammarus fossarum</i> <i>Gammarus pulex</i>	cystacanthes	mesures de prévalence

2.2. Objectifs du chapitre

L'objectif principal de ce chapitre est d'apporter une dimension temporelle aux connaissances actuelles sur la coexistence entre lignées de gammars, pour mieux comprendre la structuration et l'éventuelle dynamique des communautés d'hôtes potentiels, et répondre à une question simple en apparence : en cas de coexistence géographique de différentes espèces d'hôtes potentiels, les parasites acanthocéphales ont-ils à disposition tous leurs hôtes à tous les moments de l'année ? La figure 2.4 illustre deux scénarii alternatifs envisageables : a) coexistence des hôtes dans l'espace mais pas dans le temps par décalage de leurs cycles de vie ; b) les cycles de vie des hôtes se chevauchent et les parasites ont à tout moment toutes les espèces à leur disposition, éventuellement en proportions variables.

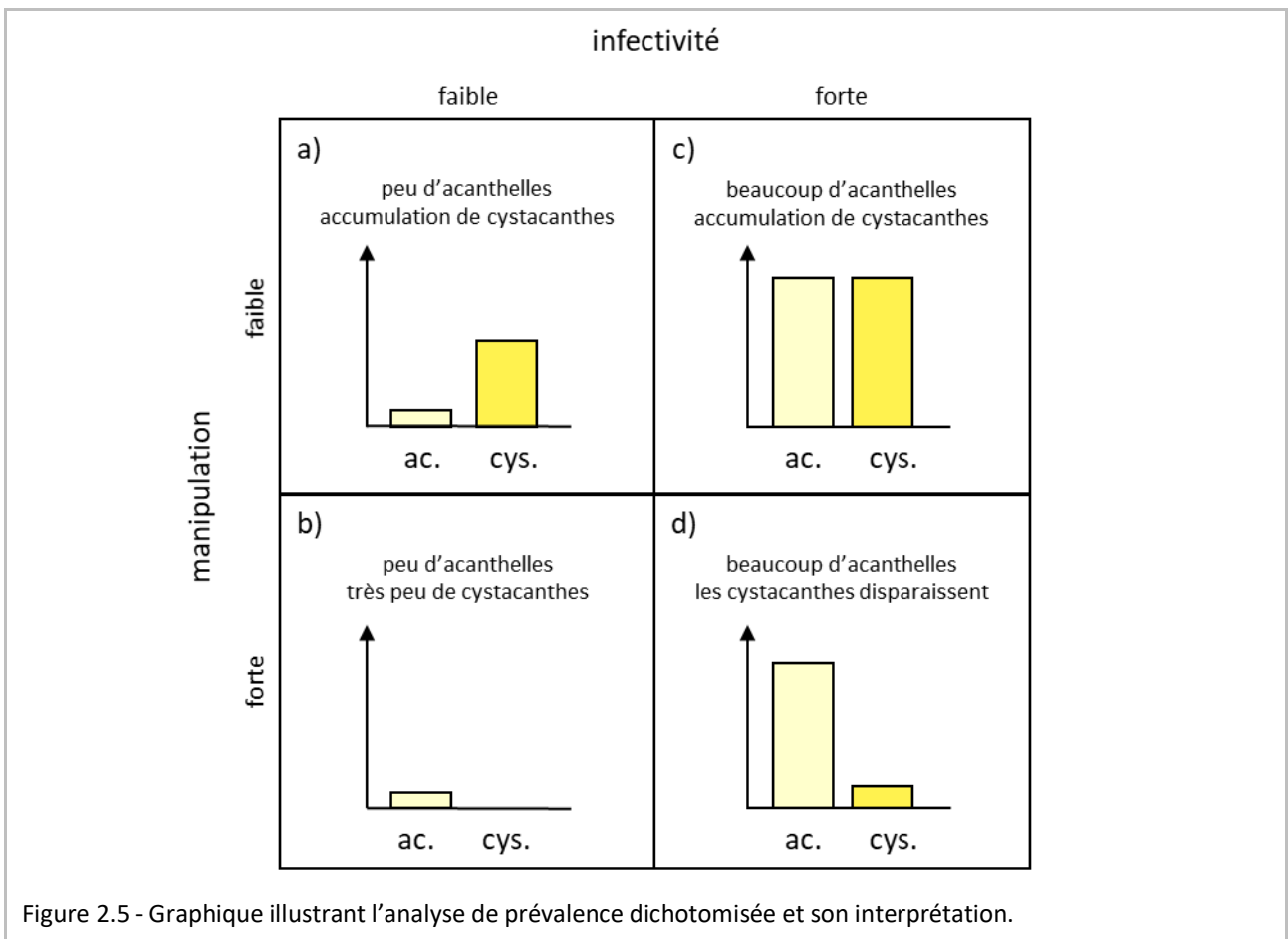


Pour répondre à cette question, nous avons effectué un suivi temporel des proportions relatives des différentes lignées de gammars dans deux rivières connues pour abriter plusieurs hôtes potentiels vivant en sympatrie. Les travaux de Lagrue *et al.* (2014) et de Galipaud *et al.* (2017) ont servi de base pour la sélection des rivières étudiées ici. Nous avons ainsi choisi des sites dans lesquels au moins trois lignées appartenant aux morpho espèces *G. fossarum*, *pulex* et *roeselii* ont été trouvées en sympatrie, et dans lesquels plusieurs espèces de parasites acanthocéphales coexistent également.

Des mesures de prévalence en parasites à tous les stades larvaires ont également été effectuées chez les gammars récoltés, afin de suivre, en parallèle de celle des hôtes, une éventuelle dynamique temporelle des prévalences en parasites. Par rapport aux études précédentes basées sur les prévalences *in natura*, nous pensons que la prévalence globale doit être séparée en deux estimateurs. La mesure de prévalence en acanthelles va permettre d'estimer (tout au moins d'approcher) le niveau d'infectivité du parasite, et la mesure de prévalence en cystacanthès traduira le niveau de capacité du parasite à manipuler son hôte. Effectivement, si les cystacanthès sont fortement présents chez leurs hôtes les plus âgés (les plus gros), on peut supposer que cette situation découle d'une faible virulence (Rousset *et al.*, 1996). Chez les parasites manipulateurs, cette approximation est analysée comme une moindre capacité de manipulation et donc d'une faible prédation par les hôtes définitifs (Galipaud *et al.*, 2017).

L'analyse ainsi « dichotomisée » de la prévalence chez les acanthocéphales doit donc permettre, d'une part d'obtenir une information sur la capacité des parasites à infecter leurs hôtes, et d'autre part d'estimer de manière indirecte l'efficacité de la manipulation. La figure 2.5 résume plusieurs scénarii de patrons d'infections que l'on devrait trouver *in natura*, en fonction des combinaisons

extrêmes possibles entre infectivité et capacité de manipulation des parasites. Si le parasite est faiblement infectieux et faiblement manipulateur (figure 2.5 a), on s'attend à trouver une prévalence faible en acanthelles et relativement forte en cystacanthes, car ces derniers vont s'accumuler dans les hôtes au cours du temps. Si le parasite est faiblement infectieux et fortement manipulateur (figure 2.5 b), on s'attend à observer une prévalence faible à la fois en acanthelles et également faible, voire nulle, en cystacanthes (ces derniers vont disparaître de la population au fur et à mesure de la prédation par les hôtes avuls). Si le parasite est très infectieux mais peu manipulateur (figure 2.5 c), des prévalences élevées à la fois en acanthelles et en cystacanthes sont prédites. On pourrait s'attendre, dans ce cas, à observer une prévalence plus forte en cystacanthes qu'en acanthelles, si la virulence (hors manipulation) est égale entre ces deux stades parasitaires, à cause de l'accumulation des cystacanthes chez les hôtes au cours du temps. Enfin, en cas de fortes infectivité et capacité de manipulation (figure 2.5 d), on observera une forte prévalence en acanthelles mais une faible prévalence en cystacanthes. Bien évidemment, toutes les situations intermédiaires d'infectivité et de capacité de manipulation sont envisageables, brouillant ainsi les hypothèses quelque peu tranchées de la figure 2.5.



2.3. Matériels et méthodes

2.3.1. Collecte des amphipodes

Sur la base des données de Lagrue *et al.* (2014) et de Bauer & Rigaud (2015) concernant la présence de différentes espèces de gammares vivant en sympatrie, deux rivières ont été sélectionnées, l'Albane à Trochères (47° 34' 27" N, 5° 30' 60" E) et l'Ouche à Dijon (47° 30' 00" N, 5° 04' 67" E). Les échantillonnages d'amphipodes ont eu lieu tous les deux mois entre novembre 2015 et septembre 2017, selon la méthode du *kick sampling* (Lenat, 1988) à l'aide d'un troubleau, dans deux microhabitats représentatifs des points de récolte ('graviers' dans le milieu du lit de la rivière et 'racines' au niveau des berges). Afin de standardiser l'effort d'échantillonnage, trois pêches de deux minutes ont été effectuées dans chaque habitat et les animaux récoltés ont été placés dans des seaux distincts. La température des rivières a été notée à chaque date de collecte (graphique en [annexe A](#), page 156).

De retour au laboratoire, le contenu de chaque seau a été transféré dans un bac de maintien (37 × 55 × 40 cm, rempli au tiers) avec de l'eau de la rivière d'origine et un bulleur, à une température de 15±1 °C et un cycle jour/nuit de 12h/12h. Pour chaque microhabitat, les pêches ont été utilisées pour trier environ une centaine de gammares *G. pulex/fossarum*, ainsi que tous les *G. roeselii* échantillonnés en même temps. Le tri consistait en la séparation des gammares des autres invertébrés et du substrat (sable, gravier, végétaux). Les gammares étaient ensuite euthanasiés, mesurés, sexés (sur la base du dimorphisme sexuel des gnathopodes et/ou de la présence d'œufs ou de gonades différenciées visibles à travers la cuticule des femelles) et disséqués pour vérifier leur statut parasitaire. Les œufs des femelles gravides ont été comptés. Enfin, les tissus des gammares *pulex/fossarum* ont été conservés individuellement dans des cryotubes de 2 ml remplis d'éthanol absolu pour génotypage ultérieur. Étant donné qu'il est difficile, voire impossible de déterminer le sexe des petits individus (les juvéniles sont impossibles à sexer ; les individus *G. fossarum* et *G. pulex* deviennent sexués après la 9^e ou 10^e mue, cf. Pöckl (1992) et Sexton (1924)), la règle suivante a été appliquée pour déterminer les stades juvéniles : la taille de la plus petite femelle gravide récoltée sur l'ensemble du suivi a été prise comme taille limite d'individus adultes, et tous les individus plus petits que cette taille ont été codés comme juvéniles.

La taille des gammares servira d'approximation pour l'âge des individus (Galipaud *et al.*, 2017). La taille a été estimée en mesurant la hauteur de la 4^e plaque métacoxale, qui est proportionnelle à la longueur totale des animaux, cette dernière étant difficile à mesurer précisément du fait de la forme recourbée du corps des amphipodes et de la plasticité des zones intersegmentaires (Bollache *et al.*, 2000). Les individus récoltés de moins de 1000 µm ne sont pas intégrés à l'étude, car ils peuvent passer au travers des mailles du troubleau. Le nombre de juvéniles de petite taille est donc sous-estimé systématiquement. À cause de ce biais, je n'ai pas pu analyser la proportion des différentes catégories de taille, et je n'ai donc pas analysé précisément l'intensité de la reproduction. Cependant, la présence de juvéniles de taille > 1000 µm dans certains échantillons attestera de la reproduction des gammares lors de la date de récolte (ou tout au moins dans les jours/semaines ayant précédé la pêche).

Le cas échéant, les gammare surnuméraires par rapport à l'échantillon analysé ont été conservés en flacons remplis d'éthanol absolu.

Pour éviter un éventuel effet de mortalité différentielle entre lignées, liée aux conditions de laboratoire, tous les individus ont été étudiés dans les 6 jours maximum après la date de pêche.

2.3.2. Génotypage

2.3.2.1. Extraction d'ADN

Chez les hôtes, en fonction de la taille de l'individu, entre 1 et 3 segments complets ont été prélevés pour l'extraction de leur ADN. Pour les gammare de très petite taille (hauteur de plaque inférieure à 1200 µm), le corps entier a été utilisé pour le typage.

Chez les parasites, l'identification spécifique est impossible morphologiquement au stade acanthelle. Un typage moléculaire a donc été réalisé. Le corps entier du parasite a alors été utilisé pour l'extraction d'ADN. Les cystacanthes dont la détermination morphologique n'était pas certaine ont également été génotypés (corps entier également utilisé).

Toutes les extractions d'ADN ont été réalisées à l'aide d'un kit d'extraction (EZ-10 96 Well Plate Genomic DNA Isolation kit, BioBasic Inc.) en suivant le protocole qui lui est associé.

2.3.2.2. Amplification, séquençage et / ou RFLP

Amplification

Pour les gammare, la partie 5' du gène codant pour la première sous-unité de la cytochrome oxydase (CO1) a été amplifiée en utilisant les amorces universelles LCO1490 et HCO2198 (Folmer *et al.*, 1994).

Pour les parasites dont le stade de développement ne permettait pas le typage sur critères morphologiques, les mêmes amorces CO1 ont été utilisées en première intention. Si cette première amplification ne fonctionnait pas et que la PCR réalisée en adaptant la concentration d'ADN (après dosage) n'était pas concluante, c'est alors la zone ITS d'ADN ribosomique qui était amplifiée (amorces BD1f et ACITS1r ; Franceschi *et al.*, 2008).

Le détail des cycles appliqués pour réaliser les PCR est précisé dans l'[annexe B](#) (protocoles de génotypage, page 157). Les produits d'amplification sont de 320 paires de bases pour *P. laevis* et 350 pour *P. tereticollis* et peuvent donc en principe être distingués directement sur un gel d'électrophorèse.

Séquençage

Les premiers gammares extraits ont été séquencés, selon la méthode précisée dans l'[annexe B](#) pour avoir une estimation de la composition génétique des communautés d'amphipodes des deux rivières. Les séquences obtenues ont été comparées aux lignées (MOTUs) déterminées par Lagrue *et al.* 2014. Dans l'Albane, nous avons trouvé un mélange des lignées *G. fossarum* 2, 6, et *G. pulex* D. Dans l'Ouche, coexistent *G. fossarum* 1, 3, 7 ou *G. pulex* D (voir résultats pour le détail). La [figure 2.1](#) (page 31) rappelle les positions phylogénétiques de ces différentes lignées. Pour mémoire, les *G. fossarum* 1, 2 et 3 forment une entité pouvant être considérée comme la même espèce (elles sont interfécondes), différente de *G. fossarum* 6 et 7, elles-mêmes pouvant être considérées comme une seule espèce (Lagrue *et al.*, 2014). Des lots aléatoires ont également été séquencés en cours de suivi pour contrôler l'apparition éventuelle de lignées non détectables par simple RFLP.

Les parasites qui ont été séquencés l'ont été suivant la même méthode que celle employée pour les gammares, les numéros d'accension des séquences de référence utilisées pour l'assignation sont précisés dans l'annexe A.

RFLP

Après les premiers séquençages, les gammares suivants ont, pour la plupart, été typés par polymorphisme de longueur des fragments de restriction à l'aide des enzymes de restriction spécifiques (Lagrue *et al.*, 2014). Les lignées *G. pulex* / *G. fossarum* ont ainsi été distinguées lors d'une première RFLP utilisant l'endonucléase *VspI* (Thermo Scientific™). Puis une deuxième RFLP utilisant l'endonucléase *DraI* (Thermo Scientific™), appliquée uniquement sur les individus *G. fossarum*, permettait de discriminer les groupes *Gf* 1-2-3 de *Gf* 6-7, groupes où chaque lignée pouvait être distinguée au séquençage mais pas lors de la réalisation des RFLP. Sauf mention contraire, ces lignées sont donc groupées pour les analyses des données.

Pour les parasites dont le CO1 a été amplifié mais non séquencé, l'endonucléase *VspI* permet de distinguer *P. laevis* (deux brins de 60 et 620 pb) et *P. tereticollis* (deux brins de 450 et 240 pb).

Le protocole de restriction utilisé est détaillé dans l'[annexe B](#).

2.3.3. Analyses statistiques

Les données ont toutes été analysées avec R 4.1.0 à l'aide des packages précisés dans le détail des analyses, au seuil de significativité de 95 % quand des valeurs de probabilités étaient associées aux résultats.

2.4. Résultats

2.4.1. Effectifs retenus pour les mesures de lignées d'hôtes et les mesures de prévalences

Le tableau 2.2 présente les effectifs génotypés dans les deux rivières (6742 individus au total). Les individus pour lesquels les données de taille n'ont pas pu être obtenues ont été retirés des analyses quand cette variable était nécessaire. De même, pour les analyses de prévalence, les gammares dont le cortège parasitaire n'a pas pu être déterminé avec certitude ont été supprimés.

Tableau 2.2 - Effectifs globaux de gammares génotypés dans l'Albane et dans l'Ouche. Sain = individus non parasités ; Para = individus parasités. *Gf* = *Gammarus fossarum* ; *Gp* = *Gammarus pulex*.

Albane													
lignée d'hôte	gravier						racines						total
	juvéniles		femelles		mâles		juvéniles		femelles		mâles		
	sain	para	sain	para	sain	para	sain	para	sain	para	sain	para	
<i>Gf</i> 2	169	14	250	63	231	79	119	16	185	28	156	45	1355
<i>Gf</i> 6	97	3	153	9	94	9	83	3	185	14	115	11	776
<i>Gp</i> D	44	0	33	2	21	1	61	4	108	3	84	2	363
<i>G. roeselii</i>	97	4	193	29	89	16	257	19	493	129	238	62	1626
total	407	21	629	103	435	105	520	42	971	174	593	120	4120

Ouche													
lignée d'hôte	gravier						racines						total
	juvéniles		femelles		mâles		juvéniles		femelles		mâles		
	sain	para	sain	para	sain	para	sain	para	sain	para	sain	para	
<i>Gf</i> 3	87	3	93	5	119	3	98	3	59	2	76	3	551
<i>Gf</i> 7	8	0	2	2	7	0	6	1	5	1	6	1	39
<i>Gp</i> D	287	1	314	3	360	8	274	1	201	1	239	3	1692
<i>G. roeselii</i>	5	0	9	0	8	0	69	0	192	3	54	0	340
total	387	4	418	10	494	11	447	5	457	7	375	7	2622

2.4.2. Évolution des proportions des lignées de gammares en fonction du temps

Étant donné que tous les individus de toutes les pêches n'ont pas été systématiquement intégralement typés pour les espèces d'hôte en présence (cf. méthodes), il n'est pas possible de calculer l'abondance absolue en gammares en fonction de la date de prélèvement. Je ne présenterai donc les informations sur les variations temporelles qu'en termes de proportions relatives dans les deux microhabitats échantillonnés.

Les lignées échantillonnées sont différentes entre les deux rivières (*Gf 2, Gf 6, Gp D* et *G. roeselii* dans l'Albane ; *Gf 3, Gf 7, Gp D*, et *G. roeselii* dans l'Ouche). Pour mémoire, par souci de commodité rédactionnelle, je considérerai *G. roeselii*, qui est une espèce morphologique très distincte des autres, comme une lignée dans la suite de mon propos. Il est à noter que je n'ai pas distingué plusieurs « lignées » de *G. roeselii* à l'instar des deux autres morpho-espèces, car Csapó *et al.* (2020) ont montré qu'un seul MOTU de cette espèce a récemment colonisé l'Ouest de l'Europe. Il n'était donc pas nécessaire de génotyper nos échantillons.

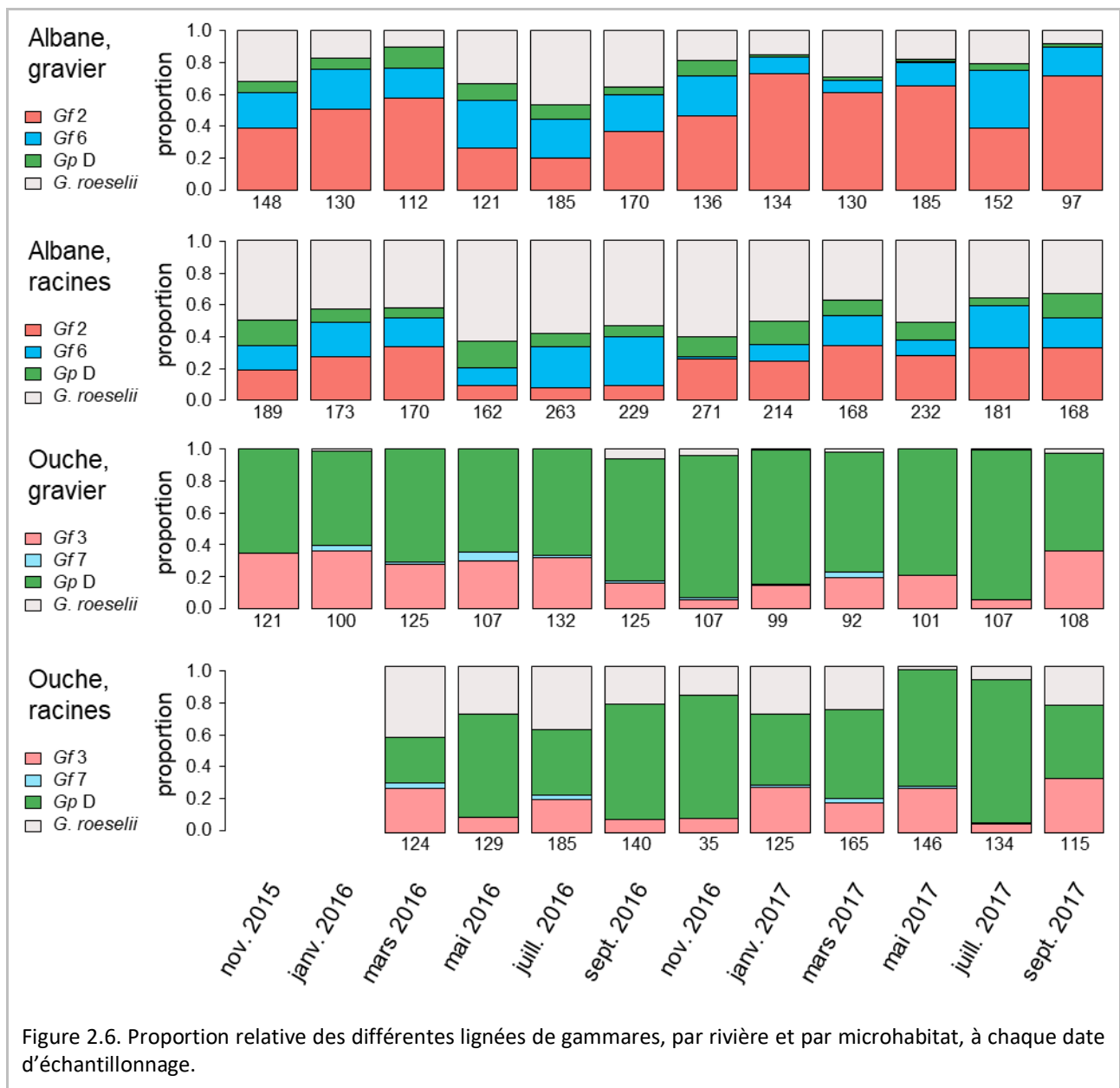
Des modèles de régression logistique ont été construits afin d'analyser les variations de proportions des lignées, avec les facteurs fixes *date de pêche, microhabitat* et leur interaction pour chaque rivière. Les deux modèles ont fait l'objet d'une procédure de sélection de modèle à l'aide du package R MuMIn (v1.43.17 ; Bartoń, 2009). Dans les deux cas, les deux facteurs et leur interaction sont retenus (tableau 2.3). Les proportions relatives des lignées entre les dates de pêche sont donc variables et leur répartition entre microhabitats est très différente pour chaque rivière (figure 2.6). Il est cependant important de noter que lorsque l'on cumule les deux microhabitats de chaque rivière, toutes les lignées de gammares sont présentes sur quasiment l'ensemble de nos dates d'échantillonnage. Cependant, afin de prendre en compte la variation temporelle et micro-locale, les analyses suivantes se feront donc séparément pour les rivières et leurs microhabitats.

Tableau 2.3 - Résultats de la sélection de modèles pour l'Albane et l'Ouche. Seuls les deux premiers modèles sont présentés.

Albane									
(Int)	facteur			adj R ²	ddl	logLik	AICc	delta	poids
	date	habitat	date x habitat						
0.4678	+	+	+	0.1941	24	-2300	4649	0	1
0.3743	+	+		0.1813	13	-2322	4670	21	0

Ouche									
(Int)	facteur			adj R ²	ddl	logLik	AICc	delta	poids
	date	habitat	date x habitat						
0.6318	+	+	+	0.1007	22	-1260	2565	0	0.997
0.6318	+	+		0.0837	13	-1276	2577	12	0.002

Les proportions relatives des différentes lignées sont variables en fonction du temps, mais dans l'Albane, *Gf 2* et *G. roeselii* sont le plus souvent les lignées les plus fréquentes. Dans l'Ouche, *Gp D* est la lignée majoritaire, alors que *Gf 3* et *G. roeselii* y ont été échantillonnées régulièrement. Dans cette rivière, la lignée la moins fréquente, *Gf 7*, n'est pas systématiquement trouvée dans les échantillons, et si faiblement représentée au point qu'on doit presque la considérer comme absente. Dans les deux rivières, *G. roeselii* est présent essentiellement au niveau des racines, au niveau des berges, au point de représenter plus de la moitié des gammares pêchés dans ce microhabitat de l'Albane.



2.4.3. Toutes les lignées d'hôtes se reproduisent-elles sur les sites ?

2.4.3.1. Analyse de la reproduction

Reproduction dans l'Albane

Dans l'Albane, des femelles gravides ont été récoltées à chaque date d'échantillonnage chez *Gf 2* et *Gf 6*, avec quelques variations temporelles de fréquence (figure 2.7). Des femelles gravides *G. roeselii* et *Gp D* ont également été récoltées la plupart du temps. Pour *Gp D*, il est difficile de savoir si les absences étaient dues à des effectifs trop petits, mais pour *G. roeselii*, il semble que les périodes hivernales soient des périodes de faible reproduction.

La proportion de femelles gravides est expliquée par le microhabitat, la lignée d'amphipodes et leur interaction (régression logistique construite avec les facteurs *microhabitat* et *lignée* en facteurs fixes et avec la *date de pêche* en facteur aléatoire, package lme4 v.1-27.1, Bates *et al.*, 2014 ; sélection de modèle réalisée avec le package MuMIn ; tableau 2.4).

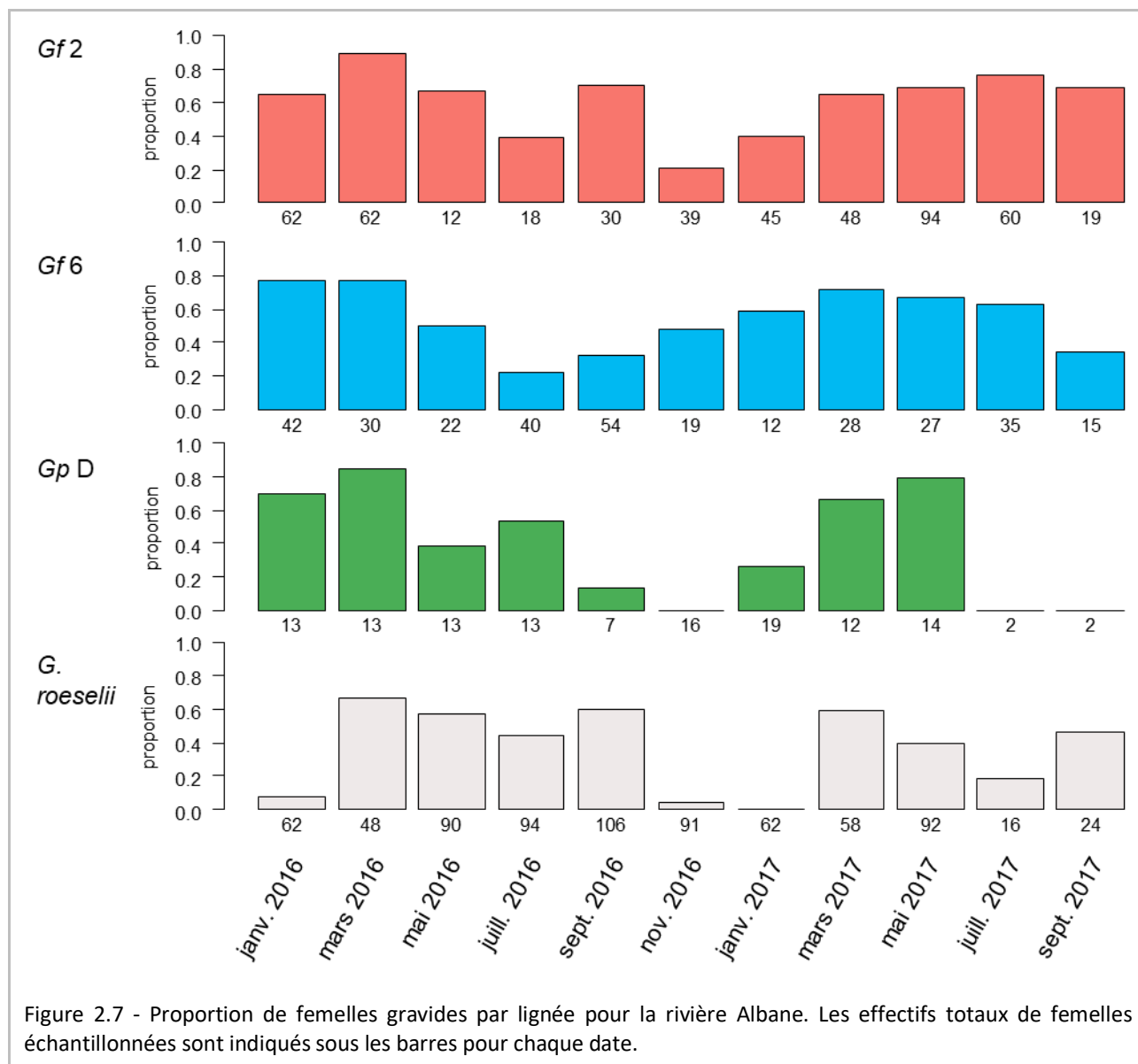
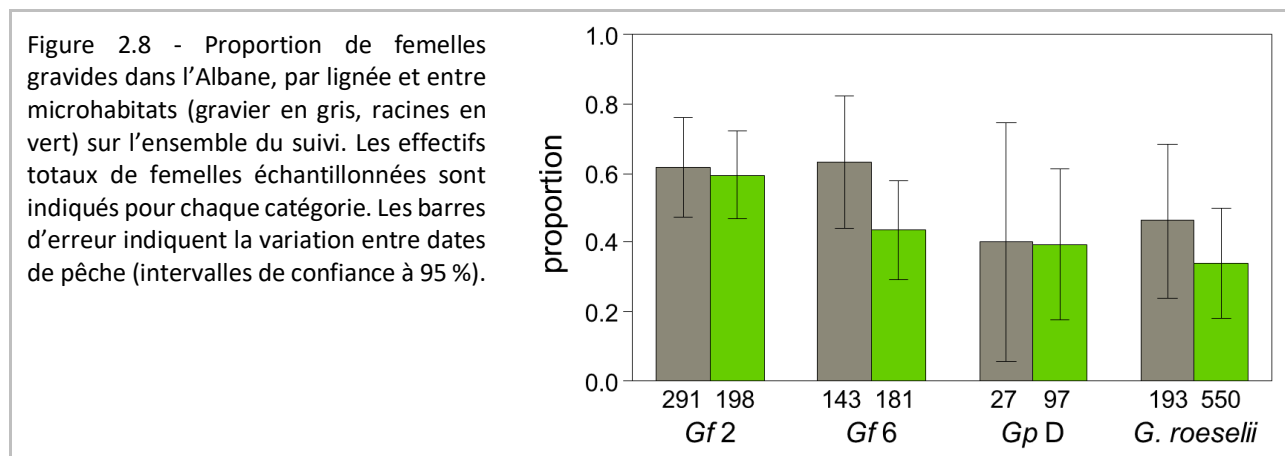


Figure 2.7 - Proportion de femelles gravides par lignée pour la rivière Albane. Les effectifs totaux de femelles échantillonnées sont indiqués sous les barres pour chaque date.

Tableau 2.4 - Résultat de la sélection de modèle expliquant la proportion de femelles gravides pour les gammares de l'Albane. La date de pêche est incluse comme facteur aléatoire. Les modèles sont comparés sur la base de la différence d'AIC corrigé, le poids indique la part de variation expliquée par le modèle considéré. Seuls les modèles avec un $\Delta AIC < 2$ sont présentés.

(Int)	facteur			adj R ²	ddl	logLik	AICc	delta	poids
	habitat	lignée	habitat x lignée						
0.5915	+	+	+	0.2078	9	-1022	2061.8	0	0.696
0.7450	+	+		0.2026	6	-1026	2063.5	1.66	0.304

Toujours dans l'Albane, si on modélise chaque lignée d'hôte séparément avec seulement le *microhabitat* en effet fixe et la *date de pêche* en facteur aléatoire, on observe un effet clair du microhabitat uniquement chez *G. roeselii*, et un effet à la limite de la significativité pour *Gf 6* (*Gf 2*: $\chi^2 = 0.1025$, 1 ddl, $p = 0.7488$; *Gf 6*: $\chi^2 = 3.6659$, 1 ddl, $p = 0.05554$; *Gp D*: $\chi^2 = 0.0332$, 1 ddl, $p = 0.8553$; *G. roeselii*: $\chi^2 = 8.2834$, 1 ddl, $p = 0.004$). Chez ces deux lignées, les femelles gravides sont plus fréquentes dans les graviers alors que la répartition est la même entre microhabitats pour *Gf 2* et *Gp D* (figure 2.8).

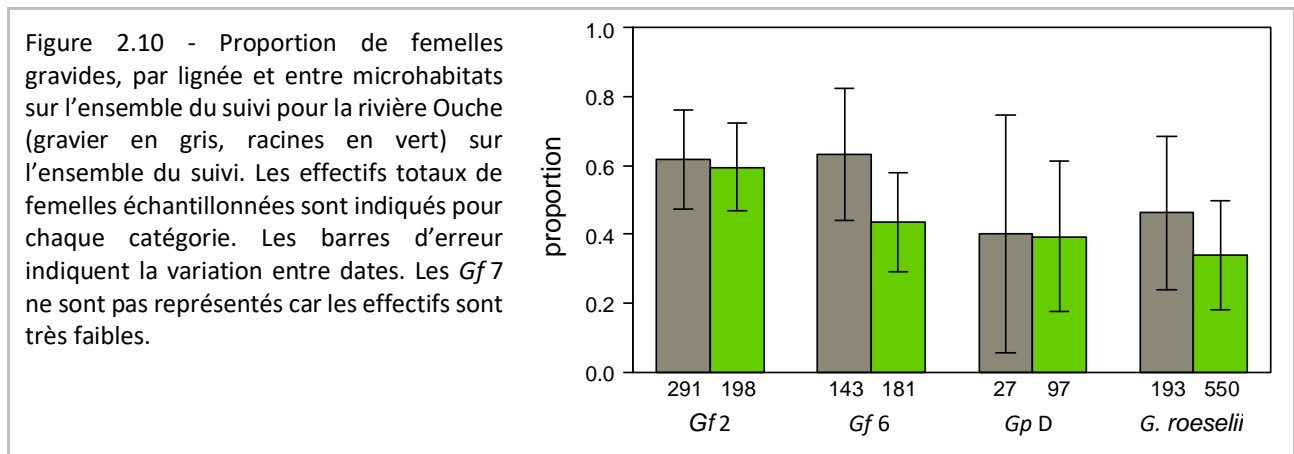
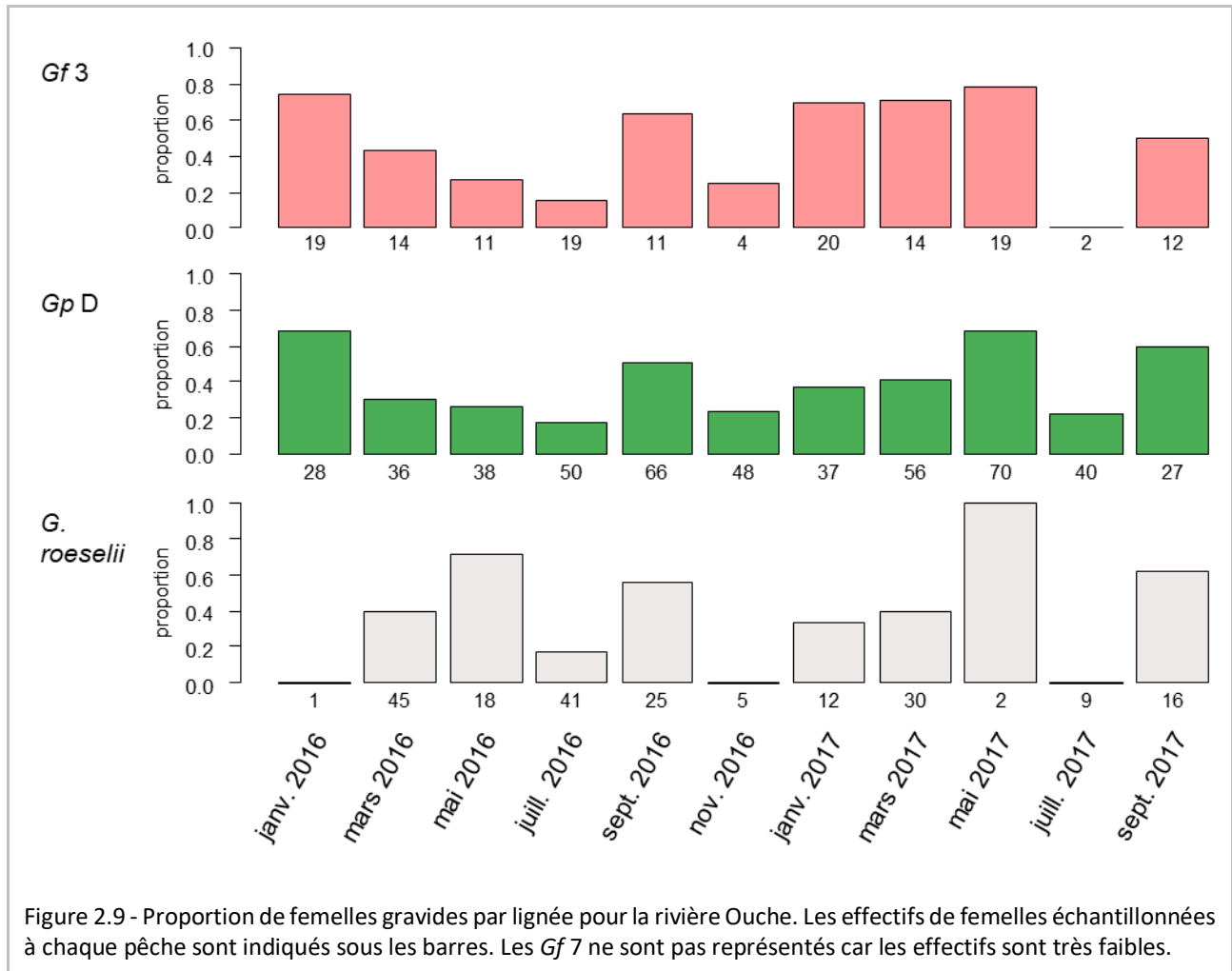


Reproduction dans l'Ouche

Dans l'Ouche, seuls 10 *Gf 7* ont été récoltés sur l'ensemble du suivi. Cette lignée n'est donc pas intégrée aux analyses. De plus, les deux premières dates de pêche sont supprimées puisque aucun gammare n'a été trouvé dans les racines lors de ces campagnes (voir figure 2.9). Dans cette rivière, la proportion de femelles gravides est expliquée par le microhabitat, la lignée d'amphipodes mais pas leur interaction (tableau 2.5). La modélisation réalisée séparément pour chaque lignée montre une différence de proportion de femelles gravides entre microhabitats seulement pour *Gp D* (*Gf 3*: $\chi^2 = 0.4115$, 1 ddl, $p = 0.5212$; *Gf 7* non testé; *Gp D*: $\chi^2 = 4.4877$, 1 ddl, $p = 0.03414$; *G. roeselii*: $\chi^2 = 0.0741$, 1 ddl, $p = 0.7855$). Les femelles gravides sont plus fréquentes dans les racines (figure 2.10).

Tableau 2.5 - Résultat de la sélection de modèle pour les gammares de l'Ouche. Seuls les deux premiers modèles sont présentés. Poids : part de la variation expliquée par le modèle considéré.

(Int)	facteur			adj R ²	ddl	logLik	AICc	delta	poids
	habitat	lignée	habitat x lignée						
0.0971	+	+		0.1260	5	-501	1013	0	0.498
-0.0686		+		0.1196	4	-503	1015.2	2.13	0.171



Graphiquement, au sein des lignées et pour chaque rivière, on peut aisément voir que les proportions de femelles gravides varient également en fonction de la date de pêche, avec des périodes de fortes proportions et d'autres périodes de « creux » qui semblent se répéter d'une année sur l'autre, ce qui suggère des pics saisonniers de reproduction (figures 2.7 et 2.9). De tels pics sont connus chez les amphipodes (Hynes, 1955; Roux, 1970; Pöckl, 1993). Cependant, il semblerait que ces pics diffèrent entre nos deux rivières : on peut ainsi suggérer des pics de reproduction en hiver et au printemps dans la rivière Albane, pour quasiment toutes les lignées d'amphipodes, alors que le pic est plus hivernal et automnal dans l'Ouche. Ces périodes de reproduction seront analysées plus finement lors de l'examen des cohortes de taille (voir plus loin).

2.4.3.2. Sexe ratio

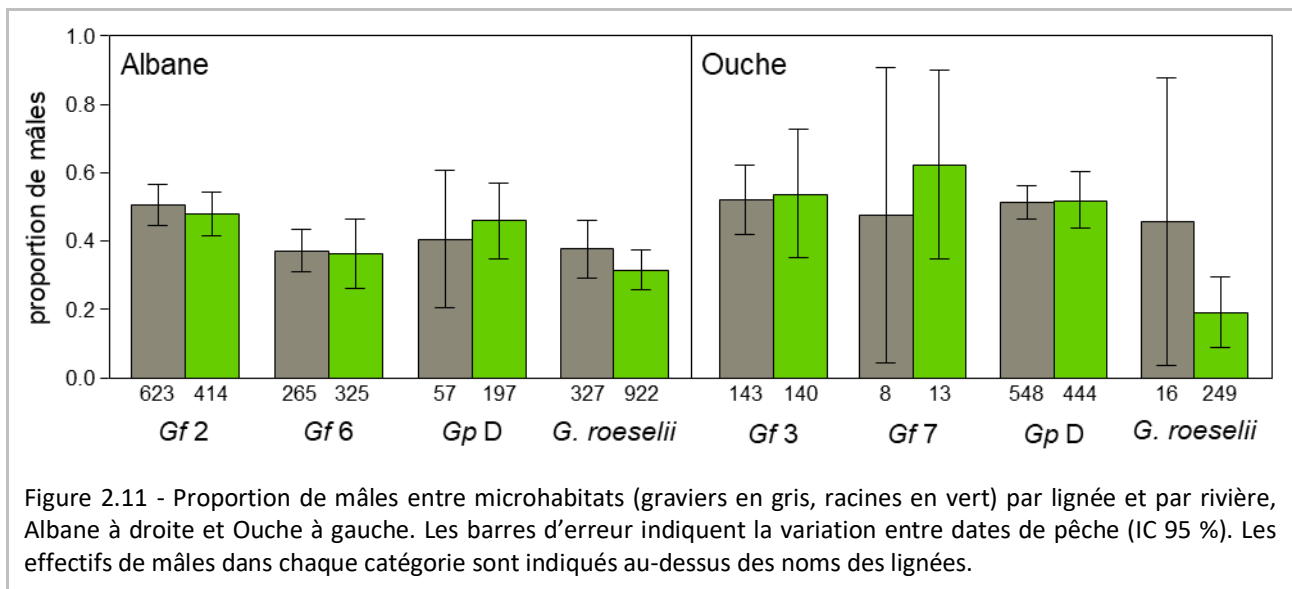
Pour tester la stabilité des proportions de mâles et de femelles dans le temps, des modèles de régression logistique binomiale ont été construits. Le modèle complet intégrait la *lignée*, le *microhabitat* et leur interaction comme effets fixes et la *date de pêche* comme effet aléatoire pour tenir compte du caractère répété des mesures dans le temps (package lme4 v.1-27.1, Bates *et al.*, 2014). Les tableaux 2.6 et 2.7 présentent les résultats, respectivement pour l'Albane et l'Ouche, de la sélection de modèle réalisée avec le package MuMIn (Bartoń, 2009). Pour les deux rivières, seul le facteur *lignée* est significatif dans le modèle le plus parcimonieux.

Tableau 2.6 - Résultat de la sélection de modèle expliquant le sexe-ratio chez les gammarés de l'Albane. Seuls les deux premiers modèles sont présentés.

(Int)	facteur			adj R ²	ddl	logLik	AICc	delta	poids
	habitat	lignée	habitat x lignée						
-0.029		+		0.0291	5	-2073	4155.8	0	0.719
-0.029	+	+		0.0291	6	-2073	4157.8	2.01	0.263

Tableau 2.7 - Résultat de la sélection de modèle expliquant le sexe-ratio chez les gammarés de l'Ouche. Seuls les deux premiers modèles sont présentés.

(Int)	facteur			adj R ²	ddl	logLik	AICc	delta	poids
	habitat	lignée	habitat x lignée						
0.2332		+		0.0693	5	-1185	2381.2	0	0.632
0.2388	+	+		0.0693	6	-1185	2383.2	2	0.233



Dans l'Albane, le sexe-ratio est presque équilibré chez *Gf 2*. Chez *Gf 6* et *Gp D*, des déficits de mâles sont observés (environ 40 % en moyenne), mais avec de fortes variations entre dates (figure 2.11), qui pourraient s'expliquer par les faibles échantillons de ces deux lignées à chaque date (voir figure 2.6). En revanche, un fort biais en faveur des femelles, stable, est observé tout au long du suivi chez *G. roeselii* (40 % de mâles en moyenne dans les graviers, et 30 % dans les racines), avec de forts effectifs.

Dans l'Ouche, le sexe ratio moyen est équilibré chez *Gf 3* et *Gp D*. Il n'est pas possible de conclure pour *Gf 7* vu les trop faibles effectifs. *G. roeselii* montre, comme dans l'Albane, un fort biais en faveur des femelles dans les racines (20 % de mâles en moyenne), alors que trop peu d'individus ont été échantillonnés dans les graviers pour pouvoir conclure (figure 2.11).

Globalement, cependant, des individus des deux sexes sont disponibles pour les parasites acanthocéphales tout au long de l'année, malgré un déficit de mâles régulier chez *G. roeselii*.

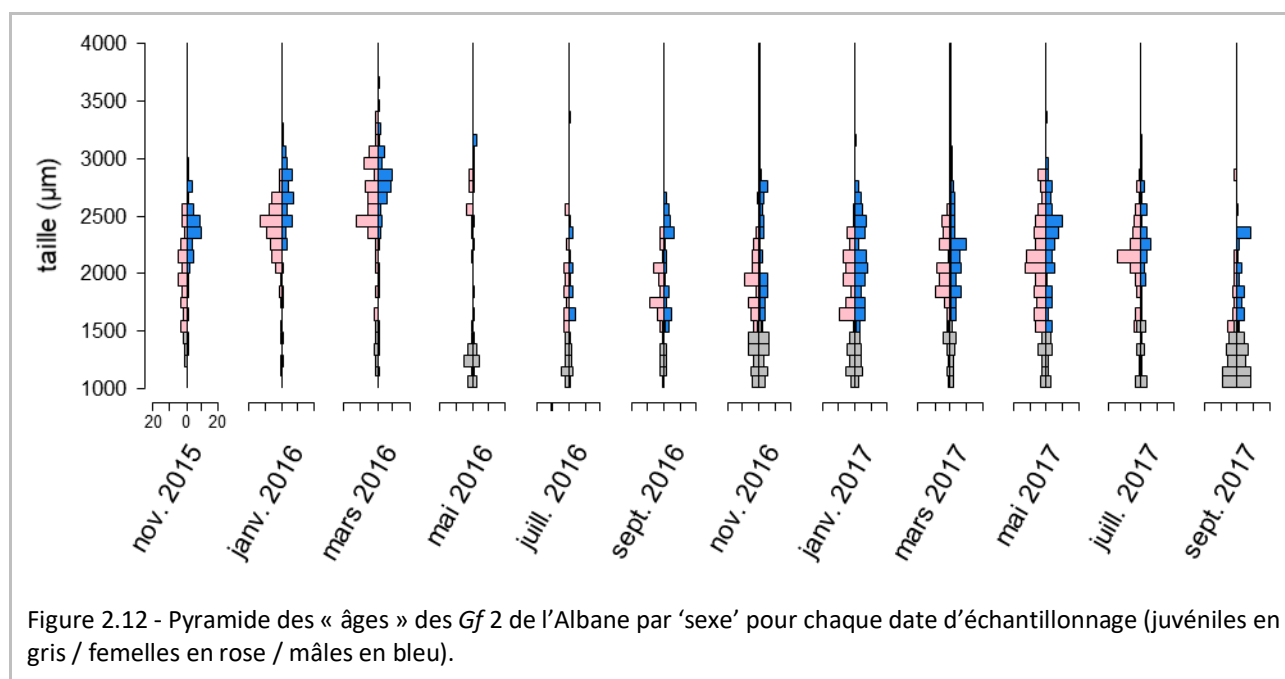
2.4.3.3. En bref...

Ainsi, même si les proportions entre lignées peuvent varier entre les deux microhabitats étudiés, les variations dans ces proportions, ainsi que celles dans la distribution entre sexes et la proportion de femelles reproductives, y sont souvent identiques. Ces microhabitats seront donc regroupés pour l'analyse suivante des cohortes.

2.4.4. Cohortes

Les tailles des gammares ont été utilisées comme une approximation de leur âge (cf. méthodes). Les femelles sont plus petites que les mâles dans tous les échantillons testables (tests de Kolmogorov-Smirnov ; pour l'Albane, *Gf 2* : $D = 0.16798$, $p = 9.556e-07$; *Gf 6* : $D = 0.16394$, $p = 0.001162$; *Gp D* : $D = 0.24386$, $p = 0.001345$; *G. roeselii* : $D = 0.10199$, $p = 0.0114$; Ouche, *Gf 3* : $D = 0.17487$, $p = 0.008875$; *Gf 7*, 25 adultes seulement ; *Gp D* : $D = 0.32971$, $p < 2.2e-16$; *G. roeselii* : beaucoup moins de mâles, $D = 0.095035$, $p = 0.7837$). Ce résultat est classique chez les gammares (cf. McCabe & Dunn (1997) par exemple).

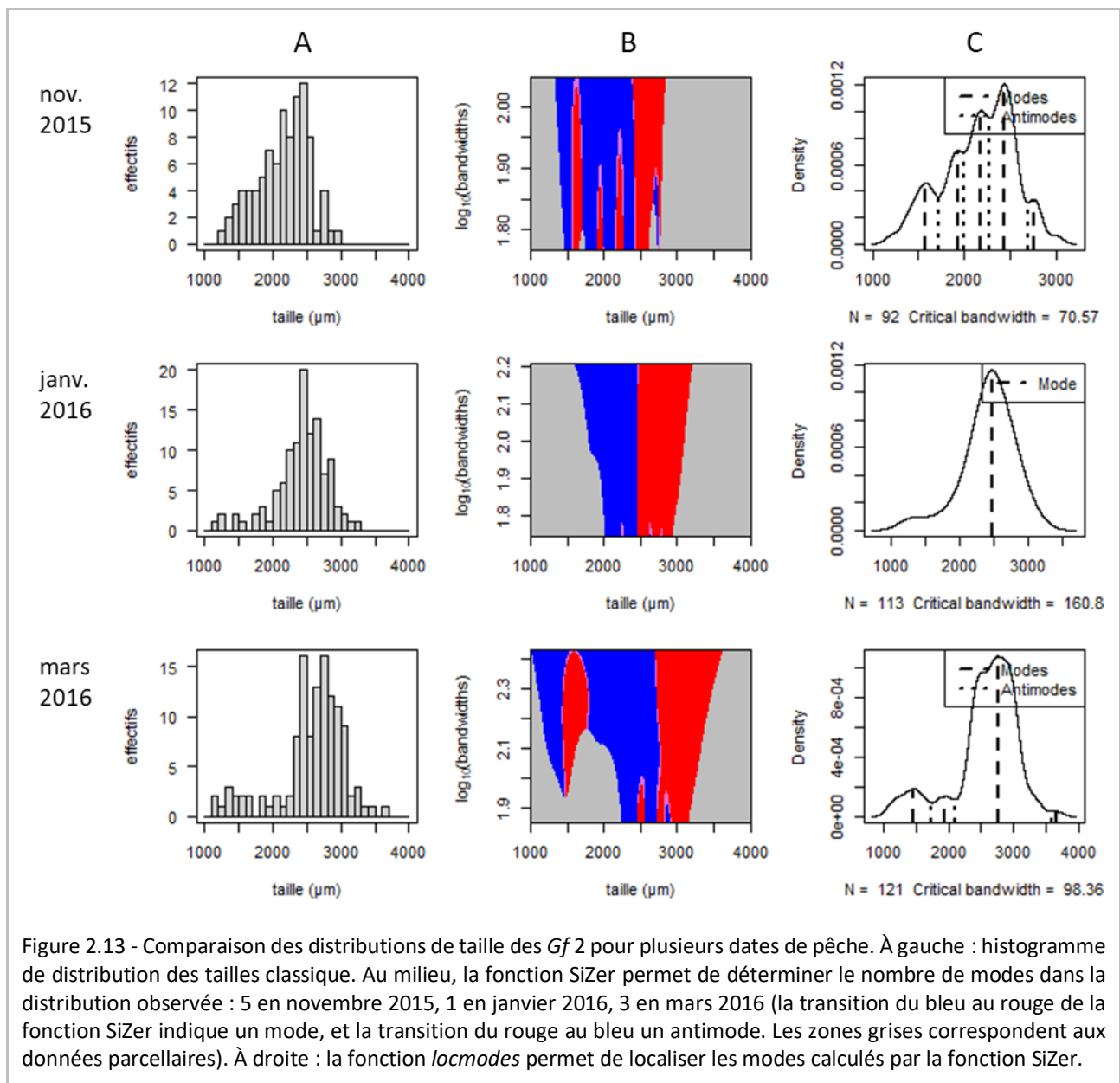
La figure 2.12 montre la dynamique dans le temps des pyramides des âges/tailles par sexe pour *Gf 2* sur l'ensemble du suivi, qui illustre ce que l'on retrouve chez toutes les lignées montrant des effectifs suffisants. On peut remarquer qu'à chaque pic de femelles correspond souvent un pic de mâles de taille légèrement supérieure, probablement de même âge.



Afin de pouvoir analyser et interpréter les données, la taille des gammares récoltés à chaque pêche a été étudiée indépendamment du sexe, et il faudra donc tenir compte, dans leur interprétation, de ce dimorphisme sexuel pour la taille, car des pics d'abondance proches pourront correspondre soit à des générations de femelles et mâles de même âge, soit à des cohortes de gammares nés à quelques semaines/mois d'intervalle.

L'analyse de ces cohortes a été effectuée de manière détaillée à l'aide du package R *multimode* (v. 1.5 ; Ameijeiras-Alonso *et al.*, 2018), qui a permis de déterminer le nombre de modes dans les distributions de tailles de chaque date. La figure 2.13 illustre le principe de cette analyse pour le début du suivi de la lignée *Gf 2* dans l'Albane. La figure représente, pour chaque date, l'histogramme des distributions de tailles des *Gf 2* (figure 2.13 A), la détermination graphique du nombre de modes

(fonction SiZer ; figure 2.13 B) et la localisation des modes (fonction locmodes ; figure 2.13 C). Les analyses complètes par lignée et par rivière sont consultables en [annexe C](#) (page 160).



Pour plus de clarté, les résultats sont présentés ci-dessous sous forme de graphes en violons. Les modes déterminés par *multimode* pour chaque lignée à chaque date sont indiqués à l'intérieur des violons.

2.4.4.1. Albane

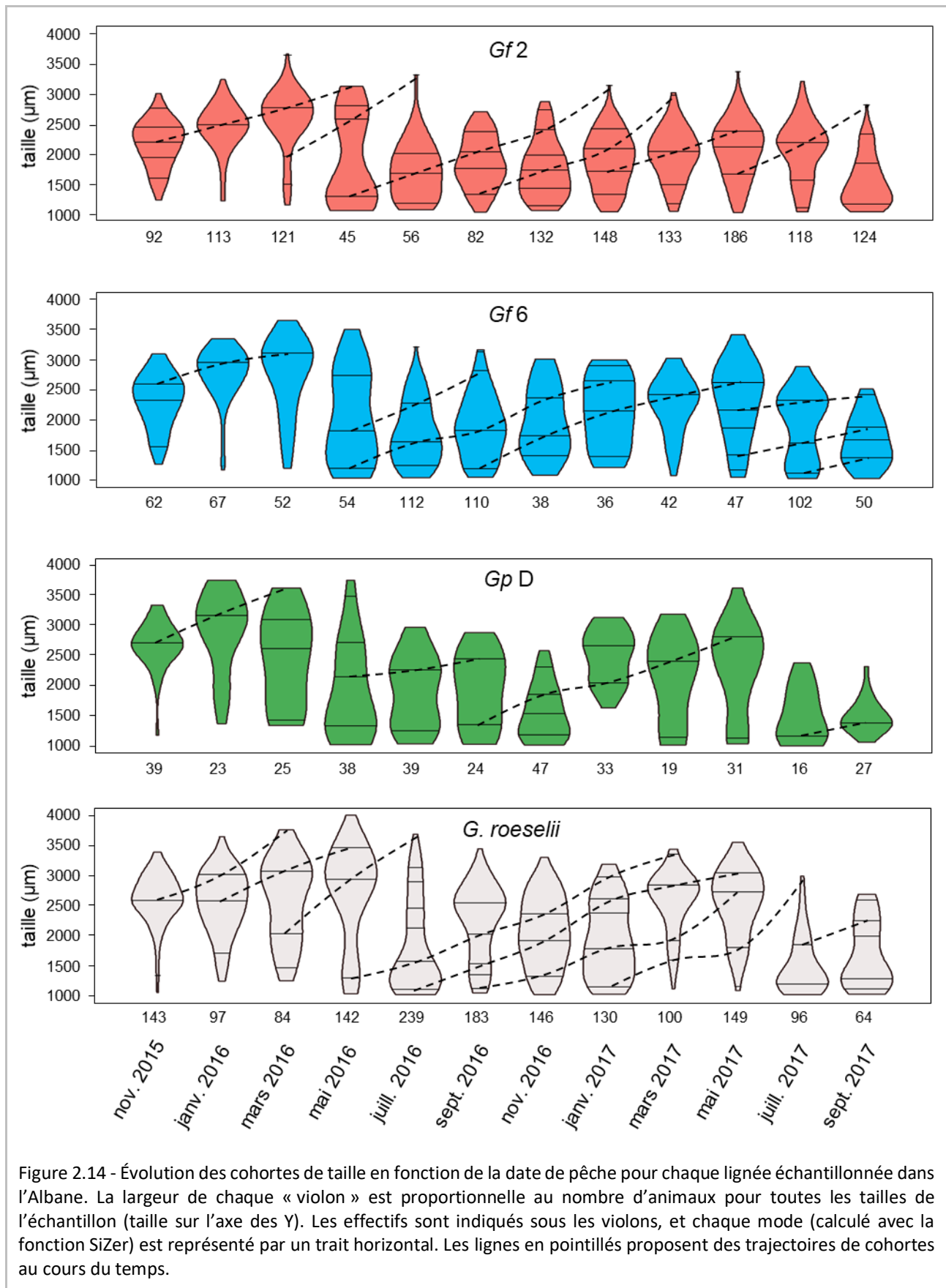


Figure 2.14 - Évolution des cohortes de taille en fonction de la date de pêche pour chaque lignée échantillonnée dans l'Albane. La largeur de chaque « violon » est proportionnelle au nombre d'animaux pour toutes les tailles de l'échantillon (taille sur l'axe des Y). Les effectifs sont indiqués sous les violons, et chaque mode (calculé avec la fonction SiZer) est représenté par un trait horizontal. Les lignes en pointillés proposent des trajectoires de cohortes au cours du temps.

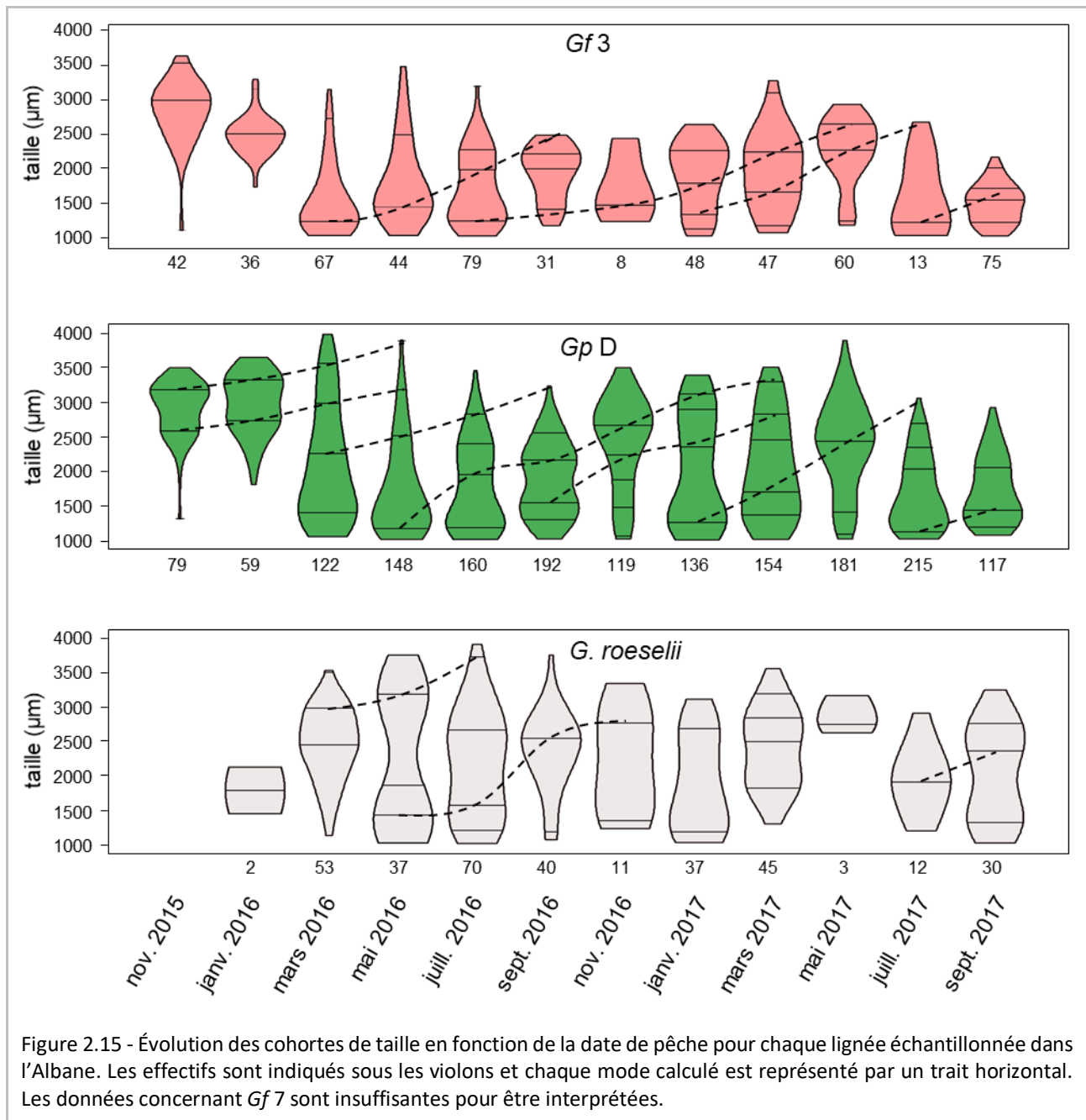
Chez les *Gf 2* de l'Albane (figure 2.14), on observe en novembre 2015 plusieurs cohortes d'adultes, qui continuent à grandir légèrement entre janvier et mars 2016. Entre mars et mai, les grands individus disparaissent (commencent vraisemblablement à mourir) et une cohorte de juvéniles apparaît. En juillet, tous les adultes de la première cohorte suivie sont morts, les juvéniles de mai sont devenus adultes et un nouveau pic de juvéniles apparaît. En septembre, les jeunes adultes ont grandi et ils se reproduisent entre septembre et novembre, date à laquelle on observe l'apparition de deux nouvelles cohortes de juvéniles. On peut observer en novembre deux cohortes de juvéniles, deux de jeunes adultes et deux d'adultes plus âgés. En janvier 2017, les adultes les plus gros ont disparu de la population et les quatre jeunes cohortes ont grandi. Les gammares continuent à grandir entre mars et juillet et un nouveau pic de reproduction se produit pendant l'été, donnant une nouvelle cohorte de juvéniles en septembre 2017. Cette lignée se reproduit donc avec plusieurs cohortes, voire plusieurs générations chevauchantes, par an.

Chez *Gf 6* on trouve également surtout des adultes en novembre 2015. Ils continuent à grandir tout au long de l'hiver 2015-2016, pendant lequel se produit un pic de reproduction. On observe ainsi en mai 2016 une grande cohorte de juvéniles et deux générations d'adultes. En juillet, les adultes les plus âgés sont morts et une nouvelle génération de juvéniles apparaît. Un troisième pic de reproduction a lieu dans l'été pour donner une nouvelle cohorte de juvéniles en septembre 2016. Un nouvel épisode de reproduction a lieu en début d'hiver, et la génération d'adultes les plus âgés, très abondants en janvier 2017 a disparu en mars. Les jeunes adultes de janvier deviennent la cohorte la plus abondante au mois de mars et continuent de grandir jusqu'au mois de juillet. Un épisode de reproduction a eu lieu au printemps et une nouvelle génération est retrouvée dans la pêche de juillet 2017. On retrouve cette génération en septembre, tandis que les plus grands adultes de juillet commencent à disparaître.

Les effectifs de *Gp D* de l'Albane ne permettent pas une description détaillée mais on peut quand même noter des générations d'adultes et de juvéniles qui se succèdent dans le temps.

Chez *G. roeselii*, une cohorte principale détectée en septembre 2015 grandit et se reproduit pendant l'hiver pour donner naissance à une nouvelle génération en mars 2016. Cette génération d'adultes disparaît en juillet et une nouvelle cohorte de juvéniles apparaît dans la population. Les adultes trouvés en septembre 2016 se reproduisent pendant l'hiver pour donner une nouvelle génération de juvéniles en janvier 2017. Les autres générations continuent leur croissance et un épisode de reproduction semble avoir lieu pendant l'été pour donner un pic de juvéniles très marqué en juillet 2017.

2.4.4.2. Ouche



Dans l'Ouche (figure 2.15), chez *Gf 3* ce sont majoritairement des adultes de grande taille qui sont trouvés en septembre 2015. On ne les retrouve pas en novembre mais on identifie une cohorte de 2500 µm qui n'a pas été détectée en septembre. Une reproduction semble avoir lieu pendant l'hiver, associée à une disparition des grands adultes, et on trouve en mars 2016 essentiellement des juvéniles. On peut suivre la croissance de cette cohorte de mai à septembre. Une nouvelle cohorte de juvéniles est observée en juillet, dont on peut suivre la croissance jusqu'en mai 2017. Une génération de jeunes apparaît en janvier 2017, dont la croissance est plus difficile à suivre.

Les *Gf7* ont été trouvés de manière très sporadique, il n'est pas possible d'interpréter leur distribution dans le temps, mais sur l'ensemble du suivi, des gammares de toutes les tailles ont été trouvés.

Chez *Gp D*, là encore, on trouve essentiellement des individus de grande taille au début du suivi. Trois pics de juvéniles apparaissent consécutivement entre mars et juillet 2016. On peut suivre la croissance de cette dernière cohorte jusqu'en mai 2017. Un épisode de reproduction au lieu début 2017 et on peut suivre cette cohorte jusqu'en juillet. Cette cohorte se reproduit au printemps et donne naissance à une nouvelle génération en juillet.

La très grande disparité des effectifs dans les échantillonnages consécutifs de *G. roeselii* dans l'Ouche ne permet pas d'interprétation détaillée pour cette espèce.

2.4.4.3. En bref...

Même s'il n'est pas possible de dégager de cycle saisonnier marqué dans les données récoltées, sauf chez *G. roeselii* où la présence de femelles gravides et la production de juvéniles est essentiellement printanière et estivale, on observe dans les deux rivières au moins un mode à chaque date d'échantillonnage, et on peut suivre graphiquement l'apparition, la croissance et la disparition de cohortes au cours du temps pour chaque lignée de gammares. Cette distribution de cohortes de tailles montre que les différentes lignées naissent, grandissent et se reproduisent sur les sites échantillonnés.

Dans l'Albane, des hôtes potentiels de chaque lignée, de taille variable, sont donc disponibles à tout moment pour les parasites. Dans l'Ouche, des individus de toutes tailles des lignées les plus fréquentes, au minimum, sont également disponibles tout au long de l'année.

2.4.5. Variations dans les prévalences en acanthocéphales

Dans l'Albane, la prévalence en acanthocéphales, toutes espèces confondues, est beaucoup plus faible chez les juvéniles que chez les adultes (test global sur l'ensemble des données récoltées : $\chi^2 = 52.08$, 1 ddl, $p < 0.001$, 60 juvéniles infectés sur 986 et 463 adultes sur 3091). Dans l'Ouche, où la prévalence est globalement beaucoup plus faible, le faible nombre de gammares parasités ne permet pas de montrer une différence significative, même si les adultes sont en moyenne 2 fois plus infectés que les juvéniles ($\chi^2 = 1.56$, 1 ddl, $p = 0.212$, 9 juvéniles infectés sur 843 et 32 adultes sur 1774). Pour pouvoir inclure un effet sexe dans les calculs suivants, les juvéniles sont donc supprimés des données analysées.

Les prévalences des deux stades parasitaires mesurées pour chaque espèce d'acanthocéphale sont souvent variables entre dates, toutes lignées hôtes confondues (tests exacts de Fisher ; *P. laevis* : acanthelles, $p = 0.197$, cystacanthès : $p < 0.01$; *P. tereticollis* : acanthelles, $p < 0.001$, cystacanthès $p < 0.01$; *P. minutus* : acanthelles, $p = 0.205$, cystacanthès $p < 0.01$), mais une saisonnalité dans l'occurrence des parasites n'est pas clairement détectée (figure 2.16). Une exception à cette

affirmation peut être trouvée chez *P. minutus*, où l'été semble être la saison où les prévalences sont les plus faibles, tant pour les acanthelles que pour les cystacanthes. Étant donné les faibles effectifs de gammares trouvés parasités, les pêches de l'ensemble du suivi seront groupées pour la suite des analyses.

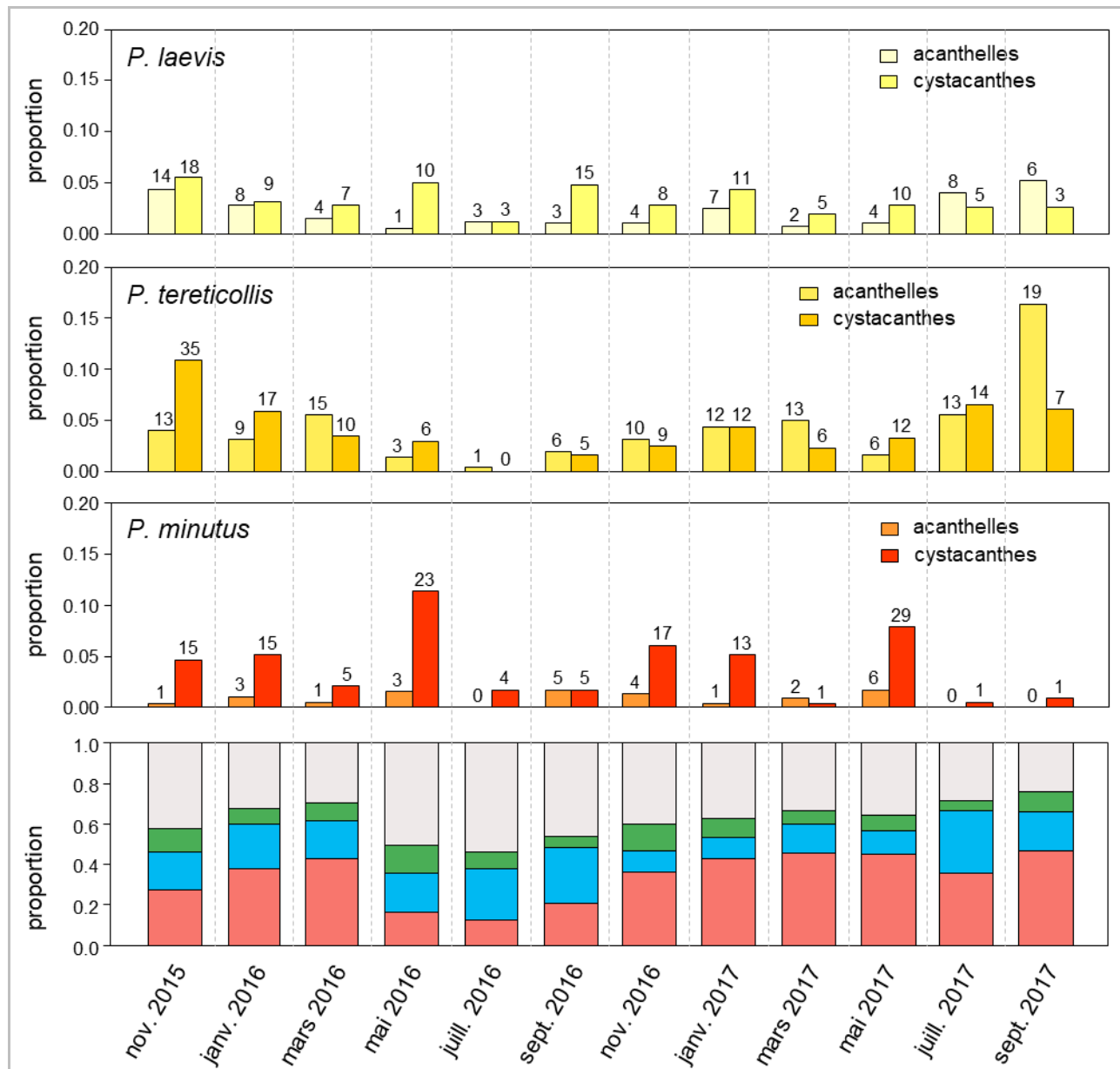


Figure 2.16 - Prévalences en acanthelles et cystacanthes des trois parasites à chaque date de pêche dans l'Albane, toutes lignées hôtes confondues. Les proportions relatives des 4 lignées hôtes à chaque échantillonnage sont représentées pour mémoire en bas du graphique.

» [retour au paragraphe 2.4.6.3](#)

2.4.6. Répartition acanthes / cystacanthes

Le statut parasitaire des gammares a été codé (sain / infecté) et analysé séparément pour chaque rivière, chaque espèce de parasite et pour les deux niveaux de développement des parasites. En effet, comme pour l'analyse de la répartition des gammares, les lignées et leur abondance sont trop différentes entre les deux rivières pour permettre une comparaison directe. Les modèles de régression complets intégraient les facteurs fixes *habitat*, *lignée d'hôte* et *sexe* ainsi que leurs interactions deux à deux, et le facteur *date de pêche* comme facteur aléatoire. J'ai procédé à une sélection automatique de modèle à l'aide du package MuMIn (v1.43.17 ; Bartoń, 2009). À cause des prévalences nulles observées chez certaines lignées, j'ai été contraint de les retirer des analyses présentées ci-dessous pour réussir à obtenir une convergence des modèles. Cette information est précisée dans chaque tableau de résultat.

2.4.6.1. Parasites de l'Albane

Tous les modèles réalisés montrent un effet de la lignée d'hôte sur la prévalence de chaque espèce de parasite, et ceci pour chaque stade de développement (tableaux 2.8 à 2.10). Les effets éventuels de l'habitat et du sexe des hôtes sont interprétés au cas par cas plus bas.

Prévalences en *P. laevis*

Chez les gammares de l'Albane infectés par des *P. laevis* au stade acanthe, les *Gf 2* montrent une plus forte prévalence que les autres lignées (figure 2.17 ; test exacte de Fisher entre *Gf 2* et *Gf 6*, $p = 0.039$). En revanche les prévalences en cystacanthes sont beaucoup plus faibles chez cette lignée, alors que l'on trouve beaucoup plus de *G. roeselii* hébergeant des cystacanthes. Chez cette dernière espèce, l'analyse de l'abondance des cystacanthes en fonction des classes de taille montre une accumulation des cystacanthes chez les animaux les plus grands, donc les plus âgés (figure 2.18 ; comparaison des tailles des individus sains et parasités, test de Kolmogorov-Smirnov, $D = 0.17125$, $p = 0.019$). Le faible nombre de cystacanthes trouvés chez *Gf 2* ne permet malheureusement pas ce type d'analyse, et encore moins chez *Gf 6* et *Gp D*.

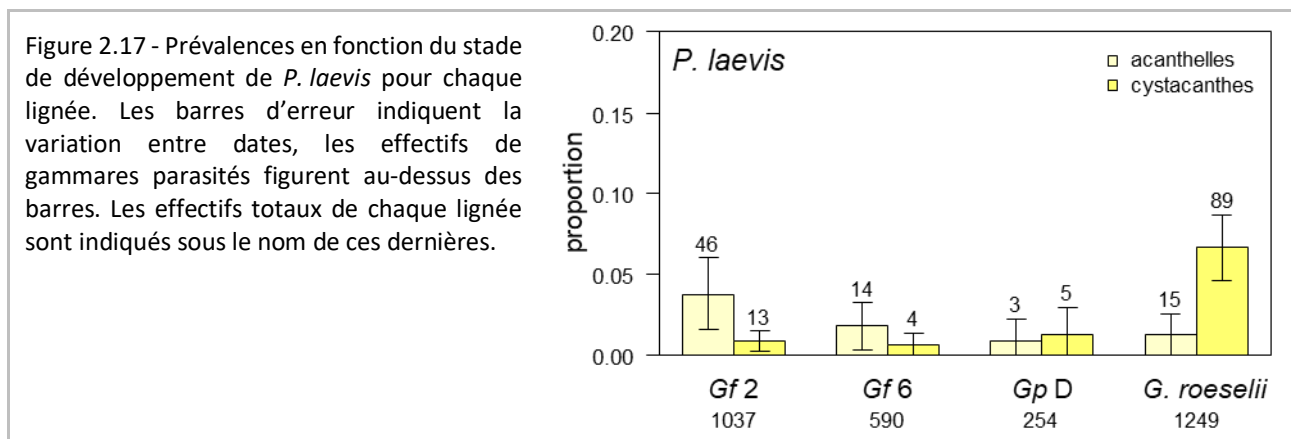


Figure 2.18 - Abondance des cystacanthes des trois espèces de parasites en fonction de la taille des hôtes *G. roeselii* (abondance = nombre total de parasites / nombre total de gammares).

» [retour au paragraphe « Prévalences en *P. minutus* »](#)

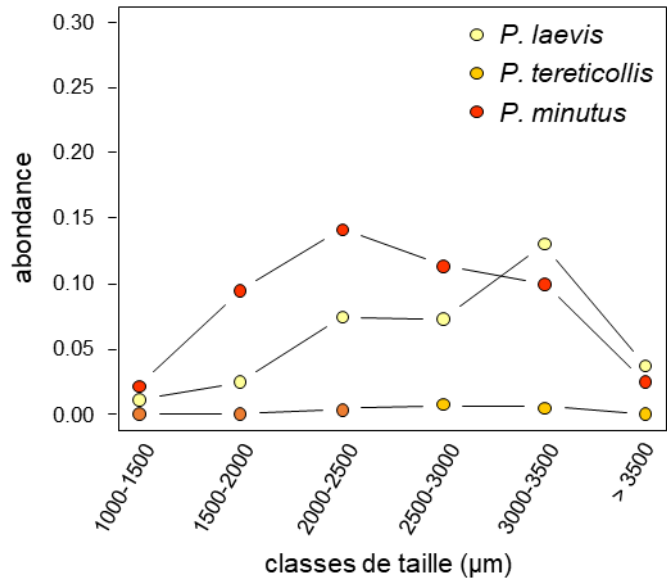


Tableau 2.8 - Modèles les plus parcimonieux ($\delta AIC < 2$) expliquant les prévalences en acanthes et en cystacanthes de *P. laevis*. Les résultats détaillés des tests sont présentés en [annexe D](#) (page 168). hbt : habitat ; lgn : lignée ; hbt×lgn : interaction habitat/lignée ; hbt×sex : interaction habitat/sexe ; lgn×sex : interaction lignée/sexe. Poids : part de la variation expliquée par le modèle considéré.

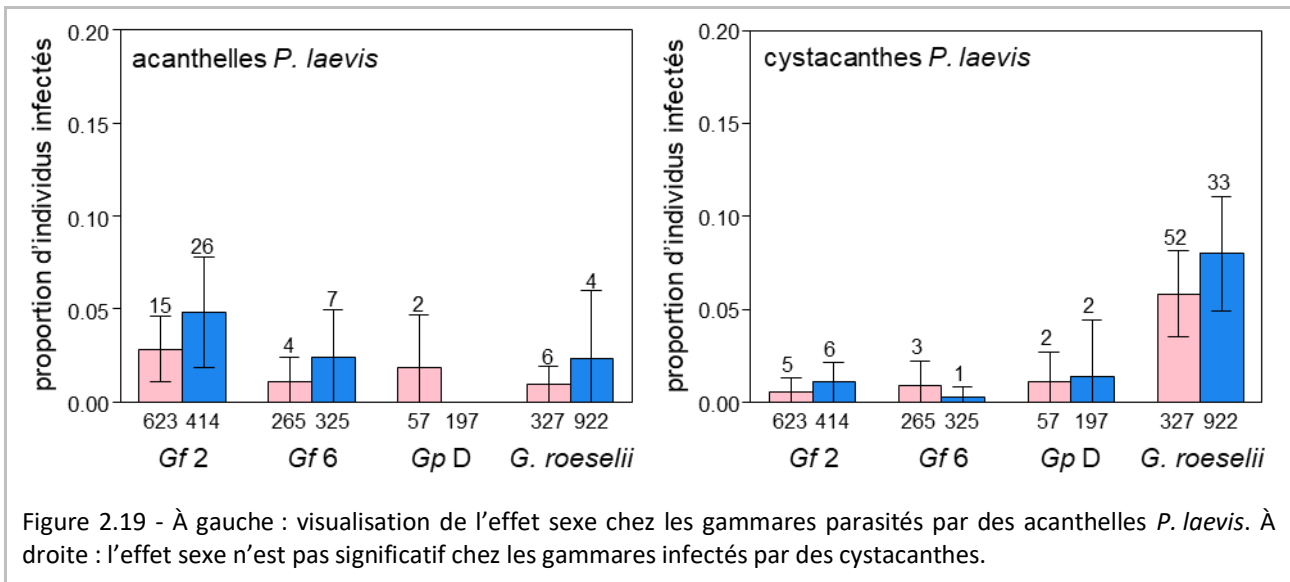
Albane, acanthes <i>P. laevis</i>										
facteur						R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbt×lgn	hbt×sex	lgn×sex					
	+	+				0.071	5	569.7	0	0.364
+	+	+		+		0.076	7	571.3	1.57	0.166
+	+	+				0.072	6	571.3	1.59	0.165

Lignée d'hôte supprimée : *Gp D* (2 infectés)

Albane, cystacanthes <i>P. laevis</i>										
facteur						R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbt×lgn	hbt×sex	lgn×sex					
	+	+				0.105	4	796.6	0	0.281
+	+	+		+		0.107	5	797.1	0.49	0.221
+	+	+				0.105	5	798.2	1.64	0.124

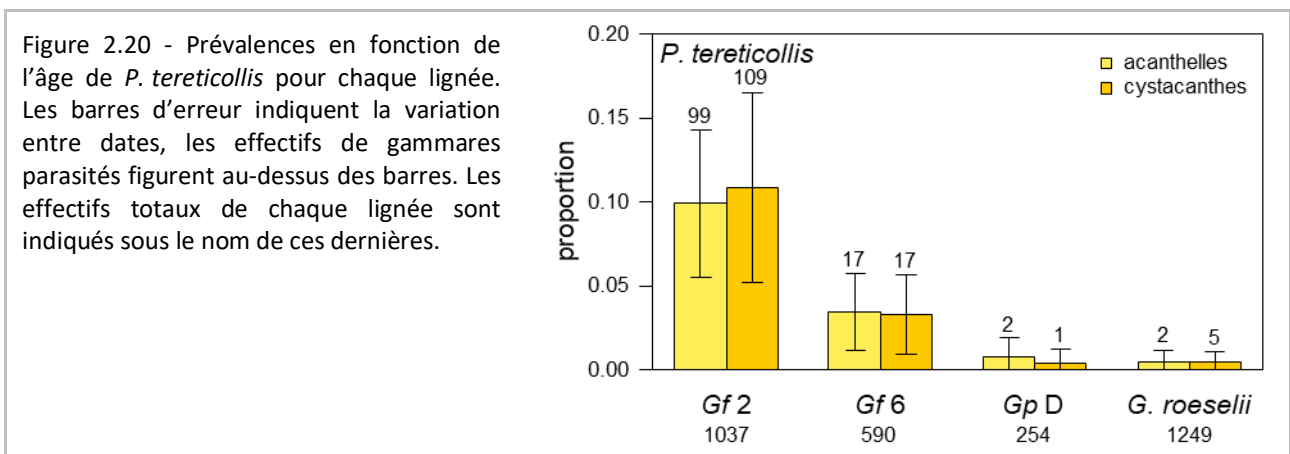
Lignée d'hôte supprimée : *Gp D* (2 infectés)

Un effet du sexe est observé dans tous les modèles les plus parcimonieux sélectionnés chez les gammares de l'Albane parasités par des acanthes de *P. laevis*, sans interaction avec les lignées d'hôtes, les mâles étant plus infectés que les femelles (figure 2.19). Cette tendance n'est plus significative au stade cystacanthé dans deux des trois modèles les plus parcimonieux présentés.



Prévalences en *P. tereticollis*

Chez les gammars infectés par *P. tereticollis*, on observe un effet de la lignée d'hôte, qui est du même ordre quel que soit le stade de développement du parasite. Malgré des effectifs d'hôtes analysés conséquents, des prévalences très faibles, à la fois en acanthelles et en cystacanthes, sont observées chez *Gp D* et *G. roeselii* (figure 2.20), qui n'ont pas pu être inclus dans l'analyse. Le modèle de comparaison de prévalence entre *Gf 2* et *Gf 6* indique que *Gf 2* montre une plus forte prévalence en *P. tereticollis* que *Gf 6* (tableau 2.9). Cependant, aucune de ces lignées ne semble accumuler de cystacanthes de *P. tereticollis* en vieillissant (tests de Kolmogorov-Smirnov, *Gf 2* : $D = 0.53621$, $p = 0.6141$; *Gf 6* : $D = 0.32997$, $p = 0.1258$; figure 2.21).



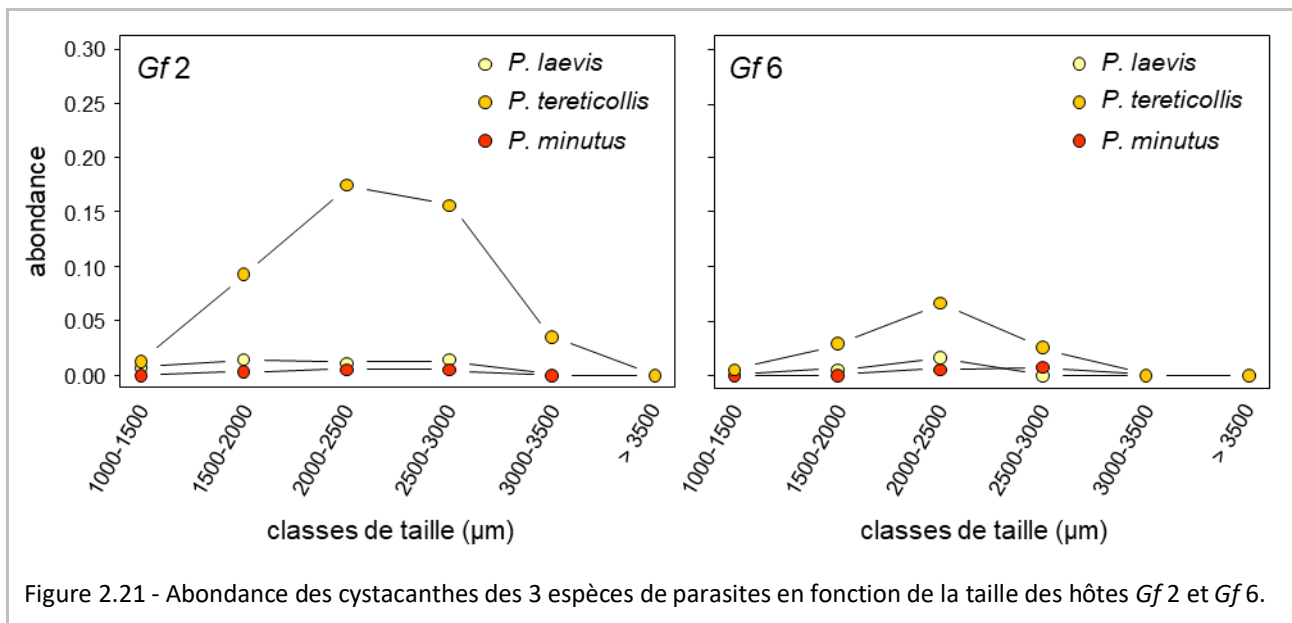


Tableau 2.9 - Comparatif des modèles les plus parcimonieux ($\delta AIC < 2$) expliquant les prévalences en acanthes et en cystacanthes de *P. tereticollis*. Les résultats détaillés des tests sont présentés en [annexe D](#). Poids : part de la variation expliquée par le modèle considéré.

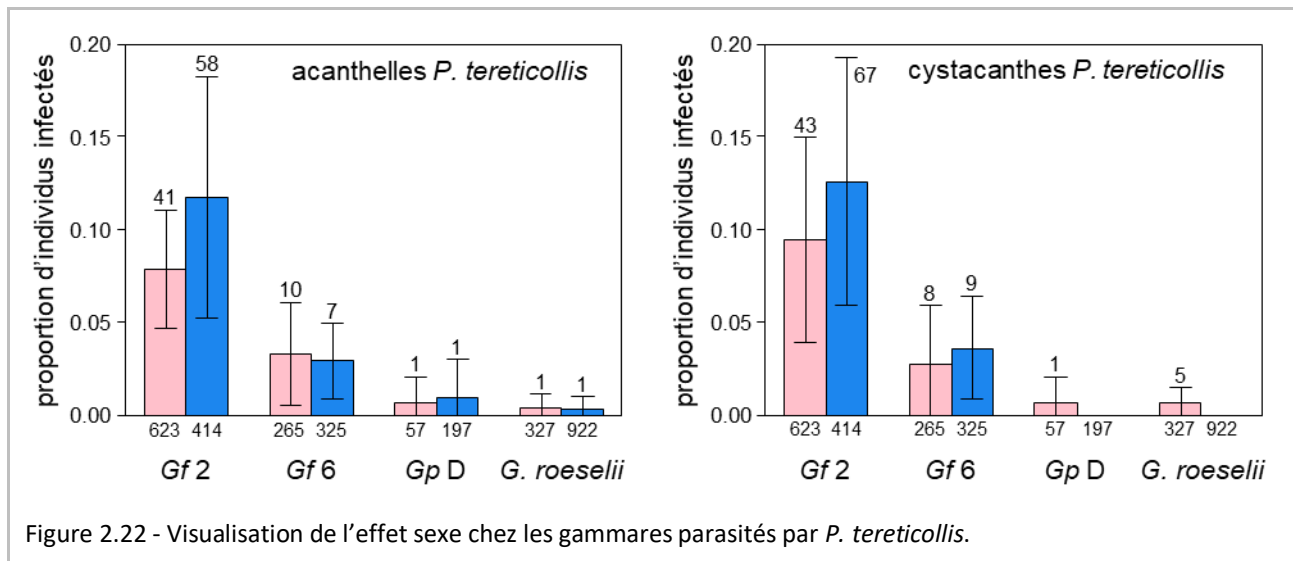
Albane, acanthes <i>P. tereticollis</i>										
facteur						R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbtxlgn	hbtxsex	lgnxsex					
	+	+				0.066	4	800.5		0.193
	+					0.062	3	800.8	0.33	0.163
+	+	+				0.067	5	801.7	1.16	0.108
+	+					0.064	4	802.0	1.46	0.093
+	+			+		0.069	6	802.1	1.66	0.084
	+	+			+	0.066	5	802.3	1.76	0.080

Lignées supprimées : *Gp D* et *G. roeselii*

Albane, cystacanthes <i>P. tereticollis</i>										
facteur						R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbtxlgn	hbtxsex	lgnxsex					
	+	+				0.107	4	824.2		0.374
+	+	+				0.107	5	826.1	1.89	0.145
	+	+			+	0.107	5	826.2	1.98	0.139

Lignées supprimées : *Gp D* et *G. roeselii*

Les modèles les plus parcimonieux montrent un effet du sexe chez les gammarés infectés par *P. tereticollis*, quelle que soit la lignée hôte, à la fois chez les hôtes parasités par des acanthes et des cystacanthes. Les mâles montrent, comme chez *P. laevis*, globalement de plus fortes prévalences (figure 2.22).



Prévalences en *P. minutus*

Les très faibles prévalences en acanthes de *P. minutus* ne permettent pas de dégager de tendance vraiment fiable, si ce n'est que *Gf 2*, *Gf 6* et *G. roeselii* peuvent être infectés et que cette dernière espèce montre éventuellement une plus forte prévalence (figure 2.23). Sur les 363 *Gp D* échantillonnés sur l'ensemble du suivi (juvéniles compris), aucun n'a été trouvé parasité. Pour cause de non convergence, le modèle construit pour les acanthes n'intègre que *G. roeseli*, donc le facteur *lignée* et ses interactions ont dû être retirés. Ce modèle retient un effet *habitat* suggérant que les acanthes de *P. minutus* sont plus fréquentes dans les racines que dans les graviers (figure 2.24).

La très forte proportion de *G. roeselii* infectés par des cystacanthes pourrait suggérer une accumulation du parasite dans cet hôte. Mais l'analyse de l'abondance en cystacanthes de *P. minutus* en fonction de la taille ne confirme pas cette hypothèse (comparaison des tailles des individus sains et parasités, test de Kolmogorov-Smirnov, $D = 0.1069$, $p = 0.173$; voir [figure 2.18](#)).

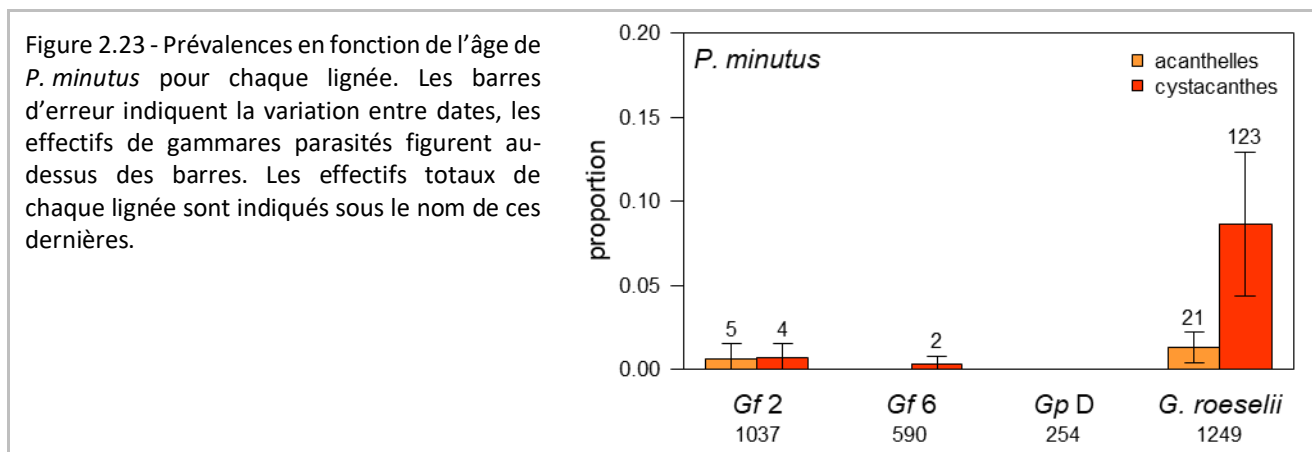


Tableau 2.10 - comparatif des modèles les plus parcimonieux ($\delta AIC < 2$) expliquant les prévalences en acanthes et en cystacanthes de *P. minutus*. Les résultats détaillés des tests sont présentés dans l'annexe D. Poids : part de la variation expliquée par le modèle considéré.

Albane, acanthes <i>P. minutus</i>										
facteur						R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbtxlgn	hbtxsex	lgnxsex					
+						0.022	3	284.5		0.570
+		+				0.023	4	286.3	1.82	0.229

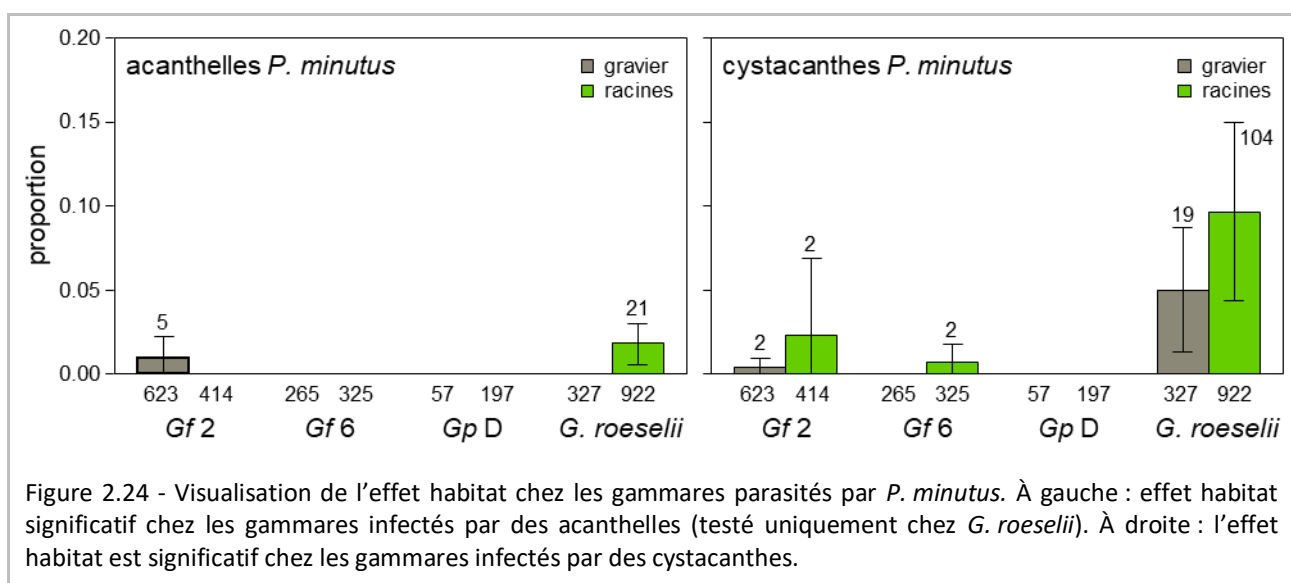
Lignées supprimées : Gf 2, Gf 6 et Gp D

Albane, cystacanthes <i>P. minutus</i>										
facteur						R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbtxlgn	hbtxsex	lgnxsex					
+	+					0.194	4	828.4		0.288
+	+	+				0.195	5	829.6	1.14	0.163
+	+	+			+	0.197	6	830.0	1.55	0.133
+	+		+			0.194	5	830.4	1.98	0.107

Lignées supprimées : Gf 6 et Gp D

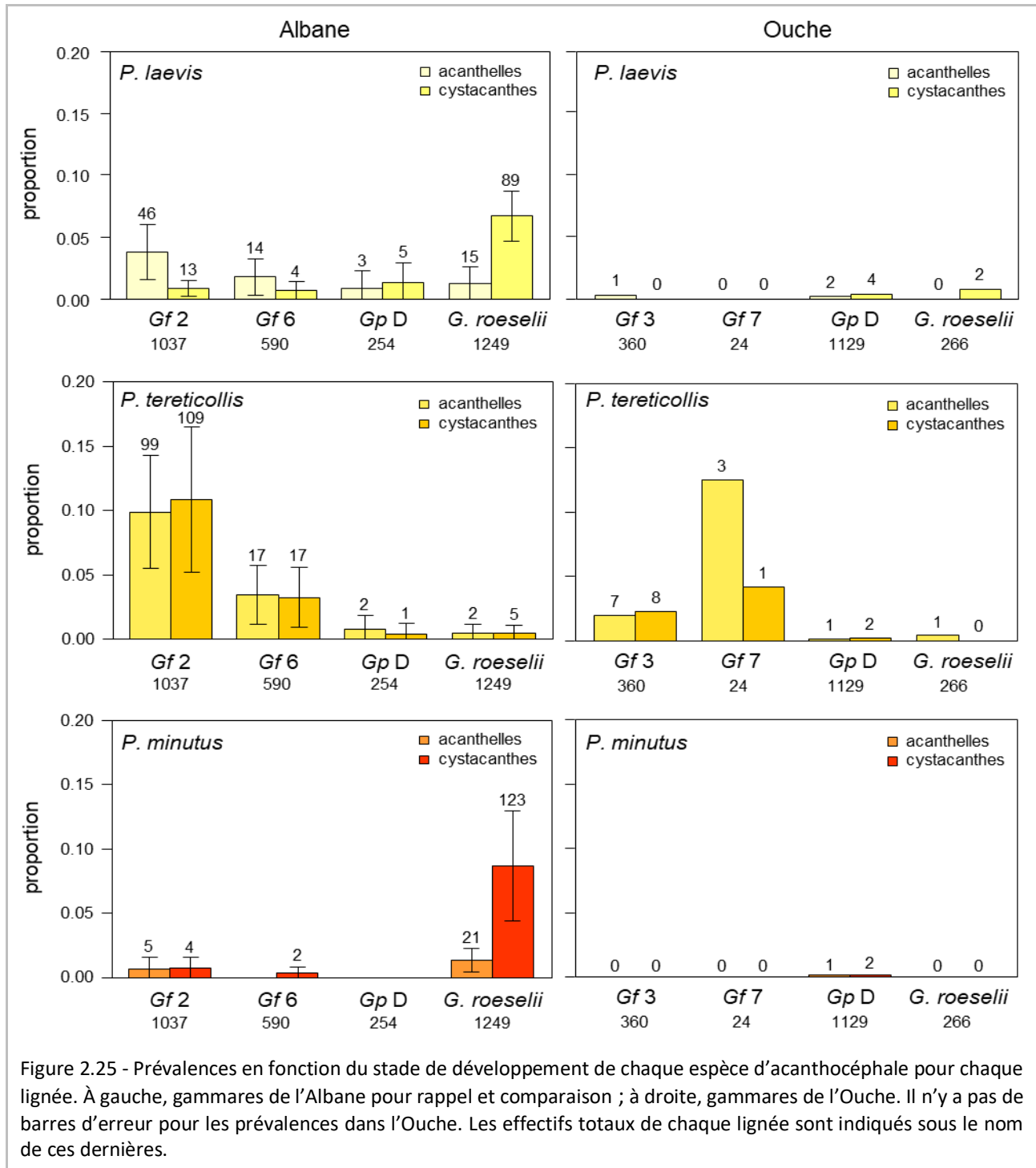
Comme pour les acanthes, le modèle statistique « cystacanth » indique un effet habitat : des gammarés hébergeant des cystacanthes sont trouvés plus fréquemment dans les racines que dans les graviers (figure 2.24).

Contrairement aux autres parasites, aucun effet du sexe n'est retrouvé chez les gammarés infectés par *P. minutus*.



2.4.6.2. Parasites de l'Ouche

Dans l'Ouche, les trois espèces de parasites ont été également trouvées, mais avec des prévalences beaucoup plus faibles que dans l'Albane, qui ne permettent pas des comparaisons par modèles (figure 2.25). Il est ainsi impossible d'interpréter de manière aussi détaillée les prévalences en *P. laevis* et en *P. minutus*. En revanche, *P. tereticollis* un peu plus fréquent et les deux lignées *Gf 3* et *Gf 7* semblent plus infectées. On retrouve pour ce parasite un patron d'infection semblable à celui observé dans l'Albane chez *Gp D* et *G. roeselii*, qui sont beaucoup moins parasitées que les lignées *fossarum*.



2.4.6.3. En bref : interprétation de ces résultats...

Les patrons d'infection sont très différents entre l'Albane et l'Ouche pour les trois parasites étudiés : les trois espèces d'acanthocéphales sont beaucoup plus fréquentes dans l'Albane.

Le patron d'infection est très différent entre *P. laevis* et *P. tereticollis* chez ses hôtes *G. fossarum* : le premier parasite est relativement peu infectieux, si l'on considère que le taux d'acanthelle reflète l'infectivité du parasite (entre 1 et 4 % d'individus infectés par des acanthelles) et semble induire une forte mortalité chez ses hôtes (encore moins d'individus infectés par des cystacanthés). *P. laevis* induirait donc une forte manipulation des *G. fossarum*. *P. tereticollis*, quant à lui, est très infectieux (on trouve beaucoup d'acanthelles) mais semble manipuler ses hôtes beaucoup moins fortement (beaucoup de cystacanthés sont également échantillonnés, en proportions comparables à celles des acanthelles).

Les prévalences des trois espèces d'acanthocéphales sont très variables au cours du temps dans l'Albane (cf. [figure 2.16](#), page 57). Cette information n'a pas pu être récoltée dans l'Ouche.

2.5. Discussion

2.5.1. Un système multi-hôte permanent

2.5.1.1. Coexistence des différentes lignées d'hôtes

Nous avons montré que dans les deux rivières étudiées, et aux sites échantillonnés, différentes lignées de gammares des deux sexes sont disponibles en permanence pour les parasites (c'est le scénario 2 de la [figure 2.4](#), présenté page 38, qui s'applique). Leurs proportions relatives varient au cours du temps, mais les lignées les plus fréquentes trouvées à une date donnée demeurent globalement les plus fréquentes sur l'ensemble du suivi. Certaines semblent être présentes en très faible quantité, en tout cas à l'échelle des effectifs collectés à chaque date. *A minima*, on peut dire qu'il n'existe pas de rythme saisonnier dans les distributions relatives des 4 lignées en présence dans chaque rivière. Ainsi, les différents hôtes sont disponibles dans des proportions similaires à tout moment de l'année pour les œufs des parasites acanthocéphales de l'Ouche et de l'Albane. Notre étude apporte donc une information complémentaire importante aux études *in natura* précédentes décrivant les relations gammares/acanthocéphales, car une telle stabilité temporelle était une condition importante des hypothèses de spécificité émises dans ces études (Lagrué *et al.*, 2007; Galipaud *et al.*, 2017, 2019).

Si les mêmes espèces *Gammarus pulex* D et *G. roeselii* sont présentes dans les deux cours d'eau, les lignées du complexe *G. fossarum* y sont différentes. *G. pulex*, espèce décrite classiquement comme préférant les portions aval des cours d'eaux (voir Blackman *et al.*, 2017) est la lignée majoritaire

dans l'Ouche, mais minoritaire dans l'Albane. Ces différences de peuplements peuvent probablement être expliquées par la physionomie des deux cours d'eau aux points de prélèvement étudiés ici, l'Ouche étant une rivière traversant la ville de Dijon, de plus grande taille que l'Albane dont le cours traverse des zones agricoles. Il est par contre possible que la composition de l'assemblage en amphipodes soit différente à d'autres sites de collecte. Par exemple, en se rapprochant des sources de l'Ouche, il est vraisemblable que la proportion en *G. fossarum* soit plus forte. On sait également que le régime de température des rivières influe sur la distribution et la fécondité des gammares (Pöckl *et al.*, 2003). En comparant les températures relevées lors de chaque prélèvement (voir graphique des températures en [annexe A](#), page 156), l'Albane apparaît en moyenne plus froide que l'Ouche de presque 1 °C. Ces différences de conditions thermiques n'expliquent probablement pas la domination par *Gf 2* et *G. roeselii* dans l'Albane, et *Gp D* dans l'Ouche, Wijnhoven *et al.* (2003) ayant montré en laboratoire une forte tolérance aux variations de température chez plusieurs espèces de gammares. D'autres conditions physico-chimiques, comme la conductivité de l'eau ou la concentration en oxygène dissous, qui n'ont pas été mesurées ici, peuvent en revanche être responsables de capacités compétitives différentes dans les deux rivières (MacNeil *et al.*, 2000; Wijnhoven *et al.*, 2003).

Dans les deux cours d'eau, *G. roeselii* préfère nettement les zones de végétation à proximité des berges, ce qui est cohérent avec la littérature (Roux & Roux, 1980; Kaldonski *et al.*, 2008), cette espèce étant décrite comme particulièrement thigmotactique (Starry *et al.*, 1998). Les espèces du complexe *pulex/fossarum* sont, pour leur part, trouvées dans les deux milieux, une ségrégation particulièrement contrastée n'ayant pas été remarquée, contrairement à ce qui a été reporté auparavant (voir Blackman *et al.*, 2017). Dans l'Albane, *Gf 2* semble préférer fréquenter les graviers, mais cette lignée est tout de même largement représentée au niveau des berges de la rivière. Il existe donc une légère structuration à micro-échelle de l'assemblage en gammaridés.

Il est à noter que les données analysées ici ont été effectuées sur des échantillons de taille à peu près constante (voir méthodes), ne reflétant pas les abondances réelles en gammares sur le terrain, et donc ne reflétant pas leur disponibilité en « biomasse » pour les parasites.

2.5.1.2. Reproduction des gammares

L'analyse des cohortes de gammares montre que sur les deux sites, la reproduction a lieu pour toutes les espèces, et donc que les parasites ont accès à des hôtes de tous âges des différentes lignées. La présente étude, qui propose une analyse plus fine des mesures de tailles que celles publiées dans les années cinquante (les animaux étaient mesurés au millimètre près), nous a permis de détecter une multimodalité plus complexe dans les distributions de taille des gammares.

Comme l'échantillonnage n'a pas intégré les gammares de toute petite taille (juvéniles justes nés), les pics de reproduction sont fortement sous-estimés. En revanche nos données ont permis de suivre la croissance de cohortes générationnelles pour chaque lignée, lorsqu'elles étaient présentes en effectifs suffisants. Ces données nous ont permis de mettre en évidence des chevauchements de générations. Ils apparaissent cependant moins réguliers que ceux trouvés par Beracko *et al.* en 2012

dans un cours d'eau de température constante. Ceci souligne l'importance de la température sur la croissance et la reproduction des gammares (Hynes, 1955; Sutcliffe *et al.*, 1981; Pöckl, 1992).

Dans l'Albane, chez *Gf* 2 et *Gf* 6, on trouve des femelles reproductrices à toutes les dates. Chez *Gp* D et *G. roeselii*, des femelles gravides ont été échantillonnées régulièrement, mais montrent des carences en début d'hiver. On peut supposer une interruption de la reproduction en début d'hiver chez ces deux espèces, même si les effectifs de femelles *Gp* D récoltées sur la fin du suivi ne permettent pas de le confirmer. Un tel cycle a déjà été proposé pour *G. pulex* en Angleterre (Hynes, 1955), les adultes perdant même leurs caractères sexuels secondaires (oostégites chez les femelles et soies bouclées chez les mâles) à cette période. Comme ces caractères n'ont pas été mesurés dans cette étude, il n'est pas possible de comparer nos résultats sur cette base. Hynes (1955) montre également un chevauchement de générations chez *G. pulex* avec des durées de vie différentes selon la saison de naissance : au début de ce suivi, des adultes et beaucoup de juvéniles passent l'hiver, avec interruption de la reproduction. Elle reprend entre janvier et mars jusqu'à la fin de l'été (5 ou 6 portées) puis cette génération meurt. La nouvelle génération grandit pendant l'été et quelques-uns atteignent la maturité sexuelle en juillet et en août. La reproduction cesse en début d'hiver. Une très forte mortalité des adultes est alors observée. La reproduction reprend fortement en janvier, grâce à la maturation des juvéniles tardifs de l'été précédent. Il est suggéré que la température contrôle la fin de la reproduction, mais pas son démarrage. Les populations étudiées sont donc composées essentiellement de juvéniles au printemps et en été. Une autre étude sur *G. duebeni* a également montré que la période d'avril à août est également dominée par des juvéniles (Hynes, 1954).

Dans l'Ouche et pour *Gf* 3, seule une pêche n'a pas révélé de femelle gravide, mais avec un très faible effectif. Il est difficile de dégager un patron particulier à partir des données récoltées. Chez *Gp* D, des femelles gravides ont été récoltées à chaque date, ce qui suggère un rythme de reproduction différent de celui observé dans l'Albane.

À part chez *G. roeselii*, chez lequel le sexe-ratio est fortement et régulièrement biaisé en faveur des femelles et pour lequel on note une nette préférence pour les zones de racines, la disponibilité en hôtes des deux sexes est la même dans les deux milieux. Ce biais de sexe-ratio en faveur des femelles chez *G. roeselii* a déjà été documenté en de multiples endroits (Jourdan *et al.*, 2019; Lipkowski *et al.*, 2021) et expliqué par la présence de microsporidies féminisantes chez cette espèce (Haine *et al.*, 2004, 2007).

2.5.2. Un système multi-parasite permanent

2.5.2.1. Répartition des parasites entre lignées d'hôtes

Trois espèces d'acanthocéphales (*Polymorphus minutus*, parasite d'oiseaux, *Pomphorhynchus laevis* et *Pomphorhynchus tereticollis*, deux parasites de poissons) ont été trouvées chez toutes les lignées d'hôtes présentes dans l'Albane, à l'exception de *P. minutus*, qui n'a pas été trouvé chez *Gp* D. Cet

hôte est cependant beaucoup moins abondant que les autres, ce qui pourrait expliquer cette carence d'observation. Cependant, aucun individu *G. pulex* infecté de *P. minutus* n'a été récolté sur l'ensemble de l'étude effectuée par Galipaud *et al.* (2017) alors que cette lignée était présente dans 8 des 15 sites échantillonnés. Les résultats présentés ici confirmeraient donc des prévalences très faibles, voire nulles, de *G. pulex* en *P. minutus*. Pourtant *P. minutus* est présent, parfois avec des prévalences très fortes (voir par exemple Bailly *et al.*, 2018), sur la résurgence de Val-Suzon utilisée dans notre étude d'infection expérimentale (voir chapitre 3). Or, cette résurgence est connue pour héberger très majoritairement des *G. pulex* (97 % de *G. pulex* pour 3 % de *G. fossarum*, voir Labaude *et al.*, 2015). Il est donc plausible que ces résultats très contrastés reflètent un manque de connaissance de la variation génétique de *P. minutus* en Bourgogne. En effet, Zittel *et al.* (2018) ont déterminé par typage génétique que trois « types » de *P. minutus* (vraisemblablement trois espèces cryptiques, mais montrant de légères variations morphologiques, voir aussi Grabner *et al.*, 2020) infectaient spécifiquement (avec quelques nuances) différentes espèces de gammaridés. Selon cette étude, seul le type 3 infecterait *G. pulex*. Il serait donc possible que *P. minutus* de type 3 infecte Val Suzon, mais que des *P. minutus* de types 1 ou 2 soient présents dans l'Albane. Ceci n'est cependant pas cohérent avec le fait que *G. roeselii* soit infecté par *P. minutus* dans l'Albane, alors que Zittel *et al.* (2018) suggèrent que cette espèce hôte n'est sensible qu'à *P. minutus* de type 3... Des études de génotypage des *P. minutus* de Val Suzon et de l'Albane doivent donc impérativement être menées, pour comprendre ces patrons d'infection.

Dans l'Ouche, les mêmes espèces de parasites ont été recensées, mais à des prévalences beaucoup plus faibles. *P. laevis* et *P. minutus* y sont très rares, en revanche *P. tereticollis* a été récolté à plusieurs reprises, en particulier des acanthes chez *Gf7*, qui est une lignée pourtant très fortement minoritaire dans cette population. Un faible niveau de prévalence en *P. tereticollis* a pourtant déjà été reporté chez cette lignée par rapport aux autres lignées *fossarum* (Galipaud *et al.*, 2017), mais avec là aussi de faibles effectifs dans la plupart des sites de collecte. Il serait donc intéressant d'augmenter l'effort d'échantillonnage et de tester le ratio acanthes/cystacanthes de manière plus fiable pour cette lignée, qui pourrait s'avérer être un hôte important dans la complétion du cycle de *P. tereticollis*. De manière étonnante, aucun *G. roeselii* n'a été trouvé infecté par *P. minutus* dans l'Ouche alors que c'est l'hôte principal de ce parasite dans l'Albane, que cette association a déjà été couramment décrite (Médoc *et al.*, 2006; Sures & Radszuweit, 2007; Gismondi *et al.*, 2012) et que de nombreux oiseaux d'eau sont coutumiers de cette rivière (notamment cincles plongeurs, canards colverts, bergeronnettes des ruisseaux, T. Rigaud, observation personnelle).

2.5.2.2. Distribution des parasites entre habitats et sexe des hôtes

On trouve presque deux fois plus d'acanthes de *P. laevis* chez les mâles des différentes lignées d'hôtes que chez les femelles. Ceci pourrait s'expliquer par une survie des acanthes plus affectée chez ces dernières, peut-être à cause d'une meilleure immunité chez les femelles, phénomène montré en conditions expérimentales (Franceschi *et al.*, 2008). En revanche, on n'observe pas plus de cystacanthes chez les mâles (sauf chez *G. roeseli*, mais la différence n'est pas significative). Ce

phénomène est difficilement explicable avec nos données. Il est possible qu'avec des prévalences aussi faibles les effectifs soient insuffisants pour détecter un effet. Il est également possible que la mortalité soit très rapide une fois le cystacanthé atteint, mais nos données ne permettent pas de le savoir. En fait, seules des infections expérimentales associées à un suivi temporel des individus soumis à l'infection pourraient permettre de répondre à cette question. On observe également un effet global du sexe chez les gammares infectés par *P. tereticollis*, les femelles étant, là encore, moins parasitées que les mâles. Cependant, ce déficit s'observe ici à la fois au stade acanthelle et au stade cystacanthé.

Pour les deux *Pomphorhynchus*, aucun effet de l'habitat n'est détecté sur la prévalence chez les lignées ayant des prévalences suffisamment élevées pour permettre des tests. Les œufs des parasites semblent donc être présents et accessibles aux hôtes uniformément dans les différentes portions de la rivière. *P. minutus* est le seul parasite pour lequel on observe un effet de l'habitat mais pas d'effet sexe chez les hôtes, probablement parce que la plupart des individus trouvés infectés sont des *G. roeselii*, et que cette lignée est localisée majoritairement au niveau des berges des rivières.

2.5.2.3. Apport de la détection des acanthelles dans les études in natura pour la compréhension des relations acanthocéphales - gammaridés

Les mesures de prévalence en stades jeunes des parasites ont donné des résultats particulièrement intéressants et contrastés entre les espèces de parasites. Si elles ont été utilisées par le passé comme moyen de détecter des cycles de vie saisonniers, elles apportent également une information sur le pouvoir infectieux des parasites qui ne peut pas être abordée par les seules mesures de prévalences en cystacanthés. En effet, la prise en compte des seuls cystacanthés ne révèle qu'une étape du développement parasitaire, l'étape finale chez les hôtes intermédiaires. La mesure de prévalence à ce stade cache en fait de nombreux phénomènes : (1) la sensibilité des hôtes à l'infection (ou le pouvoir infectieux des parasites vis-à-vis des hôtes), qui peut être variable entre génotypes de parasites et fortement dépendante des conditions environnementales (Franceschi *et al.*, 2010b; Labaude *et al.*, 2015a, 2020); (2) la mortalité des hôtes induite par la virulence des parasites, qui peut être différente entre conditions écologiques (Vollset, 2019), ou entre hôtes (voir l'exemple des deux espèces de gammares infectées par le trématode *Microphallus papillorobustus*, présenté dans l'introduction de ce chapitre (Thomas *et al.*, 1995) ou sur d'autres parasites : un autre trématode (Jensen *et al.*, 1998) ou un champignon (Gervasi *et al.*, 2013)); (3) chez les acanthocéphales, le pouvoir manipulateur (et par extension le taux de « virulence » due à la prédation), qui est, lui, assez invariant face aux variations environnementales (Labaude *et al.*, 2015a, 2020), mais qui est variable en fonction des génotypes ou des espèces d'hôtes (Bauer *et al.*, 2000; Franceschi *et al.*, 2010b). La mesure du taux d'acanthelles sera plus indicatrice du pouvoir infectieux des parasites, car ce stade est très précoce dans le développement, et ne semble pas induire de surmortalité chez ses hôtes. De plus, ces stades parasitaires précoces renforcent les défenses antiprédatrices de leurs hôtes (au moins chez les couples *G. pulex* – *P. laevis* et *G. pulex* – *P. minutus*), ce qui protège les hôtes d'une disparition sélective due aux parasites (Dianne *et al.*,

2011; Bailly *et al.*, 2018). Il est cependant à noter que cet effet protecteur induit par les acanthes est de plus faible intensité que l'augmentation de prédation induite par les cystacantes (Dianne *et al.*, 2011).

Nos résultats ont clairement montré de fortes différences de prévalence en *P. laevis* selon l'âge des parasites. Dans l'Albane, les lignées hôtes *Gf 2* et *Gf 6* semblent les plus sensibles à l'infection car elles hébergent beaucoup d'acanthes, mais elles n'hébergent que peu de cystacantes. Ce phénomène indiquerait une forte mortalité due à l'infection (suggérant une forte virulence, et/ou une manipulation comportementale efficace). À l'inverse, *G. roeselii* semble moins sensible à l'infection par ce parasite, étant donné le taux relativement faible d'infection en acanthes, mais bénéficierait d'une mortalité induite faible étant donné le taux de cystacantes. Cette hypothèse est confirmée par l'accumulation de cystacantes avec l'âge de l'hôte chez cette espèce (Rousset *et al.*, 1996; Lagrue *et al.*, 2007; Galipaud *et al.*, 2017).

Le patron est différent pour les infections par *P. tereticollis* : chez toutes les lignées, on a trouvé à peu près les mêmes proportions d'individus infectés par des stades jeunes et des parasites au stade cystacante. Ce parasite semble donc très infectieux, au moins pour les lignées *Gf 2* et *Gf 6* (et peut-être *Gf 7* dans l'Ouche), mais la mortalité une fois le stade cystacante atteint semble beaucoup plus modérée que chez les gammarés infectés par *P. laevis*.

Cependant, notre approche (comparaison des taux d'acanthes et de cystacantes) trouve ses limites dans l'exemple de *Polymorphus minutus*, présent essentiellement chez *Gammarus roeselii*. En effet, nous trouvons assez peu d'acanthes, alors que de nombreux cystacantes sont détectés. On pourrait donc en conclure que ce parasite est relativement peu infectieux, et ne manipule que très peu son hôte et que, en conséquence, les cystacantes s'accumulent chez leur hôte au cours de leur vieillissement. Or, l'analyse des abondances en fonction des classes de taille des hôtes ne confirme pas une telle accumulation. De plus, on sait par ailleurs que *P. minutus* induit des changements comportementaux chez *G. roeselii* (Bauer *et al.*, 2005), changements que l'on sait être en relation avec une augmentation de prédation par les hôtes définitifs (Jacquin *et al.*, 2013). Cependant, les changements comportementaux étant de moindre intensité chez *G. roeselii* par rapport à *G. pulex* (Bauer *et al.*, 2005), il est possible que cette faible intensité explique le faible signal que l'on a obtenu sur la comparaison acanthe/cystacante. Il semble donc nécessaire, lorsque l'on se limite à des observations *in situ* pour aborder la qualité des relations gammarés/cystacantes, en plus de la comparaison acanthe/cystacante, de prendre également en compte la dynamique des infections au cours du vieillissement des hôtes (Rousset *et al.*, 1996).

Ces descriptions *in natura* ne permettent donc pas, à elles seules, d'accéder finement aux mécanismes responsables des différences entre lignées. Peut-être des habitudes alimentaires différentes peuvent-elles mener à un taux de rencontre différentiel avec les parasites ? Cette hypothèse pourrait être soutenue par le fait que les espèces cryptiques de *G. fossarum* sont réputées pour ne pas avoir la même écologie (Eisenring *et al.*, 2016) ni la même physiologie (Babin *et al.*, 2020), et pourraient donc avoir des habitudes alimentaires légèrement différentes. Peut-être montrent-elles également des capacités de résistance différentes à l'établissement des parasites ?

De plus, ni les données de terrain analysées ici, ni celles disponibles dans la littérature (Médoc *et al.*, 2006; Lagrue *et al.*, 2007; Galipaud *et al.*, 2017, 2019), ne permettent de distinguer, dans la mortalité induite par les parasites, les parts respectives de la virulence et de la manipulation. Le modèle proposé par Rousset *et al.* (1996) ne distingue en effet pas cette subtilité. Seules des infections contrôlées, en laboratoire, permettront d'ouvrir cette boîte noire.

Chapitre 3

Contribution de *Gammarus roeselii* au cycle parasitaire de *Pomphorhynchus laevis*, comparativement à *G. fossarum*

Article

Identifying a key host in an acanthocephalan-amphipod system

Alexandre Bauer & Thierry Rigaud

Parasitology (2015), 142, 1588–1594



Gammarus roeselii (cliché Nicolas Kaldonski)

3.1. Transition et résumé en français

Nous venons de voir que toutes les lignées hôtes présentes en sympatrie dans les rivières à un temps t sont disponibles sur la durée pour les parasites acanthocéphales (en tout cas dans les rivières étudiées). Le suivi temporel a montré également des patrons différents d'infections en acanthocéphales entre *G. roeselii* et *G. fossarum/pulex*, avec en particulier des prévalences en *P. laevis* plus élevées chez *G. roeselii*, confirmant les données publiées précédemment pour d'autres rivières (Galipaud *et al.*, 2017). Ces différents hôtes contribuent donc probablement de manière inégale au cycle de vie de *P. laevis* et une première analyse pourrait suggérer que *G. roeselii* est un hôte clé pour *P. laevis*, contribuant significativement plus à sa transmission puisque les prévalences sont plus élevées chez cette espèce. Mais cet hôte est connu pour être moins sensible à la manipulation induite par le parasite (Bauer *et al.*, 2000) et à la prédation par les hôtes définitifs (Lagrué *et al.*, 2007). La mesure dichotomisée de prévalence en acanthes ou cystacantes dans le chapitre 2 a en outre suggéré que cette espèce pourrait être moins sensible à l'infection que ses congénères, et que les prévalences élevées observées sur le terrain pourraient résulter d'une accumulation des parasites au cours de la croissance de leurs hôtes, en lien avec une mortalité induite par le parasite plus faible chez *G. roeselii* que chez les autres lignées.

Pour vérifier cette hypothèse et tester la sensibilité relative des deux espèces (*G. fossarum sensu lato* et *G. roeselii*), nous avons comparé, pour deux rivières différentes dans lesquelles les deux espèces de gammares vivent en sympatrie, les prévalences en *P. laevis* entre deux lots prélevés sur le terrain : dans le premier la prévalence en acanthocéphales a été mesurée dès le retour au laboratoire, et dans l'autre, nous avons laissé le temps aux parasites ingérés avant la collecte de se développer au laboratoire, après avoir retiré les individus infectés détectables à la loupe binoculaire. Ce second lot permet ainsi de mesurer la prévalence naturelle en enlevant l'effet de la prédation, et donc une partie de la mortalité induite potentiellement par les parasites. À partir d'un troisième lot, une infection en laboratoire a été effectuée, en utilisant des œufs de parasites issus d'une autre rivière que celle étudiées pour éviter tout effet confondant, pour comparer les sensibilités relatives à l'infection par une même souche de parasite des gammares provenant des deux rivières étudiées.

Pour les deux rivières, des prévalences plus élevées ont été trouvées chez *G. roeselii* dans les lots préalablement exposés à la prédation. En revanche, dans les lots protégés de la prédation, les tendances se sont inversées : ce sont les *G. fossarum* qui ont montré des taux d'infection plus élevés. La tendance s'est encore renforcée chez les individus soumis à une infection au laboratoire, les spécimens de *G. fossarum* se sont révélés beaucoup plus sensibles à l'infection par *P. laevis* que les *G. roeselii*. *G. fossarum* étant plus sensible à la fois à l'infection parasitaire et à la manipulation, cet hôte donc être considéré comme un hôte clé pour la transmission de *P. laevis*. L'effet « puits » induit par *G. roeselii* est somme toute modéré étant donné sa faible sensibilité à l'infection.

Nota : chronologiquement, cette expérience est la première à avoir été réalisée dans le cadre de cette thèse. L'objectif était de « tester » le sujet sans engager trop de dépenses en biologie moléculaire, les espèces *G. pulex/fossarum sensu lato* et *G. roeselii* étant facilement discriminables morphologiquement.

3.2. Summary

Trophically transmitted parasites may use multiple intermediate hosts, some of which may be ‘key-hosts’, i.e. contributing significantly more to the completion of the parasite life cycle, while others may be ‘sink hosts’ with a poor contribution to parasite transmission. *Gammarus fossarum* and *Gammarus roeseli* are sympatric crustaceans used as intermediate hosts by the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis*. *Gammarus roeseli* suffers higher field prevalence and is less sensitive to parasite behavioural manipulation and to predation by definitive hosts. However, no data are available on between-host differences in susceptibility to *P. laevis* infection, making it difficult to untangle the relative contributions of these hosts to parasite transmission. Based on results from estimates of prevalence in gammarids exposed or protected from predation and laboratory infections, *G. fossarum* specimens were found to be more susceptible to *P. laevis* infection. As it is more susceptible to both parasite infection and manipulation, *G. fossarum* is therefore a key host for *P. laevis* transmission.

Key words

multi-host parasites, prevalence, host specificity, host quality, transmission, infectivity

3.3. Introduction

While the majority of parasites are known to exploit multiple host species, either sequentially or because they have a range of suitable hosts for the same stage of their cycle (Ruiz-González *et al.*, 2012), host-parasite interactions are usually studied in simplified one-to-one relations, disconnected from the real-life complex systems (Rigaud *et al.*, 2010). Multi-host parasites may use host species differing in abundance, exposure and susceptibility, and thus unlikely to contribute equally to parasite transmission and fitness. The ‘key hosts’ are those contributing significantly more to the completion of the parasite life cycle (Streicker *et al.*, 2013). Three non-exclusive processes serve to identify a host as a key species, contributing disproportionately to parasite transmission: high host abundance, high exposure and/or susceptibility to infection, and/or large number of infective stages produced per infected individual (Streicker *et al.*, 2013).

Parasites with complex life cycles are, by definition, multi-host parasites because they require at least two successive host species to achieve their development. However, they may also use several different host species at any stage of their cycle. Such parasites may show weak specificity when infecting the intermediate host, or sometimes even the definitive host, although there is great interspecific variation in these traits (Combes, 2001). Numerous parasites with a complex life cycle have evolved the ability to modify several aspects of the phenotype of their intermediate hosts, concomitantly increasing the probability of transmission to their definitive hosts (reviewed in Poulin, 2010). Many trophically transmitted parasites can even modify certain behaviours of their

intermediate hosts (Thomas *et al.*, 2005; Perrot-Minnot *et al.*, 2014). Modification of a number of anti-predatory behaviours is directly linked to the modulation of predation rates in intermediate hosts, either increasing for infected versus non-infected hosts (Kaldonski *et al.*, 2007; Lagrue *et al.*, 2007), or decreasing when the parasites are not yet infective for the definitive host (Dianne *et al.*, 2011; Weinreich *et al.*, 2013). These behavioural changes have been referred to as 'host manipulation' because parasites alter the phenotype of their hosts in ways that enhance their own fitness at the expense of that of infected hosts (Thomas *et al.*, 2005; Cézilly *et al.*, 2010). For these parasites, the sensitivity of the host to manipulation should be included to determine key host species, because of its implication in parasite transmission.

Acanthocephala are trophically transmitted parasites for which the ability to modify host phenotype is ubiquitous, possibly having evolved in the common ancestor of the group (Moore, 1984). They all use at least two hosts to complete their cycle, whether for intermediate, definitive or paratenic hosts, with different degrees of fitness depending on the hosts and/or spatial distribution of these hosts (see Kennedy 2006 for an overview). *Pomphorhynchus laevis* have been extensively studied in the contexts of host manipulation and ecology (Kennedy, 2006). They infect several freshwater gammarid amphipod species as intermediate hosts, and several freshwater fish species as definitive or paratenic hosts (Kennedy, 2006; Médoc *et al.*, 2011). In central and eastern France, the cryptic *Gammarus pulex* and *Gammarus fossarum* species (Lagrue *et al.*, 2014) are resident intermediate host species, while *Gammarus roeseli* is a relatively recent colonizer from Southern Central Europe (Jazdzewski, 1980). These gammarids are often found in sympatry (Chovet & Lecureuil, 1994) and infected by *P. laevis* in these sympatric sites (e.g. Bauer *et al.*, 2000; Rigaud & Moret, 2003; Lagrue *et al.*, 2007). Prevalence and infection intensity are usually higher in *G. roeseli* than in *G. pulex* (Lagrue *et al.*, 2007, Lagrue, unpublished data), despite the fact that the latter is generally more abundant than the former when present in sympatry (e.g. Lagrue *et al.*, 2007). It would therefore seem logical for *P. laevis* to rely more on *G. roeseli* than on *G. pulex* for its transmission. However, several elements indicate that exactly the opposite situation could be the rule. Crude prevalence is not an accurate measure to quantify the abundance of a manipulative parasite, since observed prevalence diminishes as infected intermediate hosts are preferentially preyed upon by the next host(s), rather than uninfected hosts (Lafferty, 1992; Rousset *et al.*, 1996). Lagrue *et al.* (2007) showed that the prevalence of *P. laevis* in *G. pulex* was low in the river benthos but high in the definitive host's stomach, whereas prevalence in *G. roeseli* was higher in the field and lower in the stomach of the definitive host. In addition, by analysing the distribution of parasite intensity, they showed that parasites accumulate in older *G. roeseli*, but not in older *G. pulex*, confirming a higher death rate of infected *G. pulex* compared to infected *G. roeseli*. This result is consistent with the fact that infected *G. roeseli* is known to be less strongly manipulated than *G. pulex* by *P. laevis* (Bauer *et al.*, 2000). Furthermore, uninfected *G. roeseli* has been found to be less sensitive to predation by trout (Bollache *et al.*, 2006) or bullhead (Kaldonski *et al.*, 2008) than uninfected *G. pulex*, because of more efficient anti-predatory defences. The combination of all these factors provides reasonable evidence of a predation differential between infected animals of each species, and so *G. roeseli* can reasonably be considered a lower quality host for *P. laevis* transmission.

However, the relative susceptibility of the two amphipod species to infection by *P. laevis* remains undetermined. Yet this information is crucial to assess the relative importance of the two concurrent

hosts in the *P. laevis* life cycle. If *G. pulex* is more susceptible to infection than *G. roeseli*, then both susceptibility and behavioural manipulation would act in synergy, making this host a true key host for transmission. If, conversely, *G. roeseli* is more susceptible than *G. pulex*, then *P. laevis* transmission would be 'diluted' by the presence of this host, because of its inefficiency in transmitting the parasite, and could potentially impact the epidemiology of the infection (see Hall *et al.*, 2009; Johnson *et al.*, 2009, for examples). We conducted a laboratory infection experiment by submitting both species to the same dose of *P. laevis* eggs to measure the susceptibility of these sympatric gammarid species to *P. laevis*. To assess the impact of predation, we compared prevalence in two contrasted amphipod collections from the field: animals directly collected from rivers (i.e. previously exposed to natural predation), and animals collected from the same rivers, but then maintained for several weeks in the laboratory (i.e. in the absence of any fish predation pressure).

3.4. Methods

3.4.1. Amphipod collection and prevalence in the field

Since field prevalence may be variable between populations, two rivers were chosen, where *G. fossarum* and *G. roeseli* live in sympatry and are naturally infected by *P. laevis*. Amphipods from the Albane River, in Trochères (47°20'34"N, 5°18'21.8"E), and the Meuzin River, near Villy-le-Moutier (47°2'7.71"N, 4°59'53.87"E), were sampled between September and October 2013.

Amphipods (*G. roeseli* and *G. fossarum*) were captured using kick nets. All potential habitats present at each site were sampled, and the collected animals were randomly divided into three groups, each maintained in a container with aerated water from the river.

The first group was used to estimate the 'field/direct' prevalence. Animals from this group were kept in well aerated aquaria at 15 °C and all checked for parasite presence within two days after capture. Infected individuals were dissected to confirm parasite species. Larval parasites can be detected through the host cuticle, either at the late acanthella stage of their development (translucent light orange, shapeless larval stage) or at cystacanth stage (bright yellow-orange, spherical larval stage). Earlier acanthella stages (where parasites are small and translucent) can only be detected after dissection. Preliminary investigation showed that acanthella detection could only be certified after 40 days (without microscope and staining), so that all prevalence reported in the following experiments is prevalence for *P. laevis* of more than 40 days old (Labaude *et al.*, submitted).

Gammarids from the second group were kept individually in the laboratory, in cups of c.a. 50 mL at 15 °C for 96 days. All gammarids where infection was detectable by eye were removed from this group so that, at the beginning of this survey, the remaining animals were classified as "uninfected". However, as previously stated, younger acanthella stages are too small to be detected through host

cuticle, so some of these isolated gammarids may have already been infected in the field in the days preceding their capture. It is the prevalence of these undetected infections that was recorded during this survey. Animals dying during this period were dissected the day after their death, and all living animals were checked and dissected 96 days post isolation, a delay long enough to ensure that all parasites could be detected. This survey therefore allowed prevalence to be estimated in gammarids not exposed to predation during parasite development (hereafter called 'field/protected' prevalence). All infected *G. fossarum* were kept in ethanol for genetic analysis (see above).

A third group of gammarids was used for experimental infections (see below).

3.4.2. Experimental infection

Before being isolated for the experiment, all gammarids were inspected under a dissecting microscope to remove naturally infected animals. The remaining gammarids were kept in quarantine for 30 days, to distinguish any further natural infection (by parasites too young to be detected) from experimental infection. Some additional *G. pulex* were also collected in a small tributary of the Suzon River at Val-Suzon (47°4'12.6"N; 4°52'58.2"E). Given that the *G. pulex* from Val-Suzon are particularly sensitive to experimental infection by *P. laevis* (Franceschi *et al.*, 2010), they were used to confirm the success and timing of experimental infection.

Gravid *P. laevis* females were collected from the intestines of chubs (*Leuciscus cephalus*), from naturally infected fish caught in September 2013 in the Vouge River (Burgundy, Eastern France: 47°9'34.36"N; 5°9'2.50"E). A foreign parasite population was chosen to avoid potential local adaptation in our two gammarid populations (Franceschi *et al.*, 2010), so that it was possible to estimate gammarid sensitivity to parasite strains with which they had not evolved. Molecular identification of parasites and exposure of gammarids to parasite eggs followed the procedure described in Franceschi *et al.* (2008). *Gammarus*, in cups filled with c.a. 50 mL of aerated water, were allowed to feed for 48 hours on a 1 cm² piece of elm leaf, on which a suspension of 100 mature eggs per gammarid had been deposited (see detailed procedure in Franceschi *et al.*, 2008). Food was then removed, and gammarids were maintained at 15 °C for 3 months. The field/protected group described above was used as control. Individuals from this group were treated and maintained under the same conditions as exposed gammarids but were unexposed to parasite eggs. A total of 615 *G. fossarum* (162 males and 109 females from Albane, 214 males and 130 females from Meuzin) and 440 *G. roeseli* (157 males and 102 females from Albane, 121 males and 60 females from Meuzin) were exposed to parasite eggs, as were the *G. pulex* (155 males from Val-Suzon). 308 *G. fossarum* (104 males and 61 females from Albane, 89 males and 54 females from Meuzin) and 324 *G. roeseli* (102 males and 67 females from Albane, 104 males and 51 females from Meuzin) were used as control individuals. All infected *G. fossarum*, along with 100 individuals from the control group, were kept in ethanol for genetic investigation (see below).

The water of each dish was completely renewed every two weeks with aerated water from the river, and water levels were restored to original levels twice a week. The amphipods were fed *ad libitum*

with elm leaves, and their diet was enriched with a chironomid larva twice a month. A daily mortality survey was carried out, and animals were dissected the day after their death to detect young acanthella stages. From the sixth week post-exposure, living gammarids were inspected every week under a dissecting microscope to detect the presence of parasites. Infected animals were examined every two days after detection to estimate the date when the cystacanth stage was reached. Gammarids from Val-Suzon (where *P. laevis* is absent) were a control group for the timing and success of experimental infection. Previous studies revealed that *P. laevis* reaches cystacanth stage in about 80-120 days in laboratory conditions (Franceschi *et al.*, 2008, 2010). In gammarids from the Meuzin and Albane rivers, even after a quarantine of 30 days before exposure, parasites from the wild can develop. Therefore, if *P. laevis* were detected before the first signs of infection in animals from Val-Suzon, individuals were removed from the analysis to avoid any potential confounding effect.

3.4.3. Gammarid genotyping

Because of the recently discovered cryptic genetic diversity within the *Gammarus fossarum-pulex* species complexes (e.g. Lagrue *et al.*, 2014), there is a need to examine patterns of infection in the light of this diversity (see Westram *et al.*, 2011). Such a study is not necessary for *G. roeseli* because no cryptic diversity has been detected in Western and Central Europe (Moret *et al.*, 2007). Genetic diversity was assessed in these two rivers using the amplification of part of the mtDNA cytochrome c oxidase subunit 1 (CO1) by polymerase chain reactions (PCR) and a subsequent RFLP procedure (Lagrue *et al.*, 2014). Only *G. fossarum* belonging to one group were known to occur at the Meuzin site (*Gfl*, see Lagrue *et al.*, 2014), while genetic diversity for the Albane River had not previously been estimated. All infected *G. fossarum* and *G. pulex* from each river were preserved in pure ethanol after death, for subsequent DNA extraction. In addition, 100 uninfected animals randomly sampled from each site were also preserved. Gammarid DNA was extracted from two pereopods ('walking legs' in amphipods), following the standard chelex method (Lagrue *et al.*, 2014). The DNA was then amplified for CO1 using universal primers (LCO1490 and HCO2198; Folmer *et al.*, 1994). The PCR were performed using Qiagen Multiplex DNA polymerase kits (Qiagen Inc, Düsseldorf, Germany), as in Lagrue *et al.* (2014). The PCR-amplified DNA products were then digested overnight using the appropriate reaction buffer and restriction endonuclease(s), following manufacturer's instructions (New England Biolabs, Ipswich, Massachusetts, USA). The resulting fragments were separated by gel electrophoresis in a 1.5 % agarose gel. Restriction enzyme profiles were used to assign each individual amphipod to its respective genetic group (see Lagrue *et al.* (2014) for the detailed procedure and the specific digestion enzymes for each gammarid genetic group).

3.4.4. Statistical analyses

All statistical analyses were performed using R software (R Development Core Team, 2013) or JMP software (version 10.0.0).

For natural infections, a binomial logistic regression was performed to analyse prevalence, with the following potential explanatory factors: site (Albane River vs. Meuzin River), *Gammarus* species (*G. roeseli* vs. *G. fossarum*), *Gammarus* sex (males vs. females), experiment (field/direct: natural infection from the field sample vs. field/protected: natural infection after maintenance in the laboratory), and their second-order interactions.

For experimental infections, a binomial logistic regression was performed to analyse prevalence, with site, species and sex, and their second-order interactions, as potential explanatory factors.

All possible models were compared using the Akaike Information Criterion (AICc). The models presented are those minimizing the AICc.

3.5. Results

3.5.1. Genetic diversity among *G. fossarum*-like gammarids

For the gammarids from the Albane River, PCR-RFLP revealed 87 % of *G. fossarum* and 13 % of *G. pulex* in the 50 randomly sampled, uninfected animals, with 82 % of *G. fossarum* and 18 % *G. pulex* in the 68 infected animals. The species ratios in infected and uninfected groups were not significantly different ($\chi^2 = 0.2438$, $P = 0.6215$). As we detected no difference in sensitivity to infection between *G. pulex* and *G. fossarum*, and since the majority of the gammarids, even at the Albane site, are *G. fossarum*, this term is used to encompass all *G. fossarum*-like gammarids.

3.5.2. Natural infection: direct field prevalence vs. field prevalence protected from predation

Prevalence of *P. laevis* was higher in *G. roeseli* than in *G. fossarum* in direct field prevalence, at both sites, whereas reverse relative prevalence was observed when measured after keeping putative uninfected animals in the laboratory, where they were preserved from predation (Table 1, Figure 1).

Figure 1 - Prevalence levels for *Gammarus fossarum* (Gf) and *G. roeseli* (Gr) in the two populations, for all experiments (field/direct: prevalence in natura; field/protected: prevalence in gammarids kept in the laboratory, i.e. protected from predation; experiment: experimental infection). Numbers in bars are sample size.

» [retour au chapitre 5](#)

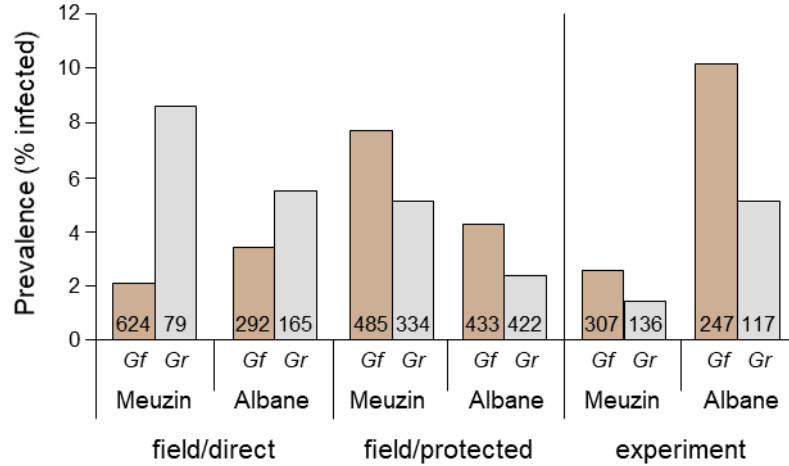


Table 1. Logistic regression testing for the effects of site (river), *Gammarus* species and experiment (direct field prevalence or protected field prevalence) on the field prevalence of *P. laevis*. The model initially included sex of gammarids, and other interactions. After removing these non-significant factors, the model presented now minimizes the Akaike Information Criterion (AICc).

Global model: LR $\chi^2 = 15.4448$, 5 D.F., $P = 0.0086$; $n = 1787$

Source of variation	D.F.	Likelihood-Ratio (LR) χ^2	P
Site	1	1.2999	0.2542
Species	1	0.8110	0.3678
Experiment	1	0.1877	0.6648
Species x experiment	1	7.7271	0.0054
Site x experiment	1	2.3673	0.1239

3.5.3. Experimental infection

The first observations of acanthellae through the host cuticle occurred 60 days post-exposure for the control Val-Suzon gammarids, as was the case for gammarids of both species from the Albane and Meuzin rivers. The cystacanth stage was achieved 82 ± 10 days post-exposure of the control Val-Suzon group, after 80 ± 6 days for *G. fossarum*, and after 83 ± 3 days for *G. roeseli*.

We found a strong effect of river origin on infection (Table 2, Figure 1), with gammarids from the Albane River being three times more sensitive to infection. The difference in prevalence between species, with *G. fossarum* being approximately twice as infected as *G. roeseli*, was nevertheless not strong enough to be fully supported statistically (Table 2, Figure 1).

Table 2. Logistic regression testing for the effects of site (river) and *Gammarus* species on the prevalence of *P. laevis* after experimental infection by parasites from the Ouche River. The model initially included sex of gammarids and interactions. After removing these non-significant factors, the model presented now minimizes the Akaike Information Criterion (AICc). Global model: LR $\chi^2 = 19.9606$, 2 D.F., $P < 0.0001$; $n = 807$

Source of variation	D.F.	Likelihood-Ratio (LR) χ^2	p
Site	1	16.9051	< 0.001
Species	1	3.3303	0.0680

3.6. Discussion

Our data initially showed that the crude *P. laevis* prevalence is higher in *G. roeseli* than in *G. fossarum*, confirming results of Lagrue *et al.* (2007) for another site. In the ‘field/protected’ experiment, the prevalence was reversed, and was higher in *G. fossarum* for the two populations investigated. In addition, prevalence in *G. fossarum* was approximately twice that in *G. roeseli* in both populations after experimental infection by a non-coevolved parasite population, even though this result was not fully supported statistically (probably due to the stronger population effect). Prevalence observed in the field is therefore not a reliable measure of the actual parasite burden for this manipulative trophically transmitted parasite. Differences in the duration of parasite development could possibly have explained the differences in prevalence observed between the two *Gammarus* species. However, parasite growth was synchronous for all hosts during the laboratory infection experiment.

As the two hosts have similar lifespans, parasites developing in *G. roeseli* have a lower probability of completing their life cycle, due both to reduced natural predation by fish compared to *G. pulex* (Bollache *et al.*, 2006; Kaldonski *et al.*, 2008) and lower manipulation levels for infected individuals (Bauer *et al.*, 2000). Therefore, *G. roeseli* seems to ‘dilute’ *P. laevis* transmission when this host is sympatric with *G. fossarum*. However, as shown here, *G. roeseli* is not more susceptible than *G. fossarum* to infection by *P. laevis*, so the dilution effect is not as strong as previously thought when natural prevalence alone was considered. Lower infection success in *G. roeseli* counterbalances the low predation rate, limiting the ‘sink effect’ for the parasite. As *G. fossarum* is first more susceptible to infection and then more predated, our data confirm this species as a key host for *P. laevis*.

Our results also have implications in explaining the role of parasites in the success of biological invasions. *Gammarus roeseli* is a species that colonised Western Europe during the 20th century (Chovet & Lécureuil, 1994). Parasitism may play a role in the coexistence of native and introduced (or invasive) host species. Some studies support the ‘enemy release’ hypothesis, in which invaders are no longer exposed to their original parasites, but also less susceptible to infection by native parasites, providing invasive hosts with a competitive advantage (Dunn & Dick, 1998; Kopp & Jokela, 2007). In contrast, other studies show a decrease in prevalence in native species by the dilution effect, both experimentally (Kopp & Jokela, 2007) and *in natura* (Telfer *et al.*, 2005). The invader acts in that case as a dead-end sink for the parasite. *G. roeseli* being less susceptible to both infection

(this study) and to behavioural changes induced by *P. laevis* (Bauer *et al.*, 2000; Moret *et al.*, 2007), our results are in line with the enemy release hypothesis.

Our results completely strengthen the hypothesis that sympatric *G. roeseli* and *G. fossarum* are not hosts of the same quality for acanthocephalan parasites. Should this assumption be extended to all gammarid hosts of freshwater acanthocephalans? Because of the high level of cryptic speciation in the *Gammarus pulex/fossarum* group (e.g. Westram *et al.*, 2011b; Lagrue *et al.*, 2014), the situation will probably be quite complex to study. Westram *et al.* (2011a), coupling natural prevalence estimations and field infection experiments, also showed differences in susceptibility between *Gammarus* species to infection by the acanthocephalan *Pomphorhynchus tereticollis*, with *G. pulex* being less infected than *G. fossarum*. Differences within the *G. fossarum* group, while less marked, were also detected. However, in Switzerland, where the study was carried out, different species (and/or cryptic species) are rarely found in sympatry, each stream or river harbouring a single gammarid species, so there is confusion between host species and the sites where the host-parasite couple is living, with the potential for local adaptation confounding the results of host specificity (Franceschi *et al.*, 2010). Apart from our case-study of the *G. roeseli* / *G. fossarum* system, no clear data are available yet on infectivity and behavioural changes induced by the same local parasite strains on two sympatric species. In the present study, we found no significant difference in prevalence between sympatric *G. pulex* and *G. fossarum* from the Albane River. However, this result should be replicated in other rivers, with more individuals and more species tested. Behavioural modifications should also be measured to confirm this apparent lack of specificity.

3.7. Acknowledgments

We thank Aude Balourdet, Sophie Labaude and Sébastien Motreuil for their valuable field and experimental assistance, and Carmela Chateau for English corrections. We thank the anonymous referee for valuable suggestions and comments.

3.8. Financial support

This study was supported by a grant from the Agence Nationale de la Recherche (grant # ANR-13-BSV7-0004-01).

3.9. References

Voir bibliographie générale

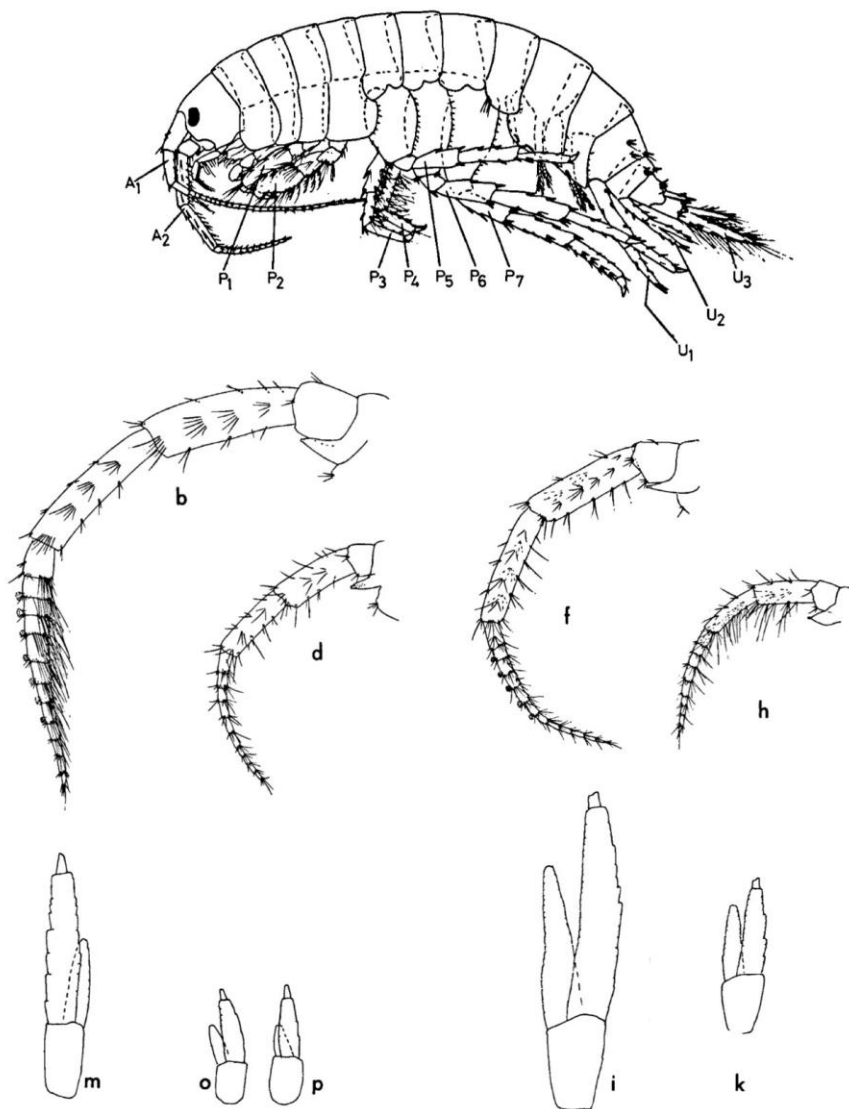
Que dit la crevette qui se trouve trop petite ?

Réponse : j'en homard !

blague Carambar

Chapitre 4

Infections expérimentales de différentes lignées d'hôtes (cryptiques) sympatriques



Comment distinguer *G. fossarum* et *G. pulex* sur des critères morphologiques, en se trompant environ une fois sur deux (Rullmann 2010). Habitus : *G. fossarum* mâle adulte. Antennes 2 : b, mâle adulte *G. pulex* ; d, femelle adulte *G. pulex* ; f, mâle adulte *G. fossarum*, i, femelle adulte *G. fossarum*. Uropodes 3 : m, mâle adulte *G. fossarum*, o et p, femelle adulte *G. fossarum* ; i, mâle adulte *G. pulex*, k, femelle adulte *G. pulex*. Illustration modifiée à partir de Goedmakers 1981.

4.1. Introduction

Les différents facteurs susceptibles d'expliquer la variation intraspécifique dans les capacités de manipulation des parasites acanthocéphales ont été détaillés dans l'introduction générale : charge parasitaire, âge et génotype côté parasites. Le génotype de l'hôte a également une importance fondamentale, car la résistance et la tolérance à l'infection, mais également la résistance à la manipulation sont connues pour avoir de fortes bases génétiques (Thomas *et al.*, 2011). Le troisième facteur principal, l'environnement, a pour partie été exploré par Fayard *et al.* (2019), Labaude *et al.* (2015a; b, 2017a; b, 2020) et Sanchez-Thirion *et al.* (2019). Pour un couple hôte/parasite donné, le risque de prédation dans la rivière étudiée peut ainsi également influencer sur le niveau de manipulation. L'hypothèse proposée est que dans un environnement avec peu de prédateurs, il y aura une pression évolutive pour un niveau élevé de manipulation, alors que dans un environnement riche en hôtes définitifs, la pression de prédation naturellement élevée rendra la manipulation des hôtes intermédiaires moins nécessaire. Par contre, d'autres facteurs de l'environnement tels que la température, la quantité et la qualité des ressources nutritives des hôtes, n'influencent que très peu la manipulation comportementale (Labaude *et al.*, 2015a, 2020; Sanchez-Thirion *et al.*, 2019).

La découverte récente de la diversité cryptique chez les gammares donne un nouvel éclairage sur les résultats obtenus à ce jour concernant les relations avec leurs parasites acanthocéphales, en particulier ceux publiés par le laboratoire Biogéosciences depuis vingt ans (Galipaud *et al.*, 2019). Par exemple, l'étude publiée par Franceschi *et al.* (2010b) s'est intéressée à des infections croisées à partir de plusieurs populations supposées de *G. pulex* et leurs populations de parasites. Mais les analyses génétiques ultérieures dans les populations utilisées pour les infections croisées ont révélé trois lignées distinctes de *G. fossarum* et un représentant du groupe *pulex* dans trois des rivières sélectionnées, avec jusqu'à trois lignées sympatriques dans l'une d'elles (Lagrue *et al.*, 2014). La composition exacte en lignées des trois autres n'est toujours pas connue à ce jour. L'étude de Franceschi *et al.* (2010b) n'a pas révélé d'adaptation locale dans leur capacité de manipulation des populations de *P. laevis*. En revanche, une adaptation locale a été mise en évidence dans les sensibilités de leurs populations hôtes à l'infection (les hôtes sont plus sensibles aux parasites sympatriques). Si elle était possible, une nouvelle analyse de ces résultats prenant en compte la diversité génétique des hôtes pourrait révéler, ou non, des facteurs confondants.

Dans le chapitre 1, nous avons montré que dans la nature, les prévalences en parasites varient au cours du temps dans une même rivière entre espèces de gammares hôtes potentiels, y compris cryptiques, alors que ces hôtes sont disponibles de manière constante à peu près à tout moment de l'année.

L'hypothèse proposée dans le premier chapitre, selon laquelle des prévalences élevées en cystacanthés dans la nature ne sont pas forcément le signe d'une infectivité élevée des parasites, a été confirmée dans le deuxième chapitre. L'expérience d'infestation en laboratoire a ainsi montré que *G. fossarum* (*sensu lato*, puisque les individus de l'Albane n'ont pas été génotypés dans cette expérience) sont plus sensibles à l'infection par *P. laevis* que *G. roeselii*. Comme *G. fossarum* est plus

sensible à la fois à l'infection parasitaire et à la manipulation (Bauer *et al.*, 2000), cet hôte peut donc être considéré comme un hôte clé pour la transmission de *P. laevis*. Cette expérience d'infection en laboratoire a été effectuée en soumettant les gammares collectés dans deux rivières différentes à des œufs de parasites provenant d'une troisième population, déjà connue par ailleurs pour être très infectieuse (Franceschi *et al.*, 2010b). Nous n'avons donc pas d'idée sur la sensibilité réelle des lignées du complexe d'espèces *pulex/fossarum* de l'Albane aux parasites auxquels elles sont confrontées dans leur environnement.

Seules des infections expérimentales peuvent nous permettre de bien comprendre les différences de prévalence observées dans la nature (Poulin & Maure, 2015). En effet, ces variations entre espèces peuvent être dues à au moins trois facteurs : une différence de sensibilité à l'infection, une différence de virulence du parasite entre les différents hôtes, et une différence de manipulation menant à une différence de taux de prédation. Galipaud *et al.* (2017) ont montré qu'il existait une différence de mortalité induite par les parasites (déduite indirectement par l'absence d'accumulation des parasites chez les hôtes âgés, voir le modèle de Rousset *et al.*, 1996), et que cette mortalité était variable entre espèces. Ceci suggère que les parasites expriment soit une virulence différentielle, soit une manipulation différentielle en fonction des hôtes qu'ils infectent, mais une étude de terrain ne permet pas de démêler ces deux causes de mortalité.

Dans ce chapitre, nous proposons d'étudier les rôles respectifs des trois facteurs identifiés ci-dessus dans les interactions entre les deux parasites acanthocéphales de poissons, *P. laevis* et *P. tereticollis*, sur leur communauté d'hôtes sympatriques du complexe d'espèces cryptiques *Gammarus pulex/fossarum* de l'Albane.

4.2. Objectifs du chapitre

Les comparaisons des succès respectifs d'infections expérimentales entre les différentes lignées soumises aux parasites vont permettre de tester si elles ont une sensibilité équivalente aux parasites.

Des mesures de comportement des gammares infectés par des parasites au stade cystacanthe vont permettre d'estimer d'éventuelles différences dans les niveaux de manipulation.

Le suivi de la survie en fonction de la dynamique de l'infection sera également effectué. Plusieurs hypothèses fortes permettent de prédire que les individus soumis à l'infection par des acanthocéphales voient leur survie diminuée : (i) le coût de la pénétration des acanthors dans la paroi digestive après l'ingestion des œufs, (ii) le coût d'une résistance à l'infection, ou (iii) le coût d'héberger un parasite dont le développement conduit à un cystacanthe d'une taille non négligeable pour l'hôte (figure 4.1). La virulence des parasites sera estimée via des mesures de survie des gammares dans les conditions expérimentales. La survie sera mesurée dans un premier temps globalement, indépendamment du statut parasitaire des individus, mais en distinguant les témoins réels des individus soumis à l'infection, pour voir si le simple fait d'être soumis au parasite influe sur la survie des gammares. Dans un second temps, la survie des individus soumis mais non infectés et de ceux parasités sera analysée.



Figure 4.1 - *Gammarus pulex* infecté par *P. laevis* au stade cystacanthe. Merci Nico K pour cette photo intemporelle.

4.3. Matériels et methodes

4.3.1. Collecte des gammares

Les gammares ont été collectés début janvier 2020 dans l'Albane, petit cours d'eau de Côte d'Or affluent de la Bèze, entre les villages de Belleneuve (47°21'25.6"N 5°15'53.6"E) et Trochères (47°20'34.0"N, 5°18'22.3"E). Un lot a également été collecté dans un ruisseau affluent du Suzon juste en amont de Val-Suzon (47°24'12.6"N, 4°52'58.2"E). Cette dernière population, constituée essentiellement de *Gammarus pulex*, est naïve pour les infections par les *Pomphorhynchus* depuis au moins 25 ans (L. Bollache, T. Rigaud non publié). Les individus la composant sont particulièrement sensibles à l'infection par *P. laevis*, ce qui fait que cette population a déjà été utilisée à de nombreuses reprises pour des infestations expérimentales en laboratoire avec *P. laevis* (12 études, de Franceschi *et al.*, 2008 à Labaude *et al.*, 2020). Elle a donc servi de témoin positif pour la présente infestation, afin de vérifier que d'éventuels faibles taux d'infection chez les gammares de l'Albane ne sont pas dus à des problèmes d'infektivité des lignées de parasites utilisées (ou pour servir de témoin à tout problème expérimental).

De retour au laboratoire, les amphipodes ont été placés à 15 ± 1 °C avec un cycle jour/nuit 12/ 12 h en bacs collectifs de 37 x 55 x 40 cm remplis au tiers d'eau de leur milieu. Seuls les individus mâles ont été conservés pour optimiser le taux d'infection, Franceschi *et al.* (2008) ayant montré précédemment que l'échec de développement parasitaire est supérieur chez les femelles. Les

individus parasités naturellement ont été écartés. Après ce premier tri, les amphipodes étaient maintenus dans les bacs collectifs par lots de 500 maximum, nourris *ad libitum* avec des feuilles d'orme mortes en décomposition (séchées, autoclavées puis trempées dans de l'eau 'préparée', cf. plus bas). Ils ont ainsi été acclimatés aux conditions de l'expérience (hors isolement) pendant trois semaines avant la procédure d'infestation. Cette quarantaine a permis de laisser le temps à des infections naturelles de se développer : les amphipodes avaient pu s'infecter naturellement en ingérant des œufs d'acanthocéphales dans la rivière juste avant leur capture. La quarantaine permettra donc de distinguer ces infections naturelles, et de ne pas utiliser ces individus pour les infections expérimentales réalisées ultérieurement.

L'eau utilisée lors des expériences a été préparée de la manière suivante. L'eau récoltée sur les sites de collecte des gammares a été conservée dans un bac de 200 litres, oxygénée avec un bulleur. De l'eau du robinet du laboratoire, passée par un filtre à charbons actifs et par une rampe UV, puis stockée sous bullage dans un réservoir d'1 m³, a été progressivement ajoutée à ce mélange au fur et à mesure des utilisations. Cette eau 'préparée' avait donc au départ les caractéristiques de la rivière d'origine des gammares (pH, dureté, micro-organismes...) mais elle a été diluée progressivement avec de l'eau déchlorée et stérile.

Un conditionnement des feuilles préalable à leur distribution a été effectué de manière à éviter une contamination par d'éventuels pathogènes, tout en favorisant le développement d'un biofilm de micro-organismes, nécessaire à la nutrition des gammares (Bärlocher & Kendrick, 1973a,b, 1975). Pour ce faire, des feuilles d'orme sèches, ramassées *in natura* durant les automnes précédents, ont été réhumidifiées dans de l'eau du laboratoire (voir ci-dessus) pendant environ 7 jours, puis autoclavées. Elles ont ensuite été à nouveau placées à décanter dans de l'eau 'préparée' aérée (doncensemencée avec les micro-organismes présents dans la rivière) pendant environ 7 jours avant distribution.

4.3.2. Collecte et typage des acanthors de parasites

Des chevesnes (*Squalius cephalus*), hôtes définitifs chez lesquels se reproduisent les *Pomphorhynchus*, ont été prélevés par pêche électrique dans la rivière Albane, aux mêmes stations que les amphipodes (autorisation préfectorale annuelle n° 162, du 13 février 2020). Dès le retour au laboratoire, les poissons ont été euthanasiés à l'eugénol (Chanseau *et al.*, 2002), disséqués, et les parasites femelles ont été prélevés dans le tube digestif des hôtes. Les chevesnes sont les hôtes préférentiels de *Pomphorhynchus laevis* mais peuvent également être infectés par *P. tereticollis*. Comme les deux parasites sont difficilement distinguables sur des critères morphologiques, le typage spécifique a été effectué génétiquement. Aucun hôte préférentiel de *P. tereticollis* (comme les barbeaux *Barbus barbus*) n'ayant été récolté pendant cette campagne, les parasites de cette espèce utilisés dans cette expérience ont également été prélevés sur les chevesnes échantillonnés.

Il faut noter que cette infestation par *P. tereticollis* est la première tentative d'infection expérimentale en laboratoire avec cette espèce.

Les « œufs » (les larves au stade acanthor sont enfermées dans une enveloppe en forme de fuseau, cf. Crompton & Nickol, 1985) ont été extraits du corps des parasites par dissection et stockés dans des microtubes de 2 ml remplis d'eau « préparée » (voir plus haut). Les suspensions d'œufs de parasites ont été contrôlées au microscope, et seuls les lots contenant au moins 50 % d'œufs matures (où les acanthors développés étaient clairement visibles, voir figure 4.2) et en densité suffisante, ont été conservés.

Les corps des parasites dont étaient issus les œufs ont été conservés dans des microtubes contenant de l'éthanol absolu pour typage ultérieur. L'ADN des parasites a été extrait à l'aide d'un kit d'extraction (EZ-10 96 Well Plate Genomic DNA Isolation kit, BioBasic Inc.) en suivant le protocole du fabricant.

Pour le typage génétique, le gène codant pour la première sous-unité de la cytochrome oxydase (CO1) a été amplifié en utilisant les amorces universelles LCO1490 et HCO2198 (Folmer *et al.*, 1994). À 5 µL de la solution contenant l'ADN ont été ajoutés 200 nM de chaque amorce, 200 µM de dNTPs, 0.25 U d'ADN polymérase (HotStarTaq, Qiagen Inc., Düsseldorf, Allemagne), 1X de tampon et complétés avec de l'eau ultrapure pour obtenir un volume réactionnel total de 20 µL. Le mélange réactionnel a ensuite été soumis au cycle thermique suivant : activation de la polymérase pendant 3 min à 95 °C, puis 39 cycles : dénaturation 20 s à 95 °C, hybridation 45 s à 40 °C et synthèse pendant 1 min à 65 °C, puis finalement 2 min à 65 °C (synthèse finale). Le contrôle du succès d'amplification a été effectué par électrophorèse sur gel d'agarose à 2 % de 3 µL de produit de PCR (pendant 15 min à 100 V) et révélation au bromure d'éthidium. Un puits de chaque ligne était réservé pour y déposer 1 µL de marqueur de taille (échelle de 100 paires de bases, Fermentas). Les échantillons dont l'amplification a échoué n'ont pas été sélectionnés pour la suite de l'expérience.

Une RFLP a été réalisée pour déterminer l'espèce de parasite, l'enzyme de restriction *VspI* (Thermo Scientific™) permettant de distinguer *P. laevis* (2 fragments de restriction de 60 et 620 pb) et *P. tereticollis* (2 fragments de 450 et 240 pb). 10 U d'enzyme ont été ajoutés à 1 µL de tampon associé et 5 µL de produit de PCR et ajustés avec de l'eau ultrapure à un volume réactionnel de 15 µL. Le mélange a été ensuite placé à 37 °C pendant 16 heures puis à 65 °C pendant 20 minutes pour inactiver l'enzyme. La migration des 15 µL de produit de RFLP sur gel d'agarose à 2 % (pendant 20 min à 100 V), puis révélation au bromure d'éthidium, a permis la détermination de l'espèce des échantillons sélectionnés.

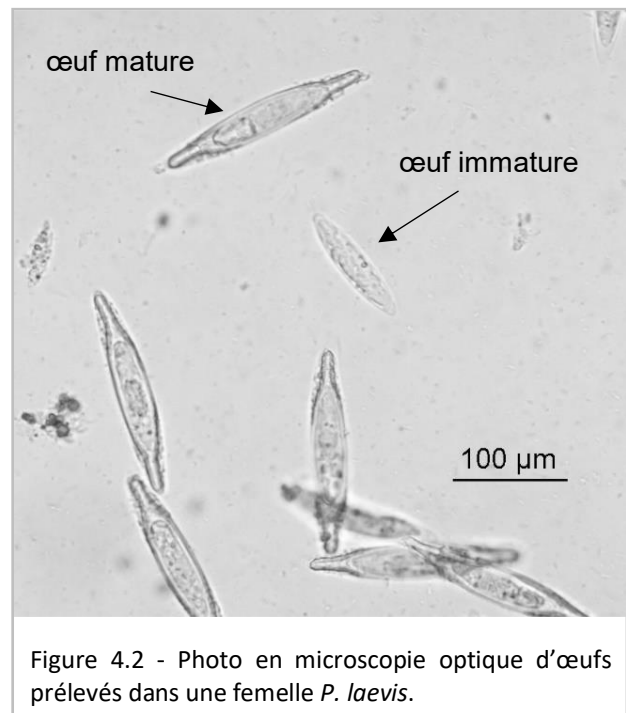


Figure 4.2 - Photo en microscopie optique d'œufs prélevés dans une femelle *P. laevis*.

4.3.3. Préparation des suspensions d'œufs et protocole d'infestation

Pour chacune des espèces de parasite, une suspension a été préparée en mélangeant et diluant dans l'eau les 7 pontes les plus matures par comptage sous microscope optique (Nikon E600 x20) de manière à obtenir une concentration de 80 œufs / microlitre. Le mélange des pontes de plusieurs femelles acanthocéphales permet de s'affranchir d'une éventuelle faiblesse d'une femelle en particulier (les infectivités sont variables entre pontes, voir Franceschi *et al.* 2010a), et nous paraît plus représentatif de ce que peuvent rencontrer les gammares en milieu naturel.

Deux sessions d'infestations ont été réalisées à une semaine d'intervalle, la première à l'aide des parasites *P. laevis* (que j'appellerai *session laevis* par la suite), la seconde avec *P. tereticollis* (*session tereticollis*).

Durant les 72 heures précédant l'infestation, les gammares étaient privés de nourriture de manière à ce qu'ils soient affamés au début de l'expérience. La procédure décrite dans Franceschi *et al.* (2008) a ensuite été suivie : les individus ont été placés par deux dans un cristalliseur de 60 ml (par deux, les gammares ingèrent mieux les feuilles que lorsqu'ils sont isolés, données non publiées), en présence d'un morceau de feuille d'orme d'environ 1 cm² sur lequel on a préalablement déposé un volume de suspension contenant 300 œufs en moyenne. Cette dose d'œufs a été choisie pour les motifs suivants. Franceschi *et al.* (2008) avaient montré que le succès d'infection est dose-dépendant, mais que de fortes doses (à partir de 200 œufs par gammare) induisent de forts taux de multi-infections. Le meilleur compromis pour réaliser des infections expérimentales a été établi à 100 œufs par gammare (donc 200 œufs pour les deux gammares). Cependant, ces données ont été obtenues sur la population de *Gammarus pulex* de Val-Suzon, très sensible à l'infection, alors que les infections réalisées sur des gammares provenant de rivières où les parasites sont présents (« non naïves ») montrent toujours des succès d'infection moindres (Franceschi *et al.*, 2010b ; maximum 10 % dans l'expérience présentée dans le chapitre 3). Étant donné qu'ici nous utilisons des hôtes ayant coévolué avec les parasites *Pomphorhynchus*, une dose supérieure à 200 œufs nous a semblé nécessaire. La dose de 300 œufs (150 par gammare) nous a donc semblé être un bon compromis entre trop peu d'infectivité et trop de multi-infections. Des morceaux de feuilles sans œufs ont été distribués aux lots témoins.

Après 48 heures, tous les individus ont été individualisés dans un cristalliseur (60 ml) contenant de l'eau préparée et un morceau de feuille d'orme sain.

4.3.4. Maintien des gammares et suivi de mortalité

Pendant toute la durée de l'expérience, les cristalliseurs ont été inspectés quotidiennement, l'eau complétée et un morceau de feuille d'orme ajouté si nécessaire. Un matricule a été attribué aux gammares morts, qui étaient ensuite mesurés (hauteur de la 4^e plaque métacoxale du péréion) et disséqués pour vérifier leur statut parasitaire. Les tissus disséqués étaient conservés dans l'éthanol absolu dans l'attente de génotypage. Le suivi quotidien a permis de pouvoir amplifier de l'ADN de ces individus malgré leur décès. Toutes les deux semaines, un ver de vase rouge (*Chironomus*

plumosus) décongelé (cubes d'alimentation pour poissons de la marque Europrix) était distribué dans chaque cristalliseur comme complément alimentaire, améliorant ainsi la survie en laboratoire (Labaude *et al.*, 2015a), et 24 heures plus tard l'eau était intégralement remplacée.

Figure 4.3 – Salle de maintien.



À partir de 6 semaines post-infection, les gammars ont été inspectés sous loupe binoculaire (Nikon SMZ 745) pour vérifier leur statut parasitaire. Les individus détectés comme infectés étaient placés à part, ainsi qu'un nombre de témoins similaires, pour leur utilisation ultérieure dans les expériences de comportement. Le suivi régulier a permis de détecter les parasites dès le stade acanthelle. La croissance des parasites était ensuite inspectée 2 fois par semaine à travers la cuticule de leur hôte à la loupe binoculaire.

À la fin de l'expérimentation, c'est-à-dire quand plus aucun parasite d'une même espèce n'a été détecté pendant 15 jours de suite, et que les expériences de comportement ont toutes été terminées, les gammars n'ayant pas été préalablement isolés pour mesures comportementales ont été euthanasiés dans l'eau saturée en CO₂, puis placés ensemble par lots dans des flacons en plastique remplis d'éthanol absolu dans l'attente du génotypage. Les gammars isolés ayant été utilisés en mesures comportementales ont été euthanasiés, mesurés et disséqués pour confirmer leur statut parasitaire. Le stade de développement du / des parasites a été noté pour les individus infectés. Ces gammars, ainsi que les parasites qui les infectaient ont été conservés individuellement dans de l'éthanol absolu pour génotypage ultérieur. En effet, les parasites au stade acanthelle ont dû être génotypés pour confirmer leur espèce, alors que les parasites ayant atteint le stade cystacanthé étaient aisément reconnaissables à la loupe.

4.3.5. Mesures de comportement

4.3.5.1. Entrée sous refuge

Le protocole utilisé est tiré de Dianne *et al.*, 2014. Chaque gammare était placé au centre d'une boîte rectangulaire de 10.5 × 16 cm (contenance ½ litre), remplie de 2 cm d'eau aérée. Cette boîte contenait une demi-coupelle en terre cuite pouvant servir de refuge, de 8.5 cm de diamètre, avec un trou de 1 cm de largeur dans la paroi permettant au gammare d'y entrer et d'en sortir (figure 4.4). La salle où les mesures comportementales ont eu lieu était maintenue à 15 °C et éclairée par des néons délivrant 1100 lux au niveau de la surface de l'eau. Après une période d'acclimatation de 10 minutes, les boîtes étaient inspectées toutes les 3 minutes pendant 1 h 30 min. À chaque inspection, un score de 0 était attribué si le gammare était dans refuge ou 1 s'il se trouvait en dehors. À la fin de la session, le score cumulé peut donc varier de 0, si le gammare était en permanence dans le refuge, à 30, s'il était hors refuge pendant toute la durée de l'expérience.



Figure 4.4 - Dispositifs de mesure de l'entrée sous refuge

4.3.5.2. Phototaxie

Les mesures de phototaxie ont été réalisées telles que décrites dans Franceschi *et al.* (2008). Le dispositif de mesure de l'attrance vis-à-vis de la lumière consiste en un tube en verre horizontal de 25 × 4 cm rempli d'eau aérée, dont une moitié est occultée par un gaine thermo rétractable noire (figure 4.5). Un trou ménagé à la limite entre la zone éclairée et la zone obscure permet l'introduction du gammare dans le dispositif. La pièce de comportement était maintenue dans les mêmes conditions que pour les mesures d'entrée sous refuge. Après une période d'acclimatation de 5 min, la position du gammare était notée toutes les 30 secondes pendant 5 min. À chaque observation, un score de 0 était attribué lorsque le gammare était caché dans la moitié occultée,



Figure 4.5 - Dispositifs de mesure de la phototaxie

ou 1 s'il se trouvait dans la partie éclairée. Le score final résultant peut donc varier de 0 pour les individus plus photophobes à 10 pour les plus photophiles.

4.3.5.3. Séquence des mesures

Chaque mesure de comportement a été réalisée sur 3 dates successives : le lendemain de la détection du stade cystacanthé (J1), puis 2 semaines plus tard (J15), puis encore 2 semaines plus tard (J29). Les cystacanthés étaient alors âgés d'au moins un mois. L'objectif de ces mesures réalisées à plusieurs âges de développement était de détecter d'éventuelles différences dans la mise en place de la manipulation entre les lignées testées. En effet, on sait depuis Franceschi *et al.* (2008) que le degré de manipulation comportementale augmente en intensité au cours du temps après l'apparition du stade cystacanthé chez *G. pulex* infecté de *P. laevis*, qu'elle peut être variable entre lignées de parasites, mais on ignore encore si elle peut varier différemment au cours du temps en fonction des espèces hôtes.

4.3.6. Typage moléculaire des garmares et des parasites

4.3.6.1. Extraction

Pour préparer l'extraction des garmares qui étaient encore vivants à la fin de l'expérience, entre 2 et 4 appendices locomoteurs ont été détachés et placés dans un tube rempli d'éthanol. Pour les cadavres, comme l'ADN se dégrade assez rapidement après la mort avant fixation des tissus, une quantité plus importante de tissu a été utilisée pour les individus morts en cours d'expérience. Suivant la taille de l'individu, entre 1 et 3 segments complets portant les péréiopodes ont alors été prélevés.

Chez les parasites adultes dont les œufs ont été sélectionnés pour les infestations, un morceau d'environ 2 mm de tissu suffisait pour l'extraction. Pour les parasites au stade acanthelle obtenus en cours d'expérience, le corps entier a été utilisé pour l'extraction.

Toutes les extractions d'ADN ont été réalisées à l'aide d'un kit d'extraction (EZ-10 96 Well Plate Genomic DNA Isolation kit, BioBasic Inc.) en suivant le protocole qui lui est associé. Pour les garmares, les éluions ont été faites avec 100 µl de tampon d'éluion fourni dans les kits. Pour les parasites, les éluions se sont faites avec 60 µl de tampon.

4.3.6.2. Amplification

La partie 5' codant pour la première sous-unité de la cytochrome oxydase (CO1) de l'ADN des garmares a été amplifiée en utilisant les amorces universelles LCO1490 et HCO2198 (Folmer et *al.*, 1994) selon le protocole détaillé dans l'[annexe B](#) (protocoles de génotypage, page 157). La procédure de vérification du succès de l'amplification y est précisée également.

Pour les parasites dont le stade de développement ne permettait pas le typage sur critères morphologiques, la procédure suivie est également celle décrite dans l'[annexe B](#).

4.3.6.3. Séquençage

Tous les garmares de l'Albane ont été séquencés, ainsi que les parasites pour lesquels une PCR a été réalisée avec succès. Les détails méthodologiques sont présentés dans l'[annexe B](#). Le séquençage par la méthode de Sanger a été réalisé par Genewiz (Leipzig, Allemagne). Les séquences obtenues ont été alignées sur Mega 6 et comparées à des séquences de référence (voir [annexe B](#)).

Pour chaque lot de garmares séquencés, les distances génétiques entre haplotypes ont été calculées et un arbre a été construit selon la méthode des plus proches voisins (neighbor-joining ; 500 bootstraps). Un haplotype de *Dikerogammarus villosus* (numéro d'accès Genbank EF570297.1) était inclus en tant que groupe externe et les séquences obtenues étaient comparées aux séquences de référence de chaque lignée (voir [annexe B...](#)) Les unités taxonomiques moléculaires opérationnelles (MOTUs) ont été identifiées à l'aide de distances par paires corrigées par les paramètres Kimura-2 (K2p). Les haplotypes ont été regroupés en un seul MOTU lorsque la distance K2p entre les haplotypes est inférieure à 2 % et les haplotypes ont été regroupés en un groupe monophylétique terminal avec un support bootstrap > 90 %.

4.3.7. Analyses statistiques

Les prévalences parasitaires ont été comparées par tests du Chi², ou par tests exacts de Fisher dans le cas de très petits effectifs. Les données de comportement ont été analysées avec des tests de Wilcoxon-Mann-Whitney quand deux séries étaient à comparer, ou en réalisant des tests de Kruskal-Wallis quand plus de deux modalités étaient à comparer (puis des tests de Wilcoxon-Mann-Whitney pour les comparaisons deux à deux si nécessaire).

Les données de survie des hôtes ont été analysées avec R à l'aide du package survival (Therneau & Grambsch, 2000). La variable 'événement' peut prendre 2 valeurs : 1 si l'individu est mort en cours d'expérience, ou censuré à 0 s'il était encore vivant à la fin (118 jours pour les individus de la session laevis, et 138 pour ceux de la session tereticollis). Les graphiques présentés sont des courbes de Kaplan Meyer et des modèles de Cox ont été utilisés pour les comparaisons.

4.4. Résultats

4.4.1. Résultats globaux

Le tableau 4.1 synthétise les résultats de cette expérience pour chaque session d'infestation, en termes de lignées de gammarus détectées et d'infection par les parasites à différents moments de l'expérience. En dehors des *Gammarus roeselii*, qui n'ont pas été pris en compte dans cette expérience (bien qu'ils soient présents dans la rivière, voir le chapitre 2), quatre lignées d'hôtes ont été trouvées chez les gammarus de l'Albane, comme lors du suivi temporel (chapitre 1). En revanche, nous avons trouvé très peu de *Gammarus pulex* par rapport au suivi temporel, en dépit des effectifs conséquents utilisés. Quelques individus *Gf 7* ont été détectés au séquençage, mais, comme ils sont génétiquement très proches du motu *Gf 6* et font partie du même groupe reproducteur (Lagrue *et al.*, 2014) et comme ils n'avaient pas été distingués dans le suivi temporel, ils ont été intégrés au groupe *Gf 6* dans les analyses qui suivent.

Il faut rappeler ici que les génotypes de tous les hôtes n'ont été obtenus qu'après la réalisation des expériences. Ces dernières ont donc été réalisées en aveugle vis-à-vis des types d'hôtes, ce qui explique qu'il nous était impossible de rétablir les éventuels déséquilibres d'effectifs.

Nous avons noté ici comme « infectés » tous les hôtes où un parasite a été détecté, quel que soit son état. Ainsi, les hôtes dont les parasites n'ont visiblement pas été au bout de leur développement ont été comptés comme infectés, de la même manière que ceux hébergeant des parasites vivants. Il est à noter que dans quelques cas, savoir si le parasite est mort ou vivant n'était pas évident, et aurait nécessité de faire un test de dévagination (comme par exemple par (Labaude *et al.*, 2020)), ce qui n'a pas été fait ici.

Il est à noter qu'un nombre non négligeable d'individus ont développé une infection « naturelle » (c'est-à-dire non issue de l'infestation expérimentale), soit par *P. laevis*, soit par *P. tereticollis* (voir analyse ci-après). L'analyse de ces infections naturelles permettra de renforcer les résultats obtenus lors des expériences.

Tableau 4.1. Effectifs génotypés par lignée pour chaque session. *Non dét.* : gammares qui n'ont pas pu être génotypés (et donc retirés des analyses quand l'information de lignée est nécessaire). *Suzon* : gammares du Suzon, non distingués par lignée. *Mort précoce* : gammares morts avant la date de première détection d'acanthelle. *Infectés terrain* : parasites issus d'infections naturelles (l'espèce n'est pas précisée ici ; les individus non typés avec certitude sont inclus). *Infectés labo* : parasites issus des infections de laboratoire. *Infection mixte* : gammares hébergeant un mélange de parasites du terrain malgré la quarantaine (espèce non précisée ici) et du laboratoire. *Non infectés* : gammares soumis non infectés. *Gf 2* = *Gammarus fossarum* de lignée 2 ; *Gf 6* = *Gammarus fossarum* de lignée 6 ; *Gp D* = *Gammarus pulex* de lignée D.

session laevis							
lignée	témoins		soumis à l'infection				
	infectés terrain	sains	mort précoce	infectés terrain	infectés labo	infection mixte	non infectés
<i>Gf 2</i>	2	23	33	25	7	8	417
<i>Gf 6</i>	0	64	58	0	7	2	400
<i>Gp D</i>	0	1	1	0	2	0	6
non dét.	0	5	4	0	0	0	35
"Suzon"	NA	NA	2	NA	79	NA	18

session tereticollis							
lignée	témoins		soumis à l'infection				
	infectés terrain	sains	mort précoce	infectés terrain	infectés labo	infection mixte	non infectés
<i>Gf 2</i>	2	46	88	26	27	1	241
<i>Gf 6</i>	1	41	125	3	9	0	368
<i>Gp D</i>	0	0	18	0	0	0	11
non dét.	1	4	13	3	0	0	28
"Suzon"	NA	NA	4	NA	4	NA	89

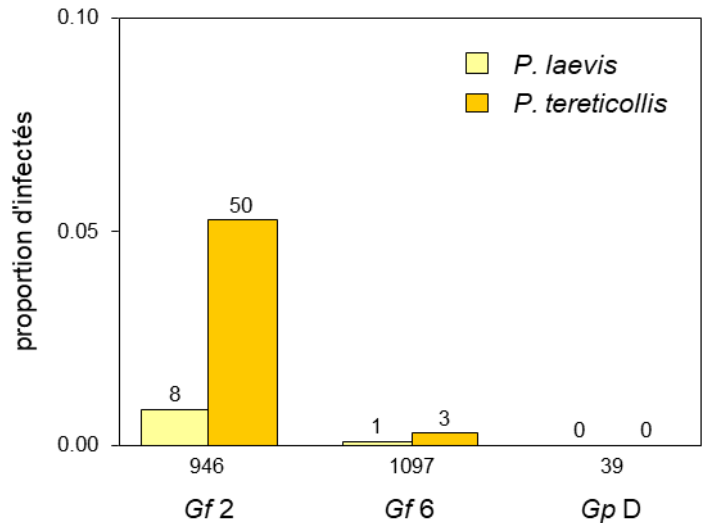
4.4.2. Les différents hôtes montrent-ils une sensibilité équivalente à l'infection ?

4.4.2.1. Infections d'origine naturelle développées au laboratoire

L'analyse des prévalences en parasites issus d'infections naturelles a permis d'effectuer une première analyse entre lignées (figure 4.6).

Pour les deux parasites étudiés, les prévalences étaient plus fortes chez *Gf 2* que chez *Gf 6* (tests exacts de Fisher ; *P. laevis* : $p = 0.015$; *P. tereticollis* : $p < 0.001$). Aucune infection naturelle n'a été observée pour *Gp D*, dont les effectifs sont très faibles (cf. tableau 4.1).

Figure 4.6 - Infections d'origine naturelle par *P. laevis* et *P. tereticollis* chez les gammares de l'Albane. Les effectifs de gammares parasités sont indiqués au-dessus des barres, et les effectifs totaux de chaque lignée en dessous.



4.4.2.2. Infections expérimentales

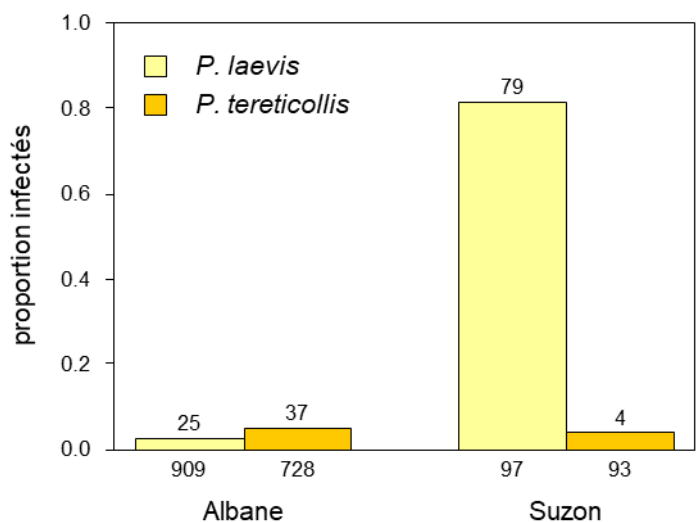
Contrôle de l'infectivité des parasites utilisés

Même si le succès de l'infestation par *P. laevis* est faible pour les gammares (toutes lignées confondues) provenant de l'Albane, la forte prévalence trouvée chez les gammares du Suzon prouve que les parasites utilisés étaient bien infectieux. Ceci confirme que ces gammares sont très sensibles à *P. laevis*, et que les gammares sympatriques de ces parasites sont particulièrement résistants à l'infection (figure 4.7).

La prévalence en *P. tereticollis* est, elle, semblable chez les gammares provenant des deux rivières ($\chi^2 = 0.005$, 1 ddl, $p = 0.942$). Il est donc compliqué de conclure fermement quant à l'infectivité des parasites utilisés, mais on peut dire qu'elle est globalement faible.

Figure 4.7 - Succès des infections expérimentales par *P. laevis* et *P. tereticollis*, chez les gammares (toutes lignées confondues) prélevés dans les deux rivières Albane et Suzon. Les nombres de gammares parasités sont indiqués au-dessus des barres, et les effectifs totaux de chaque session en dessous.

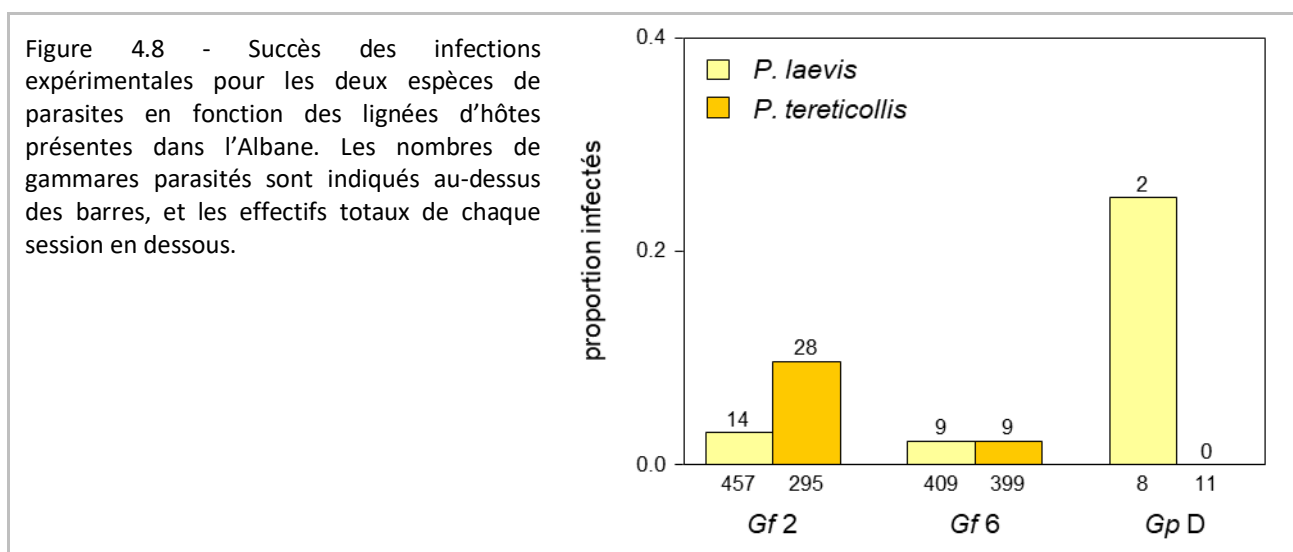
» [retour au chapitre 5](#)



Succès de l'infection entre les lignées d'hôtes de l'Albane

La comparaison des prévalences obtenues avec les infections expérimentales (figure 4.8) montre, comme pour les infections de terrain, une variation dans la sensibilité à l'infection entre lignées d'hôtes, et ce pour les deux espèces de parasites (test exact de Fisher sur l'ensemble des lignées pour *P. laevis*, $p = 0.018$; pour *P. tereticollis*, $p < 0.01$). Par rapport à *Gf 6*, *Gf 2* n'est cependant pas significativement plus sensible à *P. laevis* (Pearson $\chi^2 = 0.3327$, 1 ddl, $p = 0.564$), mais est nettement plus sensible à *P. tereticollis* (Pearson $\chi^2 = 16.19$, 1 ddl, $p < 0.001$).

Malgré les faibles effectifs représentant cette lignée, *Gp D* semble beaucoup plus sensible à l'infection par *P. laevis* (2 gammarés sur 8 infectés ; test exact de Fisher entre *Gf 2* et *Gp D* : $p = 0.028$), alors qu'aucune infection par *P. tereticollis* n'a été détectée.



Charge parasitaire chez les individus infectés

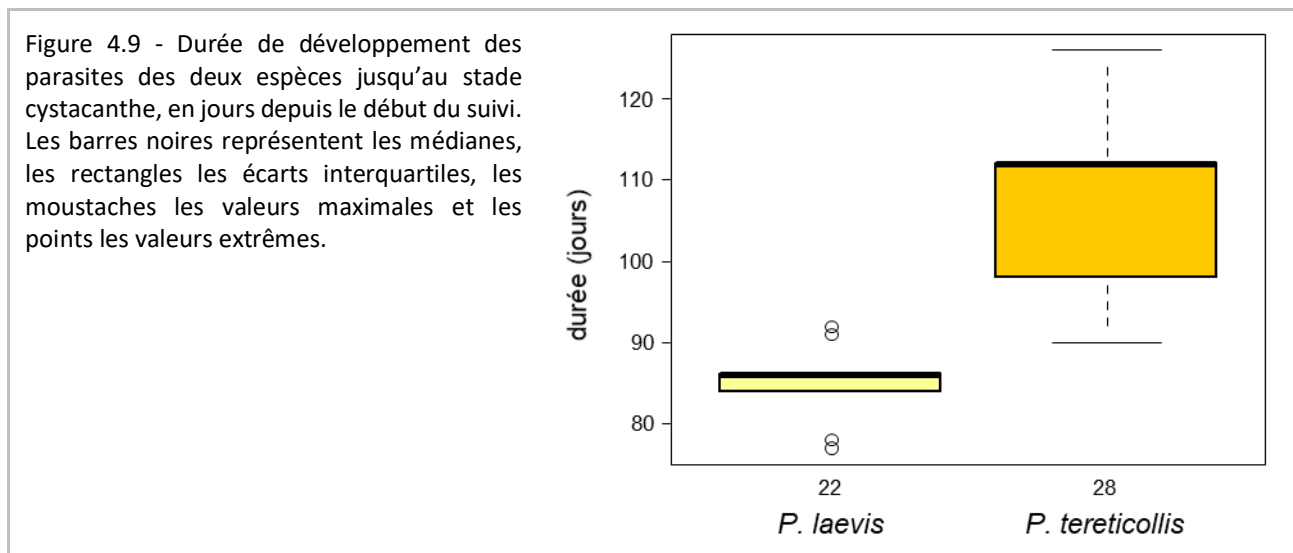
Les gammarés de Val-Suzon de la session *laevis*, pour lesquels le succès d'infection est particulièrement élevé, montrent également une forte charge parasitaire. Les individus infectés ont une charge moyenne de 4,5 parasites (jusqu'à 15 parasites dans un même individu). Chez les lignées de l'Albane, la charge moyenne est beaucoup plus faible. Chez *Gf 2*, l'intensité moyenne est de 2,1 parasites, la moitié des individus sont mono infectés, et l'autre moitié héberge entre 2 et 7 parasites. L'intensité moyenne est de 4 parasites chez *Gf 6*, la plupart sont mono infectés, mais deux individus présentent une charge très forte de 12 et 15 parasites, ce qui biaise la distribution. Les deux seuls *Gp D* infectés hébergent respectivement 1 et 2 parasites.

Dans la session *tereticollis*, seuls deux individus de Val-Suzon ont développé une infection (un avec un seul parasite et l'autre trois). Les *Gf 2* et *Gf 6* de l'Albane sont pour la plupart mono infectés et la charge maximale est de trois *P. tereticollis* (charge moyenne : 1,28 pour *Gf 2* et 1,22 pour *Gf 6*, différence non significative ; test exact de Fisher $p = 1$).

Durée de développement des parasites

Les premières acanthelles de *P. laevis* ont été détectées 44 jours post-infection et celles de *P. tereticollis* à 61 jours à l'occasion des dissections des gammars morts pendant le suivi. Chez les gammars isolés, les premiers *P. laevis* ont atteint le stade cystacanthe à 72 jours et les *P. tereticollis* à 92 jours.

Pour calculer les durées de développement des parasites, seuls les gammars hébergeant au maximum 2 parasites ont été conservés pour les comparaisons, de manière à éviter l'effet confondant de la charge. Toutes les lignées ont dû être regroupées pour maximiser les effectifs et les gammars n'ayant pas pu être génotypés sont également pris en compte. Il a fallu moins de temps aux *P. laevis* pour atteindre le stade cystacanthe (86 jours en moyenne) qu'aux *P. tereticollis* (108 jours), et l'intervalle entre les cystacanthes précoces et les derniers s'est révélé beaucoup plus long chez cette dernière espèce (test U de Mann-Whitney : $W = 12$, $p < 0.001$; figure 4.9).



4.4.2.3. En bref

Cette étude confirme, dans des conditions semi-contrôlées, que toutes les lignées présentes dans l'Albane peuvent être infectées par *P. laevis*. Pour *P. tereticollis* les infestations expérimentales n'ont pas généré d'infection chez *Gp D*, mais les faibles effectifs peuvent être incriminés pour expliquer ce résultat.

Gf 2 est aussi sensible à l'infection par *P. laevis* que *Gf 6*, mais est beaucoup plus sensible à l'infection par *P. tereticollis*. *G. pulex* est vraisemblablement très sensible à l'infection par *P. laevis* et beaucoup moins à *P. tereticollis*. Encore une fois, les faibles effectifs de *G. pulex* de l'Albane ne permettent pas de conclure fermement, mais le fait que les gammars du Val-Suzon montrent les mêmes tendances, alors que ce sont des *G. pulex*, tendrait à confirmer cette hypothèse.

Il est tout de même à noter que, d'un point de vue qualitatif, dans la nature, on ne trouve pas de *G. pulex* parasités (voir aussi les faibles prévalences du chapitre 2), alors que l'infestation expérimentale par *P. laevis* génère des infections.

4.4.3. Virulence des parasites

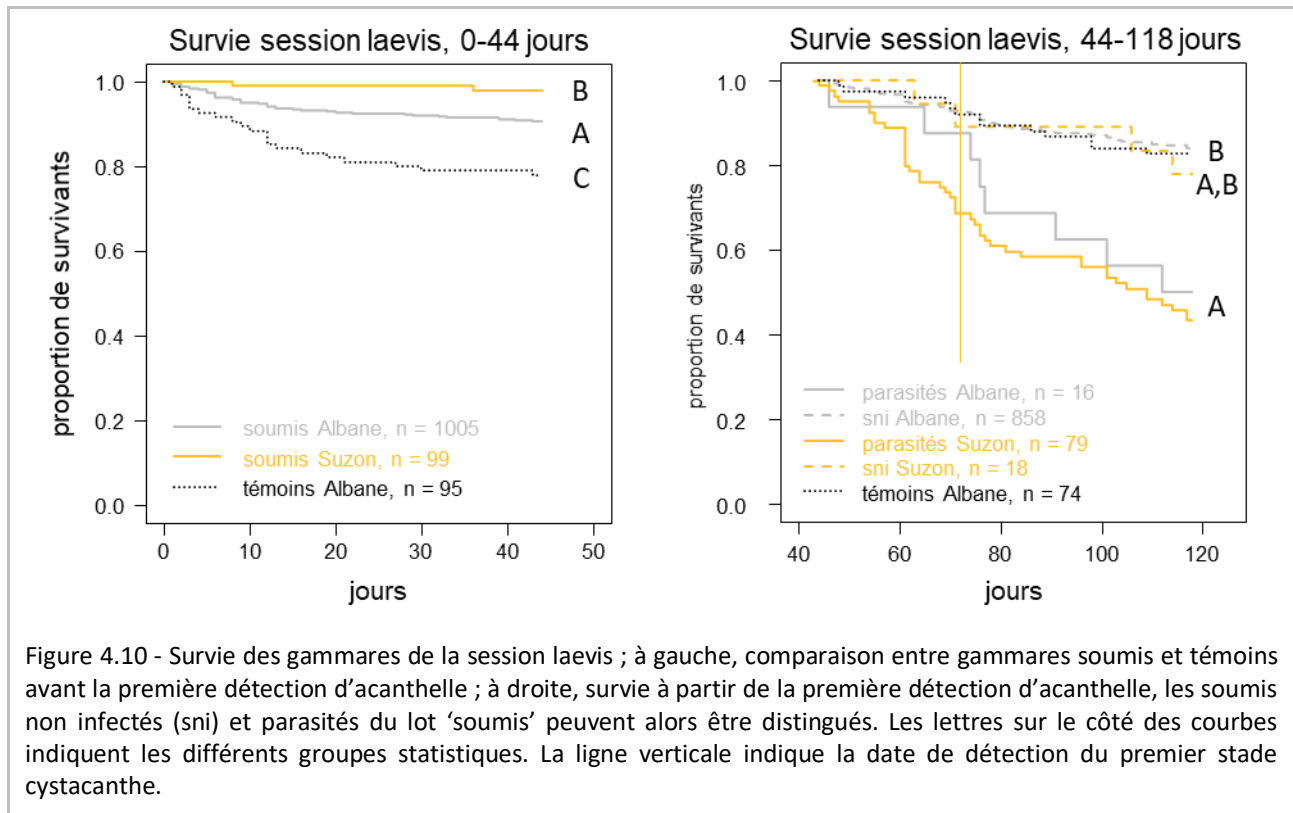
L'étude de la survie des gammares infectés en laboratoire permet d'estimer la virulence des parasites au cours de leur développement, en éliminant la mortalité due à la manipulation comportementale (qui peut être assimilée, elle aussi, à une virulence, mais de type différent). Dans un premier temps, ce sont les survies globales des gammares des deux sites qui vont être comparées. Comme l'Albane est un mélange de lignées, cette première analyse n'est pas correcte *stricto sensu*. Mais j'ai malgré tout choisi de présenter cette comparaison de survie entre lots pour voir si les tendances générales sont les mêmes entre les gammares issus des deux rivières Albane et Suzon. Les différentes lignées de gammares de l'Albane seront distinguées dans un second temps.

Une analyse préliminaire a montré que ces données de survie ne respectent pas, sur l'ensemble du suivi, la condition de proportionnalité des hasards nécessaire à l'application d'un modèle de régression de Cox. En effet, graphiquement, une accélération de la mortalité est visible après que le stade cystacanthé soit atteint (résultat non montré dans l'ensemble, mais voir les figures 4.10 à 4.13). La solution parfois appliquée dans ce cas de figure est de scinder l'analyse sur deux ou plusieurs périodes. Ce découpage est d'autant plus justifié ici que pendant les premières semaines de suivi, les éventuels parasites, au stade acanthelle, sont trop petits pour être détectés à la loupe binoculaire lors des dissections de gammares morts, ce qui ne permet pas de distinguer les gammares parasités des gammares soumis mais non infectés. La survie sera donc analysée en deux périodes. Dans un premier temps cette analyse sera effectuée globalement, indépendamment du statut parasitaire des individus, mais en distinguant les témoins des individus soumis à l'infection. Cette analyse s'arrêtera à la date de la première détection d'acanthelle lors de la dissection d'un individu mort (44 jours pour *P. laevis* et 61 jours pour *P. tereticollis*). Dans un deuxième temps, entre la date de première détection d'acanthelle et la fin du suivi, les lots 'non infectés' et 'parasités' seront distingués parmi les gammares soumis à l'infection. Pour chaque analyse effectuée ci-dessous, la condition de proportionnalité des risques est indiquée dans le tableau correspondant.

4.4.3.1. Survie globale par session : comparaison Suzon / Albane

Il n'a pas été possible d'effectuer un modèle factoriel complet à deux facteurs ('soumission aux parasites' et 'rivière d'origine') pour construire les modèles de survie, car je ne disposais pas de témoins négatifs pour les gammares du Suzon (le but de cette série était d'avoir un témoin positif d'infection). Ce sont donc directement les différentes catégories (témoins de l'Albane, soumis de chaque rivière, puis dans la seconde analyse 'soumis non infecté' (sni) et infectés de chaque rivière) qui sont comparés ci-dessous.

Session laevis



Dans la session laevis, les gammars de l'Albane soumis survivent mieux que les témoins. Les individus du Suzon montrent même un taux de survie encore supérieur à celui des soumis de l'Albane (figure 4.10, tableau 4.2).

Tableau 4.2 - Résultats de la régression de Cox appliquée aux données de survie de début de suivi. Odd ratio = $\exp(\beta)$. Proportionnalité des risques : $\chi^2 = 0.722$, 2 ddl, $p = 0.7$.

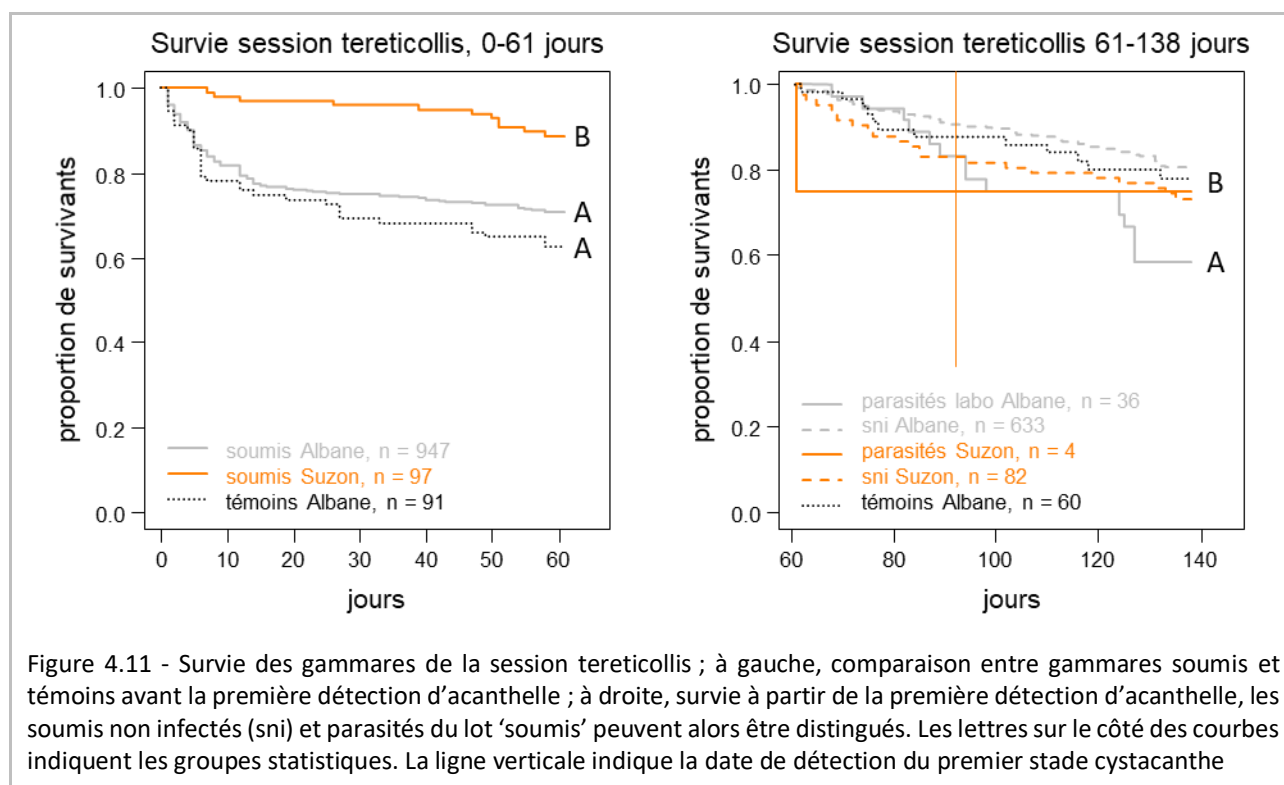
comparaison	β	odd ratio	\pm s.e.	z	ddl	p
soumis Albane vs. soumis Suzon	-1.5959	0.2027	0.7144	-2.234	1	0.0255
soumis Albane vs. témoins	0.9163	2.4999	0.2409	3.803	1	< 0.001

En revanche, à partir des premières détections d'acanthelles, un fort pic de mortalité se produit chez les gammars infectés, probablement lié à un effet du développement du parasite (il est habituellement possible de détecter les acanthelles à la loupe binoculaire dès qu'elles mesurent au moins 600 μm , mais les premiers parasites détectés dans des gammars morts en cours d'expérience mesurent environ 900 μm) (figure 4.10, tableau 4.3). Pour l'Albane, la mortalité devient forte chez les parasités surtout après que les *P. laevis* aient atteint le stade cystacanthe.

Tableau 4.3 - Résultats du modèle de Cox appliqué à partir de la date de première détection d'acanthelle *P. laevis*. Proportionnalité des risques : $\chi^2 = 2.69$, 4 ddl, $p = 0.61$.

comparaison	β	odd ratio	\pm s.e.	z	ddl	p
para Albane vs. para Suzon	0.2434	1.2756	0.3837	0.634	1	0.526
para Albane vs. sni Suzon	-0.9850	0.3735	0.6125	-1.608	1	0.108
para Albane vs. témoins	-1.2112	0.2978	0.4495	2.695	1	0.007
para Albane vs. sni Albane	1.3049	0.2712	0.3638	-3.587	1	< 0.001
sni Albane vs. sni Suzon	0.3192	1.3761	0.5072	0.629	1	0.529

Session tereticollis



Une forte mortalité des gammares de l'Albane est observée au début de la session tereticollis, mais elle ne semble pas liée à une présence du parasite puisque la même tendance est observée dans les lots de gammares soumis et témoins (figure 4.11). Là encore, les gammares du Suzon survivent mieux que ceux de l'Albane. Chez ces derniers, la différence de survie entre soumis et témoins n'est pas significative comme elle l'était dans la session laevis (tableau 4.4), mais le fait d'être soumis à cette deuxième espèce de parasite ne semble pas coûteux en termes de survie non plus sur cette période. Les risques ne sont pas proportionnels sur cette période, ce qui indique une probabilité de mourir beaucoup plus forte au début du suivi chez les gammares de l'Albane par rapport à ceux de Val-Suzon

Tableau 4.4 - Résultats du modèle de Cox appliqué aux données de survie de début de suivi de la session tereticollis. Proportionnalité des risques : $\chi^2 = 12.7$, 2 ddl, $p = 0.0017$.

comparaison	β	odd ratio	\pm s.e.	z	ddl	p
soumis Albane vs. soumis Suzon	-1.1111	0.3292	0.3072	-3.617	1	< 0.001
soumis Albane vs. témoins	0.2495	1.2834	0.1789	1.394	1	0.163

Dans la deuxième partie du suivi de la session tereticollis, seuls les gammares de l'Albane infectés présentent un niveau de survie plus faible que les autres. Ce phénomène ne s'observe de façon évidente qu'à partir de 120 jours d'infection, soit notablement plus tard que dans les infections par *P. laevis*. On n'observe pas de tendance similaire chez les parasites du Suzon, probablement à cause du très faible nombre d'individus dans ce lot (4 individus seulement, cf. tableau 4.1). Tout comme pour la session laevis, les individus témoins et soumis non infectés montrent des taux de survie équivalents sur cette période (tableau 4.5).

Tableau 4.5 - Résultats du modèle de Cox appliqué après la première détection d'acanthelle dans la session tereticollis. Proportionnalité des risques : $\chi^2 = 7$, 4 ddl, $p = 0.14$

comparaison	β	odd ratio	\pm s.e.	z	ddl	p
para Albane vs. para Suzon	-0.4344	0.6477	1.0329	-0.421	1	0.674
para Albane vs. sni Suzon	-0.4715	0.6241	0.3349	-1.408	1	0.159
para Albane vs. témoins	-0.5758	0.5622	0.3716	-1.549	1	0.121
para Albane vs. sni Albane	-0.8721	0.4181	0.2738	-3.186	1	0.001
sni Suzon vs. sni Albane	-0.4006	0.6699	0.2316	-1.729	1	0.084

4.4.3.2. Survie au sein des lignées pour le site de l'Albane

Les données de survie sont maintenant distinguées par lignée au sein de la rivière Albane. Les effectifs de *Gp D* étant trop faibles pour être analysés formellement, les résultats concernant cette lignée ne sont pas présentés. Des modèles de cox à deux facteurs, *lignée* et *traitement* ainsi que leur interaction ont été construits. Dans la première partie des suivis, avant la détection des premières acanthelles, le traitement peut prendre deux valeurs : *soumis* ou *témoin*. Dans la deuxième partie des suivis (après la détection des acanthelles), le traitement intègre le statut infectieux des gammares et peut prendre 3 valeurs : *témoin*, *soumis non parasité* (sni) et *infecté*.

Session laevis

Les *Gf 2* survivent globalement un peu mieux que les *Gf 6* dans la première partie du suivi, et les tendances sont les mêmes chez les deux lignées en fonction du statut infectieux : les individus soumis survivent mieux que les gammares témoins (figure 4.12, tableau 4.6).

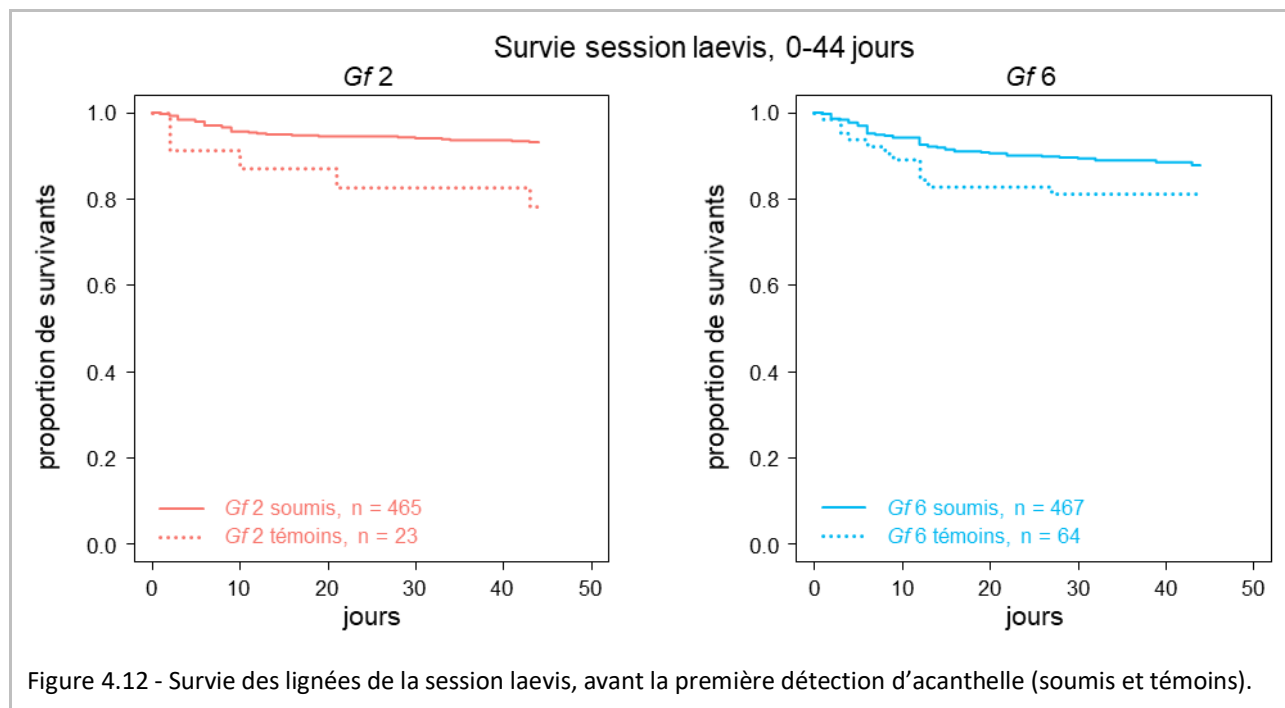


Figure 4.12 - Survie des lignées de la session laevis, avant la première détection d'acanthelle (soumis et témoins).

Tableau 4.6 - Résultats du modèle de Cox appliqué aux données de survie des lignées en début de suivi de la session laevis. Facteur lignée : *Gf 2*, *Gf 6*. Facteur traitement : soumis vs. témoin. L'interaction entre les facteurs n'est pas significative, elle a été retirée du modèle présenté. Proportionnalité des risques globale : $\chi^2 = 1.271$, 3 ddl, $p = 0.74$.

comparaison	β	odd ratio	\pm s.e.	z	ddl	p
lignée : <i>Gf 2</i> vs. <i>Gf 6</i>	0.4916	1.6349	0.2040	2.410	1	0.016
traitement : soumis vs. témoin	-0.6485	0.5228	0.2675	-2.424	1	0.015

Dans la deuxième partie du suivi, on observe toujours une différence de survie entre les deux lignées, celle de *Gf 2* étant encore supérieure à celle de *Gf 6*. Une mortalité accrue des individus parasités apparaît dès la détection des premières acanthes chez *Gf 6*, mais elle se produit plus tardivement, à partir de la date de différenciation des premiers cystacanthés chez *Gf 2* (figure 4.13, tableau 4.7). La survie des individus non infectés devient comparable entre les lots 'sni' et 'témoin' sur cette partie du suivi.

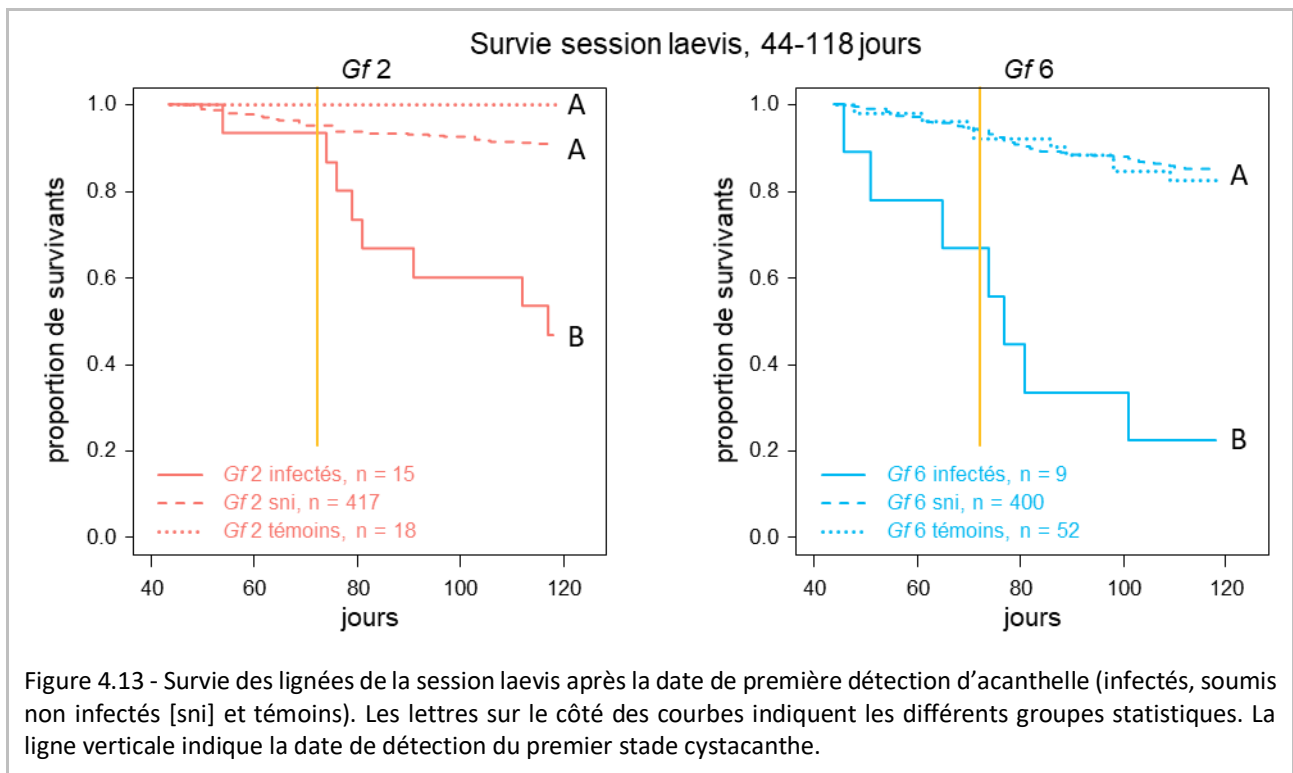


Tableau 4.7 - Résultats du modèle de Cox appliqué après la première détection d'acanthelle de la session laevis. Facteur lignée : *Gf 2*, *Gf 6*. Facteur traitement : infecté, soumis non infecté (sni), témoin. L'interaction entre les facteurs n'est pas significative, elle a été retirée du modèle présenté. Proportionnalité des risques globale : $\chi^2 = 1.9152$, 3 ddl, $p = 0.59$.

comparaison	β	odd ratio	\pm s.e.	z	ddl	p
lignée : <i>Gf 2</i> vs. <i>Gf 6</i>	0.5422	1.7197	0.1848	2.934	1	0.003
infection : témoin vs. infecté	2.1271	8.3905	0.4292	4.956	1	< 0.001
infection : témoin vs. sni	0.1072	1.1132	0.3496	0.307	1	0.759

Session tereticollis

Au début du suivi de la session tereticollis, on n'observe pas de différence globale significative de survie entre lignées ou entre traitements (figure 4.14, tableau 4.8).

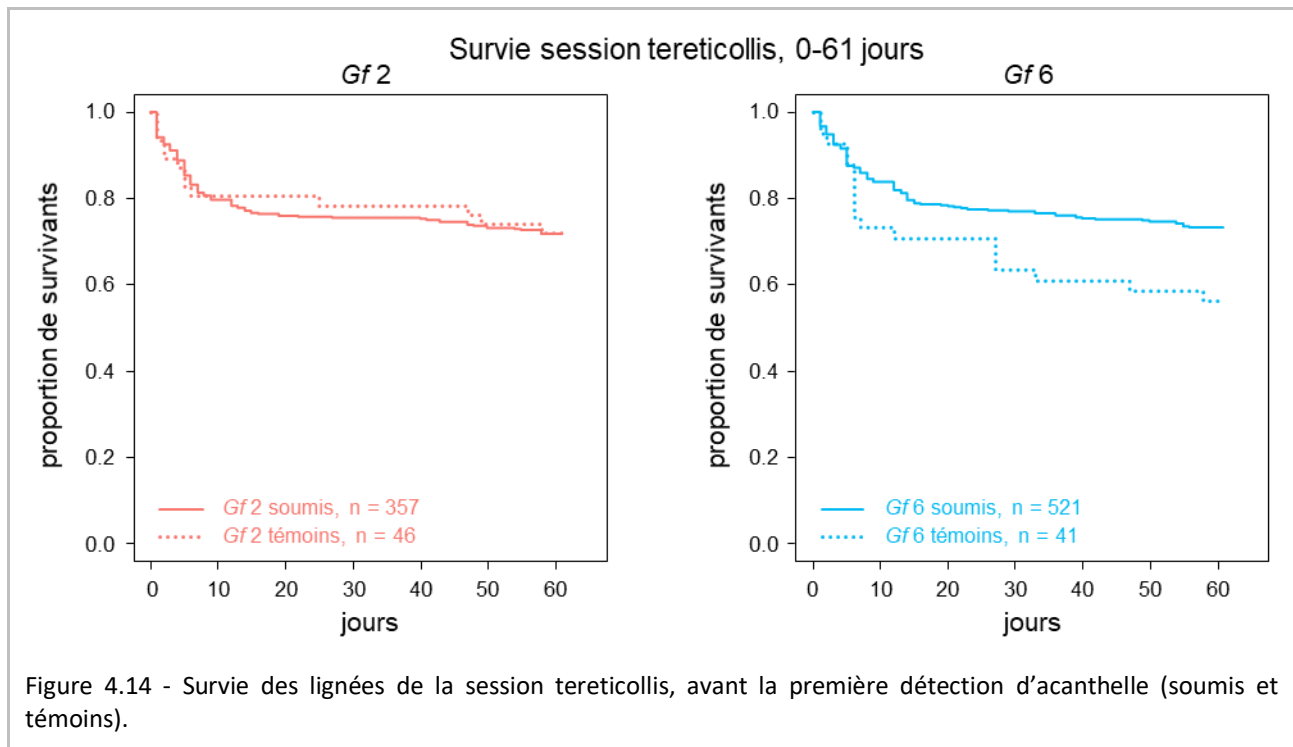


Tableau 4.8 - Résultats du modèle de Cox appliqué aux données de survie des lignées en début de suivi de la session tereticollis. Facteur lignée : *Gf 2*, *Gf 6*. Facteur traitement : soumis vs. témoin. L'interaction entre les facteurs n'est pas significative, elle a été retirée du modèle présenté. Proportionnalité des risques globale : $\chi^2 = 4.173$, 3 ddl, $p = 0.124$.

comparaison	β	odd ratio	\pm s.e.	z	ddl	p
lignée : <i>Gf 2</i> vs. <i>Gf 6</i>	-0.0197	0.9805	0.1236	-0.159	1	0.873
traitement : soumis vs. témoin	-0.3020	0.7393	0.1917	-1.576	1	0.115

Dans la seconde partie du suivi, on retrouve une survie globalement supérieure de *Gf 2*, comme dans la session laevis. Chez les deux lignées, les individus parasités montrent une mortalité accrue par rapport aux non infectés, qu'ils soient soumis mais non infectés ou témoins (figure 4.15, tableau 4.9). La mortalité des gammares des deux lignées infectés par *P. tereticollis* ne semble pas s'accroître une fois le stade cystacanthe atteint.

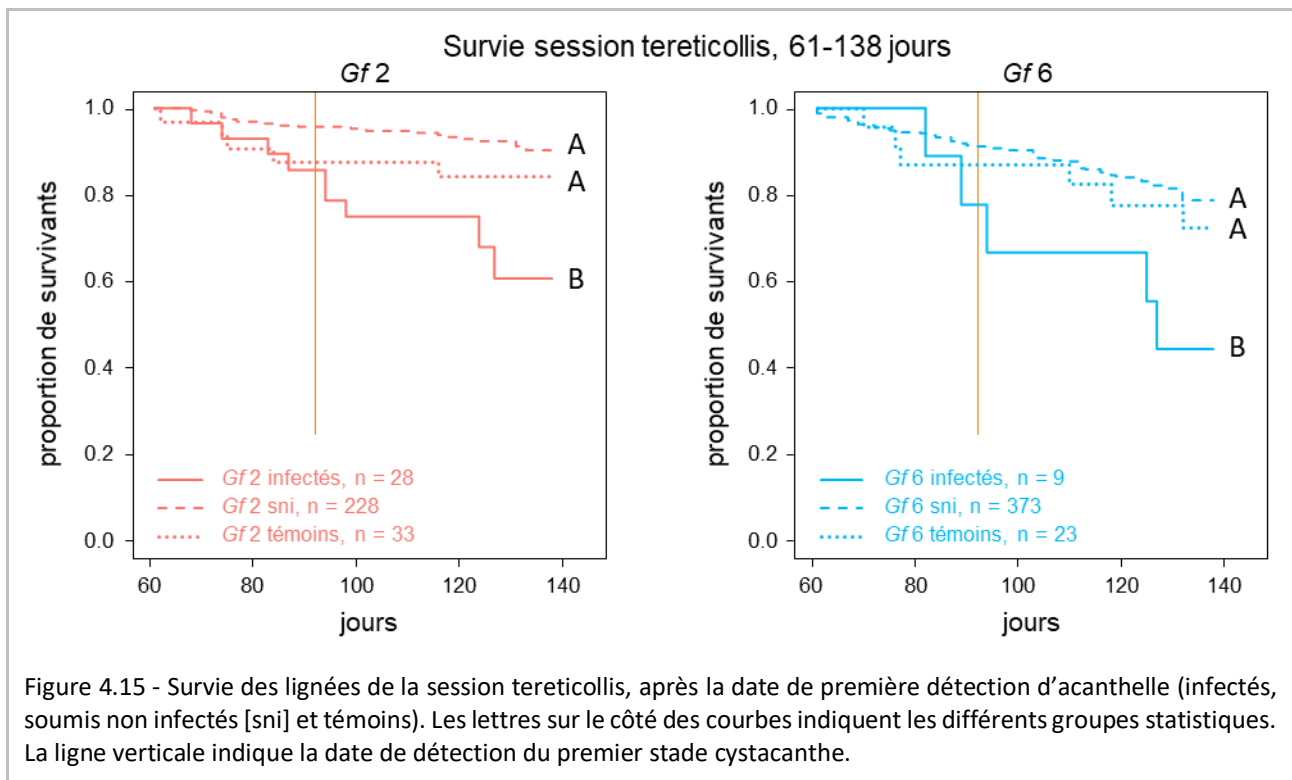


Tableau 4.9 - Résultats du modèle de Cox appliqué après la première détection d'acanthelle de la session tereticollis. Facteur lignée : *Gf 2*, *Gf 6*. Facteur traitement : infecté, soumis non infecté (sni), témoin. L'interaction entre les facteurs n'est pas significative, elle a été retirée du modèle présenté. Proportionnalité des risques globale : $\chi^2 = 2.105$, 3 ddl, $p = 0.55$.

comparaison	β	odd ratio	\pm s.e.	z	ddl	p
lignée : <i>Gf 2</i> vs. <i>Gf 6</i>	0.7639	2.1466	0.2012	3.796	1	< 0.001
infection : témoin vs. infecté	0.9834	2.6735	0.3940	2.496	1	0.012
infection : témoin vs. sni	-0.3993	0.6708	0.3193	-1.251	1	0.211

4.4.3.3. En bref

Gf 2 survit mieux que *Gf 6*, même quand il est parasité (en conditions de laboratoire tout au moins). L'ingestion des parasites et leur développement précoce ne semble pas être traumatisants, même pour les gammars du Suzon soumis à *P. laevis*, qui ont pourtant été fortement infectés et ont subi des charges très élevées. Étonnement, le fait d'être soumis à *P. laevis* aurait même tendance à diminuer la mortalité précoce des hôtes, qu'ils développent par la suite des infections ou non. Par contre, une mortalité accrue survient plus tard chez toutes les lignées d'hôtes, une fois que le développement du parasite entre dans sa phase de croissance exponentielle (acanthelles à partir de 600 μm de long). Ce phénomène est plus sensible chez les *Gf 6* que chez les *Gf 2*, quelle que soit l'espèce de parasite considérée.

4.4.4. Analyse des données de comportement

4.4.4.1. Comportement des lignées infectées

Les scores de comportement ont été comparés dans un premier temps entre lignées d'individus témoins, aucune différence n'a été détectée (figure 4.16 ; tableau 4.10). Les différentes lignées ne présentent donc pas des comportements intrinsèques différents qui pourraient biaiser les résultats observés chez leurs homologues infectés.

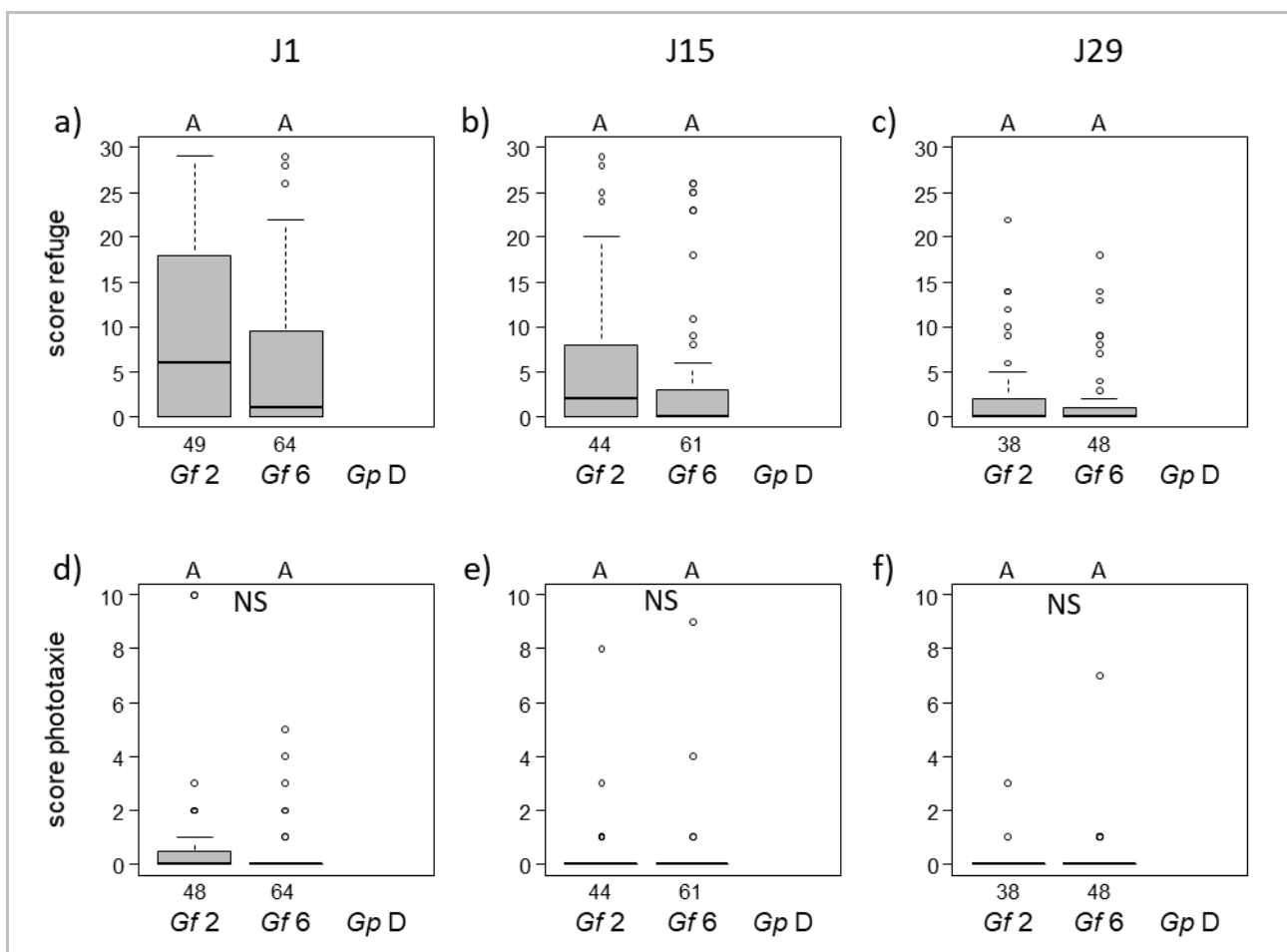
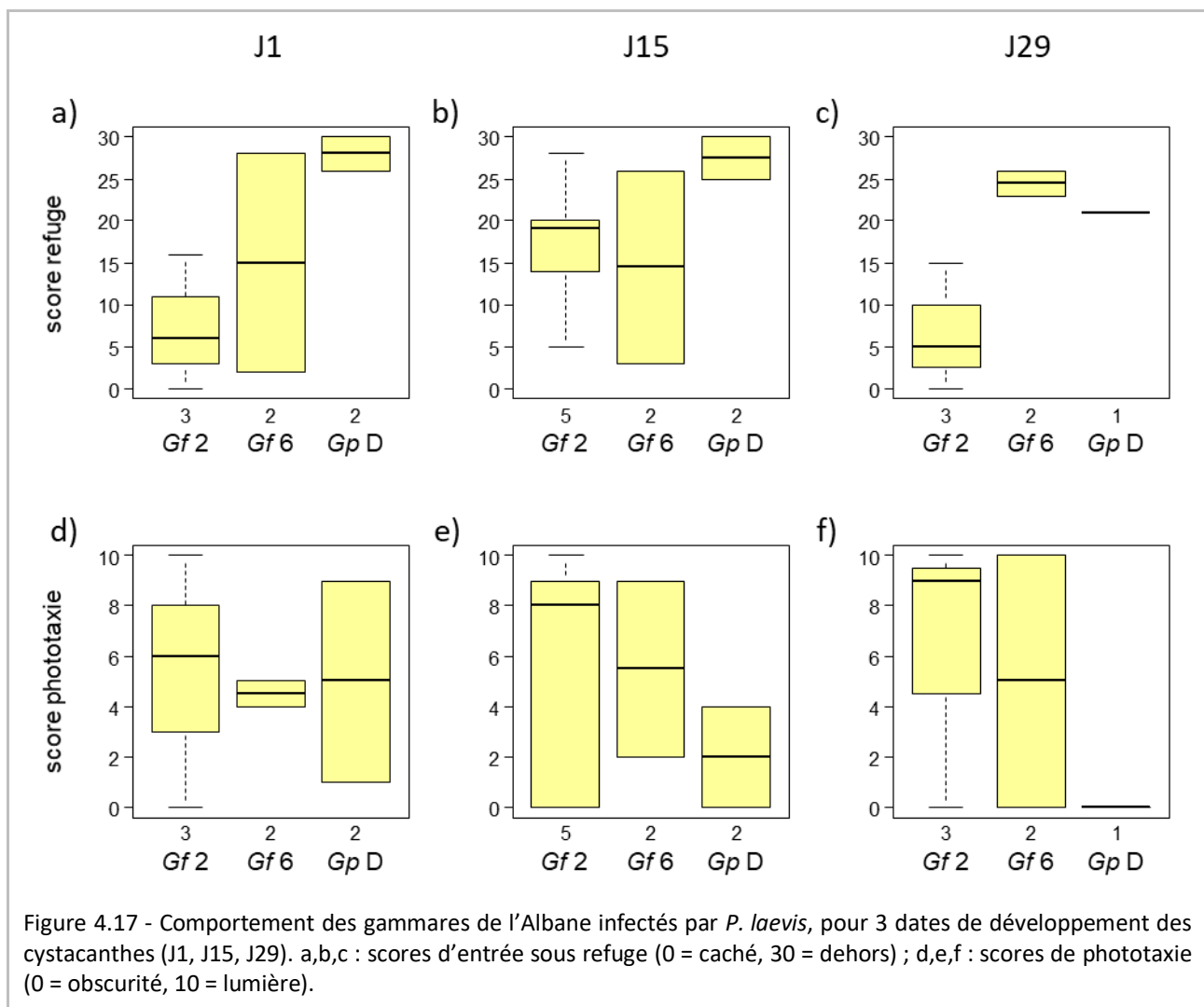


Figure 4.16 - Comportement des gammarus témoins de l'Albane, pour les 3 dates des mesures de comportement de ceux infectés (J1, J15, J29); comparaisons entre Gf 2 et Gf 6. Les traits épais horizontaux indiquent les valeurs médianes, les rectangles colorés couvrent l'intervalle entre le premier et le 3^e quartile, et les lignes pointillées matérialisent les 5^e et 95^e centiles. Les lettres au-dessus des barres indiquent les groupes statistiques (les groupes partageant la même lettre ne sont pas significativement différents). a,b,c : scores d'entrée sous (0 = caché, 30 = dehors) ; d,e,f : scores de phototaxie (0 = obscurité, 10 = lumière).

Tableau 4.10 - Comportement des gammares témoins de l'Albane. Test global : Kruskal-Wallis, 2ddl.

session	dispositif	test global
J1	refuge	$\chi^2 = 5.18, p = 0.075$
	phototaxie	$\chi^2 = 4.57, p = 0.102$
J15	refuge	$\chi^2 = 4.67, p = 0.097$
	phototaxie	$\chi^2 = 1.68, p = 0.431$
J29	refuge	$\chi^2 = 0.96, p = 0.620$
	phototaxie	$\chi^2 = 1.68, p = 0.431$

Au vu des faibles effectifs survivants au moment des mesures de comportement des gammares de l'Albane infectés par *P. laevis*, il n'est pas possible de conclure fermement à une différence de capacité de *P. laevis* à manipuler ses différentes lignées d'hôtes de manière différentielle. Les quelques parasites montrent des scores d'utilisation des refuges et de phototaxie assez variables, mais qui sont tout de même dans l'ensemble assez forts, surtout chez les Gf6 et les Gp D (figure 4.17).



Les analyses du comportement des gammares de l'Albane infectés par *P. tereticollis* sont à peine plus informatives que pour *P. laevis*, car seules deux lignées sont infectées et la plus grande partie des effectifs est regroupée dans la lignée *Gf 2* (figure 4.18 et tableau 4.11). Aucune différence significative n'est cependant détectée dans les comportements entre les deux lignées d'hôtes.

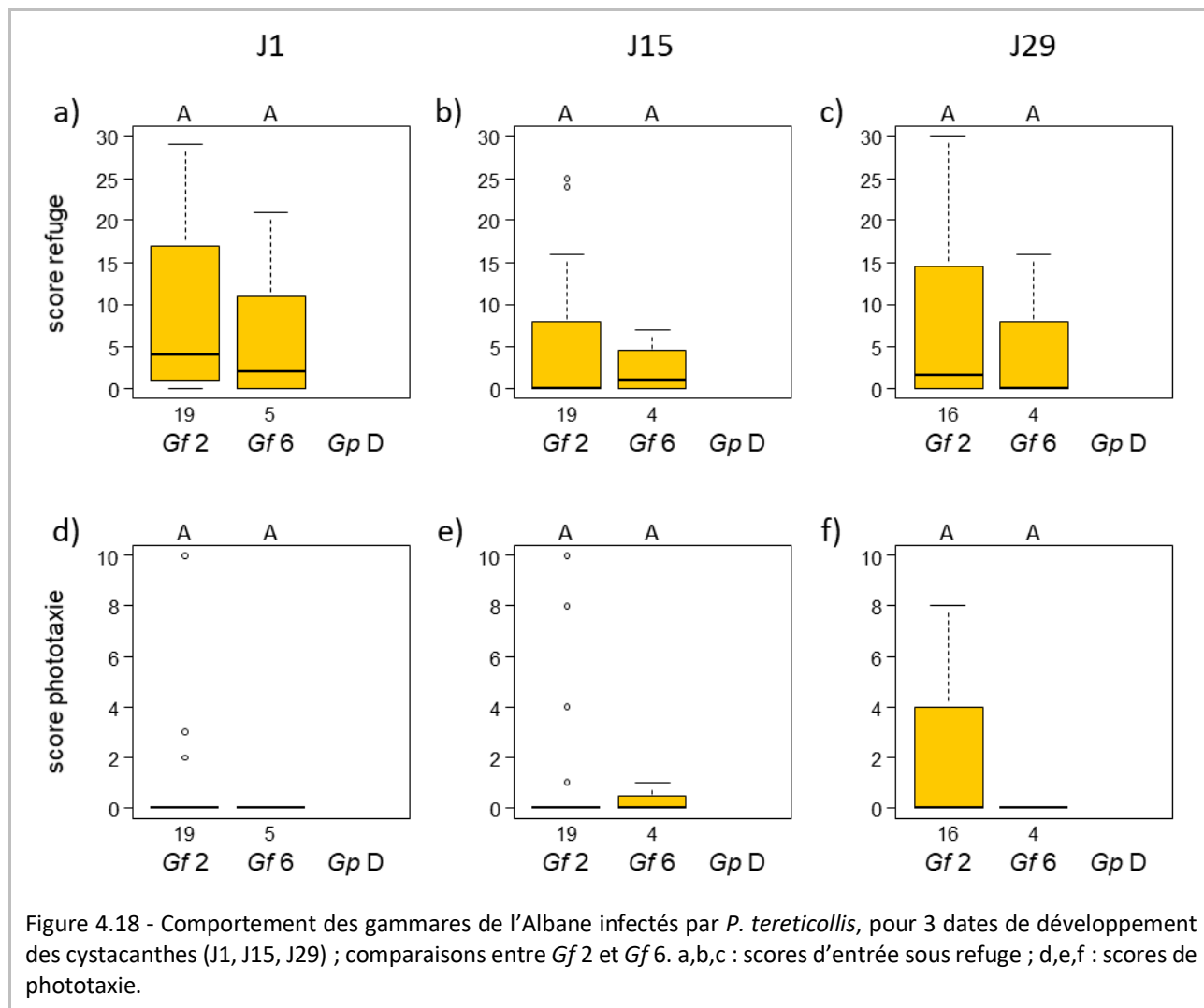


Tableau 4.11 - Comportement des gammares de l'Albane infectés par *P. tereticollis* ; comparaisons entre *Gf 2* et *Gf 6*.

session	dispositif	test de Wilcoxon-Mann-Whitney
J1	refuge	W = 49, p-value = 0.3864
	phototaxie	W = 55, p-value = 0.3867
J15	refuge	W = 39.5, p-value = 0.9286
	phototaxie	W = 38, p-value = 1
J29	refuge	W = 43, p-value = 0.2979
	phototaxie	W = 42, p-value = 0.2366

4.4.4.2. Comparaison entre gammars sains et parasités (toutes lignées confondues pour les gammars de l'Albane)

Chez les gammars du Suzon, ni les *P. laevis* ni les *P. tereticollis* qui viennent d'atteindre le stade cystacanth (J+1) ne semblent être encore capables d'induire de changements comportementaux chez leur hôte, que ce soit en mesurant l'entrée sous refuge ou bien la phototaxie (figure 4.19, tableau 4.12). En revanche, deux semaines plus tard, les gammars infectés par *P. laevis* sont devenus plus photophiles que les sains, et utilisent plus les refuges. Un mois après avoir atteint le stade cystacanth, la distribution des scores d'entrée sous refuge est beaucoup plus resserrée autour de la médiane, qui est toujours très forte.

Les gammars infectés par *P. tereticollis* ne semblent pas montrer un comportement différent des sains, mais il n'est pas possible de conclure avec certitude étant donné les très faibles effectifs de cette catégorie.

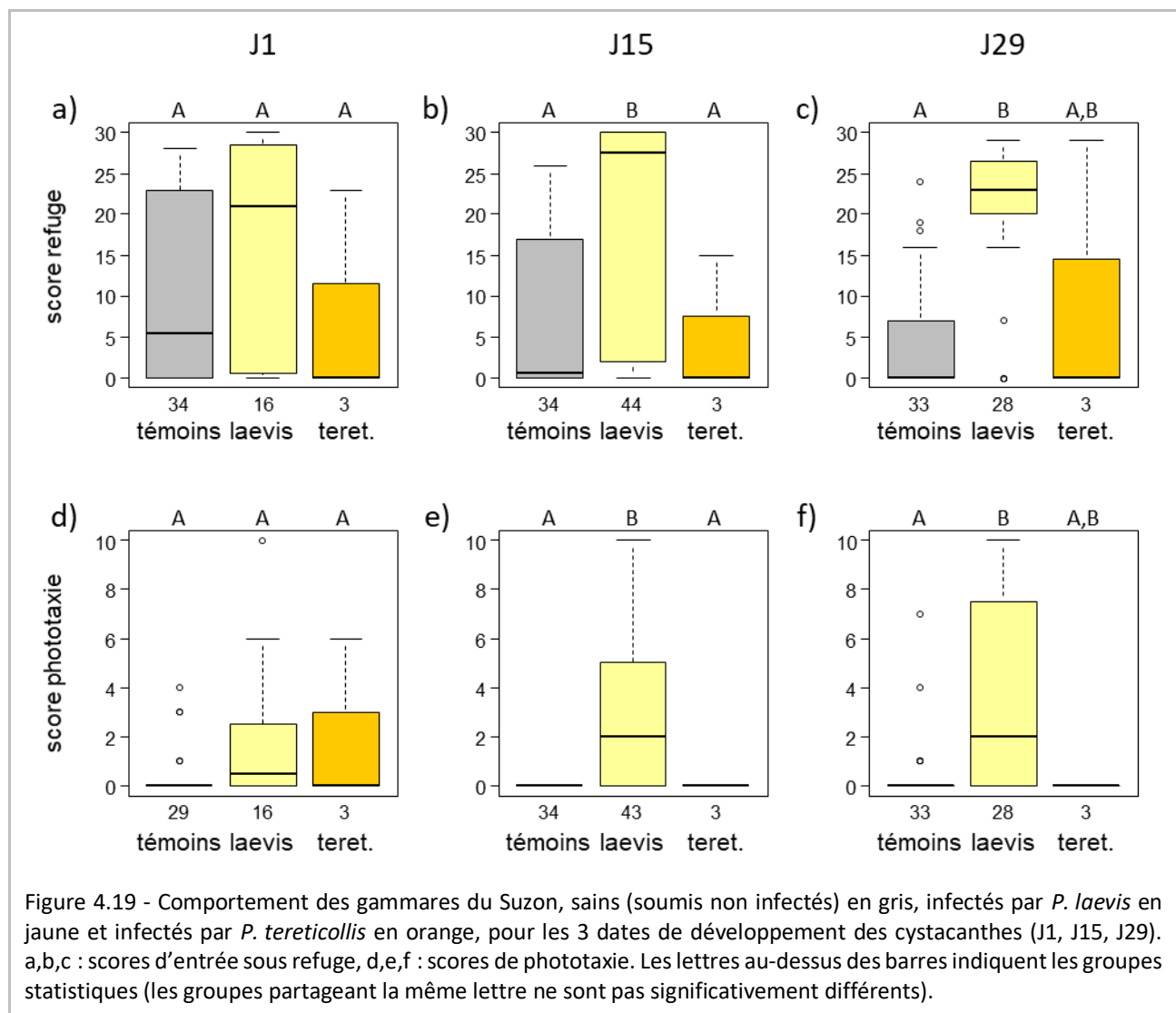


Figure 4.19 - Comportement des gammars du Suzon, sains (soumis non infectés) en gris, infectés par *P. laevis* en jaune et infectés par *P. tereticollis* en orange, pour les 3 dates de développement des cystacanthes (J1, J15, J29). a,b,c : scores d'entrée sous refuge, d,e,f : scores de phototaxie. Les lettres au-dessus des barres indiquent les groupes statistiques (les groupes partageant la même lettre ne sont pas significativement différents).

Tableau 4.12 - Comportement des gammares du Suzon. Test global : Kruskal-Wallis, 2ddl. Comparaisons multiples : tests U deux à deux. NA : le calcul est impossible (que des zéros).

session	dispositif	test global	comparaisons multiples		
			contrôle/laevis	contrôle /tereticollis	laevis/tereticollis
J1	refuge	$\chi^2 = 6.27, p = 0.043$	$p = 0.077$	$p = 0.507$	$p = 0.235$
	phototaxie	$\chi^2 = 5.58, p = 0.061$	$p = 0.057$	$p = 0.589$	$p = 0.904$
J15	refuge	$\chi^2 = 20.29, p < 0.001$	$p < 0.001$	$p = 0.57$	$p = 0.095$
	phototaxie	$\chi^2 = 39.84, p < 0.001$	$p < 0.001$	NA *	$p = 0.036$
J29	refuge	$\chi^2 = 29.01, p < 0.05$	$p < 0.001$	$p = 0.79$	$p = 0.63$
	phototaxie	$\chi^2 = 19.42, p < 0.001$	$p < 0.001$	$p = 0.505$	$p = 0.098$

Dans l'Albane, étant donné les très faibles effectifs de gammares survivants parasités par *P. laevis*, et l'homogénéité des comportements des gammares parasités par *P. tereticollis* ou des gammares sains, j'ai décidé de comparer tous les individus sains et tous les individus parasités, quelles que soient leurs lignées génétiques. Bien qu'étant incorrecte *sensu stricto* puisque composée d'éléments disparates, cette analyse permettra de dégager quelques éléments de comparaison entre les infections par *P. laevis* et *P. tereticollis*.

Les gammares de l'Albane montrent les mêmes tendances que celles observées pour ceux du Suzon (figure 4.20, tableau 4.13). Un niveau de manipulation élevé est observé chez les individus infectés par *P. laevis*, dans une moindre mesure pour les expériences d'entrée sous refuge (score médian inférieur à 20 pour les 3 sessions), mais d'intensité supérieure pour les tests de phototaxie (score médian égal ou supérieur à 4, alors qu'il est de 2 au maximum chez les gammares du Suzon), et ce plus précocement que pour les gammares du Suzon, puisqu'une différence significative est trouvée dans leur phototaxie dès le lendemain de la maturation des parasites en stade cystacanthé (figure 4.20 a, d). Ces résultats sont cependant à relativiser étant donné les faibles effectifs de gammares parasités qui ont pu être testés à J29.

Les modifications de comportement induites par *P. tereticollis* sont, comme chez les gammares du Suzon, de moindre intensité que celles observées chez les individus infectés par *P. laevis*. On notera cependant que les individus infectés utilisent significativement moins les refuges que les sains, et voient leur photophilie augmentée lorsque les cystacanthés sont âgés d'un mois.

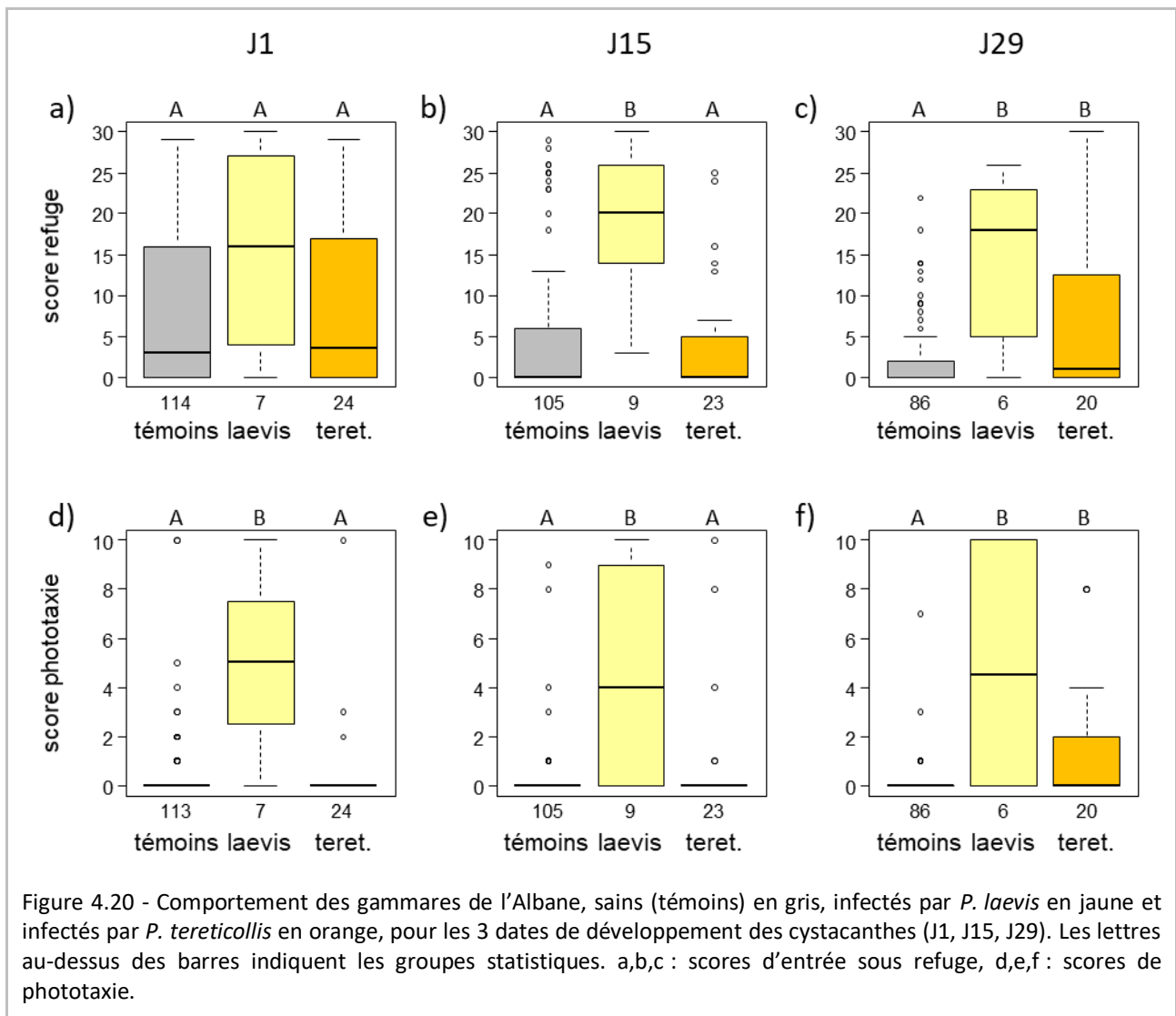


Tableau 4.13 - Comportement des gammares de l'Albane. Test global : Kruskal-Wallis, 2ddl. Comparaisons multiples : tests U deux à deux.

session	dispositif	test global	comparaisons multiples		
			contrôle/laevis	contrôle /tereticollis	laevis/tereticollis
J1	refuge	$\chi^2 = 4.91, p = 0.086$	$p = 0.097$	$p = 0.442$	$p = 0.215$
	phototaxie	$\chi^2 = 26.70, p < 0.05$	$p < 0.001$	$p = 0.824$	$p < 0.001$
J15	refuge	$\chi^2 = 18.82, p < 0.05$	$p < 0.001$	$p = 0.896$	$p = 0.001$
	phototaxie	$\chi^2 = 17.87, p < 0.05$	$p < 0.001$	$p = 0.056$	$p = 0.056$
J29	refuge	$\chi^2 = 8.41, p = 0.015$	$p = 0.047$	$p = 0.047$	$p = 0.421$
	phototaxie	$\chi^2 = 11.97, p < 0.05$	$p = 0.009$	$p = 0.025$	$p = 0.161$

4.4.4.3. En bref

De par le faible nombre d'individus infectés survivants, les données de comportement obtenues au cours de cette expérience ne permettent pas de conclure fermement quant à une capacité différente des deux espèces de parasites à manipuler les différentes lignées d'hôtes auxquels ils peuvent être confrontés.

En groupant les différentes lignées de l'assemblage de l'Albane, on peut tout de même observer des changements de comportement assez précoces suite à l'apparition du stade cystacanthé chez *P. laevis* (allant vers une moindre utilisation des refuges et une apparition de photophilie), alors que de tels changements, avec une intensité bien inférieure, ne sont observés qu'un mois après l'apparition du stade cystacanthé chez les individus infectés de *P. tereticollis*.

4.5. Discussion

4.5.1. Sensibilité des différentes lignées d'hôtes à l'infection par les parasites

Cette étude confirme, dans des conditions contrôlées, que toutes les lignées présentes dans l'Albane peuvent être infectées par *P. laevis*. *Gf 2*, qui est l'hôte potentiel du complexe *fossarum/pulex* le plus fréquent dans l'Albane, ne montre pas de taux d'infection plus forts par ce parasite que les autres lignées de gammares. Le succès d'infection de *Gf 6* est du même ordre de grandeur, ce qui est cohérent avec les résultats du suivi temporel. Les infections expérimentales ont tendance à montrer que *Gp D* est particulièrement sensible à ce parasite. Ce résultat n'est pas en accord avec ceux du chapitre 2 (suivi temporel) et à ce qu'ont trouvé (Galipaud *et al.*, 2017). En effet, les *G. pulex* montrent de faibles prévalences *in natura* dans ces études. Même s'il est nécessaire de confirmer ce résultat avec des effectifs raisonnables, il semble peu probable d'avoir un tel succès d'infection expérimental uniquement par hasard. De plus, la population de Val-Suzon, composée de *G. pulex*, se montre très sensible à l'infection, comme les quelques *G. pulex* de l'Albane. On pourrait donc proposer, au vu des seuls résultats de cette expérience, et avec toutes les précautions nécessaires dues aux faibles effectifs de l'Albane, que *P. laevis* soit un parasite mieux adapté aux *Gammarus pulex* qu'aux *Gammarus fossarum* (quelle qu'en soit la lignée génétique). Cependant, l'expérience présentée au chapitre 3 (Bauer & Rigaud, 2015) a montré un taux d'infection plus fort des *G. fossarum* par des *P. laevis* (le taux d'infection par *P. laevis* chez les *G. pulex/fossarum* y est de l'ordre de 10 %, contre 2.9 % globalement dans notre étude lorsque l'on regroupe les *G. pulex* et les *G. fossarum* comme nous l'avons fait dans Bauer & Rigaud, 2015). La seule différence entre ces deux expériences ayant été l'utilisation de souches différentes de parasites (souche de la Vouge dans (Bauer & Rigaud, 2015) ; souche de l'Albane dans la présente étude), nous pouvons en déduire que la sensibilité des hôtes aux parasites dépend également des

génotypes de parasites, et/ou de leur degré de coévolution local avec leurs hôtes, comme proposé par (Franceschi *et al.*, 2010b). Il serait de toute façon très intéressant d'essayer de réaliser des infections contrôlées avec *P. laevis* sur d'autres populations composées de *G. pulex*. Malgré toutes nos précautions pour standardiser les infections, nous ne pouvons pas non plus totalement éliminer un artefact lié aux conditions expérimentales. Si nous maîtrisons la dose d'œufs de parasites données aux gammares lors de la phase d'infestation, nous ne savons pas combien ont été effectivement consommés et nous n'avons pas encore trouvé de moyen de contrôler ce paramètre. *G. pulex* est généralement plus grand que *G. fossarum* (Nijssen, 1963), et dans nos conditions expérimentales cette espèce consomme peut-être beaucoup plus d'œufs que les autres lignées. Cependant, si cette supposition peut éventuellement expliquer le différentiel de succès obtenu dans la session laevis, elle ne peut certainement pas expliquer les résultats de l'infestation avec *P. tereticollis*.

En effet, si les infestations expérimentales avec *P. tereticollis* ont très bien fonctionné avec *Gf 2*, et dans une moindre mesure avec *Gf 6*, elles n'ont pas généré d'infection chez *Gp D* de l'Albane. Même si de faibles effectifs peuvent être incriminés, car l'étude temporelle a montré que *G. pulex* peut être infecté également (certes très faiblement), ce résultat confirme ceux ayant déjà démontré une préférence de *P. tereticollis* pour *G. fossarum* (Westram *et al.*, 2011a; Galipaud *et al.*, 2017; Harris, 2020). À notre connaissance, ce travail présente les premiers résultats d'une infestation expérimentale de gammares avec *P. tereticollis*. Si les durées de développement de *Polymorphus minutus* et *Pomphorhynchus laevis* en conditions de laboratoire sont bien connues (Hynes & Nicholas, 1957; Butterworth, 1969; Franceschi *et al.*, 2008; Labaude *et al.*, 2015a, 2020), celles de ce parasite n'avaient encore jamais été étudiées. Nous montrons ici que le développement de ce parasite prend plus de temps que celui de *P. laevis* dans les mêmes conditions : les premières acanthelles de *P. tereticollis* ont été détectées 17 jours plus tard que celles de *P. laevis*, les premiers cystacanthés 20 jours plus tard, et le délai entre la maturation des premiers et des derniers cystacanthés a également été plus long chez *P. tereticollis*. Les *G. pulex* de Val-Suzon, notre témoin positif d'infection pour *P. laevis*, ne sont pas particulièrement sensibles à *P. tereticollis* (en tout cas beaucoup moins qu'à *P. laevis*). Cette observation contredit l'hypothèse avancée jusqu'à maintenant qui proposait que les gammares de ce site sont plus sensibles aux infections par les espèces de *Pomphorhynchus* car c'est une population « naïve » vis-à-vis de ces parasites (Franceschi *et al.*, 2010b). On pourrait plutôt y voir une moindre sensibilité générale des *G. pulex* à *P. tereticollis*. Les gammares de cette rivière appartenant au MOTU A et non au MOTU D de *G. pulex* comme ceux de l'Albane et de l'Ouche (cf. chapitre 2 et Lagrue *et al.*, 2014), on peut également envisager de fortes différences de sensibilité à l'infection par les acanthocéphales entre les différentes lignées du groupe *pulex*. Sur les 4 lignées identifiées en Bourgogne, *Gp D* est la seule à avoir été trouvée parasitée par une espèce d'acanthocéphale, à des prévalences en cystacanthés très faibles (Galipaud *et al.*, 2017). Il serait donc particulièrement intéressant de soumettre chacune des lignées du groupe *G. pulex* à des infections expérimentales pour mieux appréhender la sensibilité des lignées de ce groupe aux différentes espèces d'acanthocéphales. Harris (2020) a trouvé des résultats similaires en Angleterre : de fortes prévalences ont été trouvées chez *G. fossarum* (jusqu'à 90 %), mais aucun parasite (cystacanthé) chez *G. pulex*. Mais comme les lignées de cette étude n'ont été

discriminées que sur des critères morphologiques, nous ne savons pas quels MOTUs sont impliqués. Pour tester de manière plus approfondie l'hypothèse de « naïveté » de la population de Val-Suzon *versus* l'hypothèse d'une moins forte sensibilité des *G. pulex* à *P. tereticollis*, il serait également particulièrement intéressant de tenter des infections en laboratoire à partir de gammares prélevés dans d'autres populations naïves.

4.5.2. Virulence

L'ingestion des parasites ne semble pas avoir de répercussion négative en termes de survie au début du développement précoce des larves. On pourrait pourtant s'attendre à un coût de l'infection, à cause des blessures infligées lorsque les acanthors percent le tube digestif pour passer dans la cavité générale, et/ou à cause de la résistance à l'infection (réponse cellulaire, humorale et encapsulation immunitaire (Crompton & Nickol, 1985). En fait, les seules descriptions de mortalité suite à l'infection ont été faites lors de tentatives d'infections en laboratoire, probablement effectuées avec des doses massives d'œufs (non précisées dans la publication), suite à des dommages infligés par de nombreux acanthors traversant la paroi du tube digestif de leur hôte en même temps (Crompton & Nickol, 1985). Hynes & Nicholas (1957), par exemple, l'ont observé, lors d'infections de *Gammarus pulex* avec *Polymorphus minutus*. En revanche Uznanski & Nickol (1980) n'ont pas trouvé de différences de mortalité entre *Hyaella azteca* soumises à *Leptorhynchoides thecatus* et individus contrôles, que ce soit dans les 24 premières heures suivant l'infestation ou sur l'ensemble du développement jusqu'au stade cystacanthé, à l'instar de ce que nous avons observé dans nos expériences. La quantité d'œufs présentés aux amphipodes n'est pas précisée dans cette étude, mais le succès d'infection était supérieur à 80 %, ce qui suggère une dose conséquente. Cela suggère également qu'un échappement immunitaire des parasites semble avoir lieu de manière très précoce après leur ingestion. Une forme d'échappement a été décrite lors d'infections expérimentales de *G. pulex* par *Polymorphus minutus* : après le percement de la paroi du tube digestif, la larve s'entoure d'une enveloppe particulièrement facile à distinguer chez cette espèce, également appelée « capsule », issue de la membrane séreuse du tube digestif et de l'activité hémocytaire de l'hôte (Crompton, 1964, 1967). L'origine exacte de cette enveloppe a fait débat et semble dépendre de la classe à laquelle appartient le parasite (voir Dezfuli *et al.*, 2008), mais toutes les études s'accordent sur le fait qu'elle permet au parasite d'éviter la réponse immunitaire du gammare pendant toute la durée de son développement. Les cas de réponse hémocytaire et de mélanisation ne sont documentés que pour des acanthes blessées et chez lesquelles l'intégrité de cette enveloppe était compromise. Une telle membrane n'a pas encore été décrite chez les *Pomphorhynchus* probablement parce qu'aucune étude détaillée de leur développement n'a été réalisée, ni dans les années 1960' (Crompton, 1964), ni depuis. Mais Cornet *et al.* (2009) ont montré qu'une diminution de l'expression des paramètres immunitaires de l'hôte apparaissait suite à l'infestation. On ne sait pas si cette diminution est précoce ou tardive (les mesures ont été effectuées au stade cystacanthé). Quoi qu'il en soit, ces échappements immunitaires ne semblent pas coûteux dans les premiers stades de l'infestation, puisqu'aucune surmortalité n'est observée dans notre suivi, ou, tout au moins, ce coût peut être aisément compensé par l'hôte.

On observe même une meilleure survie des individus soumis aux œufs de parasites (sans savoir s'ils sont vraiment infectés). Deux tendances différentes peuvent être dégagées en début de suivi chez les individus soumis aux deux parasites : les *Gf 2* soumis à *P. laevis* survivent mieux que les témoins (et pas les *Gf 6*), alors que chez les gammarès soumis à *P. tereticollis*, ce sont les *Gf 6* qui survivent mieux que les témoins.

La littérature est contradictoire au sujet de la survie d'hôtes infectés d'acanthocéphales, parfois même sur les mêmes modèles biologiques : à partir d'infections expérimentales d'aselles par *Acanthocephalus lucii*, Bratney (1986) et Benesh & Valtonen (2007) ont ainsi observé une mortalité accrue (tout le long de leur suivi pour les premiers et seulement au début du suivi pour les seconds), alors que Hasu *et al.* (2006) ont mis en évidence une meilleure survie des individus infectés sur le même modèle biologique. Chez *Hyaella azteca* infecté par *Corynosoma constrictum*, une mortalité a été mise en évidence au moment du développement rapide des larves uniquement chez les hôtes fortement infectés (Duclos *et al.*, 2006). Il a déjà été montré que les acanthocéphales pouvaient protéger leurs hôtes de la prédation avant de devenir infectieux, en augmentant leur tendance naturelle à utiliser des refuges, au moins au stade acanthe tardive (Dianne *et al.*, 2011). Nous pourrions donc proposer que cette amélioration de survie aux stades précoces de l'infection pourrait faire partie de la « manipulation parasitaire », en protégeant l'hôte d'une mortalité précoce, avant que le parasite ne devienne infectieux pour l'hôte suivant (Parker *et al.*, 2009). Cependant, il faut noter que les individus de notre expérience montrant une meilleure survie ont été soumis à l'infection, sans qu'il soit possible de dire s'ils étaient infectés ou non. Étant donné le faible taux de succès final, on peut prédire que seule une faible part des amphipodes dans ce lot d'individus « soumis » était en réalité infectée. En conséquence, l'hypothèse d'une meilleure survie précoce comme composante de la manipulation parasitaire apparaît comme très peu probable. Certaines infections parasitaires peuvent induire de meilleures survies chez leurs hôtes. Une hypothèse proposée pour expliquer la meilleure survie de certains invertébrés hébergeant des parasites castrateurs est que l'énergie normalement allouée à la reproduction (qui est détournée par le parasite) peut alors être utilisée autrement, en particulier pour la survie de l'hôte (Benesh & Valtonen, 2007). Une donnée expérimentale sur un parasite castrateur de daphnie a néanmoins montré qu'aucun effet bénéfique pour la survie des hôtes n'est obtenu suite à l'infection (Jensen *et al.*, 2006). Les acanthocéphales de gammarès sont connus pour castrer partiellement (Bollache *et al.*, 2002) ou totalement (par exemple Bailly *et al.*, 2018) leurs hôtes. On ne sait pas précisément à quelle étape de la croissance des parasites la castration intervient chez les *Pomphorhynchus*, mais elle est précoce chez les *Polymorphus*, en tout cas avant que les acanthes ne soient visibles chez leur hôte (Bailly *et al.*, 2018). Un détournement des ressources vers une meilleure survie de l'hôte serait donc possible. Cependant, encore une fois, les individus soumis à l'infection n'étaient pas nécessairement infectés, ce qui rend cette hypothèse également improbable. Reste une dernière possibilité : étant donné le faible taux d'infections déclarées (c'est à dire menant à une infection minimale par une acanthe de bonne taille, visible sous loupe binoculaire), il est possible, voire probable que les *Gf 2* ou *Gf 6* puissent montrer une résistance à l'infection. Depuis Moret & Schmid-Hempel (2000), on sait qu'utiliser son système immunitaire est coûteux en termes d'énergie. Nous nous attendions d'ailleurs à trouver un effet négatif de la soumission aux acanthocéphales, à cause d'un tel coût. *A minima*, nous pouvons dire qu'un tel coût n'apparaît pas dans nos expériences. Par contre, Moret & Schmid-Hempel (2000) ont bien montré que le coût de l'utilisation du système

immunitaire pouvait être invisible lorsque les ressources étaient disponibles sans limitation, ce qui est le cas dans notre expérience, car les animaux peuvent alors compenser le coût par une meilleure alimentation.

En revanche, une virulence apparaît dans notre étude quand les acanthelles entrent dans leur phase exponentielle de croissance (à partir de la date de première détection). Il est intéressant de noter, même si les différences observées ne sont pas supportées statistiquement, que les *Gf 6* semblent plus atteints que les *Gf 2*, quelle que soit l'espèce de parasite les infectant : les *Gf 6* montrent une survie de 20 % et 40 % à la fin de l'expérience lorsqu'ils sont infectés par *P. laevis* et *P. tereticollis*, respectivement, alors que les survies sont de 50 % et 60 % chez *Gf 2* infectés par ces mêmes parasites. Mais nous manquons là encore d'effectifs pour trancher cette question.

Cette mortalité induite n'est pas souvent interprétée comme étant un effet direct du parasite (sécrétion de toxine par exemple), mais plus à des « inconvénients » liés à sa présence : déplacement des organes de l'hôte (Bentley & Hurd, 1993; Dezfuli *et al.*, 2008), ou effets sur le métabolisme (Rumpus & Kennedy, 1974). Les besoins énergétiques des deux parasites de notre étude sont probablement différents, étant donné que *P. tereticollis* est beaucoup plus grand que *P. laevis* (Perrot-Minnot, 2004). Des adaptations fines à une lignée hôte particulière sont peut-être à la base des patrons observés. Cependant, les effets de *P. tereticollis* semblent moins importants que ceux de *P. laevis*. Un effet sur le métabolisme ne serait donc possible que si l'on considère que *P. laevis* se développe plus rapidement que *P. tereticollis*, ce qui pourrait épuiser le métabolisme de l'hôte avec une plus forte intensité. Les *Gf 2* pourraient alors avoir un métabolisme plus résistant. Les études s'étant intéressées aux réserves énergétiques des gammares infectés ont été effectuées uniquement sur des stades cystacanthés (Plaistow *et al.*, 2001; Gismondi *et al.*, 2012; Korkofigas *et al.*, 2016). Toutes ces études montrent que les amphipodes infectés d'acanthocéphales montrent de plus faibles réserves lipidiques et de protéines, alors qu'ils ont des contenus en glycogène plus importants. Ces résultats sont interprétés comme une demande plus forte en énergie immédiate (glycogène) chez les amphipodes parasités, qui sont obligés de puiser dans leurs réserves (lipides). Ces demandes énergétiques proviendraient du métabolisme des parasites. Chez les schistosomes, différentes stratégies sont mises en place dans l'hôte intermédiaire pour permettre le développement du parasite (De Jong-Brink *et al.*, 2001). La modification du système de défense de l'hôte est mise en place dès l'infection. Le détournement énergétique, les effets sur le système reproducteur de l'hôte et sur sa croissance ne se mettent en place que plus tard dans le développement du parasite.

Une autre explication possible d'un (éventuel) différentiel de survie entre lignées pourrait se trouver dans la capacité des acanthocéphales à diminuer l'intensité des réponses immunitaires des hôtes qu'ils infectent (Rigaud & Moret, 2003; Cornet *et al.*, 2009). Cette immunosuppression peut rendre les hôtes plus sensibles à d'autres infections, comme les infections bactériennes (Cornet *et al.*, 2009; Cornet & Sorci, 2010). Cette modification immunitaire n'est pas observée chez tous les gammares : les infections de diverses populations de *G. roeselii* par *P. laevis* ne montrent pas d'immunosuppression, certaines populations montrant même une réponse immunitaire vis-à-vis de l'infection (Moret *et al.*, 2007). On peut donc imaginer que les deux lignées de *G. fossarum* étudiées

ici pourraient être immuno-supprimées de manière différente, par exemple en induisant une virulence indirecte plus faible chez *Gf 2* que *Gf 6*, mais cette hypothèse reste à tester.

Il faut remarquer pour terminer que les conditions de survie dans nos expériences en laboratoire sont probablement très importantes : nous arrivons à maintenir les gammars pendant quelques mois, mais rarement à les élever et produire des générations en conditions contrôlées. Il leur manque donc probablement quelque chose dans leur alimentation, en plus des conditions stressantes dans lesquelles ils sont placés (pas d'abri, dérangement quotidien lors des inspections...) Ce manque est probablement accentué chez les individus infectés, car il a été montré que le comportement alimentaire des gammars parasités diffère de celui des sains, de manière différente selon les espèces (*G. pulex*, Fielding *et al.* (2003) et Dick *et al.* (2010) ; *G. roeselii*, Médoc *et al.*, 2011a). En conditions de laboratoire, sans possibilité de changement de régime alimentaire, les différences dues à l'infection sont donc exacerbées, mais il n'en demeure pas moins que la mortalité associée aux stades cystacanthes chez les individus parasités montre que ce stade n'est très certainement pas un stade quiescent.

4.5.3. Manipulation

Les faibles taux d'infection de nos expériences, alliés au faible taux de survie ne nous ont pas permis d'obtenir des conclusions fermes quant aux variations entre lignées d'hôtes sur la manipulation comportementale, ce que l'on ne peut que regretter. Afin d'obtenir des effectifs corrects (une vingtaine d'individus parasités au stade cystacanthé), il nous aurait fallu infecter environ dix fois plus d'individus avec *P. laevis*, et entre deux à cinq fois plus d'individus avec *P. tereticollis*, en fonction des lignées de gammars. Suivre de tels effectifs n'est pas réalisable. Nous pouvons malgré tout tirer quelques conclusions ponctuelles de ces mesures.

La manipulation induite par *P. tereticollis* observée dans nos expériences est d'intensité plus faible que celle induite par *P. laevis*, ce qui est en cohérence avec la littérature concernant cette espèce (Perrot-Minnot, 2004; Perrot-Minnot *et al.*, 2019). En plus de cette différence d'intensité entre les deux parasites, l'infection expérimentale a permis de montrer que la manipulation de comportement par *P. tereticollis* se manifeste plus tardivement que celle induite par *P. laevis*. Des variations dans le délai pour devenir infectieux après invagination ont déjà été rapportées chez plusieurs autres espèces d'acanthocéphales (Bethel & Holmes, 1974; Crompton & Nickol, 1985; Kennedy, 2006).

L'« effort de manipulation » (c'est-à-dire l'énergie investie par le parasite dans la manipulation) est prédit comme étant inversement proportionnel à la longévité du parasite dans son hôte ou bien de l'hôte suite à l'infection (Poulin, 1994) : si sa virulence est élevée, le parasite a intérêt à manipuler vite (tôt) et fort (si tant est qu'un fort investissement dans un niveau élevé de manipulation se traduit en efficacité accrue de transmission, ce point sera abordé plus bas). Si le parasite peut se permettre d'être patient (donc avec un faible niveau de virulence), il aura intérêt à diminuer son effort de manipulation. Dans notre situation, la virulence induite par *P. tereticollis* est plus tardive que chez *P. laevis*, les stratégies d'investissement dans la manipulation sont peut-être simplement

différentes entre les deux espèces de *Pomphorhynchus*. L'infectivité des parasites serait alors une caractéristique liée à l'exploitation des hôtes intermédiaires et la manipulation une première étape de l'exploitation des hôtes définitifs.

Nous savions avant de débiter cette expérience que les mesures comportementales des gammares montrent une variation non négligeable dans leur intensité. Chez les individus parasités, cette variation s'amointrit au fur et à mesure de l'âge des cystacanthés, la majorité des gammares infectés par des cystacanthés âgés montrant des comportements modifiés stéréotypés et similaires (Franceschi *et al.*, 2008). Nous retrouvons d'ailleurs ce résultat chez les quelques *G. fossarum* infectés par *P. laevis*. En prenant en compte les différentes lignées cryptiques d'hôtes, nous espérons expliquer une part de cette variabilité, notre hypothèse étant qu'une variation entre lignées serait supérieure à la variation intra-lignée. Cependant, on observe encore une variabilité assez élevée dans l'intensité des modifications de comportements pour *Gf 2*, la seule lignée d'hôte présentant des effectifs exploitables. Il est cependant intéressant de remarquer que les deux comportements mesurés ne sont pas variables de la même manière pour les deux parasites : on observe une variation plus forte de la phototaxie chez les *Gf 2* infectés par *P. laevis*, alors que c'est la variation du score d'entrée sous refuge qui est plus forte chez ceux hébergeant *P. tereticollis*.

Dans la nature, on trouve très peu de *G. pulex* parasités par *P. laevis* (voir également les faibles prévalences du chapitre 2), alors que l'infestation expérimentale par *P. laevis* génère des infections, peut-être conséquentes (à mettre en rapport toutefois avec les faibles effectifs de cette espèce d'hôte dans la présente étude). Cette lignée serait-elle plus fortement manipulée ? Malgré les effectifs initiaux importants (et en dépit de proportions habituelles plus fortes en milieu naturel dans le suivi temporel), le faible nombre de *Gp D* infectés et encore vivants au moment des expériences de comportement n'a pas permis de mettre en évidence, ou de réfuter, une différence de niveau de manipulation entre ces lignées. La conclusion est la même que pour les résultats concernant la sensibilité des lignées : des expériences complémentaires s'imposent.

Plus globalement, nous soupçonnons ici des variations dans l'intensité de la manipulation parasitaire induite par les deux espèces de parasites, en accord avec des études précédentes (Perrot-Minnot, 2004; Perrot-Minnot *et al.*, 2019), et peut-être entre les différentes espèces cryptiques de *G. fossarum*. Reste à savoir si ces différences se traduisent en termes de transmission parasitaire. Poulin (1994) a montré qu'en dépit d'amplitudes assez faibles des changements induits par les parasites (seulement 25-35 % de différence entre proies manipulées et non manipulées ; Thomas *et al.*, 1998), les effets peuvent être considérables en termes de transmission parasitaire. Il recommande donc, plutôt que de mesurer la modification d'un trait particulier chez l'hôte intermédiaire, de mesurer l'efficacité de la transmission du parasite à son hôte définitif. Cette démarche reste néanmoins difficilement envisageable en pratique, dans notre situation, *a minima* pour les raisons d'effectifs déjà évoquées. Une solution serait de comparer les prévalences des lignées en milieu naturel et dans le contenu intestinal des hôtes définitifs. Cette méthodologie a été utilisée pour aborder la question de la transmission parasitaire (Lagrué *et al.*, 2007), ou pour discriminer les hôtes définitifs et les prédateurs non hôtes d'une rivière donnée (Perrot-Minnot *et*

al., 2018), mais aucune de ces études n'a pris en compte le fait que les hôtes définitifs pouvaient ingérer de manière différentielle les diverses lignées cryptiques de gammares lorsqu'elles sont infectées. Une telle étude aurait l'avantage d'intégrer (mais sans toutefois les discriminer) tous les facteurs modulateurs de l'intensité de la manipulation parasitaire pouvant interagir localement : facteurs environ-nementaux et contraintes de transmission locales (Fayard *et al.*, 2019; Fayard, 2020). Ce type d'étude aurait cependant comme limite de pouvoir techniquement avoir de l'ADN de qualité suffisante pour pouvoir discriminer génétiquement les lignées cryptiques de proies ingérées. Des techniques d'ADN environnemental ou d'étude des microbiotes intestinaux pourraient être utilisées pour pallier cette contrainte (par exemple Bohmann *et al.*, 2014; Youngblut *et al.*, 2019). Il serait par contre plus compliqué de discriminer, parmi les lignées cryptiques de proies ingérées, celles qui seraient infectées de celles qui ne le seraient pas.

Lors de ces expériences, il pourrait être utile de mesurer d'autres paramètres du résultat de l'infection. Dans un contexte de multi dimensionnalité de la manipulation (Cézilly & Perrot-Minnot, 2010; Perrot-Minnot *et al.*, 2012), il est recommandé de s'intéresser à des ensembles de traits altérés par les parasites plutôt que quelques-uns seulement (Poulin, 2010). On peut envisager d'autres mesures de l'effet des parasites chez les gammares, sur d'autres traits fortement altérés par les acanthocéphales mais indépendants d'altérations directes du comportement de l'hôte intermédiaire : immunosuppression et efficacité de la castration, par exemple (Cornet *et al.*, 2009; Fayard *et al.*, 2020), ou bien capacité du parasite à mobiliser les réserves énergétiques de son hôte (Plaistow *et al.*, 2001; Gismondi *et al.*, 2012). L'objectif ne serait alors pas d'inférer une efficacité de transmission aux hôtes définitifs mais plus de tester le niveau de coévolution entre ces acanthocéphales et leurs hôtes intermédiaires potentiels. Mais de telles expériences seront toutes aussi gourmandes en effectifs.

Chapitre 5

Discussion générale

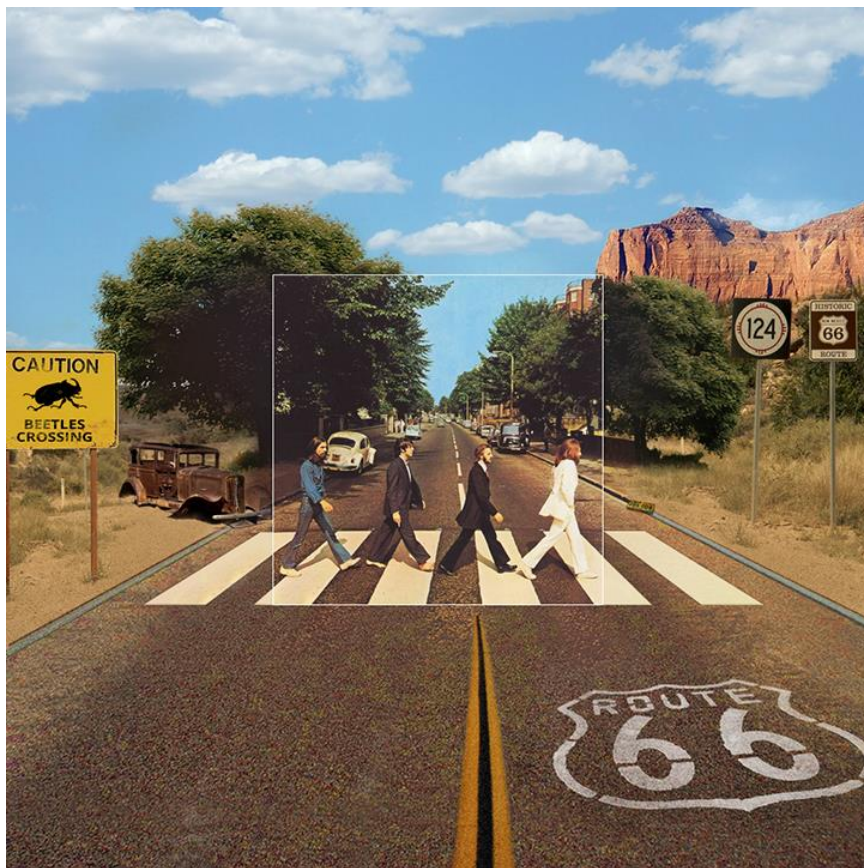


image tirée de l'excellente série *The bigger picture*,
créée par l'[Aptitude Agency](#)

5.1. Résumé des épisodes précédents

Le suivi temporel de la présence des hôtes dans deux rivières (chapitre 2) a montré que, même si leurs proportions relatives peuvent varier au cours du temps, les lignées de gammares les plus fréquentes sont présentes tout au long de l'année dans les deux rivières étudiées. Les lignées moins fréquentes n'ont pas été observées à chaque date. Cette observation peut être expliquée par un artefact d'effort d'échantillonnage insuffisant, mais également par les mouvements des gammares. En effet, ces amphipodes ne sont pas statiques, mais capables de mouvements en dévalant le courant de la rivière (ce que l'on appelle la dérive) ou à contre-courant (Hultin, 1968; Williams & Williams, 1993), et ce à différentes échelles géographiques. Les différences entre pêches peuvent donc être expliquées par de tels déplacements ponctuels, révélant que nos sites d'échantillonnages, nécessairement limités géographiquement, ne peuvent capturer l'entièreté la diversité de la rivière à un moment donné. Globalement, cependant, nous n'observons pas d'apparition de nouveaux génotypes, ni ponctuellement, ni de façon saisonnière. Nous avons montré que des gammares des deux sexes sont présents toute l'année et que toutes les lignées se reproduisent au niveau des points de collecte des deux rivières. Même si certaines lignées d'amphipodes semblent avoir une nette préférence pour un microhabitat en particulier (ex : *G. roeselii* dans la végétation rivulaire), elles ont toutes été recensées dans les deux habitats échantillonnés. Les communautés de gammares diffèrent entre les deux rivières : si *G. roeselii* et *Gp D* y sont toutes deux présentes, leur abondance est très différente. Dans l'Albane, les espèces dominantes sont *Gf 2* et *G. roeselii*, on y trouve *Gf 6* en quantités moindres, *Gp D* y étant très minoritaire. Dans l'Ouche, *Gp D* est largement majoritaire, *Gf 3* est la deuxième lignée la plus fréquente, *G. roeselii* et *Gf 7* étant beaucoup plus ponctuelles. Le régime hydrique des deux cours d'eau ainsi que leurs conditions abiotiques respectives, ou encore leur histoire de colonisation permettent probablement d'expliquer cette différence de peuplement par les amphipodes. Dans chacune de ces rivières, nous pouvons cependant dire que, malgré des micro-variations temporelles, l'assemblage d'hôtes gammaridés est stable dans le temps pour l'assemblage de parasites qui les infecte.

Les prévalences globales en acanthocéphales sont très différentes également entre les deux rivières : de l'ordre de 14 % dans l'Albane et à peine 2 % dans l'Ouche (toutes espèces de parasites et tous stades de développement confondus). Cette situation pourrait-elle être expliquée par les différences de communautés d'hôtes intermédiaires ou bien d'hôtes définitifs ? Même si ce patron contrasté pose question, il est très compliqué d'expliquer un tel patron très global, sans discuter ce qui est observé espèce de parasite par espèce de parasite. L'hôte *Gp D* est majoritaire dans l'Ouche et très peu présente dans l'Albane. Si elle s'avérait être résistante à l'infection par les acanthocéphales, cette lignée pourrait être à l'origine d'un effet de dilution dans l'Ouche. Cependant, nous avons vu qu'il n'en est rien, ou plus précisément que la sensibilité des gammares à l'infection dépend de la lignée d'hôte considérée. D'autre part, Perrot-Minnot *et al.* (2020) ont montré que les prévalences en acanthocéphales *P. laevis* sensu lato (au moment des échantillonnages des parasites dans cette étude, le génotypage n'a pas été fait, donc il est possible que des *P. tereticollis* aient été analysés avec des *P. laevis* sensu stricto) chez les poissons sont corrélées positivement avec la biomasse de ces derniers dans les rivières. Et plus ceux-ci sont gros,

plus l'abondance en parasites est importante. Les biomasses de poissons dans l'Albane sont inconnues, mais on pourrait y prédire des poissons de forte taille compte tenu de nos résultats.

Nous avons observé une forte variabilité temporelle des prévalences en parasites dans l'Albane, sans toutefois pouvoir détecter de cycles saisonniers. Il semble donc important, pour avoir une estimation réaliste de la présence des parasites, de réitérer les prélèvements sur un même site à plusieurs dates. Nous avons suggéré que la prise en considération des différents stades de développement des parasites est également importante ; la simple mesure de prévalences en cystacanthes ne peut, en tout cas, pas suffire pour inférer la capacité des acanthocéphales à infecter leurs hôtes intermédiaires. Les prévalences observées dans la nature, qui sont la résultante d'un ensemble de processus, peuvent masquer des fonctionnements très différents dans les niveaux d'infectivité et de manipulation. La mesure de la taille des hôtes infectés (Rousset *et al.*, 1996; Galipaud *et al.*, 2017) peut permettre d'extrapoler la mortalité induite par l'infection, mais cette mortalité peut elle-même être la résultante d'au moins deux processus distincts : la prédation et la virulence « physiologique » des parasites. Pour avoir une estimation claire de l'infectivité des parasites (elle-même étant la résultante de la capacité des parasites à infecter et de la capacité des hôtes à résister à l'infection), il faut passer, en complément des observations en conditions naturelles, par une étape expérimentale (Poulin & Maure, 2015).

Nous avons néanmoins trouvé un effet du sexe lors des mesures des prévalences en acanthes (prévalence approximant mieux l'infectivité des parasites que le taux de cystacanthes) : les gammares mâles semblent plus sensibles à l'infection par les deux espèces de *Pomphorhynchus* que les femelles (ou ils consomment plus d'œufs de parasites). En revanche cette tendance disparaît quand les *P. laevis* sont au stade cystacanthé. Cette observation est contradictoire avec le résultat de l'infection expérimentale réalisée par Franceschi *et al.* (2008), montrant que le taux d'infection n'est pas significativement différent entre mâles et femelles gammares, et le taux de survie des *P. laevis* entre acanthe et cystacanthé est moins bon chez les femelles que chez les mâles. Les différentes origines des parasites et des hôtes pourraient peut-être expliquer ces différences.

Le chapitre 3 (comparaison *G. fossarum* et *G. roeselii*) a permis de déterminer les sensibilités relatives des hôtes à l'infection par les mêmes souches de parasites et l'effet de la mortalité induite par l'infection (probablement via la prédation par les hôtes définitifs) chez les gammares infectés. Ceci a été fait en comparant les prévalences de deux lots de gammares infectés naturellement, d'une part les individus examinés directement après la collecte et d'autre part les gammares examinés après maintien au laboratoire quelques semaines pour laisser le temps aux infections naturelles de se développer. Pour les deux rivières étudiées, les patrons d'infection des *G. fossarum* et *G. roeselii* se sont inversés entre ces deux groupes : les *G. roeselii* étaient infectés en plus forte proportion dans le lot 'direct', alors que dans le lot 'protégé', ce sont les *G. fossarum* qui ont été trouvés plus infectés. Des infections expérimentales réalisées en parallèle sur un troisième lot de chaque rivière (avec des parasites issus d'une troisième population pour éviter des effets confondants) ont montré que cette inversion de tendance était même renforcée en conditions contrôlées, deux fois plus d'infections ayant été développées chez *G. fossarum* que chez *G. roeselii*.

L'effet puits que l'on aurait pu suspecter chez *G. roeselii*, dont le comportement est connu pour ne pas être manipulé (ou être plus faiblement manipulé) par *P. laevis* (Bauer *et al.*, 2000; Lagrue *et al.*, 2007), est donc limité par le fait que cette espèce est peu sensible à l'infection. Il est néanmoins existant puisque les parasites s'accumulent chez les individus âgés (Lagrue *et al.*, 2007), suggérant que peu d'infections sont prélevées par prédation.

Dans le chapitre 4 (infections expérimentales de lignées d'hôtes cryptiques), il était proposé d'étudier les rôles respectifs de trois facteurs – sensibilité à l'infection, virulence des parasites et manipulation – dans les interactions entre les deux parasites acanthocéphales de poissons, *P. laevis* et *P. tereticollis*, sur leur communauté d'hôtes sympatriques du complexe d'espèces cryptiques *Gammarus pulex/fossarum* de l'Albanie. Les prévalences obtenues à partir des infections d'origine naturelle (développées après quarantaine au laboratoire des amphipodes collectés *in natura*) ont été comparées au succès des infections expérimentales réalisées à partir d'œufs de parasites issus de la même population. Les prévalences naturelles des deux parasites étaient beaucoup plus élevées chez *Gf 2* que chez *Gf 6* et aucune infection naturelle n'a été observée chez *Gp D* (dont les effectifs étaient beaucoup plus faibles). Le succès d'infection par *P. laevis* s'est avéré être le même pour *Gf 2* et *Gf 6*, en revanche *Gf 2* semble beaucoup plus sensible à l'infection par *P. tereticollis*. Sur les quelques individus *Gp D* des lots soumis, aucune infection par *P. tereticollis* n'a été observée, en revanche *Gp D* s'est avéré être très sensible à l'infection par *P. laevis*.

La virulence a été évaluée par le suivi de la survie des hôtes au laboratoire (donc à l'abri de la prédation). Hors infections parasitaires, la survie de *Gf 2* est globalement un peu meilleure que celle de *Gf 6* en conditions de laboratoire. Nous n'avons pas observé de mortalité liée au fait d'être soumis aux œufs de parasites au début du suivi. En partant du principe qu'une résistance immunitaire pourrait être coûteuse (Moret & Schmid-Hempel, 2000), nous pouvons dire que soit les parasites seraient capables d'échapper au système immunitaire de l'hôte très précocement, soit que nos conditions de maintien sont assez « confortables » pour que le coût de l'infection ou de la résistance à l'infection soient compensés. Curieusement, le fait d'être soumis aux œufs de parasites, mais pas nécessairement d'être effectivement infecté, pourrait même contribuer à améliorer la survie des gammares dans les premières semaines post-soumission, un phénomène difficilement explicable simplement.

Les faibles effectifs de gammares infectés survivants n'ont malheureusement pas permis de comparer correctement les modifications de comportement des différentes lignées d'hôtes par les parasites. En revanche, en regroupant les individus des différentes lignées, nous avons confirmé que les modifications de comportement chez les gammares hébergeant des *P. tereticollis* sont d'intensité plus faible que celle induites par *P. laevis*, confirmant des résultats antérieurs (Perrot-Minnot, 2004; Kaldonski *et al.*, 2008).

5.2. Diversité génétique chez les gammares et spécificité parasitaire

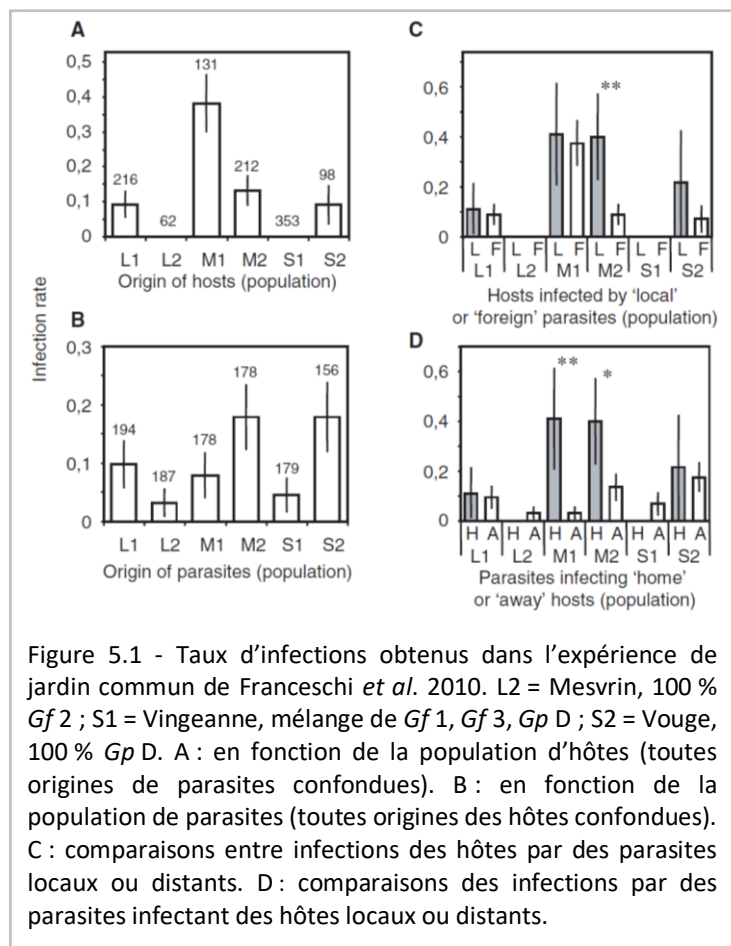
5.2.1. Infectivité des parasites

Les travaux présentés dans ce mémoire ont montré que les acanthocéphales, traditionnellement décrits comme généralistes envers leurs hôtes intermédiaires, montrent toutefois de nettes différences de patrons d'infection entre ces hôtes quand ils se trouvent en conditions sympatriques. *Gammarus roeselii* peut présenter de fortes prévalences en *P. laevis* en milieu naturel, mais il ne constitue pourtant pas un hôte clé pour cet acanthocéphale, car il est faiblement sensible à l'infection et montre une faible sensibilité à la manipulation par ce parasite. La combinaison de ces deux facteurs serait donc responsable des prévalences élevées observées dans la nature (Bauer *et al.*, 2000; Tain *et al.*, 2007). Comme les cystacanthès s'accumulent dans les hôtes intermédiaires sans favoriser le passage aux hôtes définitifs, cet amphipode doit plutôt être considéré comme un hôte « puits », mais somme toute de manière modérée, eu égard au faible pouvoir infectieux du parasite. Les différentes lignées génétiques de gammares du groupe *fossarum* montrent, elles, des sensibilités à l'infection très variables mais beaucoup plus élevées en moyenne que *G. roeselii*. *Gf 2* est plus sensible que *Gf 6* à l'infection, à la fois par *Pomphorhynchus laevis* et *Pomphorhynchus tereticollis*, ce qui confirme nos données de terrain et les résultats de Galipaud *et al.* (2017). On peut donc considérer *Gf 2* comme un hôte clé pour ces deux parasites en termes d'infectivité et de virulence, même si d'éventuelles différences de manipulation induite par les parasites chez leurs différentes lignées hôtes alternatives n'ont pas pu être évaluées.

Le cas de *G. pulex* est plus difficile à interpréter à partir de nos résultats : le suivi de terrain a suggéré une très faible sensibilité de *Gp D* à ces deux parasites et aucune infection d'origine naturelle n'a été détectée parmi les gammares utilisés pour l'infection expérimentale. L'infection expérimentale, elle, malgré des effectifs très faibles pour cette lignée, semble indiquer au contraire une très forte sensibilité à l'infection par *P. laevis*. Malheureusement très peu d'individus infectés ont survécu assez de temps pour pouvoir être utilisés pour les expériences de comportement, alors que les effectifs d'individus soumis étaient conséquents. Nous n'avons donc pas pu déterminer si *G. pulex* est manipulé plus fortement par *P. laevis* que les lignées de *G. fossarum*. Pour clarifier la sensibilité de *G. pulex* aux infections par les acanthocéphales, il ne semble pas raisonnable de reproduire cette expérience avec plus d'effectifs mais plutôt d'utiliser des gammares de cette lignée issus d'une population où ils sont en plus grande densité.

Avec moins de 3 % de succès global d'infection par *P. laevis* et tout juste 5 % par *P. tereticollis*, la résistance des *G. fossarum* de l'Albane aux infections par des parasites sympatriques est particulièrement élevée. On peut par exemple mettre ces taux en relation avec le succès d'infection de plus de 10 % par les parasites de la Vouge du chapitre 3, connus pour infecter aussi bien des hôtes sympatriques ou allopatriques (Franceschi *et al.*, 2010b ; voir figure 5.1 ci-dessous).

En croisant les résultats d'infections expérimentales réalisées en 2008 (Franceschi *et al.*, 2010b) et les données de diversité cryptique mesurées en 2010 (Lagrue *et al.*, 2014) (d'après nos propres données de suivi temporel, on peut maintenant raisonnablement penser que les lignées présentes dans les rivières n'ont pas changé dans l'intervalle de deux années entre ces travaux), on peut déduire quelques informations supplémentaires sur la sensibilité des différentes lignées à l'infection (figure 5.1). *Gf 2* est la seule lignée présente dans le Mesvrin et les gammares de cette population se sont montrés particulièrement résistants à l'infection, que ce soit par des parasites locaux ou ceux provenant d'une autre population. Les individus prélevés dans la Vingeanne, qui est peuplée d'un mélange de *Gf1*, *Gf 3* et *Gp D*, ont été également très résistants



aux infections sympatriques et allopatriques et les parasites de cette population se sont montrés très peu infectieux sur les gammares des six populations. *Gp D* est la seule lignée présente dans la Vouge et il a été reporté un succès d'infection de plus de 20 % pour les individus issus de cette rivière. Il semblerait donc que les résultats obtenus pour une lignée particulière dans une rivière donnée ne soient valables que localement : *Gf 2* est l'hôte le plus sensible dans l'Albane (voir nos données), mais avec un taux d'infection faible comparativement à certaines autres populations (figure 5.1). Ce taux est compatible avec celui observé dans le Mesvrin. Donc, bien que considéré comme un hôte « clé » dans les populations où il est présent, le taux d'infection de *Gf 2* reste faible. *Gp D* est suspecté être sensible à l'infection par *P. laevis* dans l'Albane (nos données), il est très sensible dans la Vouge (figure 5.1) et pas du tout dans la Vingeanne (environ 30 % des gammares récoltés dans la Vingeanne en 2008 étaient des *Gp D*, et aucun gammare issu de cette rivière n'a été infecté en 2010). Pour *P. laevis*, donc, *Gp D* pourrait être un hôte jouant un rôle plus fort dans la transmission que les *G. fossarum*, mais la faiblesse de nos effectifs n'a malheureusement pas permis de confirmer cette hypothèse.

Par contre, les patrons d'infection par *P. tereticollis* semblent aller dans le sens d'un rôle clé joué par les *G. fossarum* et non pas *G. pulex*. Leurs taux d'infection sont en effet plus forts chez les premiers, malgré des taux de manipulation qui restent toujours inférieurs à ceux observés chez *P. laevis*.

Une question peut être posée à l'issue de notre travail : est-ce que, parmi les différences observées dans l'exploitation des différents types d'hôte par les acanthocéphales, celles entre espèces

morphologiques sont de la même intensité que celles entre lignées cryptiques ? (c'est-à-dire par exemple entre *G. roeselii* et *G. pulex* ou entre *G. pulex* et *G. fossarum*, par rapport aux différences entre *Gf 2* et *Gf 6*). Cette question est légitime car, même si les différences génétiques entre lignées cryptiques peuvent être conséquentes, elles restent néanmoins moins importantes en moyenne que les différences génétiques entre espèces morphologiques. Pour *P. laevis*, les différences sont beaucoup plus fortes entre espèces : *G. roeselii* est environ deux fois moins sensible à l'infection que les gammarus du complexe *G. pulex/fossarum* (figure 3.1, page 81). De la même manière, la différence entre *G. pulex* (de Val-Suzon ou les quelques *G. pulex* de l'Albane) et *G. fossarum* est bien supérieure à celle au sein des lignées *G. fossarum* de l'Albane (voir les figures 4.7 et 4.8, pages 98 et 99). On aurait donc ici une assez bonne corrélation entre les différences d'intensité d'exploitation des hôtes et leur distance génétique, comme cela a été suggéré pour nombre de parasites (par exemple Pedersen *et al.*, 2005). En revanche, pour *P. tereticollis*, on observe l'inverse : il y a plus de différences de taux d'infection au sein des lignées *G. fossarum* (*Gf 2* étant beaucoup plus sensible que *Gf 6*) qu'entre *G. fossarum* et *G. pulex*. Donc le niveau de « spécificité » des parasites vis-à-vis de leurs hôtes dépend de l'espèce de parasite ! Comme suggéré par Poulin & Keeney (2008), l'écologie fine des hôtes et des parasites doit également être prise en compte lorsque l'on étudie la spécificité d'une relation parasitaire. Nos données confirment donc que la spécificité à un parasite donné ne dépend pas forcément de la distance phylogénétique entre les hôtes (Poulin & Keeney, 2008), mais indiquent qu'on ne peut plus se passer de l'information génétique en cas de cryptisme pour déterminer le niveau de spécialisation des parasites.

5.2.2. Variabilité dans la manipulation ?

J'aurais adoré pouvoir présenter des résultats permettant de répondre à notre questionnement sur d'éventuelles différences de manipulation comportementale entre lignées de gammarus. Malheureusement les données obtenues ne permettent pas de développer ce point, qui aurait pourtant dû en être le point central, dans la discussion générale de cette thèse. *Gf 2* est la seule lignée pour laquelle les effectifs d'individus infectés par *P. tereticollis* étaient suffisants pour les mesures de comportement. On observe toujours une grande variation dans l'amplitude des comportements mesurés dans cette lignée, ce qui laisse à penser que la variation dans le niveau de manipulation observée dans la littérature est plus d'origine interindividuelle que liée à la diversité cryptique, qui n'avait pas été prise en compte dans les travaux antérieurs. Cette variation dépend fortement de l'âge des parasites chez *P. laevis* (Franceschi *et al.*, 2008), et il semble bien que ce soit également le cas chez *P. tereticollis*, seuls les cystacanthés âgés d'environ 30 jours montrant des (faibles) taux de manipulation significativement différents des individus non parasités. Des gammarus infectés prélevés en milieu naturel pour réaliser des expériences de comportement ne permettent pas de contrôler ce paramètre, et des infections expérimentales ont été nécessaires pour s'affranchir de ce facteur de variation. Il sera nécessaire de recommencer ces expériences afin de confirmer ces observations avec de plus forts effectifs. Il est à noter également que la manipulation est probablement un phénomène hautement plastique, très contexte dépendant, par

exemple du risque de prédation subi par les gammares dans leur environnement habituel (Fayard *et al.*, 2019).

5.2.3. Importance de l'historique des interactions ?

Des phénomènes d'adaptation locale des parasites à leurs hôtes ont été montrés à plusieurs reprises, que ce soit chez les acanthocéphales (Franceschi *et al.*, 2010b) ou chez d'autres groupes de parasites (Poulin, 2021), en termes d'infectivité ou de virulence. Dans les travaux cités par Poulin (2021), l'adaptation locale se traduisait par une meilleure exploitation des hôtes localement les plus fréquents. Nous ne retrouvons pas systématiquement ce patron dans nos données. Il n'en n'est pas ainsi, pour *G. roeselii* dans l'Albane ou dans le Meuzin, l'autre rivière étudiée au chapitre 3, dans lesquelles, bien que très fréquent, demeure très peu sensible aux deux espèces de *Pomphorhynchus*. Il a été proposé, pour ce cas, que cette maladaptation pourrait provenir d'un contact encore trop récent entre les deux protagonistes (Bauer *et al.*, 2000), *G. roeselii* étant un hôte ayant colonisé récemment les rivières Bourguignonnes. La présence des lignées hôtes locales (*G. pulex* et *G. fossarum*, quelles que soient les lignées cryptiques) est, elle, beaucoup plus ancienne (Lagrué *et al.*, 2014; Wattier *et al.*, 2020) et a donc permis une coévolution beaucoup plus longue. De même, dans l'Ouche, *Gp D* est de loin la lignée la plus commune, mais elle a été trouvée très peu infectée par les trois espèces de parasites considérées dans cette thèse. *Gf 7*, pourtant très peu fréquent dans l'Ouche, présente les prévalences les plus élevées en *P. tereticollis*. *Gf 2*, est quant à elle une lignée très fréquente dans l'Albane et très infectée relativement aux autres. Cependant, elle est également observée comme montrant les prévalences les plus élevées en *P. laevis* (mesurées en cystacanthés, mais avec une mortalité induite suggérant une prédation accrue) dans d'autres populations où elle n'est pourtant pas majoritaire (Galipaud *et al.*, 2017). L'hypothèse d'adaptation des parasites à leur hôte local le plus commun ne semble donc pas valable pour toutes les lignées hôtes potentielles de notre système d'étude, au moins en ce qui concerne les hôtes intermédiaires. Il est vraisemblable que seules des études sur une zone géographique plus large (plusieurs rivières) pourrait permettre d'observer un patron plus global. Cependant, une telle étude nécessiterait des compositions en gammares assez stables entre sites pour permettre des comparaisons, ce qui n'est pas le cas (Lagrué *et al.* (2014), nos données).

En fonction des modèles biologiques considérés, l'effet de l'historique des interactions sur le succès d'exploitation par des parasites sur différentes catégories d'hôtes (par exemple d'hôtes d'arrivée récente par des parasites locaux) peut être assez contrasté et une connaissance fine des interactions est nécessaire avant de tenter de dégager des généralités. Par exemple, une maladaptation (comme celle existant avec les *Pomphorhynchus*) de *P. minutus*, le parasite d'oiseaux, envers *G. roeselii* n'est pas observée, et ce dernier est capable de manipuler cet hôte (Bauer *et al.*, 2005; Médoc *et al.*, 2006). L'explication proposée est qu'il y aurait un lien entre les capacités de dispersion beaucoup plus fortes chez les oiseaux que celles des poissons d'eau douce et la capacité d'exploitation par les parasites qu'ils peuvent héberger (Bauer *et al.*, 2005). Nos résultats du suivi de terrain sont cependant troublants, car nos données suggèrent plutôt, malgré une infectivité plus forte que chez

les autres lignées, une accumulation des cystacanthes de *P. minutus* chez *G. roeselii* qui n'est pas confirmée par l'analyse de leur abondance en fonction de la taille des hôtes.

Les invasions biologiques permettent d'étudier l'arrivée de nouveaux hôtes potentiels dans un système hôte-parasite établi, comme c'est le cas de *G. roeselii* dans les travaux présentés ici, ou bien la confrontation de nouveaux parasites à une communauté d'hôtes potentiels existante (Telfer & Bown, 2012). Dunn & Dick (1998) ont ainsi observé que la prévalence (en cystacanthes toujours...) chez l'acanthocéphale d'oiseaux *Polymorphus minutus* était plus élevée chez les amphipodes natifs que chez l'espèce invasive dans un site dulçaquicole en Irlande. Dans un contexte d'introduction d'une espèce de sacculine le long de la côte est des États-Unis, Tepolt *et al.* (2020) ont pu tester la prévalence et la sensibilité à l'infection de deux espèces de crabes hôtes sympatriques sur un gradient d'historique d'interaction, depuis la zone d'origine du parasite en passant par la région d'introduction récente, jusqu'à la partie non encore envahie dans laquelle les hôtes étaient naïfs. Ce travail a révélé une forte sensibilité des hôtes à un parasite non familier. Le suivi de terrain ainsi que des expériences d'infection en laboratoire ont montré que la sensibilité était plus forte chez les populations naïves que chez celles historiques, mais aucune différence de sensibilité à l'infection n'a été détectée entre les populations historiques et celles récemment colonisées par le parasite, malgré des différences de prévalence. À partir des mêmes modèles biologiques, les auteurs ont analysé les effets de l'infection sur les différentes catégories d'hôtes via une approche transcriptomique, qui permet d'estimer les mécanismes moléculaires à la base de la réponse des hôtes à l'infection (Tobias *et al.*, 2021). Ils ont montré que la réponse des individus naïfs était globalement intermédiaire entre celle des hôtes historiques et des récents, et beaucoup plus variable. La forte réponse des hôtes récents est alors interprétée comme un manque d'évolution dans la résistance des hôtes à l'infection. Un nombre variable de générations d'interactions est ainsi nécessaire pour que la relation entre les « partenaires » se stabilise, suivant les modèles étudiés (Tepolt *et al.*, 2020). Comme on n'a pas d'information sur la coexistence à long terme des lignées de gammares dans les rivières, il n'est pas possible de conclure sur l'ancienneté des interactions locales.

5.2.4. Globalement

Malgré les lacunes expérimentales de cette thèse, nos travaux apportent des arguments supplémentaires pour proposer que le système acanthocéphales – gammares est un système où les parasites, bien qu'en apparence généralistes, semblent plus être des spécialistes. Les différentes espèces parasitaires (différents génotypes ? voir plus loin) n'exploitent pas les différentes espèces (cryptiques) d'hôtes de la même manière, ou avec la même intensité. Cette spécificité n'est pas stricte, mais certaines « combinaisons préférentielles » peuvent être observées, même lorsque les hôtes sont strictement sympatriques et donc disponibles pour tous les parasites.

Cette thèse n'a cependant pas décrypté toutes les sources de variation potentielles expliquant ces patrons.

5.3. Le patron d'infection des hôtes intermédiaires est-il modulé par la présence d'hôtes définitifs « clés » ?

Les patrons d'infection globaux trouvés dans l'analyse des données de terrain montrent une différence entre *P. laevis* et *P. tereticollis* dans l'Albane pour les lignées du groupe *G. fossarum* : nous avons trouvé beaucoup plus d'acanthelles que de cystacanthes chez les gammares infectés par *P. laevis*, mais à peu près autant de gammares infectés par les deux stades chez *P. tereticollis*. Est-ce que ces caractéristiques d'infection sont espèce-dépendantes d'une manière globale, ou est-ce un contexte particulier à la rivière Albane ? Nous avons noté une caractéristique de cette rivière, qui est la suivante. L'hôte définitif le plus fortement infecté par *P. tereticollis* en Bourgogne, le barbeau commun (*Barbus barbus*) (Perrot-Minnot *et al.*, 2019), n'a pas été trouvé dans l'Albane au moment de la préparation de l'expérience d'infestation présentée dans le chapitre 4. Il semblerait qu'elle ne soit pas propice, sur les zones échantillonnées lors de nos pêches, à la fréquentation par cette espèce (trop peu profonde ou trop vaseuse, S. Motreuil, communication personnelle), mais nous n'avons pas de données de recensement à notre disposition. Si cette situation est confirmée comme étant habituelle dans cette rivière, cela pourrait expliquer la forte proportion de cystacanthes *P. tereticollis* trouvée lors du suivi temporel. En effet, les cystacanthes pourraient ne pas être consommés par les hôtes définitifs disponibles, pour cause de manque d'adaptation des manipulations comportementales induites par le parasite vis-à-vis de ces hôtes. Cette situation ne pourrait se produire que si les hôtes « préférés » (les barbeaux) ont disparu de cet habitat récemment, ne laissant pas le temps aux parasites de s'adapter à leur absence, ou si ces hôtes clés sont présents dans des localités éloignées ailleurs dans la rivière, des gammares infectés ayant colonisé cette partie de rivière où leurs hôtes manquent et auraient été ingurgités par accident par des hôtes non idéaux. Sous ces conditions, la combinaison que nous avons étudiée (parasites provenant de chevesnes) n'est pas pertinente. Pour confirmer cette hypothèse, il serait nécessaire d'inventorier sur un plus long terme la communauté de poissons présente dans cette rivière, de vérifier les taux d'infection par *P. tereticollis* dans les différentes espèces présentes, de comparer leurs génotypes et leur capacité de manipulation. Il serait intéressant également de mesurer les prévalences relatives des différents stades de ces deux parasites dans d'autres rivières pour lesquelles on connaît mieux la communauté de poissons.

D'une manière générale, les trématodes peuvent s'adapter à une carence en hôte définitifs « idéaux ». Certains trématodes sont capables de se passer de leur hôte définitif quand ce dernier est absent ou quand de nombreux prédateurs non-hôtes sont présents, en se reproduisant dans leur hôte intermédiaire par progénèse (Lagrué & Poulin, 2007). Si rien de tel n'a été documenté chez les acanthocéphales, étant donné le grand nombre d'espèces de poissons dans lesquels on peut trouver des *Pomphorhynchus* sp., y compris des cystacanthes en position extra intestinale (Perrot-Minnot *et al.*, 2020), il est fort probable qu'ils soient capables d'adapter leurs cycles de vie en l'absence des hôtes définitifs « clés ». Nous avons vu que l'environnement des acanthocéphales est très hétérogène, que ce soit au niveau intra populationnel (sur un même site, voire dans une même rivière, mais aussi dans une moindre mesure dans le temps) ou au niveau inter populationnel (entre rivières) chez les hôtes intermédiaires. Finalement, un nouveau niveau d'hétérogénéité à l'échelle

des hôtes définitifs ne fait qu'ajouter une brique aux conditions de la théorie de la coévolution en mosaïque géographique proposée par Thompson en 2005 (Poulin, 2010). Poulin (2010) précise d'ailleurs que « la multidimensionnalité dans la manipulation a pu évoluer et se maintenir en réponse aux conditions externes spatialement variables, affectant la probabilité de transmission ».

5.4. Pour aller plus loin : diversité génétique chez les parasites

La diversité génétique des parasites n'a pas été abordée dans les travaux présentés ici, mais c'est un aspect de la spécificité parasitaire qu'il sera important de creuser dans l'avenir. En effet, Hynes & Nicholas (1958) ont suggéré très tôt, en réalisant des infections croisées, l'existence de plusieurs lignées de *P. minutus*, chacune adaptée à une espèce d'hôte intermédiaire différente (*G. pulex*, *G. duebeni* et *G. lacustris*). Une vingtaine d'années plus tard, le même constat a été fait, encore au Royaume-Uni, pour *P. laevis* (ou plus probablement *P. tereticollis* à la lumière des données de séquençage obtenues depuis), supposant que trois souches géographiques distinctes seraient spécifiques de leurs différents hôtes, une souche d'eau douce anglaise (sud et ouest de l'Angleterre), utilisant *G. pulex* et le barbeau ou le chevesne, une autre souche irlandaise d'eau douce utilisant *G. duebeni* et la truite ou le saumon, et une souche marine de la côte est de l'Angleterre, utilisant *Gammarus locusta* et *Gammarus zaddachi* comme hôtes intermédiaires et le flet ainsi que la plie commune comme hôtes définitifs (Hine & Kennedy, 1974b; Kennedy *et al.*, 1978; Brown, 1989; Munro *et al.*, 1990).

Une diversité cryptique a été trouvée ces dernières années aussi chez de nombreux groupes de parasites (Nadler & Pérez-Ponce de León, 2011), y compris chez les acanthocéphales (Vardić Smrzlić *et al.*, 2015; Pinacho-Pinacho *et al.*, 2018; Zittel *et al.*, 2018; Reier *et al.*, 2019). L'utilisation systématique de la génétique va permettre de plus de repérer des erreurs historiques de détermination d'espèces à l'origine de nombreuses confusions dans la littérature, qui, comme c'est le cas par exemple pour les gammares (Galipaud *et al.*, 2019), compliquent considérablement la synthèse des travaux antérieurs (Reier *et al.*, 2020). Plusieurs auteurs ont en effet insisté sur le fait que l'identification précise des parasites à l'aide d'outils moléculaires est désormais fondamentale, pour mieux estimer la diversité des parasites et élucider certains cycles de vie, mais également pour mieux distinguer les parasites spécialistes « cachés » des généralistes vrais (Fenton *et al.*, 2015; Poulin, 2021). Quelques exemples de ce genre sont rapportés, en particulier chez les acanthocéphales du complexe *Leptorhynchoides thecatus* pour lequel 7 espèces ont été redécrites, dont deux paires morphologiquement très proches, chacune étant spécifique d'une espèce hôte différente (Steinauer & Nickol (2015) ; (voir Perrot-Minnot *et al.* (2019) pour une revue plus détaillée). La diversité cryptique récemment découverte aussi chez *P. minutus* et la spécialisation de ses différentes lignées génétiques sur des espèces hôtes intermédiaires distinctes (Grabner *et al.*, 2020) impose de creuser la question.

5.5. Le mot de la fin

La relative stabilité de la présence des lignées d'hôtes montrée par le suivi temporel permet de confirmer que le système acanthocéphales – garmares est effectivement un système multi-hôtes – multi-parasites.

Nous avons confirmé qu'il est maintenant indispensable de prendre en compte le cryptisme des garmares pour comprendre finement les patrons d'infection par les acanthocéphales. Mais est-ce pour autant un « système modèle » approprié pour l'étude de la diversité cryptique chez les hôtes ? Deux considérations douchent notre optimisme en la matière. Premièrement, les variations de situations dans la nature sont trop fortes pour permettre des comparaisons valables entre populations. En effet, les assemblages d'hôtes similaires sont rarement reproduits d'une

rivière à l'autre (le cryptisme est trop important chez les garmares et la contingence de colonisation de chaque bassin versant est complexe, voir (Wattier *et al.*, 2020) pour *Gammarus fossarum*). Il est donc extrêmement compliqué de tirer des généralités. Seule l'étude de *G. roeselii*, dont les génotypes sont beaucoup moins diversifiés en Europe de l'ouest (Csapó *et al.*, 2020), pourrait permettre des comparaisons pertinentes. Cependant, les contextes écologiques où ils vivent (notamment leur interaction avec les communautés d'autres garmares) seraient peut-être trop variables pour cela. Deuxièmement, les succès des infections expérimentales entre parasites et hôtes écologiquement pertinents (c'est-à-dire de mêmes sites) sont trop faibles pour permettre des analyses fines. Jusqu'ici, une combinaison allopatrique « modèle » avait permis d'analyser la manipulation comportementale en laboratoire, et de montrer sa pertinence (Franceschi *et al.*, 2008, 2010a; Dianne *et al.*, 2011, 2012, 2014; Labaude *et al.*, 2015a, 2020). Mais cette thèse démontre qu'il est très compliqué de mener les mêmes analyses en combinaisons sympatriques, donc très difficile d'envisager de décortiquer l'évolution du phénomène plus avant, ceci d'autant plus que l'on n'arrive pas à maîtriser des élevages de garmares au laboratoire sur plusieurs générations.

Si l'avènement des outils moléculaires a déjà permis de révéler une grande diversité, cryptique ou non, chez les parasites (Grabner, 2017; Pinacho-Pinacho *et al.*, 2018; Pérez-Ponce de León & Poulin, 2018; Zittel *et al.*, 2018) ou la grande complexité des spécificités parasitaires, de corriger des erreurs d'identification historiques (Špakulová *et al.*, 2011; Perrot-Minnot *et al.*, 2018; Reier *et al.*, 2020) ou d'inférer la phylogéographie des groupes (Perrot-Minnot *et al.*, 2018), ils peuvent également aider à répondre à d'autres questions (Poulin, 2021). L'approche protéomique a ainsi fait l'objet d'une réunion thématique de la British Society for Parasitology en 2011 intitulée « *Proteomic Insights into Parasite Biology* » puis d'un numéro spécial dans la revue *Parasitology* (Ginger *et al.*, 2012). Les outils moléculaires permettent en particulier de mieux comprendre les mécanismes à la base de la

We believe this resolves all remaining questions on this topic. No further research is needed.

References

1. *et al.*, 2011, 2012, 2014, 2015a, 2020
2. *et al.*, 2011, 2012, 2014, 2015a, 2020
3. *et al.*, 2011, 2012, 2014, 2015a, 2020
4. *et al.*, 2011, 2012, 2014, 2015a, 2020

JUST ONCE, I WANT TO SEE A RESEARCH PAPER WITH THE GUTS TO END THIS WAY.

Encore loupé... Source : xkcd.com

manipulation (Biron *et al.*, 2005, 2006; Herbison *et al.*, 2018; Libersat *et al.*, 2018). La protéomique a par exemple permis d'identifier les compartiments impactés par la présence de parasites chez deux systèmes d'étude distincts mais dont la manipulation produit le même résultat, une géotaxie inversée : *Gammarus insensibilis* et le trématode *Microphallus papillorobustus* ainsi que *Gammarus pulex* et l'acanthocéphale *Polymorphus minutus* (Ponton *et al.*, 2006). Il pourrait ainsi être intéressant de vérifier, à l'aide de ces outils, ou d'autres plus génétiques (expression des gènes), si ce sont toujours les mêmes fonctions physiologiques qui sont touchées chez les différentes espèces d'hôtes cryptiques lorsqu'ils ont confrontés à une même souche de parasite.

Bibliographie

- Alizon S (2013). Co-infection and super-infection models in evolutionary epidemiology. *Interface Focus* **3**, 20130031.
- Alizon S, Roode JC de & Michalakis Y (2013). Multiple infections and the evolution of virulence. *Ecology Letters* **16**, 556–567.
- Altizer S, Dobson A, Hosseini P, Hudson P, Pascual M & Rohani P (2006). Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecology Letters* **9**, 467–484.
- Ameijeiras-Alonso J, Crujeiras RM & Rodríguez-Casal A (2018). Multimode: An R Package for Mode Assessment. arXiv:1803.00472 [stat].
- Amin OM, Abdullah SMA & Mhaisen FT (2003). Description of *Pomphorhynchus spindletruncatus* n. sp (Acanthocephala: Pomphorhynchidae) from freshwater fishes in northern Iraq, with the erection of a new pomphorhynchid genus, *Pyriproboscis* n. g., and keys to genera of the Pomphorhynchidae and the species of *Pomphorhynchus* Monticelli, 1905. *Systematic Parasitology* **54**, 229–235.
- Anderson RM & Gordon DM (1982). Processes influencing the distribution of parasite numbers within host population with special emphasis on parasite-induced host mortalities. *Parasitology* **85**, 373–398.
- Atkinson D (1995). Effects of temperature on the size of aquatic ectotherms: exceptions to the general rule. *Journal of Thermal Biology* **20**, 61–74.
- Auld SKJR, Searle CL & Duffy MA (2017). Parasite transmission in a natural multihost–multiparasite community. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **372**, 20160097.
- Awachie JBE (1965). The ecology of *Echinorhynchus truttae* Schrank, 1788 (Acanthocephala) in a trout stream in North Wales. *Parasitology* **55**, 747–762.
- Babin A, Motreuil S, Teixeira M *et al.* (2020). Origin of the natural variation in the storage of dietary carotenoids in freshwater amphipod crustaceans. *PLoS ONE* **15**, e0231247.
- Bacela-Spychalska K, Wattier RA, Genton C & Rigaud T (2012). Microsporidian disease of the invasive amphipod *Dikerogammarus villosus* and the potential for its transfer to local invertebrate fauna. *Biological Invasions* **14**, 1831–1842.
- Bailly Y, Cézilly F & Rigaud T (2018). Stage-dependent behavioural changes but early castration induced by the acanthocephalan parasite *Polymorphus minutus* in its *Gammarus pulex* intermediate host. *Parasitology* **145**, 260–268.
- Bärlocher F & Kendrick B (1973a). Fungi and food preferences of *Gammarus pseudolimnaeus*. *Archiv für Hydrobiologie* **72**, 501–516.
- Bärlocher F & Kendrick B (1973b). Fungi in the diet of *Gammarus pseudolimnaeus* (Amphipoda). *Oikos* **24**, 295.
- Bärlocher F & Kendrick B (1975). Assimilation efficiency of *Gammarus pseudolimnaeus* (Amphipoda) feeding on fungal mycelium or autumn-shed leaves. *Oikos* **26**, 55.
- Bartoń K (2009). MuMIn : multi-model inference. R package version 1. 0. 0. <http://r-forge.r-project.org/projects/mumin/>.
- Bates D, Mächler M, Bolker B & Walker S (2014). Fitting linear mixed-effects models using lme4. arXiv:1406.5823 [stat].
- Bauer A, Haine ER, Perrot-Minnot M-J & Rigaud T (2005). The acanthocephalan parasite *Polymorphus minutus* alters the geotactic and clinging behaviours of two sympatric amphipod hosts: the native *Gammarus pulex* and the invasive *Gammarus roeseli*. *Journal of Zoology* **267**, 39–43.

- Bauer A & Rigaud T (2015). Identifying a key host in an acanthocephalan-amphipod system. *Parasitology* **142**, 1588–1594.
- 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.
- Benesh DP, Seppälä O & Valtonen ET (2009). Acanthocephalan size and sex affect the modification of intermediate host colouration. *Parasitology* **136**, 847–854.
- Benesh DP & Valtonen ET (2007). Proximate factors affecting the larval life history of *Acanthocephalus lucii* (Acanthocephala). *Journal of Parasitology* **93**, 742–749.
- Bentley CR & Hurd H (1993). *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala): elevation of haemolymph protein concentrations in the intermediate host, *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *Parasitology* **107**, 193–198.
- Beracko P, Sýkorová A & Štangler A (2012). Life history, secondary production and population dynamics of *Gammarus fossarum* (Koch, 1836) in a constant temperature stream. *Biologia* **67**, 164–171.
- Bethel WM & Holmes JC (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.
- Bickford D, Lohman DJ, Sodhi NS *et al.* (2007). Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* **22**, 148–155.
- Biron DG, Joly C, Galeotti N, Ponton F & Marché L (2005). The proteomics: a new prospect for studying parasitic manipulation. *Behavioural Processes* **68**, 249–253.
- Biron DG, Ponton F, Marché L *et al.* (2006). ‘Suicide’ of crickets harbouring hairworms: a proteomics investigation. *Insect Molecular Biology* **15**, 731–742.
- Blackman R, Constable D, Hahn C *et al.* (2017). Detection of a new non-native freshwater species by DNA metabarcoding of environmental samples — first record of *Gammarus fossarum* in the UK. *Aquatic Invasions* **12**, 177–189.
- Bohmann K, Evans A, Gilbert MTP *et al.* (2014). Environmental DNA for wildlife biology and biodiversity monitoring. *Trends in Ecology & Evolution* **29**, 358–367.
- Bojko J, Bączela-Spychalska K, Stebbing PD *et al.* (2017). Parasites, pathogens and commensals in the “low-impact” non-native amphipod host *Gammarus roeselii*. *Parasites & Vectors* **10**, 193.
- 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.
- Bollache L, Rigaud T & Cézilly F (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.
- Bratley J (1986). Life history and population biology of larval *Acanthocephalus lucii* (Acanthocephala: Echinorhynchidae) in the isopod *Asellus aquaticus*. *The Journal of Parasitology* **72**, 633–645.
- Brown AF (1989). Seasonal dynamics of the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis* (Müller, 1776) in its intermediate and preferred definitive hosts. *Journal of Fish Biology* **34**, 183–194.
- Buhnerkempe MG, Roberts MG, Dobson AP, Heesterbeek H, Hudson PJ & Lloyd-Smith JO (2015). Eight challenges in modelling disease ecology in multi-host, multi-agent systems. *Epidemics* **10**, 26–30.
- Butterworth PE (1969). The development of the body wall of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) in its intermediate host *Gammarus pulex*. *Parasitology* **59**, 373–388.

- Camp JW & Huizinga HW (1980). Seasonal population interactions of *Acanthocephalus dirus* (Van Cleave, 1931) in the creek chub, *Semotilus atromaculatus*, and isopod, *Asellus intermedius*. *Journal of Parasitology* **66**, 299–304.
- Carrau T, Martinez-Carrasco C, Garijo MM, Alonso F, Ybanez RR de & Tizzani P (2021). Multivariate abundance analysis of multi-host/multi-parasite lungworms in a sympatric wild ruminant population. *Diversity-Basel* **13**, 227.
- Cézilly F, Favrat A & Perrot-Minnot M-J (2013). Multidimensionality in parasite-induced phenotypic alterations: ultimate versus proximate aspects. *Journal of Experimental Biology* **216**, 27–35.
- 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 (2010). Interpreting multidimensionality in parasite-induced phenotypic alterations: panselectionism versus parsimony. *Oikos* **119**, 1224–1229.
- Cézilly F, Thomas F, Médoc V & Perrot-Minnot M-J (2010). Host-manipulation by parasites with complex life cycles: adaptive or not? *Trends in Parasitology* **26**, 311–317.
- Chanseau M, Bosc S, Galiay E & Oules G (2002). L'utilisation de l'huile de clou de girofle comme anesthésique pour les smolts de saumon atlantique (*Salmo salar* L.) et comparaison de ses effets avec ceux du 2-phenoxyethanol. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 579–589.
- Chen H-Y, Grabner DS, Nachev M, Shih H-H & Sures B (2015). Effects of the acanthocephalan *Polymorphus minutus* and the microsporidian *Dictyocoela duebenum* on energy reserves and stress response of cadmium exposed *Gammarus fossarum*. *PeerJ* **3**, e1353.
- Chovet M & Lecureuil JY (1994). Répartition des Gammaridae épigés (Crustacés, Amphipodes) dans la Loire et les rivières de la région Centre (France). *Annales de Limnologie* **30**, 11–23.
- Civitello DJ, Cohen J, Fatima H *et al.* (2015). Biodiversity inhibits parasites: broad evidence for the dilution effect. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**, 8667–8671.
- Combes C (1991). Ethological aspects of parasite transmission. *The American Naturalist* **138**, 866–880.
- Combes C (2001). *Parasitism: the ecology and evolution of intimate interactions*. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Cook BD, Page TJ & Hughes JM (2008). Importance of cryptic species for identifying 'representative' units of biodiversity for freshwater conservation. *Biological Conservation* **141**, 2821–2831.
- Cook ND & Lovell WG (1992). *Secret Judgments of God: Old World Disease in Colonial Spanish America*. University of Oklahoma Press, Norman, USA.
- Cornet S, Franceschi N, Bauer A, Rigaud T & Moret Y (2009). Immune depression induced by acanthocephalan parasites in their intermediate crustacean host: consequences for the risk of superinfection and links with host behavioural manipulation. *International Journal for Parasitology* **39**, 221–229.
- Cornet S & Sorci G (2010). Parasite virulence when the infection reduces the host immune response. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **277**, 1929–1935.
- Cortez MH & Duffy MA (2021). The context-dependent effects of host competence, competition, and pathogen transmission mode on disease prevalence. *The American Naturalist* **198**, 179–194.
- Cothran RD, Henderson KA, Schmidenberg D & Relyea RA (2013). Phenotypically similar but ecologically distinct: differences in competitive ability and predation risk among amphipods. *Oikos* **122**, 1429–1440.
- Crompton DWT (1964). The envelope surrounding *Polymorphus minutus* (Goeze, 1782) (Acanthocephala) during its development in the intermediate host, *Gammarus pulex*. *Parasitology* **54**, 721–735.

- Crompton DWT (1967). Studies on the haemocytic reaction of *Gammarus* spp., and its relationship to *Polymorphus minutus* (Acanthocephala). *Parasitology* **57**, 389–401.
- Crompton DWT & Harrison JG (1965). Observations on *Polymorphus minutus* (Goeze, 1782) (Acanthocephala) from a wildfowl reserve in Kent. *Parasitology* **55**, 345–355.
- Crompton DWT & Nickol BB (1985). *Biology of the Acanthocephala*. Cambridge University Press, New York, USA.
- Crossan J, Paterson S & Fenton A (2007). Host availability and the evolution of parasite life-history strategies. *Evolution* **61**, 675–684.
- Csapó H, Krzywoźniak P, Grabowski M *et al.* (2020). Successful post-glacial colonization of Europe by single lineage of freshwater amphipod from its Pannonian Plio-Pleistocene diversification hotspot. *Scientific Reports* **10**, 18695.
- De Jong-Brink M, Bergamin-Sassen M & Solis-Soto M (2001). Multiple strategies of schistosomes to meet their requirements in the intermediate snail host. *Parasitology* **123**, S129–141.
- Dezfuli BS & Giari L (1999). Amphipod intermediate host of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala), parasite of waterbirds, with notes on ultrastructure of host-parasite interface. *Folia Parasitologica* **46**, 117–122.
- Dezfuli BS, Giari L & Poulin R (2000). Species associations among larval helminths in an amphipod intermediate host. *International Journal for Parasitology* **30**, 1143–1146.
- Dezfuli BS, Rossetti E, Bellettato CM & Maynard BJ (1999). *Pomphorhynchus laevis* in its intermediate host *Echinogammarus stammeri* in the River Brenta, Italy. *Journal of Helminthology* **73**, 95–102.
- Dezfuli BS, Simoni E, Duclos L & Rossetti E (2008). Crustacean-acanthocephalan interaction and host cell-mediated immunity: parasite encapsulation and melanization. *Folia Parasitologica* **55**, 53–59.
- Dezfuli BS, Zanini N, Reggiani G & Rossi R (1991). *Echinogammarus stammeri* (Amphipoda) as an intermediate host for *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) parasite of fishes from the River Brenta. *Bollettino di Zoologia* **58**, 267–271.
- Dianne L, Bollache L, Lagrue C, Franceschi N & Rigaud T (2012). Larval size in acanthocephalan parasites: influence of intraspecific competition and effects on intermediate host behavioural changes. *Parasites & Vectors* **5**, 166.
- Dianne L, Perrot-Minnot M-J, Bauer A, Gaillard M, Léger E & Rigaud T (2011). Protection first then facilitation: a manipulative parasite modulates the vulnerability to predation of its intermediate host according to its own developmental stage. *Evolution* **65**, 2692–2698.
- Dianne L, Perrot-Minnot M-J, Bauer A, Guvenatam A & Rigaud T (2014). Parasite-induced alteration of plastic response to predation threat: increased refuge use but lower food intake in *Gammarus pulex* infected with the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis*. *International Journal for Parasitology* **44**, 211–216.
- Dianne L, Rigaud T, Léger E, Motreuil S, Bauer A & Perrot-Minnot M-J (2010). Intraspecific conflict over host manipulation between different larval stages of an acanthocephalan parasite. *Journal of Evolutionary Biology* **23**, 2648–2655.
- Dick JTA, Armstrong M, Clarke HC *et al.* (2010). Parasitism may enhance rather than reduce the predatory impact of an invader. *Biology Letters* **6**, 636–638.
- Dionne K, Dufresne F & Nozais C (2017). Overlapping trophic niches among co-occurring amphipods from a cryptic species complex. *Freshwater Biology* **62**, 1052–1062.
- DiRenzo GV, Longo AV, Muletz-Wolz CR, Pessier AP, Goodheart JA & Lips KR (2021). Plethodontid salamanders show variable disease dynamics in response to *Batrachochytrium salamandrivorans* chytridiomycosis. *Biological Invasions* **23**, 2797–2815.

- Dobson A (2004). Population dynamics of pathogens with multiple host species. *The American Naturalist* **164**, S64–S78.
- Dobson A & Roberts M (1994). The population dynamics of parasitic helminth communities. *Parasitology* **109**, S97–S108.
- Dobson AP (1990). Models for multi-species parasite-host communities. In: *Parasite Communities: Patterns and Processes* (eds GW Esch, AO Bush & JM Aho) pp. 261–288. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Dobson AP & Hudson PJ (1986). Parasites, disease and the structure of ecological communities. *Trends in Ecology & Evolution* **1**, 11–15.
- Duclos LM, Danner BJ & Nickol BB (2006). Virulence of *Corynosoma constrictum* (Acanthocephala: Polymorphidae) in *Hyalella azteca* (Amphipoda) throughout parasite ontogeny. *Journal of Parasitology* **92**, 749–755.
- Dudiňák V & Špakulová M (2003). The life cycle and seasonal changes in the occurrence of *Pomphorhynchus laevis* (Palaeacanthocephala, Pomphorhynchidae) in a small isolated lake. *Parasite* **10**, 257–262.
- Dunn AM & Dick JTA (1998). Parasitism and epibiosis in native and non-native gammarids in freshwater in Ireland. *Ecography* **21**, 593–598.
- Eisenring M, Altermatt F, Westram AM & Jokela J (2016). Habitat requirements and ecological niche of two cryptic amphipod species at landscape and local scales. *Ecosphere* **7**, e01319.
- Emde S, Rueckert S, Palm HW & Klimpel S (2012). Invasive Ponto-Caspian amphipods and fish increase the distribution range of the acanthocephalan *Pomphorhynchus tereticollis* in the River Rhine. *PLoS ONE* **7**, e53218.
- Fayard M (2020). *Anxiété et manipulation parasitaire chez un invertébré aquatique : approches évolutive et mécanistique*. Thèse de doctorat. université Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France.
- Fayard M, Cezilly F & Perrot-Minnot M-J (2019). Inter-population variation in the intensity of host manipulation by the fish acanthocephalan *Pomphorhynchus tereticollis*: are differences driven by predation risk? *Parasitology* **146**, 1296–1304.
- Fayard M, Dechaume-Moncharmont F, Wattier R & Perrot-Minnot M (2020). Magnitude and direction of parasite-induced phenotypic alterations: a meta-analysis in acanthocephalans. *Biological Reviews* **95**, 1233–1251.
- Feckler A, Zubrod JP, Thielsch A, Schwenk K, Schulz R & Bundschuh M (2014). Cryptic species diversity: an overlooked factor in environmental management? *Journal of Applied Ecology* **51**, 958–967.
- Fenton A, Streicker DG, Petchey OL & Pedersen AB (2015). Are all hosts created equal? Partitioning host species contributions to parasite persistence in multihost communities. *The American Naturalist* **186**, 610–622.
- Fielding NJ, MacNeil C, Dick JTA, Elwood RW, Riddell GE & Dunn AM (2003). Effects of the acanthocephalan parasite *Echinorhynchus truttae* on the feeding ecology of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *Journal of Zoology* **261**, 321–325.
- Fišer C, Robinson CT & Malard F (2018). Cryptic species as a window into the paradigm shift of the species concept. *Molecular Ecology* **27**, 613–635.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R & Vrijenhoek R (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* **3**, 294–299.
- Fountain-Jones NM, Packer C, Troyer JL *et al.* (2017). Linking social and spatial networks to viral community phylogenetics reveals subtype-specific transmission dynamics in African lions. *Journal of Animal Ecology* **86**, 1469–1482.
- Fountain-Jones NM, Pearse WD, Escobar LE *et al.* (2018). Towards an eco-phylogenetic framework for infectious disease ecology. *Biological Reviews* **93**, 950–970.

- Franceschi N, Bauer A, Bollache L & Rigaud T (2008). The effects of parasite age and intensity on variability in acanthocephalan-induced behavioural manipulation. *International Journal for Parasitology* **38**, 1161–1170.
- Franceschi N, Bollache L, Cornet S, Bauer A, Motreuil S & Rigaud T (2010a). Co-variation between the intensity of behavioural manipulation and parasite development time in an acanthocephalan–amphipod system. *Journal of Evolutionary Biology* **23**, 2143–2150.
- Franceschi N, Cornet S, Bollache L *et al.* (2010b). Variation between populations and local adaptation in acanthocephalan-induced parasite manipulation: variation in parasite-induced behavioral manipulation. *Evolution* **2417–2430**.
- Galipaud M, Bollache L & Lagrue C (2017). Variations in infection levels and parasite-induced mortality among sympatric cryptic lineages of native amphipods and a congeneric invasive species: are native hosts always losing? *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **6**, 439–447.
- Galipaud M, Bollache L & Lagrue C (2019). Did we miss something? Acanthocephalan infection patterns in amphipods: a reappraisal in the light of recently discovered host cryptic diversity. *Diseases of Aquatic Organisms* **136**, 105–119.
- Gandon S (2004). Evolution of multihost parasites. *Evolution* **58**, 455–469.
- Gervasi S, Gondhalekar C, Olson DH & Blaustein AR (2013). Host identity matters in the Amphibian-*Batrachochytrium dendrobatidis* system: fine-scale patterns of variation in responses to a multi-host pathogen. *PLoS ONE* **8**, e54490.
- Gervasi SS, Civitello DJ, Kilvitis HJ & Martin LB (2015). The context of host competence: a role for plasticity in host–parasite dynamics. *Trends in Parasitology* **31**, 419–425.
- Giari L, Fano EA, Castaldelli G, Grabner D & Sures B (2020). The ecological importance of amphipod–parasite associations for aquatic ecosystems. *Water* **12**, 2429.
- Ginger ML, Mckean PG, Burchmore R & Grant KM (2012). Proteomic insights into parasite biology. *Parasitology* **139**, 1101–1102.
- Gismondi E, Cossu-Leguille C & Beisel J-N (2012). Does the acanthocephalan parasite *Polymorphus minutus* modify the energy reserves and antitoxic defences of its intermediate host *Gammarus roeseli*? *Parasitology* **139**, 1054–1061.
- Goedmakers A (1981). Population dynamics of three gammarid species (Crustacea, Amphipoda) in a French chalk stream: part II. Standing crop. *Bijdragen tot de Dierkunde* **51**, 31–69.
- Goedmakers A & Pinkster S (1981). Population dynamics of three gammarid species (Crustacea, Amphipoda) in a French chalk stream. Part III. Migration. *Bijdragen tot de Dierkunde* **51**, 145–180.
- Gopko M, Mikheev VN & Taskinen J (2015). Changes in host behaviour caused by immature larvae of the eye fluke: evidence supporting the predation suppression hypothesis. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **69**, 1723–1730.
- Grabner D, Doliwa A, Bulantová J, Horák P & Sures B (2020). Morphological comparison of genetically differentiated *Polymorphus* cf. *minutus* types. *Parasitology Research* **119**, 153–163.
- Grabner DS (2017). Hidden diversity: parasites of stream arthropods. *Freshwater Biology* **62**, 52–64.
- Grabowski M, Bacela K & Konopacka A (2007). How to be an invasive gammarid (Amphipoda: Gammaroidea) – comparison of life history traits. *Hydrobiologia* **590**, 75–84.
- Haaland TR, Wright J & Ratikainen II (2020). Generalists versus specialists in fluctuating environments: a bet-hedging perspective. *Oikos* **129**, 879–890.
- Haine ER, Brondani E, Hume KD, Perrot-Minnot M-J, Gaillard M & Rigaud T (2004). Coexistence of three microsporidia parasites in populations of the freshwater amphipod *Gammarus roeseli*: evidence for vertical transmission and positive effect on reproduction. *International Journal for Parasitology* **34**, 1137–1146.

- Haine ER, Motreuil S & Rigaud T (2007). Infection by a vertically-transmitted microsporidian parasite is associated with a female-biased sex ratio and survival advantage in the amphipod *Gammarus roeseli*. *Parasitology* **134**, 1363–1367.
- Hall SR, Becker CR, Simonis JL, Duffy MA, Tessier AJ & Caceres CE (2009). Friendly competition: evidence for a dilution effect among competitors in a planktonic host-parasite system. *Ecology* **90**, 791–801.
- Harris M (2020). *The life cycle of the parasite Pomphorhynchus tereticollis in reference to O+ cyprinids and the intermediate host Gammarus spp in the UK*. Master Thesis. Bournemouth University, Poole, UK.
- Hasu T, Tellervo Valtonen E & Jokela J (2006). Costs of parasite resistance for female survival and parental care in a freshwater isopod. *Oikos* **114**, 322–328.
- Hatcher MJ, Dick JTA & Dunn AM (2006). How parasites affect interactions between competitors and predators. *Ecology Letters* **9**, 1253–1271.
- Haydon DT (2002). Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerging Infectious Diseases* **8**, 1468–1473.
- Hebert PDN, Ratnasingham S & Waard JR de (2003). Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **270**, S96–S99.
- Helle E & Valtonen ET (1981). Comparison between spring and autumn infection by *Corynosoma* (Acanthocephala) in the ringed seal *Pusa hispida* in the Bothnian Bay of the Baltic Sea. *Parasitology* **82**, 287–296.
- Herbison R, Lagrue C & Poulin R (2018). The missing link in parasite manipulation of host behaviour. *Parasites & Vectors* **11**, 222.
- Hine PM & Kennedy CR (1974a). The population biology of the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis* (Müller) in the River Avon. *Journal of Fish Biology* **6**, 665–679.
- Hine PM & Kennedy CR (1974b). Observations on the distribution, specificity and pathogenicity of the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis* (Muller). *Journal of Fish Biology* **6**, 521–535.
- Hirsch PR (1979). Distribution of *Polymorphus minutus* among its intermediate hosts. *International Journal for Parasitology* **10**, 243–248.
- Hohenadler MAA, Nachev M, Thielen F, Taraschewski H, Grabner D & Sures B (2018). *Pomphorhynchus laevis*: an invasive species in the river Rhine? *Biological Invasions* **20**, 207–217.
- Holmes JC & Bethel WM (1972). Modification of intermediate host behaviour by parasites. *Zoological Journal of the Linnean Society* **51**, 123–149.
- Hudson PJ, Dobson AP & Lafferty KD (2006). Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends in Ecology & Evolution* **21**, 381–385.
- Hultin L (1968). A method of trapping freshwater Amphipoda migrating upstream. *Oikos* **19**, 400.
- Hynes HBN (1954). The ecology of *Gammarus duebeni* lilljeborg and its occurrence in fresh water in western Britain. *Journal of Animal Ecology* **23**, 38–84.
- Hynes HBN (1955). The reproductive cycle of some British freshwater gammaridae. *Journal of Animal Ecology* **24**, 352–387.
- Hynes HBN & Nicholas WL (1957). The development of *Polymorphus minutus* (Goeze, 1782) (Acanthocephala) in the intermediate host. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* **51**, 380–391.
- Hynes HBN & Nicholas WL (1958). The resistance of *Gammarus* spp. to infection by *Polymorphus minutus* (Goeze, 1782) (Acanthocephala). *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* **52**, 376–383.
- Hynes HBN & Nicholas WL (1963). The importance of the acanthocephalan *Polymorphus minutus* as a parasite of domestic ducks in the United Kingdom. *Journal of Helminthology* **37**, 185–198.

- Itämies J, Valtonen ET & Fagerholm H-P (1980). *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) infestation in eiders and its role as a possible cause of death. *Annales Zoologici Fennici* **17**, 285–289.
- Jacquin L, Mori Q & Médoc V (2013). Does the carotenoid-based colouration of *Polymorphus minutus* facilitate its trophic transmission to definitive hosts? *Parasitology* **140**, 1310–1315.
- Jacquin L, Mori Q, Pause M, Steffen M & Medoc V (2014). Non-specific manipulation of gammarid behaviour by *P. minutus* parasite enhances their predation by definitive bird hosts. *PLoS ONE* **9**, e101684.
- Jazdzewska AM, Tandberg AHS, Horton T & Brix S (2021). Global gap-analysis of amphipod barcode library. *PeerJ* **9**, e12352.
- Jazdzewski K (1980). Range extensions of some gammaridean species in European inland waters caused by human activity. *Crustaceana Suppl.* **6**, 84–107.
- Jensen KH, Little T, Skorping A & Ebert D (2006). Empirical support for optimal virulence in a castrating parasite. *PLOS Biology* **4**, e197.
- Jensen T, Jensen KT & Mouritsen KN (1998). The influence of the trematode *Microphallus claviformis* on two congeneric intermediate host species (*Corophium*): infection characteristics and host survival. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **227**, 35–48.
- Johnson PTJ, Lund PJ, Hartson RB & Yoshino TP (2009). Community diversity reduces *Schistosoma mansoni* transmission, host pathology and human infection risk. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **276**, 1657–1663.
- Jourdan J, Piro K, Weigand A & Plath M (2019). Small-scale phenotypic differentiation along complex stream gradients in a non-native amphipod. *Frontiers in Zoology* **16**, 29.
- Kaldonski N, Perrot-Minnot M-J & Cézilly F (2007). Differential influence of two acanthocephalan parasites on the antipredator behaviour of their common intermediate host. *Animal Behaviour* **74**, 1311–1317.
- Kaldonski N, Perrot-Minnot M-J, Motreuil S & Cézilly F (2008). Infection with acanthocephalans increases the vulnerability of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) to non-host invertebrate predators. *Parasitology* **135**, 627–632.
- Karaman GS & 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.
- Katouzian A-R, Sari A, Macher JN *et al.* (2016). Drastic underestimation of amphipod biodiversity in the endangered Irano-Anatolian and Caucasus biodiversity hotspots. *Scientific Reports* **6**, 22507.
- Keasing F, Holt RD & Ostfeld RS (2006). Effects of species diversity on disease risk. *Ecology Letters* **9**, 485–498.
- Keasing F & Ostfeld RS (2021). Dilution effects in disease ecology. *Ecology Letters* **24**, 2490–2505.
- Kekkonen M & Hebert PDN (2014). DNA barcode-based delineation of putative species: efficient start for taxonomic workflows. *Molecular Ecology Resources* **14**, 706–715.
- Kennedy CR (1996). Colonization and establishment of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) in an isolated English river. *Journal of Helminthology* **70**, 27–31.
- Kennedy CR (1999). Post-cyclic transmission in *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *Folia Parasitologica* **46**, 111–116.
- Kennedy CR (2006). *Ecology of the Acanthocephala. Ecology of the Acanthocephala*. Cambridge University Press, New York, USA.
- Kennedy CR, Broughton PF & Hine PM (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.

- Kopp K & Jokela J (2007). Resistant invaders can convey benefits to native species. *Oikos* **116**, 295–301.
- Korkofigas E, Park T & Sparkes TC (2016). Acanthocephalan-related variation in the pattern of energy storage of a behaviorally and physiologically modified host: field data. *Parasitology Research* **115**, 339–345.
- Labaude S, Cézilly F, De Marco L & Rigaud T (2020). Increased temperature has no consequence for behavioral manipulation despite effects on both partners in the interaction between a crustacean host and a manipulative parasite. *Scientific Reports* **10**, 11670.
- Labaude S, Cézilly F & Rigaud T (2017a). Temperature-related intraspecific variability in the behavioral manipulation of acanthocephalan parasites on their gammarid hosts. *The Biological Bulletin* **232**, 82–90.
- Labaude S, Cézilly F, Tercier X & Rigaud T (2015a). Influence of host nutritional condition on post-infection traits in the association between the manipulative acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis* and the amphipod *Gammarus pulex*. *Parasites & Vectors* **8**, 403.
- Labaude S, Rigaud T & Cézilly F (2015b). Host manipulation in the face of environmental changes: ecological consequences. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **4**, 442–451.
- Labaude S, Rigaud T & Cézilly F (2017b). Additive effects of temperature and infection with an acanthocephalan parasite on the shredding activity of *Gammarus fossarum* (Crustacea: Amphipoda): the importance of aggregative behavior. *Global Change Biology* **23**, 1415–1424.
- Lafferty KD (1992). Foraging on prey that are modified by parasites. *The American Naturalist* **140**, 854–867.
- Lagrange C, Kaldonski N, Perrot-Minnot MJ, Motreuil S & Bollache L (2007). Modification of hosts' behavior by a parasite: field evidence for adaptive manipulation. *Ecology* **88**, 2839–2847.
- Lagrange C & Poulin R (2007). Life cycle abbreviation in the trematode *Coitocaecum parvum*: can parasites adjust to variable conditions? *Journal of Evolutionary Biology* **20**, 1189–1195.
- Lagrange C, Wattier R, Galipaud M *et al.* (2014). Confrontation of cryptic diversity and mate discrimination within *Gammarus pulex* and *Gammarus fossarum* species complexes. *Freshwater Biology* **59**, 2555–2570.
- Lamková K, Šimková A, Palíková M, Jurajda P & Lojek A (2007). Seasonal changes of immunocompetence and parasitism in chub (*Leuciscus cephalus*), a freshwater cyprinid fish. *Parasitology Research* **101**, 775–789.
- Lass S & Ebert D (2006). Apparent seasonality of parasite dynamics: analysis of cyclic prevalence patterns. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **273**, 199–206.
- Lederberg J (1999). J. B. S. Haldane (1949) on Infectious Disease and Evolution. *Genetics* **153**, 1–3.
- Lefèvre T, Lebarbenchon C, Gauthier-Clerc M, Missé D, Poulin R & Thomas F (2009). The ecological significance of manipulative parasites. *Trends in Ecology & Evolution* **24**, 41–48.
- Leggett HC, Buckling A, Long GH & Boots M (2013). Generalism and the evolution of parasite virulence. *Trends in Ecology & Evolution* **28**, 592–596.
- Lello J & Fenton A (2017). Lost in transmission...? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **372**, 20160082.
- Lenat DR (1988). Water quality assessment of streams using a qualitative collection method for benthic macroinvertebrates. *Journal of the North American Benthological Society* **7**, 222–233.
- Libersat F, Kaiser M & Emanuel S (2018). Mind control: how parasites manipulate cognitive functions in their insect hosts. *Frontiers in Psychology* **9**.
- Lievens EJP, Perreau J, Agnew P, Michalakakis Y & Lenormand T (2018). Decomposing parasite fitness reveals the basis of specialization in a two-host, two-parasite system. *Evolution Letters* **2**, 390–405.

- Lievens EJP, Rode NO, Landes J *et al.* (2019). Long-term prevalence data reveals spillover dynamics in a multi-host (*Artemia*), multi-parasite (Microsporidia) community. *International Journal for Parasitology* **49**, 471–480.
- Lipkowski K, Steigerwald S, Schulte LM, Sommer-Trembo C & Jourdan J (2021). Natural variation in social conditions affects male mate choosiness in the amphipod *Gammarus roeselii*. *Current Zoology* **zoab016**.
- Lucius R, Loos-Frank B, Lane RP, Poulin R, Roberts C & Grensis RK (2017). *The Biology of Parasites*. Wiley-VCH, Weinheim, Germany.
- MacNeil C, Dick JTA & Elwood RW (2000). Differential physico-chemical tolerances of amphipod species revealed by field transplantations. *Oecologia* **124**, 1–7.
- MacNeil C, Dick JTA, Hatcher MJ, Terry RS, Smith JE & Dunn AM (2003a). Parasite-mediated predation between native and invasive amphipods. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological sciences* **270**, 1309–1314.
- MacNeil C, Fielding NJ, Hume KD *et al.* (2003b). Parasite altered micro-distribution of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *International Journal for Parasitology* **33**, 57–64.
- Mamos T, Jażdżewski K, Čiamporová-Zaťovičová Z, Čiampor F & Grabowski M (2021). Fuzzy species borders of glacial survivalists in the Carpathian biodiversity hotspot revealed using a multimarker approach. *Scientific Reports* **11**, 21629.
- Mamos T, Wattier R, Burzyński A & Grabowski M (2016). The legacy of a vanished sea: a high level of diversification within a European freshwater amphipod species complex driven by 15 My of Paratethys regression. *Molecular Ecology* **25**, 795–810.
- Manzoli DE, Saravia-Pietropaolo MJ, Arce SI, Percara A, Antoniazzi LR & Beldomenico PM (2021). Specialist by preference, generalist by need: availability of quality hosts drives parasite choice in a natural multihost–parasite system. *International Journal for Parasitology*.
- Maren MJ van (1979). The amphipod *Gammarus fossarum* Koch (Crustacea) as intermediate host for some helminth parasites, with notes on their occurrence in the final host. *Bijdragen tot de Dierkunde* **48**, 97–110.
- Marm Kilpatrick A, Daszak P, Jones MJ, Marra PP & Kramer LD (2006). Host heterogeneity dominates West Nile virus transmission. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **273**, 2327–2333.
- Martin LB, Burgan SC, Adelman JS & Gervasi SS (2016). Host competence: an organismal trait to integrate immunology and epidemiology. *Integrative and Comparative Biology* **56**, 1225–1237.
- McCabe J & Dunn AM (1997). Adaptive significance of environmental sex determination in an amphipod. *Journal of Evolutionary Biology* **10**, 515–527.
- McCahon CP, Maund SJ & Poulton MJ (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 & Beisel J-N (2009). Field evidence for non-host predator avoidance in a manipulated amphipod. *Naturwissenschaften* **96**, 513–523.
- Médoc V, Bollache L & Beisel J-N (2006). Host manipulation of a freshwater crustacean (*Gammarus roeselii*) by an acanthocephalan parasite (*Polymorphus minutus*) in a biological invasion context. *International Journal for Parasitology* **36**, 1351–1358.
- Médoc V, Piscart C, Maazouzi C, Simon L & Beisel J-N (2011a). Parasite-induced changes in the diet of a freshwater amphipod: field and laboratory evidence. *Parasitology* **138**, 537–546.
- Médoc V, Rigaud T, Motreuil S, Perrot-Minnot M-J & Bollache L (2011b). Paratenic hosts as regular transmission route in the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis*: potential implications for food webs. *Naturwissenschaften* **98**, 825–835.

- Moore J (1984). Altered behavioral responses in intermediate hosts - an acanthocephalan parasite strategy. *The American Naturalist* **123**, 572–577.
- 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.
- Moret Y, Bollache L, Wattier R & Rigaud T (2007). Is the host or the parasite the most locally adapted in an amphipod–acanthocephalan relationship? A case study in a biological invasion context. *International Journal for Parasitology* **37**, 637–644.
- Moret Y & Schmid-Hempel P (2000). Survival for immunity: the price of immune system activation for Bumblebee workers. *Science* **290**, 1166–1168.
- Müller J (2000). Mitochondrial DNA variation and the evolutionary history of cryptic *Gammarus fossarum* types. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **15**, 260–268.
- Munro MA, Reid A & Whitfield PJ (1990). Genomic divergence in the ecologically differentiated English freshwater and marine strains of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala: Paleacanthocephala): a preliminary investigation. 451-454 **1990**.
- Muzzal PM (1978). The host-parasite relationships and seasonal occurrence of *Fessiesentis friedi* (Acanthocephala: Fessisentidae) in the Isopod (*Caecidotea communis*). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* **45**, 77–82.
- Nadler SA & Pérez-Ponce de León G (2011). Integrating molecular and morphological approaches for characterizing parasite cryptic species: implications for parasitology. *Parasitology* **138**, 1688–1709.
- Nijssen H (1963). Some notes on the distribution and the ecology of the amphipod *Gammarus fossarum* Koch, 1835, in the Netherlands (Crustacea, Malacostraca). *Beaufortia* **10**, 40–43.
- Outreman Y, Bollache L, Plaistow S & Cézilly F (2002). Patterns of intermediate host use and levels of association between two conflicting manipulative parasites. *International Journal for Parasitology* **32**, 15–20.
- Parker GA, Ball MA, Chubb JC, Hammerschmidt K & Milinski M (2009). When should a trophically transmitted parasite manipulate its host? *Evolution* **63**, 448–458.
- Pedersen AB, Altizer S, Poss M, Cunningham AA & Nunn CL (2005). Patterns of host specificity and transmission among parasites of wild primates. *International Journal for Parasitology* **35**, 647–657.
- Pennycott TW (1998). Lead poisoning and parasitism in a flock of mute swans (*Cygnus olor*) in Scotland. *Veterinary Record* **142**, 13–17.
- Pennycuik L (1971). Seasonal variations in the parasite infections in a population of three spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* L. *Parasitology* **63**, 373–388.
- Pérez-Ponce de León G & Poulin R (2018). An updated look at the uneven distribution of cryptic diversity among parasitic helminths. *Journal of Helminthology* **92**, 197–202.
- 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, Bollache L & Lagrue C (2020). Distribution of *Pomphorhynchus laevis* s.l. (Acanthocephala) among fish species at a local scale: importance of fish biomass density. *Journal of Helminthology* **94**.
- Perrot-Minnot M-J, Guyonnet E, Bollache L & Lagrue C (2019). Differential patterns of definitive host use by two fish acanthocephalans occurring in sympatry: *Pomphorhynchus laevis* and *Pomphorhynchus tereticollis*. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **8**, 135–144.

- Perrot-Minnot M-J, Kaldonski N & Cézilly F (2007). Increased susceptibility to predation and altered anti-predator behavior in an acanthocephalan-infected host. *International Journal for Parasitology* **37**, 645–651.
- Perrot-Minnot M-J, Maddaleno M, Balourdet A & Cézilly F (2012). Host manipulation revisited: no evidence for a causal link between altered photophobia and increased trophic transmission of amphipods infected with acanthocephalans. *Functional Ecology* **26**, 1007–1014.
- Perrot-Minnot M-J, Sanchez-Thirion K & Cézilly F (2014). Multidimensionality in host manipulation mimicked by serotonin injection. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **281**, 20141915.
- Perrot-Minnot M-J, Špakulová M, Wattier R *et al.* (2018). Contrasting phylogeography of two Western Palaearctic fish parasites despite similar life cycles. *Journal of Biogeography* **45**, 101–115.
- Pinacho-Pinacho CD, García-Varela M, Sereno-Uribe AL & Pérez-Ponce de León G (2018). A hyper-diverse genus of acanthocephalans revealed by tree-based and non-tree-based species delimitation methods: ten cryptic species of *Neoechinorhynchus* in Middle American freshwater fishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **127**, 30–45.
- Plaistow SJ, 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.
- Pöckl M (1992). Effects of temperature, age and body size on moulting and growth in the freshwater amphipods *Gammarus fossarum* and *G. roeseli*. *Freshwater Biology* **27**, 211–225.
- Pöckl M (1993). Reproductive potential and lifetime potential fecundity of the freshwater amphipods *Gammarus fossarum* and *G. roeseli* in Austrian streams and rivers. *Freshwater Biology* **30**, 73–91.
- Pöckl M, Webb BW & Sutcliffe DW (2003). Life history and reproductive capacity of *Gammarus fossarum* and *G. roeseli* (Crustacea: Amphipoda) under naturally fluctuating water temperatures: a simulation study. *Freshwater Biology* **48**, 53–66.
- Ponton F, Lefevre T, Lebarbenchon C *et al.* (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 (1994). The evolution of parasite manipulation of host behaviour: a theoretical analysis. *Parasitology* **109**, S109–S118.
- Poulin R (1995). 'Adaptive' changes in the behaviour of parasitized animals: a critical review. *International Journal for Parasitology* **25**, 1371–1383.
- Poulin R (2010). Parasite manipulation of host behavior: an update and frequently asked questions. In: *Advances in the Study of Behavior* pp. 151–186. Academic Press, Burlington, Vermont, USA.
- Poulin R (2021). The rise of ecological parasitology: twelve landmark advances that changed its history. *International Journal for Parasitology* **51**, 1073–1084.
- Poulin R & Forbes MR (2012). Meta-analysis and research on host–parasite interactions: past and future. *Evolutionary Ecology* **26**, 1169–1185.
- Poulin R & Keeney DB (2008). Host specificity under molecular and experimental scrutiny. *Trends in Parasitology* **24**, 24–28.
- Poulin R & Maure F (2015). Host manipulation by parasites: a look back before moving forward. *Trends in Parasitology* **31**, 563–570.
- Rabajante JF, Tubay JM, Uehara T, Morita S, Ebert D & Yoshimura J (2015). Red Queen dynamics in multi-host and multi-parasite interaction system. *Scientific Reports* **5**, 1–7.
- Reier S, Sattmann H, Schwaha T, Fuehrer H-P & Haring E (2020). Unravelling the hidden biodiversity – the establishment of DNA barcodes of fish-parasitizing Acanthocephala Koehltreuther, 1771 in view of

- taxonomic misidentifications, intraspecific variability and possible cryptic species. *Parasitology* **147**, 1499–1508.
- Reier S, Sattmann H, Schwaha T, Harl J, Konecny R & Haring E (2019). An integrative taxonomic approach to reveal the status of the genus *Pomphorhynchus* Monticelli, 1905 (Acanthocephala: Pomphorhynchidae) in Austria. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **8**, 145–155.
- Rigaud T & Moret Y (2003). Differential phenoloxidase activity between native and invasive gammarids infected by local acanthocephalans: differential immunosuppression? *Parasitology* **127**, 571–577.
- Rigaud T, Perrot-Minnot M-J & Brown MJF (2010). Parasite and host assemblages: embracing the reality will improve our knowledge of parasite transmission and virulence. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **277**, 3693–3702.
- Roberts MG & Dobson AP (1995). The population dynamics of communities of parasitic helminths. *Mathematical Biosciences* **126**, 191–214.
- Roberts MG & Heesterbeek J a. P (2020). Characterizing reservoirs of infection and the maintenance of pathogens in ecosystems. *Journal of the Royal Society Interface* **17**, 20190540.
- Rohr JR, Civitello DJ, Halliday FW *et al.* (2020). Towards common ground in the biodiversity–disease debate. *Nature Ecology & Evolution* **4**, 24–33.
- Rousset F, Thomas F, De Meeûs T & Renaud F (1996). Inference of parasite-induced host mortality from distributions of parasite loads. *Ecology* **77**, 2203–2211.
- Roux A-L (1970). Le cycle de reproduction de deux espèces étroitement parentes de crustacés amphipodes : *Gammarus pulex* et *G. fossarum*. *Annales de Limnologie* **6**, 27–49.
- Roux C & Roux A-L (1980). Répartition écologique et métabolisme respiratoire de *Gammarus roeseli* Gervais, 1835. *Crustaceana Suppl* **6**, 148–159.
- Ruiz-González MX, Bryden J, Moret Y, Reber-Funk C, Schmid-Hempel P & Brown MJF (2012). Dynamic transmission, host quality, and population structure in a multihost parasite of bumblebees: dynamics of a trypanosome infecting bumblebees. *Evolution* **66**, 3053–3066.
- Rullmann J-P (2010). *Gammarus pulex* et *Gammarus fossarum* : *confrontation de données morphologiques, génétiques et comportementales dans un contexte d'espèces cryptiques*. Rapport de stage de Master 2^e année. université de Bourgogne, Dijon.
- Rumpus AE & Kennedy CR (1974). The effect of the acanthocephalan *Pomphorhynchus laevis* upon the respiration of its intermediate host, *Gammarus pulex*. *Parasitology* **68**, 271–284.
- Sanchez-Thirion K, Danger M, Bec A *et al.* (2019). High food quality increases infection of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) by the acanthocephalan parasite *Pomphorhynchus laevis*. *International Journal for Parasitology* **49**, 805–817.
- Schmidt G (1985). Development and life cycles. In: *Biology of the Acanthocephala* (eds DWT Crompton & BB Nickol) pp. 273–305. Cambridge University Press.
- Sears BF, Schlunk AD & Rohr JR (2012). Do parasitic trematode cercariae demonstrate a preference for susceptible host species? *PLoS ONE* **7**, e51012.
- Sexton EW (1924). The moulting and growth-stages of *Gammarus*, with descriptions of the normals and intersexes of *G. cheureuxi*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **13**, 340–401.
- Shearer CL & Ezenwa VO (2020). Rainfall as a driver of seasonality in parasitism. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **12**, 8–12.
- Špakulová M, Perrot-Minnot M & Neuhaus B (2011). Resurrection of *Pomphorhynchus tereticollis* (Rudolphi, 1809) (Acanthocephala: Pomphorhynchidae) based on new morphological and molecular data. *Helminthologia* **48**, 268–277.

- Starry O, Wanzenböck J & Danielopol DL (1998). Tendency of the amphipod *Gammarus roeseli* Gervais to colonize coarse sediment habitats under fish predation pressure. *International Review of Hydrobiology* **83**, 371–380.
- Steinauer ML & Nickol BB (2015). Revision of *Leptorhynchoides thecatus* (Acanthocephala: Illiosentidae), with morphometric analysis and description of six new species. *The Journal of Parasitology* **101**, 193–211.
- Stella M, Selakovic S, Antonioni A & Andreazzi CS (2018). Ecological multiplex interactions determine the role of species for parasite spread amplification. *eLife* **7**, e32814.
- Strauss AT, Bowling AM, Duffy MA, Cáceres CE & Hall SR (2018). Linking host traits, interactions with competitors and disease: mechanistic foundations for disease dilution. *Functional Ecology* **32**, 1271–1279.
- Strauss AT, Civitello DJ, Cáceres CE & Hall SR (2015). Success, failure and ambiguity of the dilution effect among competitors. *Ecology Letters* **18**, 916–926.
- Streicker DG, Fenton A & Pedersen AB (2013). Differential sources of host species heterogeneity influence the transmission and control of multihost parasites. *Ecology Letters* **16**, 975–984.
- Sures B & Radszuweit H (2007). Pollution-induced heat shock protein expression in the amphipod *Gammarus roeseli* is affected by larvae of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala). *Journal of Helminthology* **81**, 191–197.
- Sutcliffe DW, Carrick TR & Willoughby LG (1981). Effects of diet, body size, age and temperature on growth rates in the amphipod *Gammarus pulex*. *Freshwater Biology* **11**, 183–214.
- 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**, 69–72.
- Taraschewski H (2000). Host-parasite interactions in acanthocephala: a morphological approach. In: *Advances in Parasitology* pp. 1–179. Academic Press.
- Telfer S & Bown K (2012). The effects of invasion on parasite dynamics and communities. *Functional Ecology* **26**, 1288–1299.
- Telfer S, Bown KJ, Sekules R, Begon M, Hayden T & Birtles R (2005). Disruption of a host-parasite system following the introduction of an exotic host species. *Parasitology* **130**, 661–668.
- Tepolt CK, Darling JA, Blakeslee AMH *et al.* (2020). Recent introductions reveal differential susceptibility to parasitism across an evolutionary mosaic. *Evolutionary Applications* **13**, 545–558.
- Therneau TM & Grambsch PM (2000). *Modeling survival data: extending the Cox model*. Statistics for Biology and Health. Springer New York, New York, NY.
- Thiemann TC, Wheeler SS, Barker CM & Reisen WK (2011). Mosquito host selection varies seasonally with host availability and mosquito density. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **5**, e1452.
- Thomas F, Adamo S & Moore J (2005). Parasitic manipulation: where are we and where should we go? *Behavioural Processes* **68**, 185–199.
- Thomas F, Brodeur J, Maure F, Franceschi N, Blanchet S & Rigaud T (2011). Intraspecific variability in host manipulation by parasites. *Infection, Genetics and Evolution* **11**, 262–269.
- Thomas F, Renaud F & Poulin R (1998). Exploitation of manipulators: ‘hitch-hiking’ as a parasite transmission strategy. *Animal Behaviour* **56**, 199–206.
- Thomas F, Renaud F, Rousset F, Cézilly F & Meeüs T de (1995). Differential mortality of two closely related host-species induced by one parasite. *Proceedings of the Royal society of London. Series B. Biological sciences* **260**, 349–352.

- Thomas F, Rigaud T & Brodeur J (2012). Evolutionary routes leading to host manipulation by parasites. In: *Host Manipulation by Parasites* (eds DP Hughes, J Brodeur & F Thomas) pp. 16–33. Oxford University Press, Oxford, UK.
- 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.
- Tierney PA, Caffrey JM, Matthews SM, Costantini E & Holland CV (2020). Evidence for enemy release in invasive common dace *Leuciscus leuciscus* in Ireland: a helminth community survey and systematic review. *Journal of Helminthology* **94**.
- Tobias ZJC, Fowler AE, Blakeslee AMH *et al.* (2021). Invasion history shapes host transcriptomic response to a body-snatching parasite. *Molecular Ecology* **30**, 4321–4337.
- Torchin ME, Lafferty KD, Dobson AP, McKenzie VJ & Kuris AM (2003). Introduced species and their missing parasites. *Nature* **421**, 628–630.
- Uznanski RL & Nickol BB (1980). Parasite population regulation: lethal and sublethal effects of *Leptorhynchoides thecatus* (acanthocephala: Rhadinorhynchidae) on *Hyalella azteca* (Amphipoda). *Journal of Parasitology* **66**, 121–126.
- Valtonen ET, Van Maren MJ & Timola O (1983). A note on the intermediate hosts of *Echinorhynchus gadi* Zoega, in Müller (Acanthocephala) in the Baltic Sea. *Aquilo, Series Zoologica* **22**, 93–97.
- Vardić Smrzlić I, Valić D, Kapetanović D, Filipović Marijić V, Gjurčević E & Teskeredžić E (2015). *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) from the Sava River basin: new insights into strain formation, mtDNA-like sequences and dynamics of infection. *Parasitology International* **64**, 243–250.
- Vollset KW (2019). Parasite induced mortality is context dependent in Atlantic salmon: insights from an individual-based model. *Scientific Reports* **9**, 17377.
- Walker JG, Plein M, Morgan ER & Vesik PA (2017). Uncertain links in host–parasite networks: lessons for parasite transmission in a multi-host system. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **372**, 20160095.
- Wang TP, Shrivastava J, Johansen MV, Zhang SQ, Wang FF & Webster JP (2006). Does multiple hosts mean multiple parasites? Population genetic structure of *Schistosoma japonicum* between definitive host species. *International Journal for Parasitology* **36**, 1317–1325.
- Wattier R, Mamos T, Copilaş-Ciocianu D *et al.* (2020). Continental-scale patterns of hyper-cryptic diversity within the freshwater model taxon *Gammarus fossarum* (Crustacea, Amphipoda). *Scientific Reports* **10**, 16536.
- Weinreich F, Benesh DP & Milinski M (2013). Suppression of predation on the intermediate host by two trophically-transmitted parasites when uninformative. *Parasitology* **140**, 129–135.
- Wesołowska W & Wesołowski T (2014). Do *Leucochloridium* sporocysts manipulate the behaviour of their snail hosts? *Journal of Zoology* **292**, 151–155.
- Westram AM, Baumgartner C, Keller I & Jokela J (2011a). Are cryptic host species also cryptic to parasites? Host specificity and geographical distribution of acanthocephalan parasites infecting freshwater *Gammarus*. *Infection, Genetics and Evolution* **11**, 1083–1090.
- Westram AM, Jokela J, Baumgartner C & Keller I (2011b). Spatial distribution of cryptic species diversity in European freshwater amphipods (*Gammarus fossarum*) as revealed by pyrosequencing. *PLoS ONE* **6**, e23879.
- Westram AM, Jokela J & Keller I (2013). Hidden biodiversity in an ecologically important freshwater amphipod: differences in genetic structure between two cryptic species. *PLoS ONE* **8**, e69576.

- Wijnhoven S, Riel MC van & Velde G van der (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 DD & Williams NE (1993). The upstream/downstream movement paradox of lotic invertebrates: quantitative evidence from a Welsh mountain stream. *Freshwater Biology* **30**, 199–218.
- Witt JDS, Threlloff DL & Hebert PDN (2006). DNA barcoding reveals extraordinary cryptic diversity in an amphipod genus: implications for desert spring conservation. *Molecular Ecology* **15**, 3073–3082.
- Woolhouse MEJ, Taylor LH & Haydon DT (2001). Population biology of multihost pathogens. *Science* **292**, 1109–1112.
- Yakob L, Williams GM, Gray DJ, Halton K, Solon JA & Clements AC (2013). Slaving and release in co-infection control. *Parasites & Vectors* **6**, 157.
- Youngblut ND, Reischer GH, Walters W *et al.* (2019). Host diet and evolutionary history explain different aspects of gut microbiome diversity among vertebrate clades. *Nature Communications* **10**, 2200.
- Zittel M, Grabner D, Wlecklik A *et al.* (2018). Cryptic species and their utilization of indigenous and non-indigenous intermediate hosts in the acanthocephalan *Polymorphus minutus* sensu lato (Polymorphidae). *Parasitology* **145**, 1421–1429.

Horse or Crocodile?

How to tell the difference



	Horse	Crocodile
Eyes:	2	2
Ears:	Quite pointy	Not particularly pointy
Teeth:	Yes	Yes
Weight:	<250,000kg	<250,000kg
Location:	Earth	Earth
Attire:	None	None
Likelihood of eating a sugar cube if offered:	High	High
Culpable for the death of Princess Diana?	No	No
Any involvement in the overthrowing of the Russian government in 1917?	No	No

Conclusion

As we can see, there are very few differences between horses and crocodiles so the key thing to look for is the pointiness of the ears.

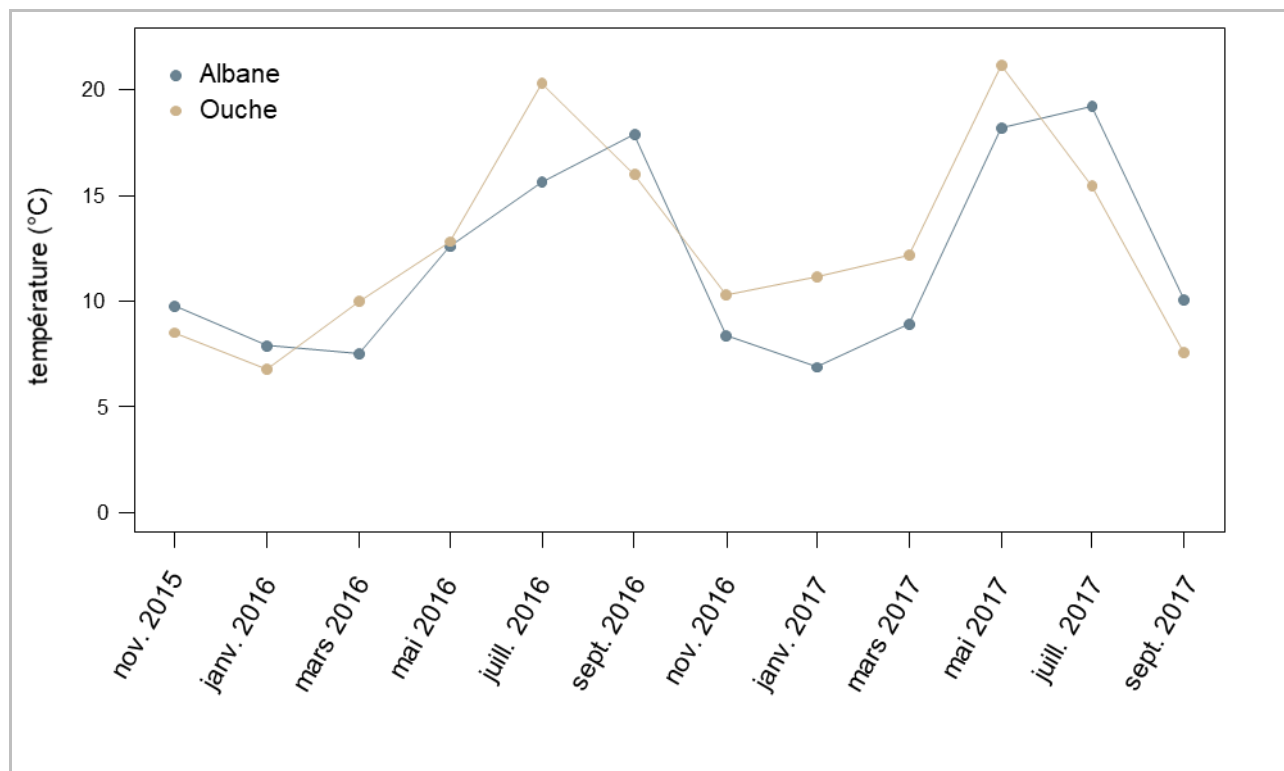
@Michael1979

Sinon, le barcoding ça marche probablement aussi.

Annexe A. Températures relevées lors du suivi temporel

» [retour aux math & meth du chapitre 2](#)

» [retour à la discussion du chapitre 2](#)



Annexe B. Protocoles de génotypage

» [retour au chapitre 2](#)

» [retour au chapitre 4](#)

B.1. Extraction

Les quantités de tissus utilisées pour les extractions sont précisées dans les différents chapitres.

Toutes les extractions d'ADN des expériences présentées dans les chapitres 2 et 4 ont été réalisées à l'aide de kits d'extraction BioBasic (EZ-10 96 Well Plate Genomic DNA Isolation kit) en suivant le protocole associé. Pour les gammares, les éluions étaient faites avec 100 µl de tampon d'éluion fourni dans les kits. Pour les parasites, les éluions ont été effectuées avec 60 µl de tampon.

B.2. Amplification

Amplification du gène mitochondrial de la 1^{re} sous-unité de la cytochrome oxydase (COI)

Pour amplifier le gène COI (gammares et parasites), les amorces universelles LCO1490 : 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' et HCO2198 : 5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3' ont été utilisées (Folmer *et al.*, 1994).

À 5 µL de la solution contenant l'ADN ont été ajoutés 200 nM de chaque amorce, 200 µM de dNTPs, 0.25 U d'ADN polymérase pour les gammares et 1 U pour les parasites (HotMasterTaq 5 prime, Fisher Scientific™ puis Quantabio©), 1X de tampon, le tout étant complété avec de l'eau ultrapure pour obtenir un volume réactionnel total de 20 µL. Le mélange réactionnel a ensuite été soumis au cycle thermique suivant : dénaturation initiale et activation de la polymérase pendant 3 min à 95 °C, puis 39 cycles : dénaturation 20 s à 95 °C, hybridation 45 s à 40 °C et synthèse pendant 1 min à 65 °C, puis finalement 2 min à 65 °C (synthèse finale).

Amplification de la région ITS de l'ADN ribosomique des parasites

Pour amplifier la région ITS, les amorces BD1f : 5'-GTC GTA ACA AGG TTT CCG TA-3' et ACITS1r : 5'-TTG CGA GCC AAG TGA TTC AC-3' ont été utilisées (Franceschi *et al.*, 2008). Le mélange réactionnel (5 µL d'ADN, 200 nM de chaque amorce, 200 µM de dNTPs, 0.25 U d'ADN polymérase, 1X de tampon, complété à 20 µL avec de l'eau ultrapure a été soumis à une dénaturation initiale à 95 °C pendant 3 min, puis 39 cycles à 95 °C (20 s), 50 °C (45 s) et 65 °C (45 s). Une élongation finale était opérée pendant 5 minutes à 65 °C.

B.3. Vérification des amplicons

Le contrôle du succès d'amplification a été effectué par électrophorèse sur gel d'agarose à 2 % de 3 µl de produit de PCR (pendant 15 min à 100 V) puis révélation au bromure d'éthidium (BET). Un puits de chaque ligne était réservé pour y déposer 1 µl de marqueur de taille (échelle de 100 paires de bases, Fermentas). Les échantillons dont l'amplification a échoué ont fait l'objet d'un dosage d'ADN (kit QuantiFLuor® dsDNA system Promega, et protocole associé), et la concentration adaptée le cas échéant en vue d'une nouvelle amplification. En cas d'échec de cette deuxième amplification, une nouvelle extraction était réalisée sur l'animal (s'il restait des tissus de l'individu) et l'ensemble de la procédure était réitéré. En cas d'échec d'amplification, l'individu était retiré des analyses (environ 3 % des cas).

B.4. Séquençage

Les échantillons à séquencer ont été préparés sur des plaques de 96 puits, (20 µl de produit de PCR par puits), chacune envoyée avec un tube contenant 60 µl d'amorce LCO1490 à 10 µM pour les amplicons de CO1, ou BD1 pour les parasites dont l'ITS a été amplifié. Le séquençage par la méthode de Sanger a été réalisé par Genewiz (Leipzig, Allemagne). Les séquences obtenues ont été nettoyées, alignées et comparées à des séquences de référence sur Mega 6 (voir le tableau ci-dessous).

Pour chaque lot de séquences, les distances génétiques entre haplotypes ont été calculées et un arbre a été construit selon la méthode des plus proches voisins (neighbor-joining ; 500 bootstraps). Pour les séquences de gammares, un haplotype de *Dikerogammarus villosus* (numéro d'accès Genbank EF570297.1) était inclus en tant que groupe externe et les séquences obtenues étaient comparées aux séquences de référence de chaque lignée (voir le tableau ci-dessous). Les unités taxonomiques moléculaires opérationnelles (MOTUs) ont été identifiées à l'aide de distances par paires corrigées par les paramètres Kimura-2 (K2p). Les haplotypes ont été regroupés en un seul MOTU lorsque la distance K2p entre les haplotypes était inférieure à 2 % et les haplotypes étaient regroupés en un groupe monophylétique terminal avec un support bootstrap > 90 %.

Tableau - Numéros d'accèsion des séquences de référence utilisées pour l'assignation des lignées

gammare		parasites	
lignée	GenBank	espèce	GenBank
<i>G. fossarum</i> 1	MT411346.1	<i>P. minutus</i> CO1	EF467865.1
<i>G. fossarum</i> 2	MT978910.1	<i>P. minutus</i> ITS	JF803287.1
<i>G. fossarum</i> 3	MT411291.1	<i>P. minutus</i> ITS	AY532067.1
<i>G. fossarum</i> 4	MT411024.1	<i>P. laevis</i> CO1	EF051071.1
<i>G. fossarum</i> 5	MT411035.1	<i>P. laevis</i> ITS	AY135417.1
<i>G. fossarum</i> 6	MT980277.1	<i>P. laevis</i> ITS	AY135415.1
<i>G. fossarum</i> 7	MT411467.1	<i>P. tereticollis</i> CO1	AY423351.1
<i>G. pulex</i> A	Wattier, com. pers.	<i>P. tereticollis</i> ITS	KY075817.1
<i>G. pulex</i> B	Wattier, com. pers.	<i>P. tereticollis</i> ITS	LN995058.1
<i>G. pulex</i> C	Wattier, com. pers.		
<i>G. pulex</i> D	Wattier, com. pers.		

B.5. RFLP

Pour les amplicons de gammare, les tests de RFLP mixte ayant échoué, le typage a été fait en deux étapes. Une première réaction était effectuée pour distinguer les groupes *G. fossarum* et *G. pulex* : l'enzyme *VspI* (Thermo Scientific™) reconnaît le motif 5'...AT[^]TAAT...3' et coupe l'ADN de *G. pulex* en deux brins d'environ 200 et 450 paires de bases. Les extraits des individus *G. fossarum* font alors l'objet d'une seconde RFLP avec l'enzyme *DraI* (Thermo Scientific™), qui permet de discriminer *Gf* 1-2-3 et *Gf* 6-7, cette enzyme coupant la séquence 5'...TTT[^]AAA...3'. Les produits de PCR de *Gf* 6 et *Gf* 7 sont coupés en deux brins d'environ 450 et 200 paires de bases, alors que l'enzyme ne coupe pas les produits de PCR de *Gf* 1).

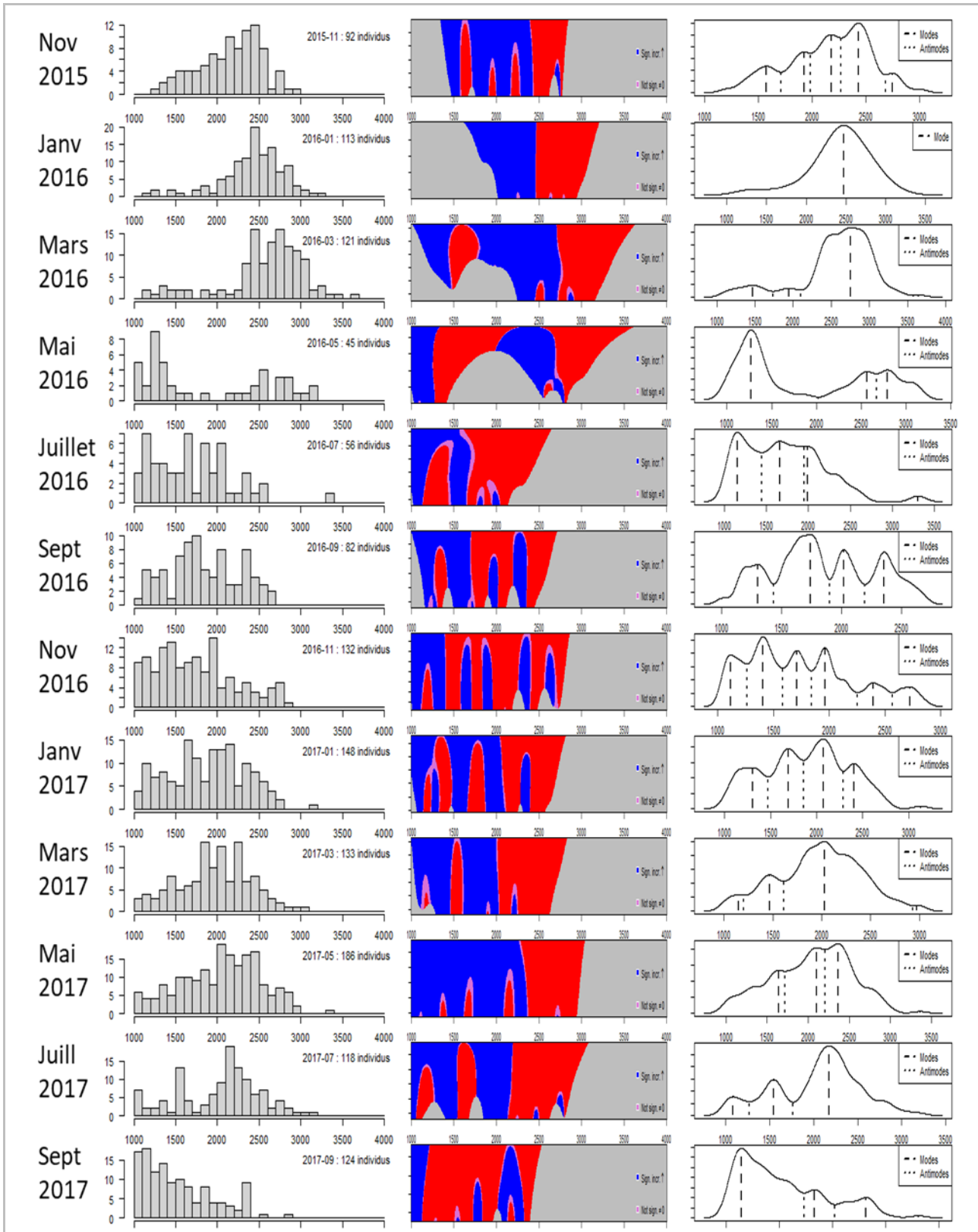
Pour les parasites dont le CO1 a été amplifié mais non séquencé, l'endonucléase *VspI* permet de distinguer *P. laevis* (2 brins de 60 et 620 pb) et *P. tereticollis* (2 brins de 450 et 240 pb).

Dans tous les cas (parasites et gammare, quelle que soit l'enzyme utilisée), le protocole de restriction a été le suivant : 10 U de l'enzyme sélectionnée ont été ajoutés à 1 µl de tampon associé et 5 µl de produit de PCR et ajustés avec de l'eau ultrapure à un volume réactionnel de 15 µl. Le mélange était placé à 37 °C pendant 16 heures puis à 65 °C pendant 20 minutes pour inactiver l'enzyme. Les produits de RFLP étaient ensuite soumis à électrophorèse sur gel d'agarose à 2 % et la révélation au bromure d'éthidium permettait le typage. Sur chaque gel, un puits était réservé à un standard.

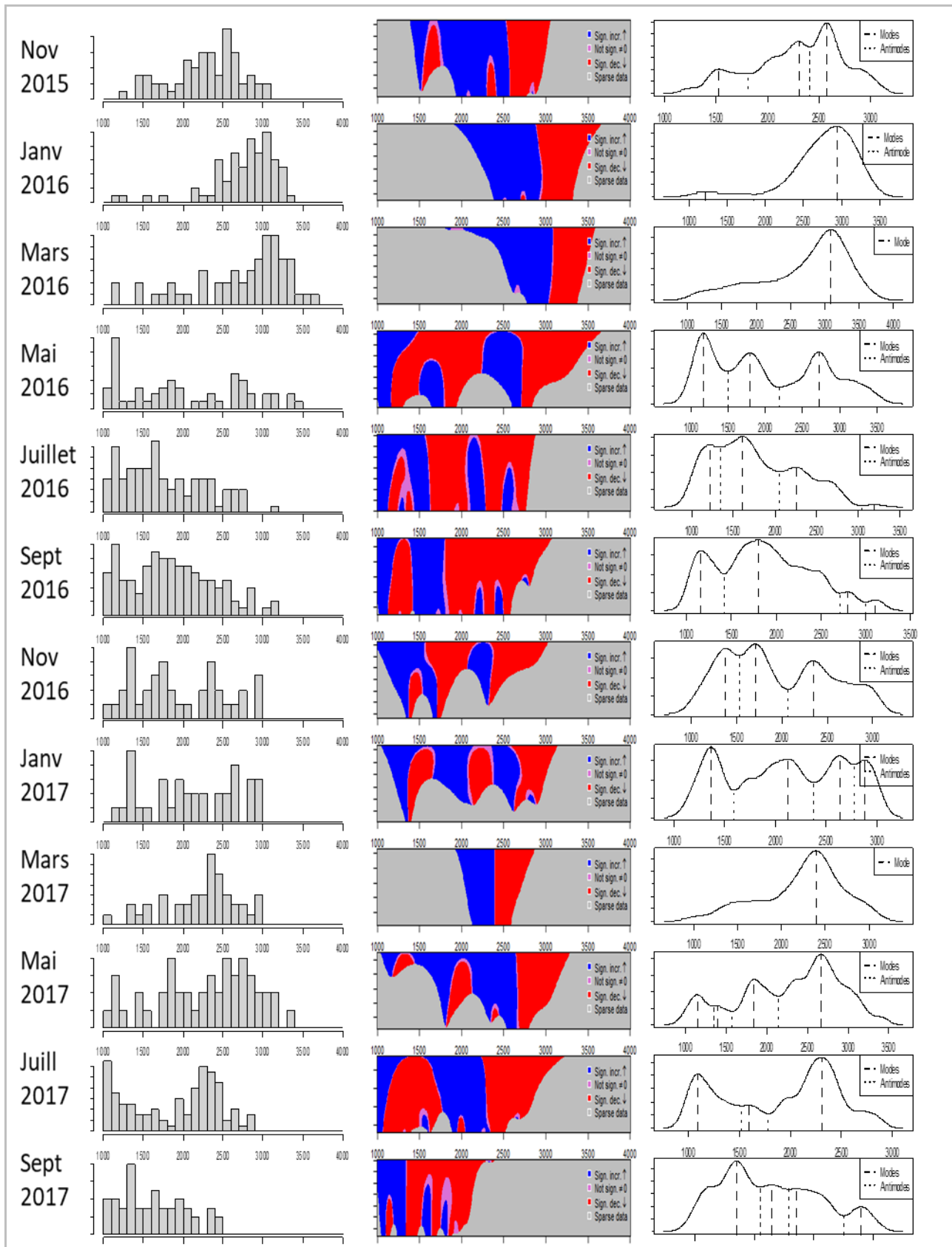
Annexe C. Analyse détaillée des cohortes

» [retour au chapitre 2](#)

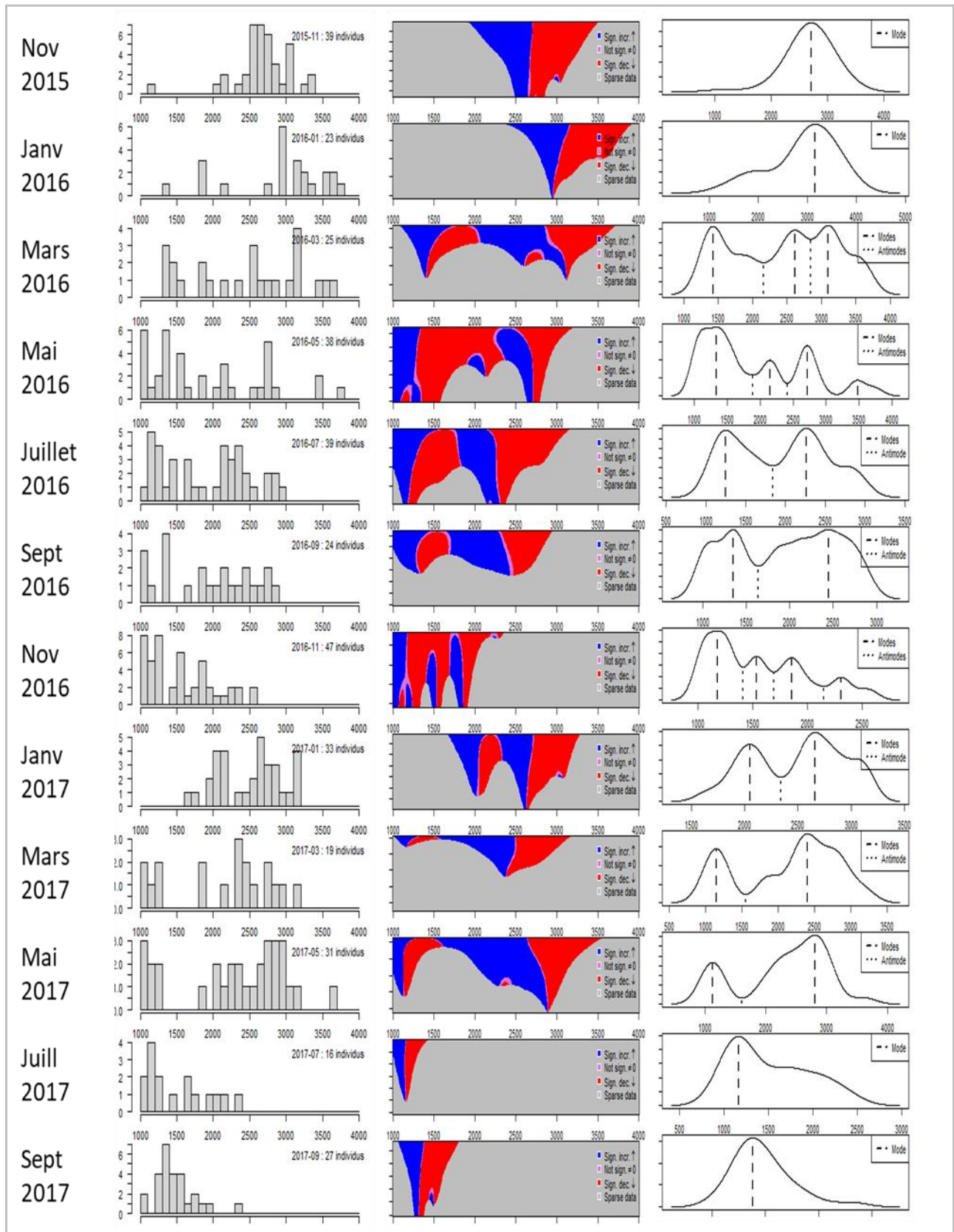
C.I. Albane, Gf 2, 1350 individus



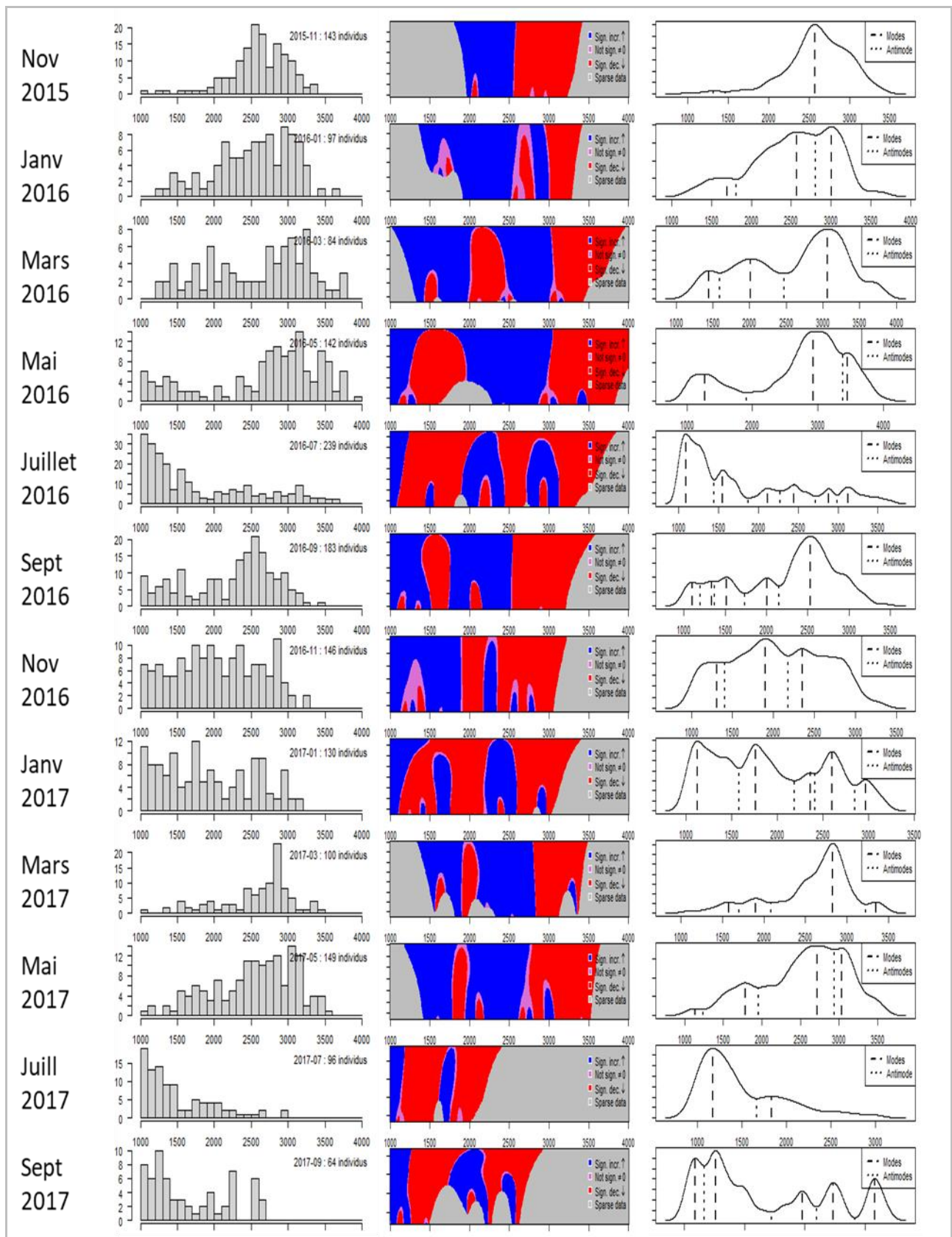
C.2. Albane, Gf 6, 772 individus



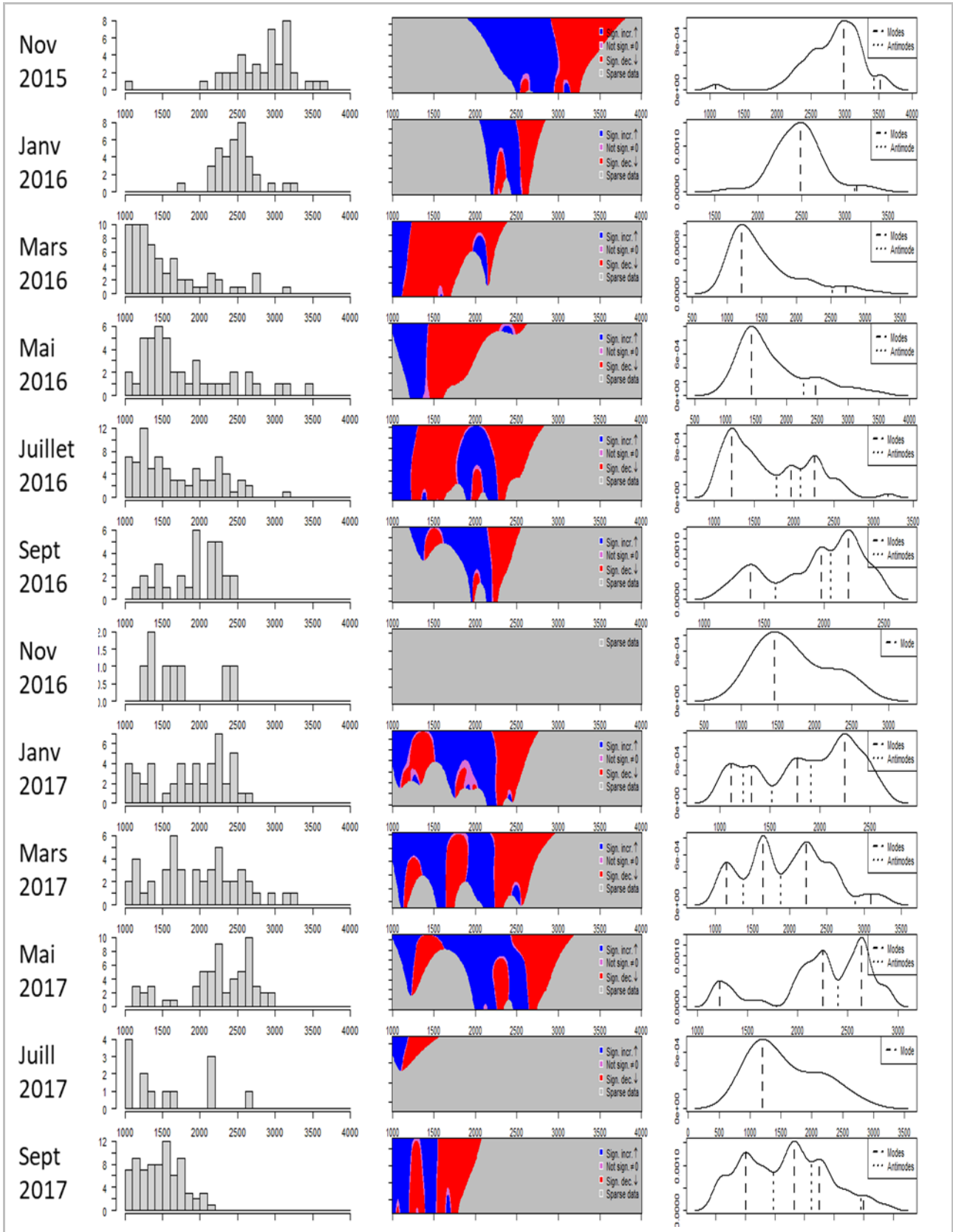
C.3. Albane, Gp D, 361 individus



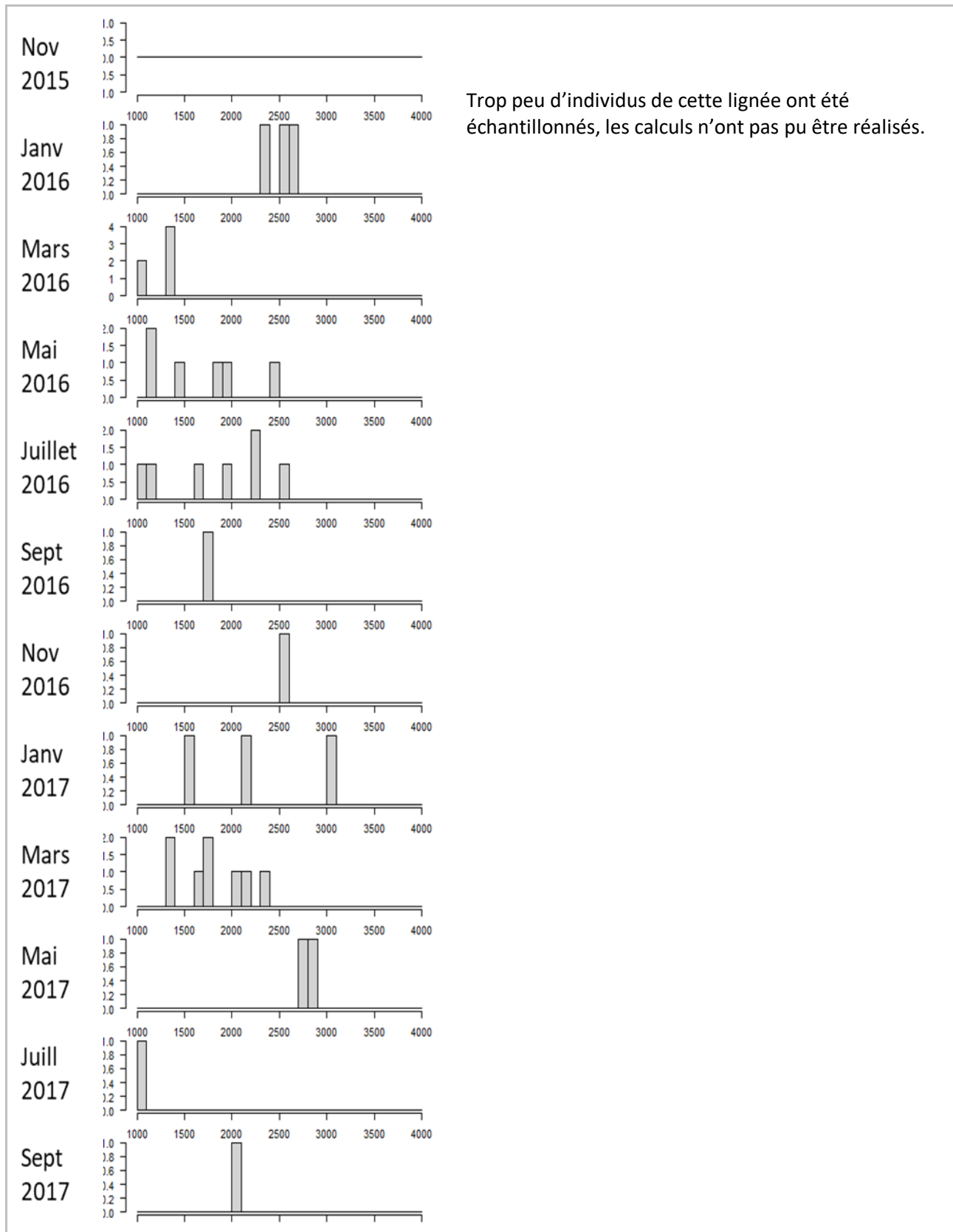
C.4. Albane, *G. roeselii*, 1573 individus



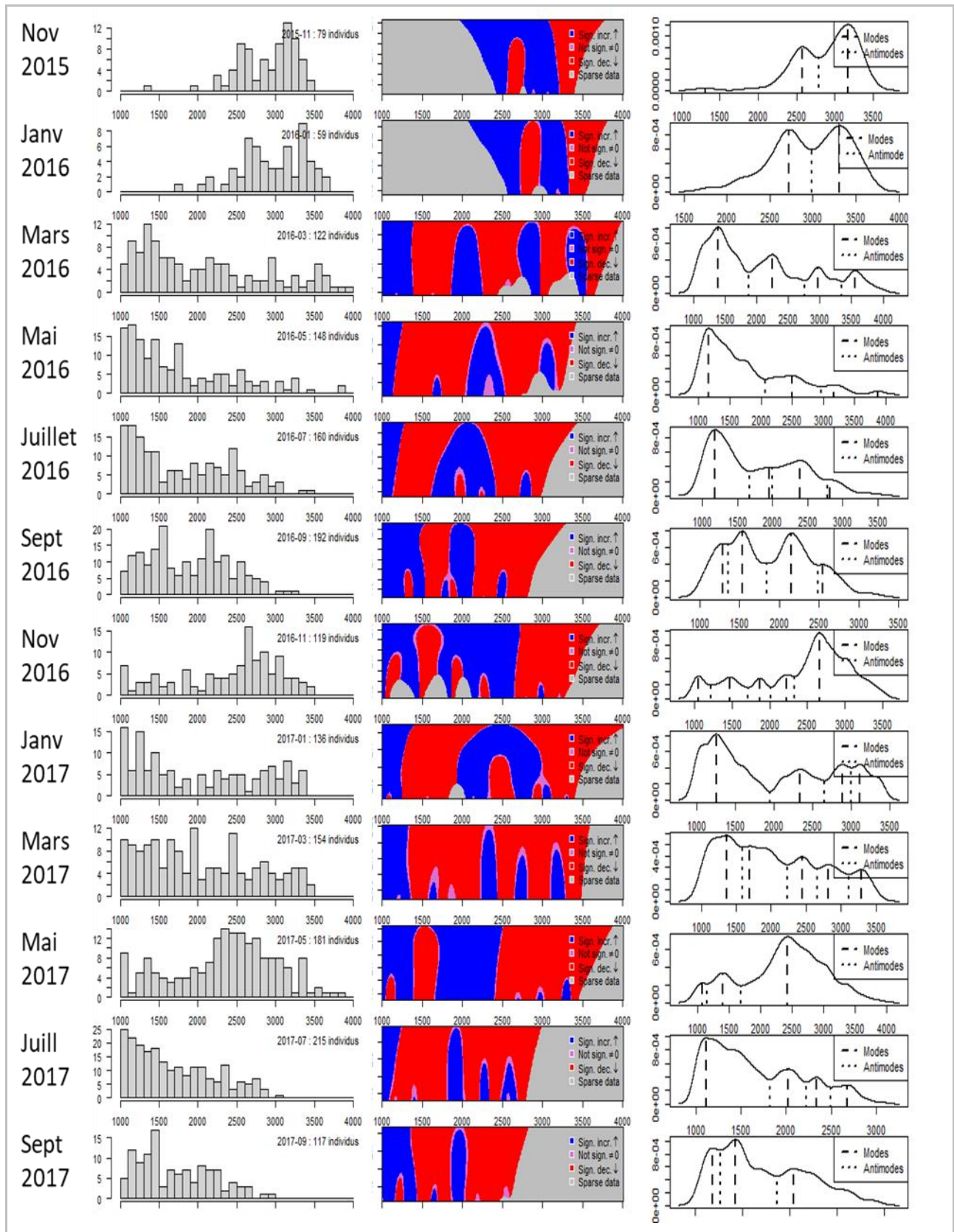
C.5. Ouche, Gf 3, 550 individus



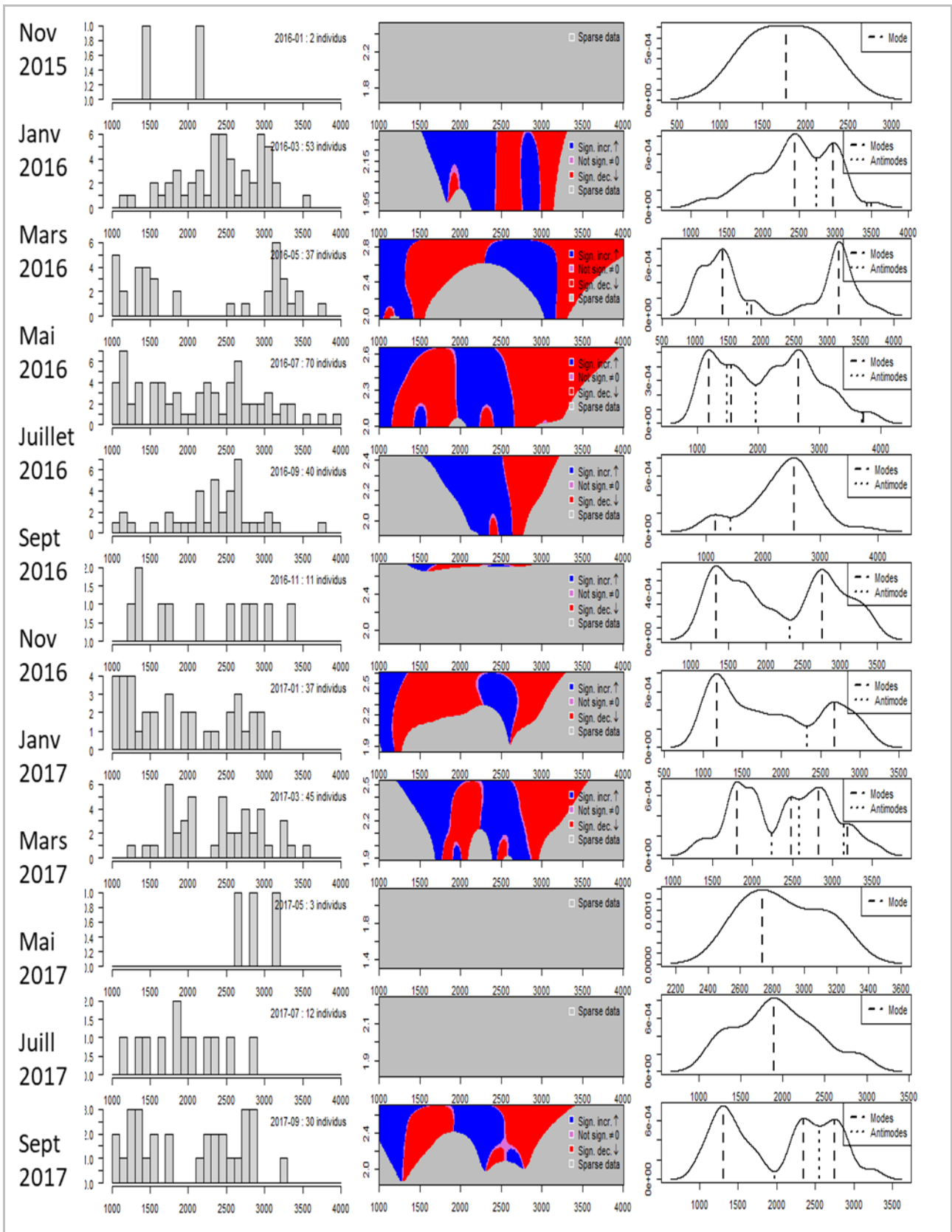
C.6. Ouche, Gf 7, 39 individus



C.7. Ouche, Gp D, 1682 individus



C.8. Ouche, *G. roeselii*, 340 individus



Annexe D. Comparaison des modèles d'analyse des prévalences, tableaux complets

» [retour au chapitre 2](#)

Albane, acanthes <i>P. laevis</i>										
facteur						R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbt:lgn	hbt:sex	lgn:sex					
	+	+				0.07130	5	569.7	0.00	0.364
+	+	+		+		0.07576	7	571.3	1.57	0.166
+	+	+				0.07207	6	571.3	1.59	0.165
	+	+			+	0.07229	7	573.2	3.48	0.064
	+					0.06126	4	573.2	3.48	0.064
+	+	+	+			0.07364	8	574.4	4.75	0.034
+	+	+		+	+	0.07726	9	574.5	4.78	0.033
+	+	+	+	+		0.07707	9	574.6	4.88	0.032
+	+					0.06212	5	574.7	5.02	0.030
+	+	+			+	0.07306	8	574.7	5.06	0.029
+	+	+	+	+	+	0.07898	11	577.5	7.86	0.007
+	+		+			0.06370	7	577.9	8.18	0.006
+	+	+	+		+	0.07461	10	577.9	8.24	0.006
+		+		+		0.04408	5	584.5	14.87	0.000
+		+				0.03960	4	585.0	15.30	0.000
		+				0.03299	3	586.6	16.89	0.000
+						0.02359	3	591.7	21.99	0.000
						0.01538	2	594.1	24.44	0.000

Lignée d'hôte supprimée : Gp D (2 infectés)

» [retour au chapitre 2](#)

Albane, cystacanthes <i>P. laevis</i>										
		facteur				R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbt:lgn	hbt:sex	lgn:sex					
	+					0.10490	4	796.6	0.00	0.281
	+	+				0.10690	5	797.1	0.49	0.221
+	+					0.10540	5	798.2	1.64	0.124
+	+	+				0.10740	6	798.7	2.10	0.098
+	+		+			0.10920	7	799.3	2.68	0.074
+	+	+	+			0.11120	8	799.7	3.14	0.058
	+	+			+	0.10790	7	800.3	3.73	0.044
+	+	+		+		0.10740	7	800.7	4.11	0.036
+	+	+	+	+		0.11130	9	801.7	5.12	0.022
+	+	+			+	0.10840	8	801.9	5.35	0.019
+	+	+	+		+	0.11220	10	803.0	6.42	0.011
+	+	+		+	+	0.10840	9	803.9	7.36	0.007
+	+	+	+	+	+	0.11230	11	805.0	8.40	0.004
+						0.01590	3	862.3	65.76	0.000
+		+				0.01599	4	864.3	67.70	0.000
+		+		+		0.01605	5	866.2	69.67	0.000
						0.00373	2	869.5	72.91	0.000
		+				0.00374	3	871.5	74.90	0.000

Lignée d'hôte supprimée : Gp D (2 infectés)

» [retour au chapitre 2](#)

Albane, acantheselles <i>P. tereticollis</i>										
facteur						R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbt:lgn	hbt:sex	lgn:sex					
	+	+				0.06601	4	800.5	0.00	0.193
	+					0.06253	3	800.8	0.33	0.163
+	+	+				0.06728	5	801.7	1.16	0.108
+	+					0.06384	4	802.0	1.46	0.093
+	+	+		+		0.06954	6	802.1	1.66	0.084
	+	+			+	0.06639	5	802.3	1.76	0.080
+	+	+	+			0.06832	6	803.0	2.48	0.056
+	+		+			0.06490	5	803.3	2.76	0.048
+	+	+	+	+		0.07083	7	803.3	2.81	0.047
+	+	+			+	0.06765	6	803.4	2.93	0.045
+	+	+		+	+	0.07012	7	803.8	3.29	0.037
+	+	+	+		+	0.06870	7	804.7	4.24	0.023
+	+	+	+	+	+	0.07168	8	804.7	4.25	0.023
+		+				0.03241	4	822.9	22.42	0.000
		+				0.02888	3	823.2	22.74	0.000
+		+		+		0.03469	5	823.4	22.92	0.000
+						0.02652	3	824.8	24.31	0.000
						0.02276	2	825.3	24.78	0.000

Lignées supprimées : *Gp D* et *G. roesellii*

» [retour au chapitre 2](#)

Albane, cystacanthes <i>P. tereticollis</i>										
facteur						R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbt:lgn	hbt:sex	lgn:sex					
	+	+				0.10740	4	824.2	0.00	0.374
+	+	+				0.10760	5	826.1	1.89	0.145
	+	+			+	0.10740	5	826.2	1.98	0.139
+	+	+	+			0.10900	6	827.0	2.84	0.090
+	+	+		+		0.10770	6	828.0	3.78	0.056
+	+	+			+	0.10760	6	828.1	3.87	0.054
+	+	+	+	+		0.10930	7	828.9	4.68	0.036
+	+	+	+		+	0.10910	7	829.0	4.81	0.034
	+					0.09684	3	829.7	5.56	0.023
+	+	+		+	+	0.10780	7	830.0	5.77	0.021
+	+	+	+	+	+	0.10930	8	830.9	6.68	0.013
+	+					0.09706	4	831.6	7.41	0.009
+	+		+			0.09845	5	832.6	8.43	0.006
		+				0.06012	3	855.8	31.62	0.000
+		+				0.06121	4	857.1	32.87	0.000
+		+		+		0.06147	5	858.9	34.70	0.000
						0.04453	2	864.7	40.56	0.000
+						0.04591	3	865.8	41.60	0.000

Lignées supprimées : *Gp D* et *G. roeselii*

» [retour au chapitre 2](#)

Albane, acanthes <i>P. minutus</i>										
facteur						R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbt:lgn	hbt:sex	lgn:sex					
+						0.02231	3	284.5	0.00	0.570
+		+				0.02300	4	286.3	1.82	0.229
+		+		+		0.02301	5	288.3	3.83	0.084
						0.00032	2	288.4	3.88	0.082
		+				0.00152	3	290.1	5.57	0.035

Lignées supprimées : Gf 2, Gf 6 et Gp D

Albane, cystacanthes <i>P. minutus</i>										
facteur						R ² aj.	ddl	AICc	delta	poids
hbt	lgn	sex	hbt:lgn	hbt:sex	lgn:sex					
+	+					0.19440	4	828.4	0.00	0.288
+	+	+				0.19540	5	829.6	1.14	0.163
+	+	+		+		0.19730	6	830.0	1.55	0.133
+	+		+			0.19440	5	830.4	1.98	0.107
+	+	+			+	0.19550	6	831.5	3.06	0.062
+	+	+	+			0.19550	6	831.5	3.12	0.061
+	+	+		+	+	0.19730	7	832.0	3.55	0.049
+	+	+	+	+		0.19730	7	832.0	3.55	0.049
	+					0.18640	3	833.3	4.85	0.026
+	+	+	+		+	0.19550	7	833.5	5.05	0.023
+	+	+	+	+	+	0.19730	8	834.0	5.56	0.018
	+	+				0.18760	4	834.2	5.83	0.016
	+	+			+	0.18770	5	836.2	7.75	0.006
+		+				0.09444	4	912.4	83.96	0.000
+		+		+		0.09554	5	913.5	85.07	0.000
+						0.08971	3	914.3	85.86	0.000
		+				0.05205	3	945.1	116.66	0.000
						0.04508	2	948.7	120.31	0.000

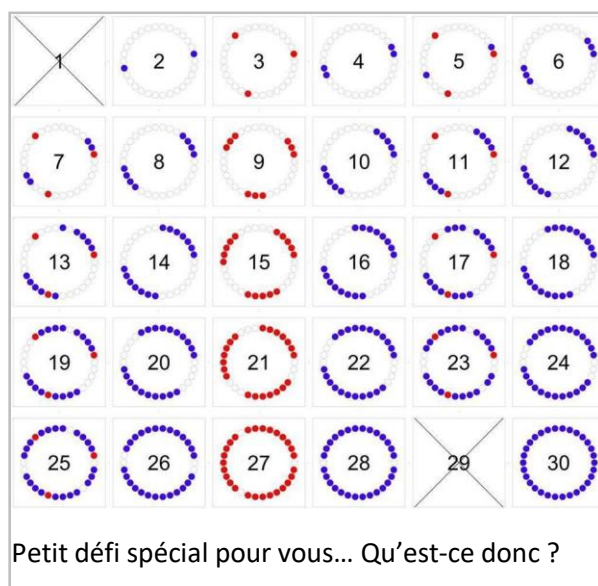
Lignées supprimées : Gf 6 et Gp D

Remerciements

Une fois n'est pas coutume, il y aura ici pléthore de lettres capitales inutiles. Merci...

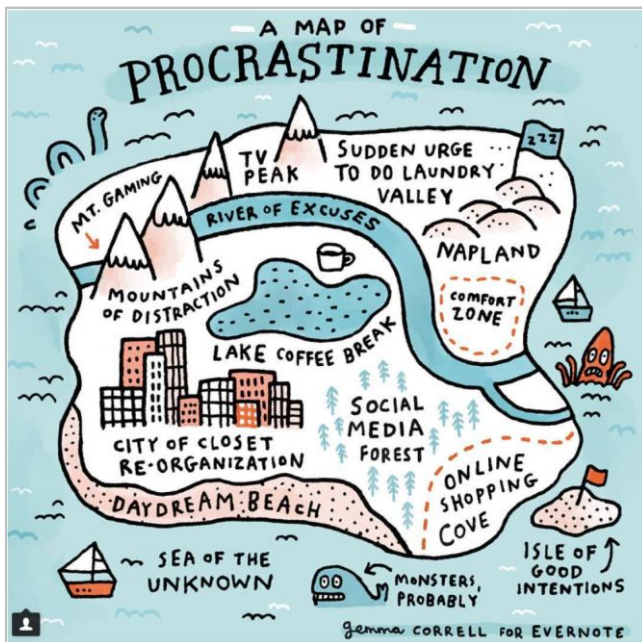
- ✓ Alain P., tu m'as conforté dans mon souhait de devenir forestier, mais la vie en a décidé autrement ;o)
- ✓ Alesque, tu ne liras jamais ces lignes, mais tu m'as montré la voie de la thèse salariée ;
- ✓ les nombreux Auteurs de conseils statistiques avisés, dans les blogs, forums et autres bouquins en accès libre ...

- ✓ mes Biomoleuses préférées, Maria, Nelly, mais aussi quelques autres malheureuses et malheureux qui passaient par là (ou que j'ai été chercher) et qui ont affronté les dangers mortels de la salle BET à ma place. Maria, merci pour m'avoir éclairé dans les nombreux moments de doute moléculaire... Nelly, je ne suis pas peu fier de t'avoir permis de faire le lien avec la magie de l'art culinaire : un peu plus de ceci, un peu moins de cela, ce n'est pas si grave tant qu'il y a du sel et que le four est à la bonne température !



- ✓ Boulet, tes [notes](#) salvatrices (on se tutoie, hein ?!) entre deux scripts R ont épargné d'une surchauffe certaine mon cerveau qui n'est vraiment pas conçu pour ce genre d'exercice ;
- ✓ Carmela pour avoir rendu mon anglais écrit lisible et compréhensible le temps d'un article, en espérant ne pas avoir tout oublié pour les prochains ;
- ✓ les Coéquipiers, grâce à vous j'ai pu me défouler dans les périodes de stress ;
- ✓ mon Comité de suivi, Jérôme et Rémi, pour vos conseils avisés et pour avoir estimé que ce travail était suffisamment consistant pour envisager le passage à la dernière étape ;
- ✓ professeur David W, pour la première soutenance de thèse à laquelle j'ai eu l'occasion d'assister, avec des vraies diapositives, écrites en jaune (ou blanc, je sais plus trop) sur fond bleu... une vraie « *defense* » à l'anglo-saxonne, mais avec du public ;
- ✓ mes Esclaves de terrain, Aude, Chef, JeanNem, Maria, Seb, pour toutes ces pêches dévastatrices pour la biodiversité dans nos zones d'échantillonnage ;

- ✓ la Familia, du plus petit au plus vieux pour votre soutien inconditionnel et les corrections de dernière minute, sans oublier tout le reste...
- ✓ mes deux derniers Grands Sachems, pour avoir accepté que je dégage une (petite) partie de mon temps de travail pour cette aventure ;



Comment ne pas se perdre, [Gemma Correll](#) ?

- ✓ tous les Fumeurs et toutes les Fumeuses de mon entourage qui m'ont permis de me mettre moi-même dans la peau du parasite, en exploitant votre clop déjà allumé et vous privant par là-même d'une partie de ses ressources bienfaitantes... Le covid est passé par là depuis, mon spectre d'hôtes a considérablement diminué ! Merci Chef, pour l'époque où tu étais mon hôte clé, à l'occasion des presque quotidiennes réunions d'avancement de travail...
- ✓ aux quelques (voire plus) dizaines de milliers de *Gammarus* qui ont subi mon incommensurable cruauté, alors que seulement 10 809 ont été utilisés pour réaliser ce travail ;

- ✓ Frank, pour m'avoir convaincu le jour de la rentrée de maîtrise d'étudier l'écologie plutôt que la bio veg, pour m'avoir pointé du doigt sur un lit d'hôpital en hochant la tête et m'avoir dit quelque chose du genre « toi, tu vas terminer ton année ! », et pour tout le reste qui a suivi ;
- ✓ JeanNem, pour m'avoir laissé mettre presque n'importe quelle musique dans le bureau ! Mais aussi pour m'avoir régulièrement distrait avec de croustillantes anecdotes uBuesques...
- ✓ mon Jury, pour le courage que vous avez à avoir accepté de lire ce document sans savoir ce que vous alliez y trouver ;
- ✓ Kikounet, pour m'avoir fait comprendre que quand un statisticien dit « bin ya pas besoin de stats, c'est flagrant, là ! », un biologiste demandera un petit test pour faire plus sérieux...
- ✓ Ô Maître, pour votre bienveillance sans faille de tous les instants ! et aussi pour avoir aussi minutieusement schtroumpné ce document... voilà j'ai réussi à le recaser ce verbe !
- ✓ Patron, pour m'avoir mis Nathalie (c'était peut-être pas une bonne idée finalement), Lucile et Sophie dans les pattes. Les filles, vous m'avez donné envie de relever moi aussi le défi ! Lucile, merci pour tous ces moments au frais, même quand par une matinée sur le terrain à -12,5 degrés tu m'as interdit de sortir de la voiture... Sophie, désolé pour la pizza aux pâtes, mais il fallait vraiment essayer...

- ✓ mes Petites mains de la thèse, Jeanne (quelle rencontre !), Guillaume, Nicolas et Lucie. Un grand merci pour votre investissement et votre minutie !
- ✓ Randall Munroe, pour tous les [strips](#) qui auraient pu convenir à des têtes de chapitre (mais il en aurait fallu beaucoup plus, de chapitres...) ;
- ✓ Rémi, c'est vraiment louable d'avoir essayé de me faire comprendre la génétique ;
- ✓ mon Stagiaire un peu spécial du premier confinement 2020 et mes assistants de manips qui ont accepté de sortir de chez eux au mépris de tous les dangers... Vue du labo, avec un verre de bon rouge le midi et même un dessert surprise le mardi, elle était quand même bien sympa cette période troublée !



Titre : Gammarés et acanthocéphales : un système multi-hôtes (cryptiques) et multi-parasites ?

Mots-clés : diversité cryptique ; parasites multi-hôtes ; hôtes multi-parasites ; spécificité

Résumé : Les parasites multi-hôtes peuvent exploiter diverses espèces hôtes différant en abondance et en sensibilité à l'infection, qui vont contribuer de façon inégale à leur transmission et à leur fitness. Les « hôtes clés » sont ceux contribuant significativement plus à l'achèvement du cycle de vie de tels parasites. Trois critères non exclusifs peuvent servir à identifier un hôte clé : sa forte abondance, sa forte exposition/sensibilité à l'infection, et le grand nombre de stades infectieux produits par individu infecté. De nombreux parasites à cycle de vie complexe ont développé la capacité de manipuler le comportement de leurs hôtes intermédiaires, augmentant ainsi la probabilité de transmission à leurs hôtes définitifs. La sensibilité de l'hôte à la manipulation doit donc être incluse dans la définition d'une espèce « hôte clé », à cause de son implication dans la transmission de parasite. Plusieurs espèces de parasites manipulateurs acanthocéphales (en particulier *Pomphorhynchus laevis* et *P. tereticollis*) utilisent les crustacés du genre *Gammarus* comme hôtes intermédiaires. Il a été montré récemment que de nombreuses espèces cryptiques (lignées) de *G. pulex* et *G. fossarum* vivent en sympatrie dans les rivières de l'est de la France, apportant une vision nouvelle du spectre d'hôtes intermédiaires que les acanthocéphales peuvent utiliser, et de leur contribution relative à leurs cycles de vie.

Le premier objectif de la thèse était de tester si la présence des espèces/lignées hôtes en milieu naturel est stable dans le temps (déterminant, le cas échéant la possibilité d'une utilisation simultanée des hôtes par les parasites, ou séquentielle dans le cas contraire). Il a été montré que plusieurs lignées hôtes présentes en sympatrie dans les rivières étudiées (*G. roeselii* et plusieurs lignées du complexe *G. pulex/fossarum*) sont disponibles de façon constante pour les parasites acanthocéphales sur toute la durée de notre suivi, mais en proportions relatives assez variables. Des patrons différents d'infections en acanthocéphales ont été mis en évidence lors de ce suivi temporel et des sensibilités variables entre lignées de gammarés à l'infection par les différents parasites ont été suggérées, nous permettant

de proposer que les différents hôtes contribuent probablement de manière inégale au cycle de vie des parasites.

Le deuxième objectif de ce travail était d'évaluer les sensibilités relatives à l'infection par *P. laevis* des deux morpho espèces *G. roeselii* et *G. fossarum* à l'aide d'infections expérimentales. Si *G. roeselii* est trouvé plus infecté en milieu naturel, il est en revanche moins sensible à l'infection au laboratoire. Cet hôte, connu par ailleurs pour être manipulé moins efficacement, constitue donc plutôt une impasse pour ce parasite (les parasites ne trouvent pas leur hôte définitif et s'accumulent). L'effet « puits » de ces infections serait néanmoins modéré au vu de la faible infectivité des parasites.

Dans un troisième volet, les rôles respectifs de trois facteurs – sensibilité à l'infection, virulence des parasites et manipulation – dans les interactions des deux parasites *P. laevis* et *P. tereticollis* avec leur communauté d'hôtes sympatriques du complexe d'espèces cryptiques *G. pulex/fossarum* ont été étudiés expérimentalement. Des différences ont été révélées, à la fois en termes d'infectivité et de virulence, entre lignées cryptiques d'hôtes. La mortalité des individus infectés augmente de façon notable après plusieurs semaines de développement des parasites des deux espèces, ce qui n'a pas permis de comparer finement les modifications de comportement entre lignées d'hôtes.

Cette thèse montre que le système étudié est bien un système multi-hôtes et multi-parasites. Mais que les acanthocéphales, traditionnellement considérés comme généralistes, montrent en fait des préférences marquées, sans doute locales, dans l'exploitation de certaines lignées d'hôtes intermédiaires qui ne sont pas nécessairement les plus abondantes.

Title: Gammarids and acanthocephalans, a multi-(cryptic) hosts and multi-parasites system?

Keywords: cryptic diversity; multi-hosts parasites ; multi-parasitized hosts; specificity

Abstract: Multi-host parasites can exploit various host species that differ in abundance and susceptibility to infection, which will contribute unequally to their transmission and fitness. "Key hosts" are those contributing significantly more to the completion of the life cycle of such parasites. Three non-exclusive criteria may be used to identify a key host: its high abundance, its high exposure/susceptibility to infection, and the large number of infectious stages produced per infected individual. Many parasites with complex life cycles have evolved the ability to manipulate several traits of their intermediate hosts' phenotype, including behavior, thereby increasing the likelihood of transmission to their definitive hosts. Host susceptibility to manipulation must therefore be included in the definition of a "key host" species, because of its involvement in parasite transmission. Several species of acanthocephalan manipulative parasites (among which *Pomphorhynchus laevis* and *P. tereticollis*) use amphipod crustaceans of the genus *Gammarus* as intermediate hosts. It has recently been shown that many *G. pulex* and *G. fossarum* cryptic lineages are living in sympatry in Eastern France rivers, bringing a new vision of the spectrum of intermediate hosts that acanthocephalans can use, and their relative contribution to their life cycles.

The first aim of the thesis was to test whether the presence of host species/lineages in the wild is stable over time (determining therefore the possibility of simultaneous use of hosts by parasites, or sequential use if not the case). It was shown that the several host species living in sympatry in the studied rivers (*G. roeselii* and several lineages of the *G. pulex/fossarum* complex) are constantly available for acanthocephalans over the entire duration of our monitoring, but in relatively variable proportions. Different patterns of infections in acanthocephalans were highlighted during this temporal monitoring. Therefore, variation in susceptibilities to infection by the different parasite species between gammarids species are suggested, allowing us to propose that the different hosts contribute unequally to the parasites life cycles.

The second objective of this work was to assess the relative susceptibilities of the two *G. roeselii* and *G. fossarum* morphospecies to infection by *P. laevis*, using experimental infections. If *G. roeselii* suffers higher prevalence in the wild than *G. fossarum*, but is nevertheless less susceptible to infection in the laboratory. This host, already known to be less efficiently manipulated, therefore constitutes a kind of dead-end host for this parasite (the parasites do not transmit to their definitive host and accumulate in intermediate hosts). The "sink" effect of these infections seem nevertheless moderate given the low infectivity of the parasites in *G. roeselii*.

In the third part of the thesis, the respective roles of three factors – susceptibility to infection, parasite virulence, manipulation – in the interactions between the two parasites *P. laevis* and *P. tereticollis* and their community of sympatric hosts of the cryptic species complex *G. pulex/fossarum* were studied experimentally. Differences were revealed, in terms of both infectivity and virulence, between host cryptic lineages. The mortality of infected individuals increased significantly after several weeks of development of both parasite species, which did not allow accurate comparisons of behavioural changes between host lineages.

This thesis shows that the system studied here is indeed a multi-host and multi-parasite system. Acanthocephalans, traditionally considered as generalists, actually show marked preferences, probably local, in the exploitation of certain intermediate hosts lineages which are not necessarily the most abundant ones.