



**HAL**  
open science

## Hétérogénéité des relations parasites-oiseaux : importance écologique et rôle évolutif.

Marco Barroca

► **To cite this version:**

Marco Barroca. Hétérogénéité des relations parasites-oiseaux : importance écologique et rôle évolutif..  
Ecologie, Environnement. Université de Bourgogne, 2005. Français. NNT: . tel-00012138

**HAL Id: tel-00012138**

**<https://theses.hal.science/tel-00012138>**

Submitted on 13 Apr 2006

**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.

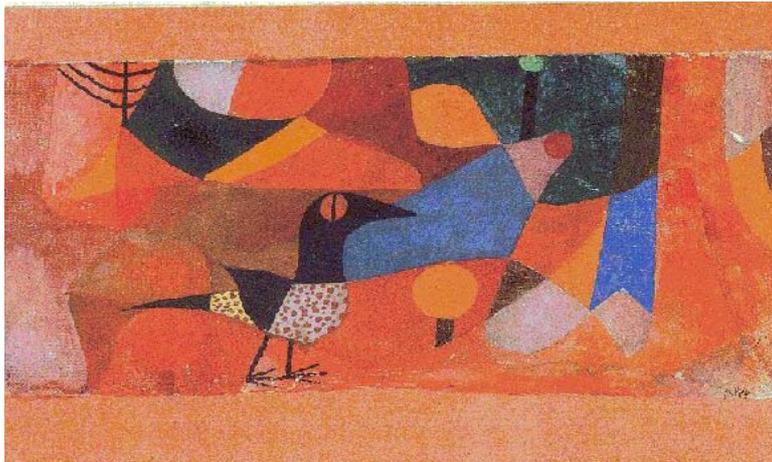
**UNIVERSITE DE BOURGOGNE**  
**Ecole doctorale Buffon**

**THESE**

présentée et soutenue publiquement le 6 juillet 2005  
pour l'obtention du **DIPLÔME DE DOCTORAT**

**Marco BARROCA**

**Hétérogénéité des relations parasites-oiseaux :  
importance écologique et rôle évolutif**



*Thèse dirigée par Pr Bruno Faivre*

*Membres du Jury :*

Thierry RIGAUD	D.R. Université de Bourgogne	Président du jury
Thierry BOULINIER	C.R. Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (Montpellier)	Rapporteur
Christian ERARD	Pr. Muséum national d'histoire naturelle	Rapporteur
Bruno FAIVRE	Pr. Université de Bourgogne	Examineur
Philipp HEEB	C.R. Université de Toulouse III	Examineur

**Laboratoire d'accueil : UMR CNRS 5561 – BIOGEOSCIENCES**  
**Université de Bourgogne, 21000 Dijon**

## **Résumé**

Si les parasites sont étudiés depuis très longtemps, la plupart des connaissances concernent des parasites présentant un intérêt médical ou vétérinaire. Ainsi, malgré leur omniprésence au sein du monde vivant, le rôle des infections parasitaires sur les populations naturelles est encore très mal maîtrisé.

Un objectif de ce travail était d'étudier la pathogénicité de deux groupes de parasites (tiques et Haemosporidae) au sein de populations de Merles noirs. Ces deux groupes de parasites se sont révélés associés aux indices de condition corporelle et de réponse immunitaire des individus. Cependant, l'étude d'une population urbaine ne nous a pas permis de confirmer un effet des Haemosporidae sur la survie et la dynamique de la population de Merles.

L'incidence du milieu de vie (structuration spatiale) sur le fonctionnement de la relation hôte-parasite a été également abordée. En effet, le Merle est une espèce ubiquiste. Nous avons montré que les populations de milieu urbanisé présentent des infections parasitaires plus faibles que celles vivant en milieu forestier. Ce résultat pourrait expliquer en partie les fortes densités de Merles en zones urbaines, même si d'autres interprétations restent bien sûr envisageables.

Enfin, divers travaux récents suggèrent le rôle des caroténoïdes comme lien entre l'immunité des mâles et l'intensité de leur signaux colorés. Cependant, ces études utilisent des mesures de l'immunité par challenge immunitaire pour « mimer » les infections parasitaires. Cette démarche a été récemment discutée car les challenges pourraient ne pas toujours refléter la résistance parasitaire. Nos résultats vont dans ce sens. De plus, nos travaux semblent montrer que le contexte social module la relation entre immunité et signaux colorés. Ceci pourrait remettre partiellement en cause l'idée selon laquelle les caroténoïdes constituent un mécanisme universel garant de l'honnêteté des signaux.

## **Mots clefs**

Caroténoïdes, *Haemoproteus*, Immunocompétence, Interactions hôtes-parasites, *Ixodes ricinus*, Pathogénicité, *Plasmodium*, Structuration spatiale, *Taeniopygia guttata*, *Turdus merula*

**«Les rêves donnent du travail.»**  
Paulo Coelho

**En couverture**

Paul Klee : Forest bird (1920)

Photo: Paul Klee Foundation, CH-3000 Bern, © 2001 Pro Litteris, CH-8033 Zürich.



**UNIVERSITE DE BOURGOGNE**  
**Ecole doctorale Buffon**

**THESE**

présentée et soutenue publiquement le 6 juillet 2005  
pour l'obtention du **DIPLÔME DE DOCTORAT**

**Marco BARROCA**

**Hétérogénéité des relations parasites-oiseaux :  
importance écologique et rôle évolutif**

*Thèse dirigée par Pr Bruno Faivre*

*Membres du Jury :*

Thierry RIGAUD	D.R. Université de Bourgogne	Président du jury
Thierry BOULINIER	C.R. Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (Montpellier)	Rapporteur
Christian ERARD	Pr. Muséum national d'histoire naturelle	Rapporteur
Bruno FAIVRE	Pr. Université de Bourgogne	Examineur
Philipp HEEB	C.R. Université de Toulouse III	Examineur

*Laboratoire d'accueil : UMR CNRS 5561 – BIOGEOSCIENCES*  
**Université de Bourgogne, 21000 Dijon**

## **Remerciements**

En premier lieu, mes remerciements vont vers Bruno Faivre qui a accepté de diriger ce travail. Les discussions que nous avons eues m'auront été largement profitables. Je tiens également à remercier Frank Cézilly, Thierry Rigaud ainsi que Bruno David pour m'avoir accueilli au sein de l'Equipe Ecologie-Evolutive et de l'UMR CNRS 5561 Biogéosciences.

J'exprime ma profonde gratitude à Christian Erard et Thierry Boulinier qui ont accepté d'être rapporteurs de ce travail ainsi qu'aux autres membres du jury Thierry Rigaud et Philipp Heeb.

Les données présentées dans cette étude proviennent d'un travail d'équipe amorcé dès 1997 par Bruno Faivre. Je remercie donc Maria Gaillard, Stéphane Garnier, Christophe Graff, Arnaud Grégoire, Sébastien Motreuil, Marina Prévault, Jean Secondi, Stève Schieste, ainsi que tous ceux qui sont venus consacrer un petit moment de leur vie à la capture matinale de Merles ou à leur bien être en captivité. Merci également aux étudiants qui ont participé au travail de collecte et/ou d'exploitation des données : Anne Besson, Anne Boissel, Maud Boye, Mélanie Bressan, Cédric Burdin, Claire Carvin, Séverine Clair, Julien Contant, Godefroy Devevey, Laurent Doyen, Lucile Filipiak, Gérald Giovani, Michael Hamman, Marlène Jobard, Nicolas Kaldonski, Laetitia Martin, Camille Theureau Guittard, Jean-Philippe Troussard, Nelito Vincente.

Les données nationales proviennent d'une collaboration mise en place avec le C.R.B.P.O., et en particulier avec Romain Julliard que je remercie ici chaleureusement.

Je tiens à remercier le Ministère de la Recherche, le CNRS l'Université de Bourgogne et l'école doctorale Buffon qui ont financé cette thèse ainsi que le C.R.B.P.O., le Ministère de l'Environnement et la ville de Dijon qui ont fourni les autorisations nécessaires à ce travail.

Je remercie également toutes les personnes avec lesquelles j'ai collaboré au cours de ma thèse dont Carlos Bernstein, Lise Gern, Philipp Heeb et Mathew James Wood. Je remercie particulièrement Arnaud Grégoire et Marina Prévault pour m'avoir initié aux méthodes de captures et de suivis des oiseaux, pour leur sympathie et leur disponibilité et aussi pour la beauté de leurs diaporamas sud africains. Merci à Patrick Gauthier pour son investissement et à Sophie Bentz pour son travail de mise au point des méthodes moléculaires. Merci à tous les deux pour nos nombreuses discussions.

J'ai trouvé à Dijon un cadre de travail efficace et agréable auquel les titulaires et l'ensemble des étudiants contribuent largement et je les en remercie. Un merci tout particulier à Clotilde Biard avec qui j'ai partagé mon bureau et mes angoisses durant la fatidique dernière année de ma thèse. Sa gentillesse et sa motivation auront été pour moi d'une aide précieuse.

Faisant de la devise « un esprit sain dans un corps sain » leur maxime, un certain nombre d'étudiants et de membres du laboratoire pratiquent -avec brio- une activité sportive complémentaire. Je remercie ici tous les habitués des séances de badminton et les « piliers » des équipes de foot successives et plus particulièrement Paul Alibert, Loïc Bollache, Stéphane Garnier, Arnaud Grégoire, Clément Lagrue Jérôme Moreau, Yannick Moret, Christelle Pillien.

Cette thèse est née bien avant ces quatre dernières années des nombreuses rencontres qui m'ont permis de découvrir ou de conforter cette « vocation scientifique ». Merci donc à monsieur Alpy, Roland Albignac, Carlos Bernstein, Emmanuel Desouhant, Marie-andrée Esnault, Muriel Ney-Nifle, Denis Poinsot.

Merci à tous ceux qui, amis ou connaissances, ont contribué à rendre mes quatre années de vie bourguignonne agréable : à Alain pour m'avoir réparé mon portable, à Benoît pour m'avoir fait découvrir le Cenovis<sup>®</sup>, à Ludo pour ses talents d'informaticiens, à Sandrine et Pierre pour notre voyage en Bretagne et pour leur aide dans ma pratique de la langue de Shakespeare, à Claire et Jeff pour les chocolats et pour le reste, à Yoann et Laure pour la via ferrata, à Luc pour m'avoir dit qu'il faut renoncer à son ego, à Lionel pour l'expérimentarium, à Suan le pour sa patience...

Merci à mes parents qui ont accepté avec dignité le fardeau de leurs deux thésards de fils. Si je ne vous ai pas dédié cette thèse, c'est uniquement parce qu'elle traite des parasites. Merci à mon frère et à sa petite famille et surtout bon courage : au bout du tunnel il y a toujours la lumière !

Merci enfin à Fabienne qui, après avoir supporté quatre ans de vie avec un thésard, a bien voulu prolonger l'expérience. Tu as été mon point d'ancrage durant tous mon travail et je ne peu t'exprimer ici toute l'étendue de ma reconnaissance.

# Table des Matières

## Introduction générale (Page 1)

<b>1) Présentation du mode de vie parasitaire</b>	<b>3</b>
1.1) Définition : qu'est-ce qu'un parasite ?	3
1.2) Spécificités liées au développement des parasites	4
<b>2) Historique : de la lutte contre les maladies à l'écologie parasitaire</b>	<b>5</b>
<b>3) Objectifs de la thèse</b>	<b>7</b>
3.1) Première partie « Approche individuelle, populationnelle et spatiale de la relation Merle noir – parasites »	7
3.2) Seconde partie « Parasites et sélection sexuelle : le rôle clef des caroténoïdes »	8

## Matériel et méthodes (Page 9)

<b>1) Les modèles aviaires : le Merle noir</b>	<b>10</b>
1.1) Présentation de l'espèce	10
1.2) Intérêt du modèle	11
1.3) Sites et méthodes d'études	12
1.3.1) Données locales	12
a) Sites d'études	12
b) Suivi de reproduction	13
c) Mesures biométriques et prélèvements	13
1.3.2) Données nationales	14
<b>2) Les modèles parasites</b>	<b>15</b>
2.1) Le modèle endoparasite : les Haemosporidae	15
2.1.1) Présentation	15
2.1.2) Méthodes d'étude	18
a) Identification des parasites	18
b) Quantification	20
b.1) Mise au point de la méthode	20
b.2) Répétabilité entre observateurs	20
2.2) Le modèle ectoparasite : les tiques	22
2.2.1) Présentation	22
2.2.2) Méthodes d'étude	24
a) Origine des données	24
a.1) Données locales	24
a.2) Données nationales	24
b) Répétabilité	25
b.1) Données locales	25
b.2) Données nationales	25

# **Première Partie : Approche individuelle, populationnelle et spatiale de la relation Merle noir - parasites**

**(Page 27)**

<b>INTRODUCTION</b>	<b>28</b>
<b>1) Pathogénicité des parasites : comment et pourquoi ?</b>	<b>29</b>
1.1) L'agressivité du parasite	29
1.1.1) Comment agissent les parasites ?	29
1.1.2) Pourquoi les parasites sont-ils virulents ?	30
1.2) La résistance des hôtes	31
1.2.1) Comment se défendent les hôtes ?	31
1.2.2) Pourquoi la défense de l'hôte est-elle imparfaite ?	32
<b>2) Pathogénicité des parasites au sein des systèmes naturels</b>	<b>34</b>
2.1) Effet des parasites au niveau individuel et variabilité des hôtes	34
2.2) Parasites et dynamique des populations hôtes	36
2.3) Prise en compte de la structuration spatiale des populations	38
<b>CHAPITRE I : Relation entre l'infestation parasitaire et la condition de l'hôte</b>	<b>39</b>
<b>1) Introduction</b>	<b>40</b>
<b>2) Parasites sanguins</b>	<b>41</b>
2.1) Matériel et méthodes	41
2.1.1) Présentation des données utilisées	41
2.1.2) Analyses statistiques	42
2.2) Résultats	43
<b>3) Tiques</b>	<b>45</b>
3.1) Matériel et méthodes	45
3.1.1) Présentation des données utilisées	45
a) Données locales	45
b) Données nationales	45
3.1.2) Analyses statistiques	45
3.2) Résultats	46
3.2.1) Cellules sanguines	46
3.2.2) Condition corporelle	47
a) Données locales	47
b) Données nationales	47
<b>4) Discussion</b>	<b>48</b>
4.1) La réponse immunitaire	48
4.2) La condition corporelle	49
4.3) Effet pathogène des parasites ?	49

<b>CHAPITRE II : Influence des Haemosporidae sur la dynamique des populations</b>	<b>51</b>
<b>1) Introduction</b>	<b>52</b>
<b>2) Etude de l'incidence des parasites sur la survie adulte</b>	<b>53</b>
2.1) Introduction	53
2.2) Origine des données	54
2.3) Réalisation des modèles multi-états	54
2.3.1) Présentation	54
2.3.2) Jeu de modèles	54
2.3.3) Choix des modèles	55
2.4) Résultats	55
2.5) Bilan	57
<b>3) Démographie d'une population de Merles soumise à deux parasites sanguins</b>	<b>58</b>
3.1) Introduction	58
3.2) Présentation des modèles	60
3.3) Dynamique des populations sans effets des parasites sur la survie	62
3.3.1) Paramétrage du modèle	62
3.3.2) Résultats	63
a) Simulations	63
b) Calcul des points d'équilibre	63
3.4) Dynamique des populations avec un effet des infections par <i>Haemoproteus</i> sur la survie	63
3.5) Bilan	66
<b>4) Discussion générale sur les modèles</b>	<b>67</b>
4.1) Limites de cette étude	67
4.2) Intérêt de la démarche	68
<b>CHAPITRE III : Structuration spatiale de la relation Merle noir - parasites : mise en évidence et facteurs explicatifs</b>	<b>70</b>
<b>1) Introduction</b>	<b>71</b>
<b>2) Variabilité inter-habitat des parasites sanguins</b>	<b>73</b>
2.1) Mise en évidence d'une variabilité	73
2.1.1) Matériel et méthodes	73
a) Obtention des données	73
b) Analyses statistiques	74
2.1.2) Résultats	74
2.2) Importance de la méthode de détection des parasites	77
2.2.1) Matériel et méthodes	77
a) Définition des types moléculaires de parasites	77
b) Extraction de l'ADN	77
c) Détermination des primers et conditions de réalisation des PCR	77

d) Définition des types génétiques	78
e) Analyses statistiques	80
2.2.2) Résultats	81
a) Comparaison des deux méthodes	81
b) Variabilité spatiale des prévalences avec chacune des méthodes	82
<b>3) Structuration spatiale des prévalences en tiques</b>	<b>83</b>
3.1) Matériel et méthodes	83
3.1.1) Obtention des données	83
3.1.2) Analyses statistiques	84
3.2) Résultats	84
3.2.1) Mise en évidence d'une structuration spatiale	84
3.2.2) Influence des facteurs abiotiques de l'environnement ?	87
<b>4) Discussion</b>	<b>89</b>
4.1) Parasites sanguins	89
4.2) Tiques	91

**Seconde Partie : Parasites et sélection sexuelle :**  
**Le rôle clef des caroténoïdes**  
**(Page 95)**

<b>INTRODUCTION</b>	<b>96</b>
<b>1) Présentation des mécanismes de la sélection sexuelle</b>	<b>97</b>
<b>2) Les parasites comme facteur explicatif</b>	<b>98</b>
<b>3) Rôle des caroténoïdes dans les processus de sélection sexuelle liés aux parasites</b>	<b>99</b>
<b>CHAPITRE IV : Caroténoïdes, immunocompétence, radicaux libres et parasites</b>	<b>102</b>
<b>1) Introduction</b>	<b>103</b>
<b>2) Matériel et méthodes</b>	<b>104</b>
2.1) Protocole expérimental	104
2.2) Mesure de la couleur du bec	105
2.3) Dosage des caroténoïdes circulants	105
2.4) Test de la réponse cellulaire	106
2.5) Mesure du statut antioxydant	106
<b>3) Résultats</b>	<b>107</b>
3.1) Caroténoïdes, couleur du bec et réponse à un challenge immunitaire	107
3.2) Mécanisme d'action des caroténoïdes	108
3.3) Immunocompétence et résistance parasitaire	109
<b>4) Discussion</b>	<b>110</b>

---

<b>CHAPITRE V : Influence du contexte social sur l'allocation des caroténoïdes</b>	<b>113</b>
<b>1) Introduction</b>	<b>114</b>
<b>2) Méthodes</b>	<b>115</b>
2.1) Déroulement de l'expérience	115
2.2) Analyse de la couleur du bec	116
2.3) Analyse des caroténoïdes circulants	116
<b>3) Résultats</b>	<b>117</b>
<b>4) Discussion</b>	<b>120</b>

---

### **Discussion et conclusion (Page 122)**

<b>1) Synthèse des principaux résultats</b>	<b>123</b>
<b>2) Perspectives</b>	<b>125</b>
2.1) Comment les Haemosporidae agissent-ils sur leurs hôtes ?	125
2.2) Urbanisation, parasites et santé publique	126
2.3) Rôle des caroténoïdes dans les processus de sélection sexuelle	127

### **Références bibliographiques (Page 129)**

### **Annexes (Page 144)**

<b>Annexe 1 : Réalisation et analyse de frottis sanguins aviaires</b>	<b>145</b>
<b>Annexe 2 : Avian malaria, hematological parameters and body condition in the European blackbird <i>Turdus merula</i></b>	<b>147</b>
<b>Annexe 3 : Social context modulates the trade-off between immune activation and a carotenoid-based sexual signal</b>	<b>163</b>

---

# Introduction générale

L'origine de la vie terrestre remontrait à quatre milliards d'années dans le milieu liquide. Si la conquête du milieu terrestre a été très longue, il est en revanche probable que dès le tout début, des êtres vivants ont été capables de se développer au sein d'un autre milieu nouvellement crée : les êtres vivants eux-mêmes (Combes, 1995). Le mode de vie parasitaire venait ainsi d'apparaître. Son « succès » n'allait jamais se démentir. On estime aujourd'hui que la moitié des organismes vivants sont des parasites (Price, 1980). Le parasitisme est donc omniprésent dans le monde vivant et c'est l'individu non parasité qui est l'exception. Ainsi, le maintien d'individus exempts de pathogènes nécessite un effort considérable (Euzet, 1989). Cette omniprésence des parasites justifie à elle seule l'étude de leurs effets sur les systèmes naturels.

Cependant, les parasites ont longtemps été sous étudiés en écologie et en évolution. Ceci provient essentiellement de leur discrétion, comme l'indique astucieusement Combes dans l'avant-propos de son livre "Interactions durables" (1995) : « On ne verra aucun dessin de parasite dans ce livre, pas plus qu'on ne voit les parasites dans le monde vivant ». Aujourd'hui, l'écologie parasitaire est une discipline en plein développement, notamment en raison de la prise en considération, par les écologues, du rôle potentiel des parasites dans les processus de régulation des populations hôtes, et de leur impact sur l'équilibre et le fonctionnement des écosystèmes.

Après une présentation du mode de vie des parasites, nous réaliserons un bref historique avant de présenter les objectifs de cette thèse.

# 1) Présentation du mode de vie parasitaire

## 1.1) Définition : qu'est-ce qu'un parasite ?

La diversité des parasites est immense et il existe ainsi de nombreuses définitions plus ou moins spécialisées en fonction du domaine d'étude. D'une manière générale, le parasitisme n'est que l'une des formes d'association possible entre deux organismes (Combes, 1995). En effet, comme la symbiose ou le commensalisme, le parasitisme est une relation hétérosécifique qui implique des interactions étroites et durables entre les partenaires de l'association (Figure 1).

Dans ce contexte, les parasites peuvent être définis comme des organismes présents durant un temps significatif dans ou sur un autre organisme vivant - l'hôte - dont ils obtiennent tout ou partie des nutriments qui leur sont nécessaires et auquel ils ont le potentiel de nuire. Le tort infligé peut se situer au niveau de l'individu et à celui de la population (Combes, 1995). Enfin, le parasite se distingue des parasitoïdes par le fait qu'il ne tue pas systématiquement son hôte.

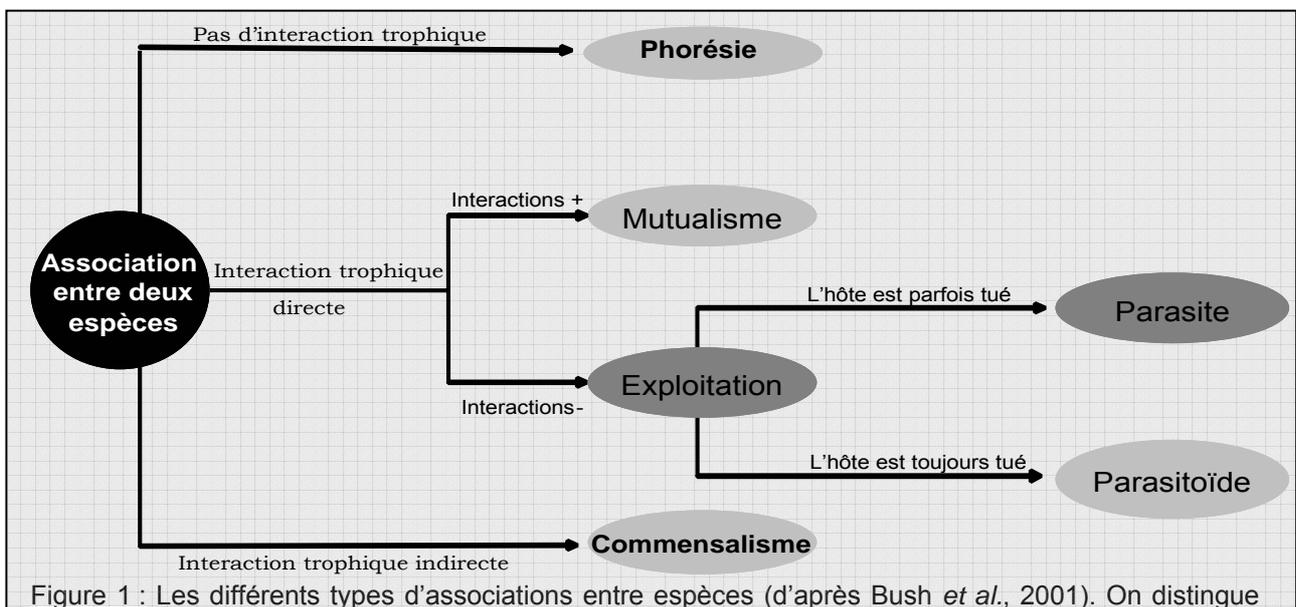


Figure 1 : Les différents types d'associations entre espèces (d'après Bush *et al.*, 2001). On distingue les associations sans échange trophique (phorésie) ou à échange trophique indirect (commensalisme) des relations à échange trophique direct. Parmi ces dernières, la situation où les deux partenaires tirent un bénéfice correspond à une situation dite de mutualisme alors que celle où l'un des deux partenaires « exploite » l'autre correspond à une situation dite d'exploitation.

Ces situations d'exploitation sont des situations où un organisme se développe sur ou dans un autre organisme -son hôte- et en tire sa subsistance. Si le résultat direct ou indirect de ce développement est la mort de l'hôte, alors on parle de parasitoïde (Eggleton & Gaston, 1990), sinon on parle de parasite.

Les parasites sont en général divisés en deux grandes catégories selon leur taille (Anderson & May, 1979 ; May & Anderson, 1979 ; Bush *et al.*, 2001) : les **microparasites** (virus, bactéries et protozoaires) et les **macroparasites** (helminthes et arthropodes). Un autre critère de classification des parasites, indépendant du premier, est basé sur leur localisation au sein de leur hôte (Bush *et al.*, 2001). On distingue ainsi les **ectoparasites** qui sont confinés à l'extérieur du corps de leur hôte (téguments, phanères), les **mésoparasites** qui occupent les cavités reliées à l'extérieur (cavité pulmonaire, système digestif) et les **endoparasites** qui se développent dans le milieu intérieur (appareil circulatoire, milieu intercellulaire, cellules).

## **1.2) Spécificités liées au développement des parasites**

Le développement des parasites s'effectue sur le milieu vivant qui est un compartiment de la biosphère au même titre que le sont les milieux aquatiques et terrestres (Euzet, 1989). Ce compartiment possède des caractéristiques particulières qui vont faciliter ou contraindre le développement des parasites (Encart 1, page 5). Ces « avantages » et « inconvénients » de la vie parasitaire façonnent le mode de vie, le cycle, la structure et la physiologie des parasites (Cassier *et al.*, 1998). Ainsi de nombreuses espèces présentent une régression voire une disparition des structures et fonctions assurées par l'hôte (tube digestif, organes photosensibles...) au profit de celles propres à leur mode de vie (systèmes de fixation, hypertrophie des organes reproducteurs...). Cette simplification atteint son paroxysme chez certains virus qui ne possèdent que la structure minimale nécessaire à leur reproduction et sont à ce titre, qualifiés de parasites ultimes (Garnett & Antia, 1994 *in* Fromont, 1997).

## Encart 1 : Avantages et contraintes de la vie parasitaire

### Avantages

- **stabilité de l'habitat** en particulier pour les endoparasites et les mésoparasites. En effet, les organismes vivants maintiennent une certaine constance du milieu intérieur (acidité, pH, température...). Par exemple, les endoparasites d'animaux homéothermes bénéficient d'une température quasi constante, quelles que soient les variations de température de l'environnement extérieur.
- **nutriments** obtenus de leur hôte soit en récupérant une partie de la nourriture ingérée par l'hôte, soit en se nourrissant directement des tissus ou des liquides internes.
- **protection** contre les prédateurs. Ce dernier point est cependant à nuancer car le parasite est à la merci des prédateurs de son hôte.

### Contraintes

- discontinuité du milieu vivant : en effet le milieu vivant est fini aussi bien spatialement que temporellement constituant des "**patches**" temporaires (Dobson & Keymer, 1990). L'espèce parasite doit, pour perdurer, s'affranchir de cette discontinuité en infectant de nouveaux hôtes, et en s'adaptant à un passage plus ou moins long dans le milieu extérieur. Cette difficulté a conduit à la mise en place par un grand nombre de parasites de cycles qui peuvent être très complexes (Combes, 1995).
- **systèmes de défense de l'hôte**. En retour, les parasites ont développé des stratégies élaborées d'évitement souvent complexes et qui diffèrent fortement selon les taxa. On parle ainsi d'évitement de l'immunité (Combes, 1995). La mise en place de ces mécanismes d'évitement implique un coût supplémentaire pour les parasites.

## 2) Historique : de la lutte contre les maladies à l'écologie parasitaire

L'étude des parasites est née de leurs manifestations observables que sont les maladies. Si les macroparasites visibles (poux...) ont rapidement été identifiés, la grande majorité est longtemps demeurée une *terra incognita*. Cette ignorance a conduit à attribuer les maladies parasitaires à des démons ou à des émanations empoisonnées (les miasmes). Il faut attendre la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle pour que Davaine montre que la maladie du charbon est dû à un microbe (*Bacillus anthracis*), ouvrant ainsi la voie aux recherches de Pasteur qui met en évidence l'existence «d'animalcules» pathogènes vivant dans l'air ou dans l'eau (Balceroviak, 2003).

Il s'en suit un développement très important de l'étude des parasites. Les travaux sont alors soit des inventaires (point de vue naturaliste) (Cheng, 1991) soit des approches visant à résoudre des problèmes sanitaires (point de vue épidémiologique, médical et vétérinaire) (Cassier *et al.*, 1998). Ces approches vont

conduire à développer fortement les connaissances et les méthodes de lutte contre les parasites (vaccination, antibiothérapie...). Au début des années 70, certains pensent que l'on est débarrassé de ces « vermines » mais l'euphorie va être de courte durée. En effet, ces approches, malgré leur intérêt, souffrent du manque de prise en compte du fonctionnement écologique et évolutif des systèmes hôtes-parasites. En 1981, une maladie infectieuse jusque-là exceptionnelle se répand aux USA : la pneumocystose à *Pneumocystis carinii* et c'est là le premier signe de l'épidémie du SIDA (Centers for disease control and prevention, 1982). Cette épidémie va être le symbole le plus marquant de l'émergence des nouvelles maladies transmissibles, mais aussi de la réémergence de maladies anciennes.

A la même époque, en parallèle, un cadre théorique complet se développe, montrant l'impact potentiel des parasites sur les processus évolutifs de sélection naturelle et sexuelle comme sur le fonctionnement écologique des populations hôtes (Anderson & May, 1979 ; Dawkins & Krebs, 1979 ; May & Anderson, 1979 ; Hamilton & Zuk, 1982).

Les travaux se multiplient alors faisant de l'étude des relations hôtes-parasites l'un des champs les plus dynamiques de l'écologie et de la biologie évolutive (Sheldon & Verhulst, 1996 ; Clayton & Moore, 1997). Ces travaux ont rapidement rejoint les préoccupations médicales et vétérinaires et se sont enrichis les uns les autres au point que les frontières sont aujourd'hui difficiles à établir (Fromont, 1997). Ce rapprochement a littéralement fait exploser les connaissances en mettant en évidence le rôle de la dynamique, la génétique, la structure spatiale et sociale des hôtes, les caractéristiques de transmission, de multiplication et de virulence\* parasitaire.

\* Virulence et pathogénicité font tous deux référence à la diminution de fitness de l'hôte induite par le parasite. On considère parfois la **pathogénicité** comme l'expression par l'hôte de dysfonctionnements et la **virulence** comme la part liée uniquement à l'action du parasite. Sous cette définition, la pathogénicité résulte donc de la virulence parasitaire mais aussi d'autres facteurs et notamment de la mise en place de systèmes de défense par l'hôte. Bien souvent, cette distinction est complexe à réaliser. De plus, d'autres définitions sont possibles et la distinction entre ces termes reste souvent confuse (Toft & Karter, 1990 ; Bull, 1994 ; Thomas & Elkinton, 2004). Dans la suite de ce travail, ces deux termes seront donc largement équivalents.

L'importance de la prise en compte des aspects évolutifs et écologiques dans l'étude des systèmes hôtes-parasites est aujourd'hui reconnue jusque dans l'opinion publique notamment à cause du rôle primordial des activités humaines sur l'émergence de nombreuses maladies (virus *Ebola* transmis à l'homme lors de contacts avec des singes, grippe aviaire en Asie liée à l'élevage intensif...). Cependant, la compréhension précise de l'impact des parasites sur les populations hôtes est loin d'être achevée. Dans ce contexte scientifique, les objectifs de cette thèse se structurent autour des aspects écologiques et évolutifs de l'incidence des parasites sur leur hôte.

### **3) Les objectifs de la thèse**

#### **3.1) Première partie « Approche individuelle, populationnelle et spatiale de la relation Merle noir – parasites »**

L'objectif est ici d'aborder le fonctionnement des systèmes naturels, et donc l'impact des parasites au sein des populations. Cependant avant d'envisager l'incidence des parasites sur la démographie de la population de l'hôte, nous nous sommes intéressés à l'impact des parasites au niveau de l'individu. En effet, la prise en compte de ces deux niveaux nous paraît importante pour appréhender de manière plus complète l'action des parasites au sein des populations naturelles (John, 1997 ; Hatchwell *et al.*, 2001). Notre premier objectif a donc été de vérifier l'existence d'une relation entre les parasites et une altération de certains traits biologiques de leur hôte (Chapitre 1).

Les effets des parasites sur la dynamique des populations hôtes ne sont cependant pas déductibles de la somme des effets pathogènes mis en évidence au niveau individuel. Il est donc nécessaire de vérifier si la présence de parasites est liée à des modifications de la survie et de la reproduction (Chapitre 2). Cette estimation est souvent complexe en milieu naturel et nous avons donc utilisé des méthodes indirectes pour tenter de mieux les appréhender. Nous avons, de plus,

utilisé une démarche originale basée sur l'utilisation de modèles de capture-marquage-recapture multi-états pour approfondir ce travail.

Enfin, on peut penser qu'il existe des contraintes sélectives différentes entre des habitats contrastés et que celles-ci peuvent modifier l'ensemble de la relation hôte-parasite. En utilisant des données issues d'habitats variés, nous avons exploré la variabilité des prévalences et intensités parasitaires (Chapitre 3). Nous avons également tenté d'identifier les causes de ces variations spatiales pour mieux comprendre le fonctionnement des populations au sein de la mosaïque paysagère.

### **3.2) Seconde partie « Parasites et sélection sexuelle : le rôle clef des caroténoïdes »**

Les caroténoïdes sont des molécules qui peuvent être allouées au système immunitaire, à différentes fonctions de maintenance des individus et à leur pigmentation. De nombreux travaux récents soulignent un compromis d'allocation des caroténoïdes entre la pigmentation et la qualité des défenses immunitaires de l'hôte.

Cependant, les résultats actuels proviennent essentiellement de travaux où les attaques parasitaires sont mimées expérimentalement sans confrontation réelle avec des parasites. Nous avons exploré si, au-delà de leur effet immunostimulant, les caroténoïdes pourraient permettre à un hôte de lutter plus efficacement contre des parasites avérés chez le Merle noir (Chapitre 4).

Par ailleurs, nous avons cherché à mettre en évidence le rôle de facteurs extrinsèques comme le contexte social sur ce compromis. Nous avons ainsi testé l'influence de la présence de femelles sur les changements d'un caractère coloré soumis à sélection sexuelle chez des mâles de Diamants mandarins (*Taeniopygia guttata*) dont le système immunitaire est activé (Chapitre 5).

# Matériel et méthodes

# **1) Le modèle aviaire : le Merle noir**

L'essentiel de nos travaux concerne le Merle noir (*Turdus merula*), qui constitue notre modèle aviaire de base. Nous avons cependant utilisé ponctuellement un autre modèle pour des raisons pratiques (le Diamant mandarin *Taeniopygia guttata*). Cette espèce qui est maintenant devenue un sujet classique d'expérimentation en biologie évolutive ne sera pas présentée dans ce matériel et méthodes général (voir Chapitre 5).

## **1.1) Présentation de l'espèce**

Le Merle noir appartient à la famille des Turdidés (Ordre des Passériformes). Sa distribution géographique est essentiellement européenne avec des prolongements vers le Proche Orient et l'Afrique du nord (Figure 2). L'espèce est aussi présente en Nouvelle-Zélande et en Australie suite à l'importation d'individus (Isenmann, 2000). Il existe enfin des sous-espèces voisines en Asie du sud ouest et en Inde (Isenmann, 2000). En France, le Merle noir figure parmi les dix espèces d'oiseaux les plus abondants et répandus.

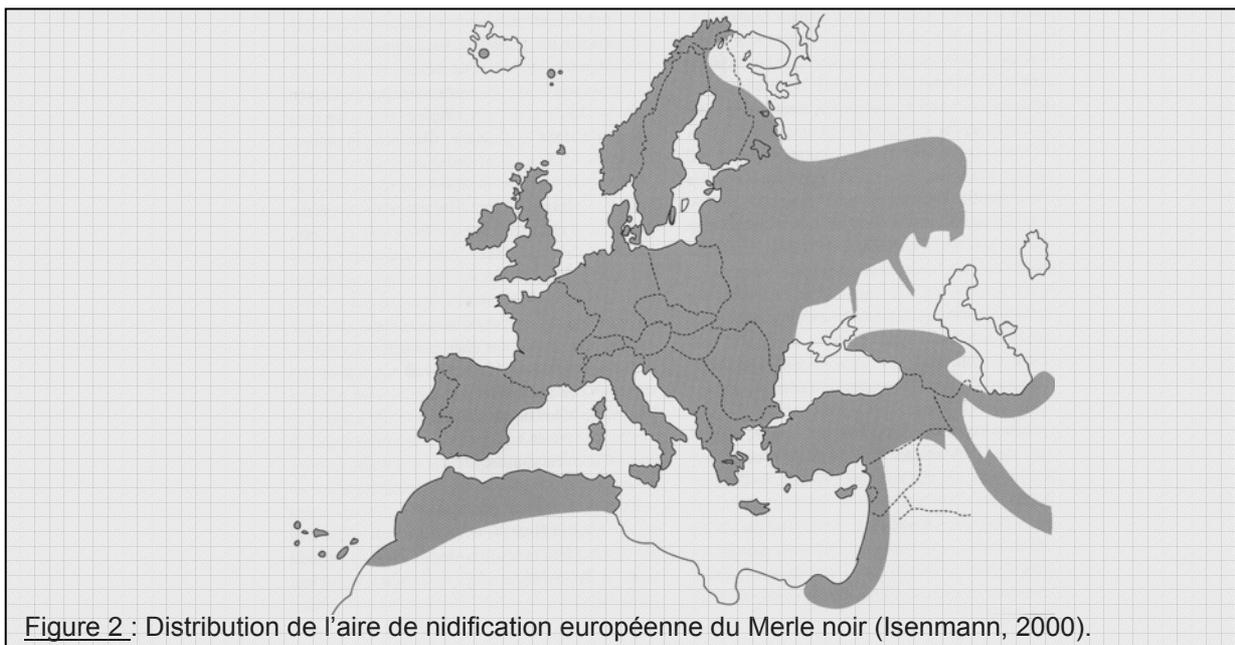


Figure 2 : Distribution de l'aire de nidification européenne du Merle noir (Isenmann, 2000).

A l'origine strictement inféodé au milieu forestier, il a progressivement colonisé les villes européennes au cours du XIX<sup>ème</sup> et au début du XX<sup>ème</sup> siècle (Luniak *et al.*, 1990). Aujourd'hui l'habitat du Merle est très diversifié, incluant une gamme variée d'habitats forestiers et pseudoforestiers jusqu'aux habitats urbains fortement anthropisés.

Il s'agit d'une espèce socialement monogame. Cependant, au niveau génétique, des paternités hors couple ont été mises en évidence (Creighton, 2000) de même que des cas de parasitisme de ponte (Wattier, *com. pers.*). Les mâles déterminent des territoires durant l'hiver et les couples se forment au début du printemps. La ponte est en général de trois ou quatre œufs qui éclosent après treize jours d'incubation. Les soins aux jeunes sont biparentaux. Les jeunes restent au nid deux semaines mais continuent d'être nourris environ trois semaines après l'envol.

## **1.2) Intérêt du modèle**

Le Merle est un modèle biologique qui présente plusieurs avantages pratiques. L'espèce étant très abondante, elle offre *a priori* de bonnes opportunités pour constituer des échantillons assez importants. De plus, il est en général possible de reconnaître visuellement le sexe et la catégorie d'âge des individus (Tableau 1). Ainsi, on peut distinguer les juvéniles sortis du nid avant la première mue, les individus de première année « yearling » mâle et femelle et les individus de deux ans et plus mâle et femelle. Cependant, la distinction entre yearlings et adultes est peu évidente en pratique pour certaines femelles, conduisant à une catégorie « indéterminée » qui regroupe des yearlings et des adultes.

	Rémiges	Plumage	Bec	Anneau orbital
<b>Juvéniles</b>	Brun	Brun moucheté de parties plus claires	Brun	Brun
<b>Mâles Yearling (1 an)</b>	Brun	Noir	Brun à jaune orangé	Brun à jaune orangé
<b>Femelles Yearling (1 an)</b>	Brun	Brun roux	Brun	Brun
<b>Mâles adultes (&gt;1 an)</b>	Noir	Noir brillant	Jaune orangé	Jaune orangé
<b>Femelles adultes (&gt;1 an)</b>	Brun roux	Brun roux	Brun à jaune orangé	Brun à jaune orangé

Au-delà de ces aspects pratiques, cette espèce constitue un modèle intéressant pour l'étude des relations hôtes-parasites puisque le Merle est connu pour être l'hôte de nombreux parasites : c'est d'ailleurs un oiseau fréquemment infecté par les tiques (Humair *et al.*, 1993, 1998). De plus, en Angleterre, de très forts taux de parasites sanguins haematozoaires ont été mis en évidence (Hatchwell *et al.*, 2000, 2001). De plus, son caractère ubiquiste permet d'explorer l'interaction avec ces parasites dans différents types d'habitats. Enfin, les mâles présentent un bec dont la coloration caroténoïde-dépendante varie du jaune à l'orange. Celle-ci paraît liée d'une part à certaines performances démographiques et d'autre part à l'activation du système immunitaire (Préault, 2003). Cela offre de bonnes opportunités pour aborder le lien entre caroténoïdes, sélection sexuelle et parasites (partie 2).

## **1.3) Sites et méthodes d'études**

### **1.3.1) Données locales**

#### **a) Sites d'études**

Les données présentées au cours de ce travail proviennent de deux catégories d'habitat :

- l'habitat urbain correspond à des parcs arborés répartis sur deux sites géographiques : Dijon (21) et Villeurbanne (69). Au sein de la ville de Dijon, le site du jardin de l'Arquebuse (5,5 ha) a fait l'objet d'une attention soutenue mais d'autres sites ont été utilisés plus ponctuellement (le campus universitaire (40 ha), le cimetière des Péjoces (8 ha) et la Coulée Verte (3,6 ha)).

- l'habitat forestier est représenté par des milieux de plaine présentant de grandes surfaces boisées continues (Forêt des Crochères située entre Auxonne (21) et Dole (39) et la fondation Pierre Vérots, située à Saint-Jean-de-Thurigneux (01)). La forêt des Crochères a également fourni deux sites distincts situés de part et d'autre du massif forestier.

## **b) Suivi de reproduction**

Sur le site de l'Arquebuse un suivi de reproduction a été réalisé de 1997 à 2003. Les couples ont été repérés par des observations régulières. Les nids étaient localisés grâce à un suivi régulier des activités de construction des femelles (transport de matériaux) et à une recherche systématique par inspection des sites de nidification potentiels.

A l'issue de chaque saison de reproduction, ce suivi a notamment conduit à déterminer pour les couples suivis :

- le nombre total d'œufs pondus par saison.
- le nombre de juvéniles à l'envol par saison.

Ces paramètres présentent des variations interannuelles importantes (liées par exemple aux conditions météorologiques). Pour s'affranchir de cette variation lors des analyses statistiques, les données ont été standardisées à une moyenne de 0 et une déviation standard de 1 pour chaque année (Favre *et al.*, 2001).

## **c) Mesures biométriques et prélèvements**

Les captures sont effectuées grâce à un filet maillant. Pour chaque individu, le sexe et l'âge sont déterminés (voir Tableau 1 ; page 11).

Chaque oiseau est bague avec une bague métallique délivrée par le Centre de Recherche sur la Biologie des Populations d'Oiseaux (CRBPO) et portant un code alphanumérique unique. Pour les individus de l'Arquebuse s'ajoute une combinaison individuelle de bagues plastiques colorées permettant ainsi une identification à distance dans le cadre du suivi de reproduction.

Pour chacun des individus, nous avons mesuré la longueur des tarses ( $\pm 0,02$  mm) et des ailes ( $\pm 0,5$  mm). De plus, la masse a été déterminée à l'aide d'une balance électronique ( $\pm 0,1$  g).

Un prélèvement sanguin (0,3 mL en moyenne) est pratiqué au niveau de la veine brachiale en utilisant des aiguilles stériles et des microcapillaires pré-héparinés (Campbell, 1995). Le sang ainsi obtenu est centrifugé de manière à séparer plasma et culot, qui sont conservés à -20 ou -70°C. 60 µL de sang sont également placés dans un tampon de lyse (Queen's lysis buffer ; Seutin *et al.*, 1991) pour réaliser des analyses génétiques (Chapitre 3). Enfin, une goutte de sang sert à la réalisation d'un frottis sanguin (Annexe 3). L'observation microscopique du frottis ( $\times 1000$ ) permettra de réaliser des numérations sanguines (lymphocytes, éosinophiles, hétérophiles ; Campbell & Dein, 1984) et de détecter les parasites sanguins.

### **1.3.2) Données nationales**

En plus de ces données régionales, nous avons pu obtenir des données à l'échelle nationale. Elles sont issues du programme de suivi temporel des oiseaux communs (STOC), géré par le CRBPO (Centre de Recherche sur la Biologie des Populations d'Oiseaux). Ce programme impose deux sessions de capture printanière par an pour une série de sites distribués sur l'ensemble du territoire national (voir <http://www.mnhn.fr/mnhn/crbpo/stocprot.htm>). Chaque oiseau capturé est sexé et son âge est déterminé. Les individus sont bagués et la longueur de l'aile droite et la masse sont mesurées.

## **2) Les modèles parasites**

### **2.1) Le modèle endoparasite : les Haemosporidae**

#### **2.1.1) Présentation**

Les Haemosporidae sont des protozoaires parasites appartenant au phylum Apicomplexa (Atkinson & Van Riper III, 1991). Ce sont des parasites qui possèdent un large spectre d'hôtes (reptiles, oiseaux et mammifères). Ils présentent un cycle de développement où alternent les phases sexuées et asexuées réalisées dans des cellules des tissus et du sang de leur hôte (Valkiūnas, 2005).

Chez les oiseaux, on rencontre trois genres parmi ces parasites (*Plasmodium*, *Haemoproteus* et *Leucocytozoon*). Environ 68 % des espèces d'oiseaux examinés présentent au moins l'un de ces genres (Atkinson & Van Riper III, 1991). Le genre le plus fréquent est *Haemoproteus* (67 % des espèces infectés) puis vient *Plasmodium* (41,5 % des espèces infectés) et enfin *Leucocytozoon* (39 % des espèces infectés) (Atkinson & Van Riper III, 1991). Ces trois genres d'Haemosporidae sont distribués sur l'ensemble du globe à l'exception de l'Antarctique (Valkiūnas, 2005).

En général, la plupart des espèces de *Plasmodium* peuvent se transmettre à des oiseaux appartenant à différents ordres. En revanche, les espèces d'*Haemoproteus* et de *Leucocytozoon* sont plus spécifiques et se transmettent rarement entre oiseaux d'ordre différent (Valkiūnas, 2005).

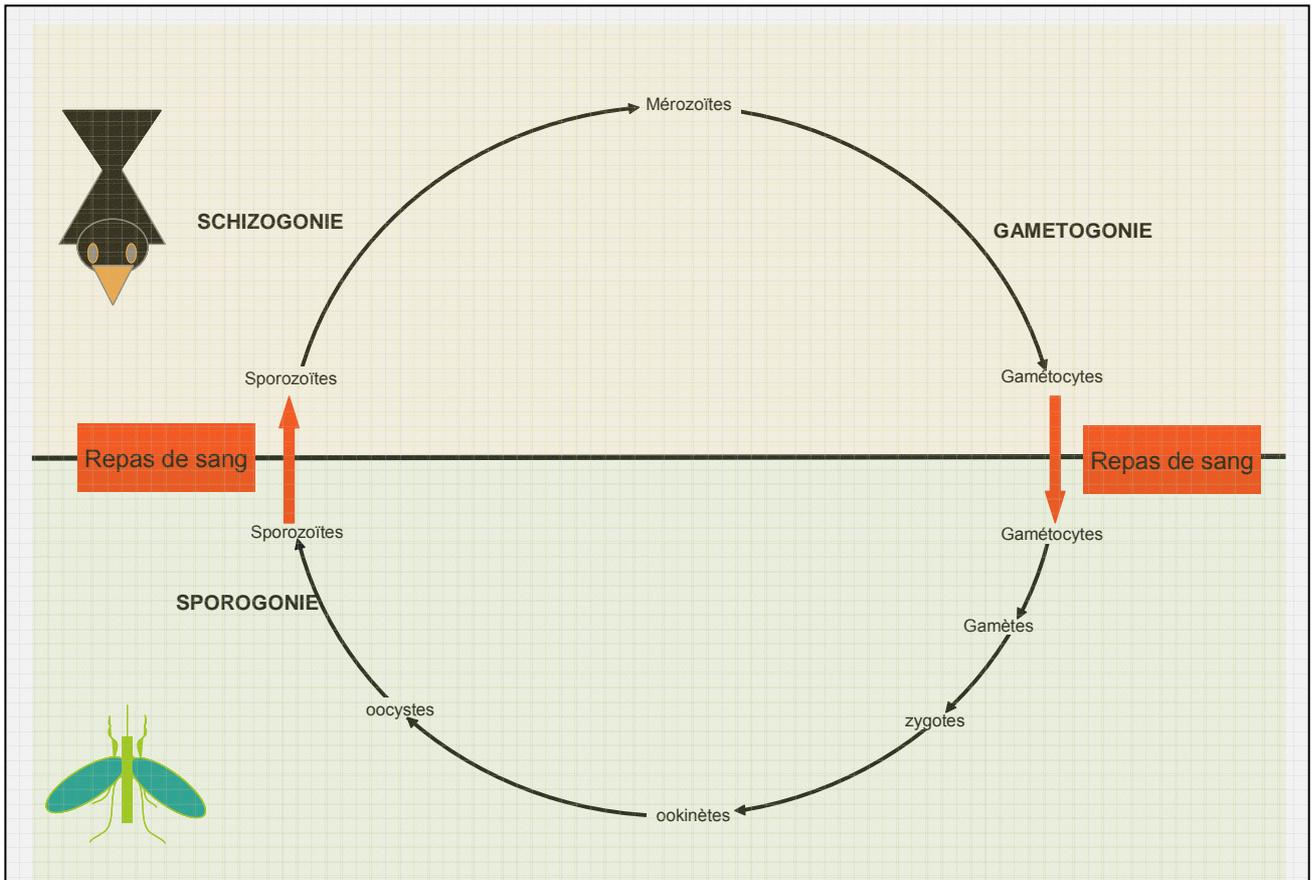
Ces parasites ont toujours besoin d'un hôte intermédiaire hématophage (vecteur), qui absorbe le parasite lors d'un repas sanguin et l'injecte à son hôte définitif lors d'une piqûre ultérieure. Les vecteurs diptères sont relativement mal connus pour la grande majorité des espèces de parasites.

On peut cependant distinguer des familles et des genres de vecteurs en fonction des parasites (Valkiūnas, 2005) :

- *Plasmodium* est transmis par des *Culicidae* (essentiellement des genres *Culex*, *Culiseta*, *Aedes*, *Anopheles* et *Mansonia*).
- *Haemoproteus* est transmis par des *Ceratopogonidae* et des *Hippoboscidae*.
- *Leucocytozoon* est transmis par des *Simulidae*.

Le cycle parasitaire est complexe (Figure 3, page 17). A chaque étape, le parasite est exposé aux moyens de défense de l'hôte. Cependant, une bonne partie du cycle est complétée à l'intérieur des cellules de l'hôte, ce qui limite l'exposition aux défenses immunitaires de celui-ci. De plus, il existe différents stades où il y a multiplication asexuée du parasite, ce qui permet d'augmenter ses chances de survie. Enfin, il semble que la rupture des érythrocytes qui libère les mérozoïtes dans le sang soit fréquemment synchronisée, ce qui conduit à la libération d'un nombre important de parasites et donc « submerge » le système immunitaire de l'hôte (Valkiūnas, 2005). Chez l'homme, ce sont ces ruptures synchrones et cycliques des érythrocytes qui entraînent les « crises de paludisme » (Malaguarnera & Musumeci, 2002). Ce mécanisme est cependant beaucoup moins connu chez les oiseaux (Atkinson & Van Riper III, 1991).

Les Haematozoaires sont un modèle parasitaire intéressant car ils sont facilement détectables par l'analyse des frottis sanguins qui représente une méthode de détection peu coûteuse et qui ne nécessite pas de sacrifier l'hôte. Ces parasites ont fait l'objet de nombreux travaux en écologie et en évolution. On sait qu'ils peuvent être hautement pathogènes dans certaines situations (voir par exemple Valkiūnas, 2005).



**Figure 3 :** Cycle de vie schématique d'un Haemosporidae. Un hôte est infecté par des sporozoïtes inoculés par un diptère hématophage lors du repas de sang. Les sporozoïtes gagnent les tissus de l'hôte, grossissent et réalisent une phase de reproduction asexuée appelée schizogonie qui produit des mérozoïtes. Les mérozoïtes peuvent s'installer dans d'autres tissus et réaliser une ou plusieurs schizogonies. Chez *Plasmodium*, les mérozoïtes qui gagnent les érythrocytes vont également réaliser une ou plusieurs schizogonies dans les globules rouges. Les mérozoïtes se développent en gamétocytes dans les globules rouges (gamétoγονie). Ces gamétocytes seront ingérés avec les globules rouges par un autre diptère hématophage lors de son repas de sang. La fertilisation entre gamétocytes a lieu dans l'intestin du moustique. Après formation des zygotes, ceux-ci se transforment en des formes allongées et invasives, les ookinètes, qui pénètrent l'épithélium intestinal et s'arrondissent en oocystes sous la lame basale. Une reproduction asexuée (la sporogonie) conduit à la formation d'un très grand nombre de sporozoïtes. La rupture de l'oocyste mature libère ces sporozoïtes qui vont migrer vers les glandes salivaires. Ce sont ces sporozoïtes qui infecteront le prochain hôte lorsque l'insecte injectera les anticoagulants produits par les glandes salivaires au cours de son prochain repas (d'après Atkinson & Van Riper III, 1991).

## **2.1.2) Méthodes d'étude**

La méthode d'étude classique consiste à analyser visuellement des frottis sanguins (voir Annexe 1 pour une description détaillée de la réalisation des frottis sanguins). L'observation d'un frottis nous permet de déterminer la présence ou non de parasites (**prévalence**) et de déterminer le nombre de cellules parasitées (**intensité**).

### **a) Identification des parasites**

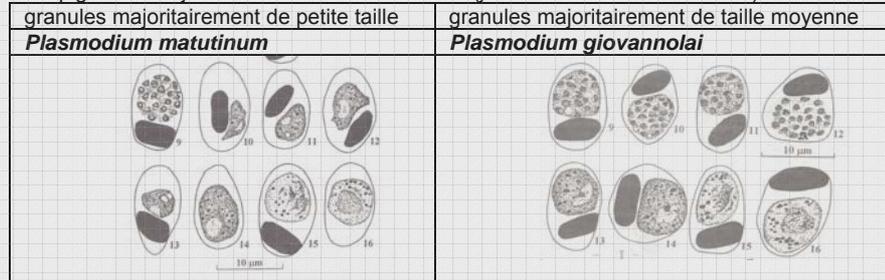
La taxonomie repose surtout sur la morphologie des différents stades du parasite. Pour distinguer les différents genres de parasites présents dans notre étude, nous avons utilisé la clef de détermination de Valkiūnas (2005\*) que nous avons simplifiée par rapport aux espèces de parasites rencontrés dans notre étude (Figure 4, page 19). En complément des critères décrits par Valkiūnas (2005), nous avons utilisé des informations issues de l'International Reference Center of Avian Haematozoa (Bennett & Peirce, 1988 ; Bennett *et al.*, 1993a ; 1994). Nous avons également pu confirmer nos identifications grâce à la collaboration de M.J. Wood, formé indépendamment à la détermination visuelle de parasites chez le Merle noir. De plus, nous avons, au cours de ce travail, développé des outils d'identification moléculaire qui nous ont permis de confirmer la bonne identification visuelle des genres parasites (voir Chapitre 3 pour une présentation détaillée).

\* Les descriptions utilisées proviennent du travail de thèse de Valkiūnas de 1997 (Valkiūnas, G. 1997. Bird Haemosporida. Acta Zool. Lituanica 3-5. Institute of Ecology, Vilnius) Ce travail essentiellement écrit en russe a été traduit en anglais et a donné lieu à un livre en 2005. Les parties de la thèse que nous utilisons jusqu'à récemment étant rigoureusement les mêmes dans cet ouvrage, nous avons choisi de citer systématiquement cette référence. plus facilement accessible.

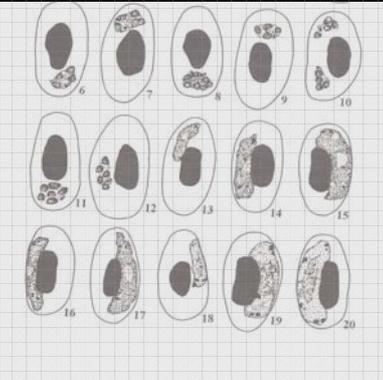
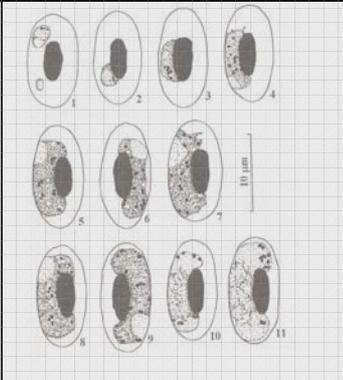
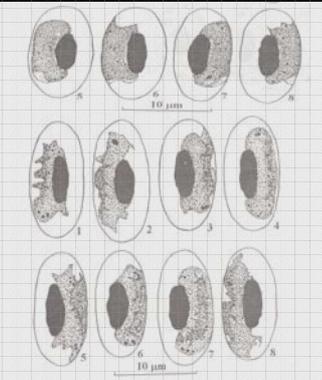
**Gamétocyte mature rond** → ***Plasmodium***  
**schizonte rond : sous genre *Haemamoeba***

- Le gamétocyte peut être de forme ovale mais ne dépasse jamais la longueur d'un érythrocyte (10µm)
- Schizonte présentant au moins une vacuole sans accumulation pigmentaire à son pourtour
- granules de pigments toujours de forme ronde ou ovale (jamais en forme de bâtonnet)

Forme du  
Gamétocyte  
mature



**Gamétocyte mature allongé** → ***Plasmodium* ou *Haemoproteus***  
**Le gamétocyte mature ne s'étend pas jusqu'au pôle de la cellule**

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Granules pigmentaires de forme irrégulière, sombres et réfringents</li> <li>• Forme souvent asymétrique mais pas de forme amiboïde</li> <li>• Macrogamétocyte plus sombre que <i>Haemoproteus</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 13 Granules pigmentaires de forme régulière et de taille moyenne</li> <li>• Gamétocyte de forme régulière (saucisse)</li> <li>• 10% des macrogamétocytes dont la partie centrale n'est pas collée à la paroi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• En général moins de 7 granules pigmentaires de couleur dorée et de petite taille mais présentant une tendance agrégative</li> <li>• Tous les macrogamétocytes ont la partie centrale collée à la paroi</li> </ul>
<b><i>Plasmodium</i> sous genre <i>Novyella</i></b>	<b><i>Haemoproteus</i></b>	<b><i>Haemoproteus</i></b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5 à 6 schizontes dans le shizonte</li> <li>• Présence de schizontes sans contact avec le noyau</li> <li>• Schizonte plus petit que le noyau avec peu de cytoplasme</li> </ul>		
<b><i>Plasmodium vaughani</i> (synonyme <i>Plasmodium tenuis</i>)</b>	<b><i>Haemoproteus fallisi</i></b>	<b><i>Haemoproteus minutus</i></b>
		

Il y a un problème si:

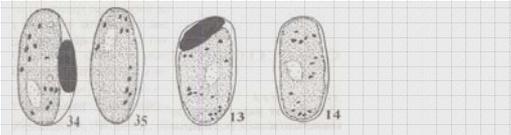
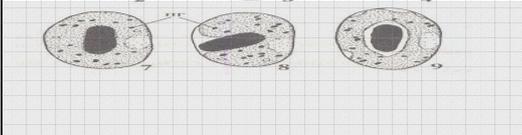
Le gamétocyte est allongé et déplace totalement le noyau (voire le recouvre)	Le gamétocyte entoure tout le noyau
	

Figure 4 : Clef de détermination des espèces de *Plasmodium* et d'*Haemoproteus* rencontrés dans la région dijonnaise chez le Merle noir (adapté d'après Valkiūnas, 2005).

## **b) Quantification**

### **b.1) Mise au point de la méthode**

Les infections par les protozoaires sont détectées par un examen microscopique des frottis ( $\times 1000$ ). Les estimations précises de l'intensité des hémoparasites (nombre de parasites dans un individu hôte) sont difficiles à obtenir. Pour ces parasites intra-érythrocytaires, l'intensité de l'infection correspond au nombre de cellules infectées pour 10 000 érythrocytes (Godfrey *et al.*, 1987). Traditionnellement, on dénombre les globules rouges d'un champ, puis on estime le nombre de champs nécessaires pour examiner plus de 10 000 érythrocytes. Cette technique ne permet pas de quantifier avec précision ni les hématozoaires intracellulaires, ni les leucocytes, notamment parce que la densité en érythrocytes ne peut être constante sur tout un frottis (Godfrey *et al.*, 1987). Il nous a semblé nécessaire d'optimiser et de standardiser la lecture. Pour cela, nous avons utilisé une grille de comptage placée dans l'oculaire du microscope afin de déterminer des champs de dix mailles sur dix, facilitant le décompte des cellules. Le nombre de globules rouges présents dans la grille est estimé tous les dix champs et plus fréquemment si l'étalement des cellules n'est pas homogène. Cette méthode permet d'obtenir une estimation beaucoup plus précise du nombre d'érythrocytes examinés et permet une estimation de l'intensité parasitaire. Une fois cette observation terminée, la lame est observée à un grossissement  $\times 400$  sur une centaine de champs pour détecter la présence de parasites d'une longueur supérieure à 10  $\mu\text{m}$  (*Leucocytozoon*, microfilaires). Le temps moyen d'une observation totale varie de 45 minutes à 1 heure par frottis.

### **b.2) Répétabilité entre observateurs**

Les données sont toutes issues de cinq observateurs formés de la même manière. Pour tester la répétabilité entre observateurs, nous avons constitué un échantillon de seize frottis représentant une large gamme d'intensité parasitaire qui a été examiné par cinq observateurs différents.

Ces frottis ont été anonymés par une personne extérieure et analysés par les différents observateurs « en aveugle ». Les résultats révèlent une bonne répétabilité à la fois en prévalence (Tableau 2) et en intensité (Tableau 3) et ce, malgré le faible échantillon.

**Tableau 2 :** Comparaison des prévalences détectées pour chacun des observateurs.  $k'$  indique la valeur du coefficient de Cohen, qui varie de 0 (aucune similitude) à 1 (similitude totale) (Lehner, 1996).  $P$  représente la probabilité que la concordance entre observateur soit due au hasard. Les noms des cinq observateurs sont donnés avec leurs initiales (AB, AG, BF, CG, MB).

<i>Plasmodium</i>					<i>Haemoproteus</i>						
		BF	AB	AG	CG			BF	AB	AG	CG
AB	k	0,75				AB	k	0,87			
	P	0,003					P	<0,001			
AG	k	0,75	0,75			AG	k	0,87	1,00		
	P	0,003	0,003				P	<0,001	<0,001		
CG	k	0,75	0,75	0,75		CG	k	0,63	0,75	0,75	
	P	0,003	0,003	0,003			P	0,012	0,002	0,002	
MB	k	0,50	0,50	0,50	0,50	MB	k	0,75	0,61	0,61	0,63
	P	0,039	0,039	0,039	0,039		P	0,003	0,013	0,003	0,012

**Tableau 3 :** Comparaison des intensités pour chacun des observateurs.  $\tau$  indique la valeur du coefficient de corrélation non paramétrique de Kendal.  $P$  représente la probabilité que cette corrélation soit due au hasard. Les noms des cinq observateurs sont donnés avec leurs initiales (AB, AG, BF, CG, MB).

<i>Plasmodium</i>					<i>Haemoproteus</i>						
		BF	AB	AG	CG			BF	AB	AG	CG
AB	tau	0,82				AB	tau	0,90			
	P	<0,001					P	<0,001			
AG	tau	0,39	0,45			AG	tau	0,90	1,00		
	P	0,06	0,03				P	<0,001	<0,001		
CG	tau	0,75	0,84	0,47		CG	tau	0,74	0,86	0,86	
	P	<0,001	<0,001	0,02			P	0,001	<0,001	<0,001	
MB	tau	0,63	0,602	0,66	0,63	MB	tau	0,86	0,80	0,80	0,81
	P	0,004	0,005	0,002	0,004		P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

## **2.2) Le modèle ectoparasite : les tiques**

### **2.2.1) Présentation**

Les tiques sont des acariens ectoparasites qui se nourrissent du sang de mammifères, d'oiseaux ou de reptiles. On connaît environ 850 espèces de tiques dans le monde, réparties essentiellement en deux familles :

- les Ixodidæ, ou « tiques dures », qui représentent environ 80 % des espèces connues. Elles possèdent des zones de tégument chitinisé dur,
- les Argasidæ qui ont un tégument sans sclérisation, ce qui leur vaut le nom de "tiques molles".

Chez les Merles, il semble que l'espèce *Ixodes ricinus* (tique dure) soit largement majoritaire (L. Gern, *com.pers.*). Cette espèce se développe selon un cycle dont la durée est en moyenne de 2 à 4 ans mais qui peut aller jusqu'à 7 ans si les conditions climatiques ne sont pas favorables. Au cours de ce cycle, il existe trois stases successives de développement qui sont dites larvaire, nymphale et adulte (Figure 5, page 23). Chaque stase est séparée par une mue qui nécessite un repas de sang.

Les tiques ne disposent pas de moyens de déplacement importants et ne peuvent pas aller à la rencontre de leurs hôtes. Pour se nourrir, quelle que soit sa stase, *I. ricinus* pratique l'affût (Figure 6). Cette espèce, n'a pas de tropisme marqué aux stases larvaire et nymphale et elle est capable de se nourrir sur plus de 300 espèces d'hôtes tant sur les reptiles que sur les oiseaux ou les mammifères. Mais à la stase adulte, elle marque une nette préférence pour les mammifères de grande taille (George, 2005). Cette tique très hygrophile est présente partout en France, sauf à des altitudes excédant 1000-1200 mètres, ou dans des régions trop sèches ou inondables (Delaye, 1998).



Figure 6 : *Ixodes. ricinus* adulte en posture d'affût sur une herbe (Photo in George, 2005)

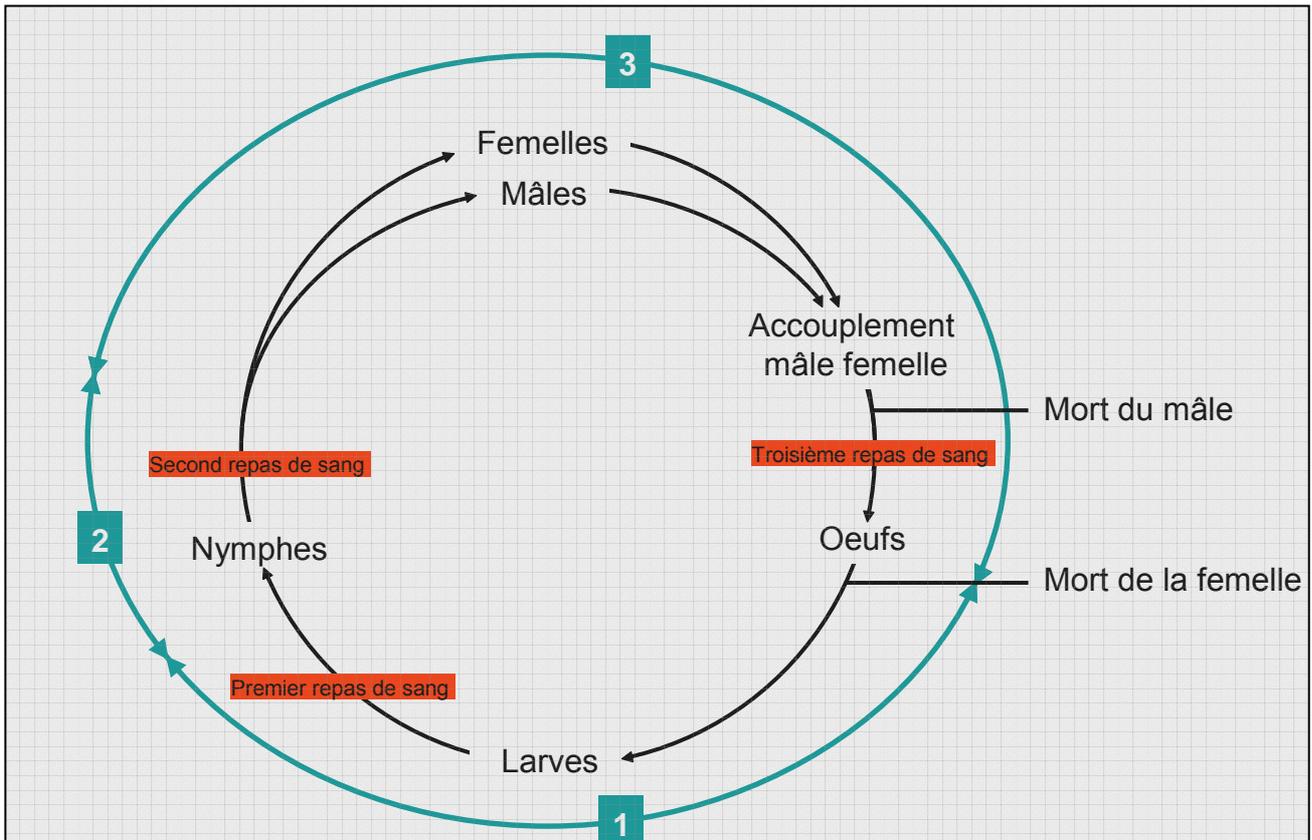


Figure 5 : Cycle de vie schématique d'une Tique *Ixodes ricinus*. Le cycle peut être décomposé en trois stades :

**1** Stade larvaire. De l'œuf naît une larve hexapode, inframillimétrique, donc à peine perceptible à l'œil nu. Après s'être fixée pendant quelques jours sur un vertébré pour se gorger lentement de sang, elle tombe sur le sol, digère, puis mue pour se transformer...

**2** Stade nymphale... en une nymphe octopode mesurant environ un millimètre à jeûn, et deux millimètres repue. Le deuxième repas de sang sera pris dans les mêmes conditions de durée pour se gorger puis se détacher...

**3** Stade adulte....Il permettra la mue en adulte de 3 à 4 mm. La femelle, après copulation, devra encore se gorger pleinement de sang, jusqu'à prendre la taille d'un petit pois. Ce qui lui permettra de pondre de 1 000 à 15 000 œufs, selon les espèces et le sang ingéré, avant de se dessécher et de mourir ; le mâle lui n'est pas hématophage. (Delaye, 1998)

Les tiques hématophages exercent une pression directe sur leurs hôtes. Cette pression trophique et les réactions inflammatoires liées à la piqûre peuvent représenter un coût important pour les individus (Doby & Bigaignon, 1997). Ce coût est renforcé par l'importance et la variabilité de l'infestation (Humair *et al.*, 1993). Ces parasites semblent donc *a priori* être un bon modèle pour étudier les coûts parasitaires au sein des populations naturelles.

De plus, *I. ricinus* est vectrice de nombreux pathogènes notamment des flavivirus, des bactéries (*Borellia burgdorferi*, *Rickettsia helvetica*...), des protozoaires (*Babesia divergens*...) et des nématodes (*Dioetalonema*...) (Delaye, 1998). En plus de la diversité des pathogènes transmis, les taux d'infection des tiques peuvent être élevés. En France, en moyenne, 10 à 15 % des tiques seraient contaminées par *B. burgdorferi* *s.l.*, avec des variations locales importantes. Cette bactérie responsable de la maladie de Lyme est la maladie vectorielle humaine la plus fréquente en Europe et fait l'objet d'un suivi épidémiologique particulier en France (Centre National de Référence des *Borrelia*, 2005). Cet impact sur la santé publique est une autre justification de l'étude de ces parasites.

## **2.2.2) Méthodes d'études**

### **a) Origine des données**

#### **a.1) Données locales**

Chaque Merle capturé est minutieusement inspecté au niveau de la tête et des articulations tibio-tarse de manière à comptabiliser et à prélever systématiquement les Ixodidae présents. Nous déterminons donc pour chaque individu la présence/absence (prévalence) et le nombre de tiques (intensité). Les tiques prélevées ont été conservées dans de l'alcool à 70%.

#### **a.2) Données nationales**

Grâce à la mise en place d'une collaboration avec le CRBPO, un programme de suivi parasitaire des Merles et des Grives a été initié en 2002. Chaque individu a été inspecté pour la présence de tiques nous donnant accès à la prévalence. Il n'était pas possible de demander dans le cadre de cette collaboration une inspection de la totalité de la tête et des articulations tibio-tarse. L'inspection a donc été effectuée uniquement au niveau de la commissure du bec et du tour de l'oeil (Figure 7) qui

sont, chez le Merle, les zones où la très grande majorité des tiques se fixe (Humair *et al.*, 1998; Grégoire, 2003).



## **b) Répétabilité**

### **b.1) Données locales**

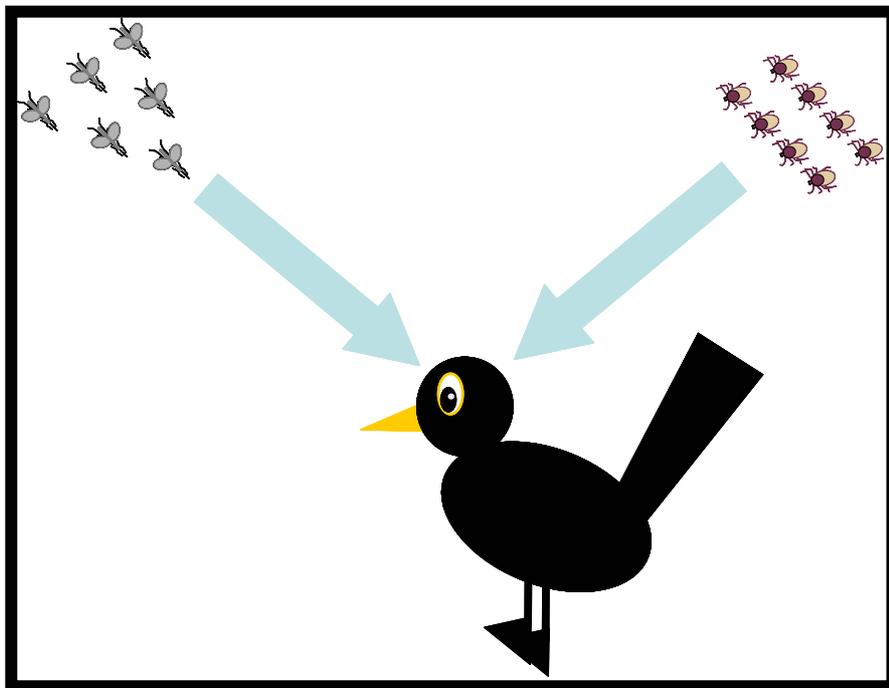
Les données issues des stations locales ont été réalisées par différents observateurs formés à la détection des tiques. Nous n'avons pas réalisé de test formel de la répétabilité de nos dénombrements mais des comparaisons lors des captures indiquent une très bonne cohérence à la fois en prévalence et en intensité

## **b.2) Données nationales**

La variabilité des provenances n'a pas permis la mise en place systématique de tests spécifiques de répétabilité. Cependant, dans les cas de capture multiples d'un individu le même jour, on retrouve très fréquemment le même statut parasitaire quelque soient les observateurs (quatre statuts différents sur plus de 100 cas de captures multiples analysés) ce qui semble confirmer la fiabilité des observations.

# Première Partie

Approche individuelle,  
populationnelle et  
spatiale de la relation  
Merle noir - parasites



# **INTRODUCTION**

# **1) Pathogénicité des parasites : comment et pourquoi ?**

De même que les parasites sont extrêmement diversifiés, les mécanismes responsables de leur pathogénicité présentent une variabilité très importante. La pathogénicité dépend de l'action des parasites mais aussi de la résistance individuelle des hôtes qui constitue l'autre face de la même interaction (Toft & Karter, 1990). Sans chercher à être exhaustif, nous allons illustrer cette diversité en présentant quelques uns des modes d'action et des mécanismes les plus fréquents.

## **1.1) « L'agressivité » du parasite**

### **1.1.1) Comment agissent les parasites ?**

La pénétration directe de certains parasites dans leur hôte, ainsi que les migrations internes peuvent provoquer des dégâts importants. C'est par exemple le cas pour *Ascaris lumbricoides*, dont la larve libérée dans l'intestin en perce la paroi pour migrer ensuite longuement dans l'organisme (Cassier *et al.*, 1998). L'action mécanique des parasites conduit aussi à détruire ou modifier certaines fonctions, comme dans le cas des castrations mécaniques (Hurd, 1993). De plus, la plupart des parasites se nourrissent aux dépens de leur hôte, cette consommation peut avoir de très lourdes conséquences pour l'hôte par effet de spoliation (Bush *et al.*, 2001).

En plus de ces effets liés à leur développement, certains parasites produisent des toxines qui altèrent la physiologie de l'hôte (Bush *et al.*, 2001). Certains agissent aussi de manière importante sur le système immunitaire de leur hôte en induisant des immunosuppressions ou des réactions d'hypersensibilité. On sait, par exemple, que *Trypanosoma cruzi* induit la formation d'anticorps contre les protéines de l'hôte lui-même et que cette auto-immunité est en partie responsable du pouvoir pathogène de ce parasite (Kierszenbaum, 1999).

L'association de ces différents mécanismes explique une part de la pathogénicité des parasites. Cependant, au sein des populations naturelles, de nombreux effets

indirects se surajoutent, augmentant ainsi le pouvoir pathogène des parasites. En altérant la « santé » de leur hôte, les parasites peuvent modifier tous les traits d'histoire de vie. Ainsi certains individus parasités présentent une diminution de leur capacité compétitive ou de leur résistance aux agressions extérieures (prédateurs, autres parasites, environnement abiotique) (Gilbert *et al.*, 2001). Le statut social de l'hôte peut également être affecté (Freeland, 1981 ; Schall & Dearing, 1987). D'une manière plus générale, son comportement peut être modifié aboutissant à une limitation du succès d'appariement (Hamilton & Zuk, 1982 ; Schall & Dearing, 1987). Par ailleurs, certains parasites altèrent les comportements liés aux soins parentaux (Møller, 1990). Enfin, ils causent parfois des effets plus indirects tels qu'une réduction de la durée de la période reproductrice (Møller, 1990).

### **1.1.2) Pourquoi les parasites sont-ils virulents ?**

En dehors des cas de virulence « par hasard » (Bull, 1994 ; Levin, 1996 ; Ebert, 1998 ; Bush *et al.*, 2001) qui apparaissent suite à la mise en contact inopinée d'un parasite avec un hôte nouveau, la virulence parasitaire peut sembler paradoxale. En effet, en réduisant la durée de vie de l'hôte, le parasite réduit du même coup sa propre durée de vie. Ainsi, la virulence semble réduire la propagation des parasites et devrait être contre-sélectionnée (sauf dans certains cas où l'immobilisation ou la mort des hôtes servent le cycle parasitaire (Smith-Trail, 1980 ; Ewald, 1995).

La théorie dominante a ainsi longtemps considéré que **la virulence ne peut évoluer qu'en diminuant** et que les associations hôte-parasite devraient évoluer vers le mutualisme, c'est-à-dire une association à bénéfice réciproque (Cassier *et al.*, 1998). Le problème de cette théorie est qu'elle considère la virulence comme un élément indépendant. En fait, la virulence des parasites découle directement de contraintes liées à leur développement et leur reproduction au sein de leur hôte. Il n'y a donc aucune raison pour que l'évolution conduise systématiquement à diminuer la virulence parasitaire.

De plus, au-delà de ces contraintes, les parasites évoluent dans une relation étroite avec leur hôte qui a été formalisée dans le cadre de la **théorie de la course**

**aux armements** (Van Valen, 1973 ; Dawkins & Krebs 1979). La course aux armements correspond à une suite d'adaptations et de contre-adaptations des parasites et des hôtes. Ceci peut aussi bien conduire à la diminution qu'à l'augmentation de la pathogénicité (puisque l'augmentation de l'agressivité peut, ou non, être compensée par l'augmentation de la résistance de l'hôte). De nombreux travaux théoriques et empiriques ont confirmé que l'atténuation n'est pas la seule issue possible (Levin & Pimentel, 1981 ; Anderson & May, 1982 ; Herre, 1993 ; Ebert, 1994 ; Ewald, 1995).

Plus généralement, l'évolution des parasites peut être considérée comme un compromis entre la virulence (qui doit être minimale pour augmenter la "survie", c'est-à-dire la durée de l'infection) et la transmission. Cependant, la généralité de ce compromis n'est pas démontrée et a fait récemment l'objet d'un vif débat (Ebert & Bull, 2003 a et b ; Elliot, 2003 ; Gandon & Day, 2003).

## **1.2) La résistance des hôtes**

### **1.2.1) Comment se défendent les hôtes ?**

Parmi les mécanismes de résistance des hôtes, le système immunitaire est un moyen de lutte extrêmement efficace (Roitt *et al.*, 2001, Zuk & Stoehr, 2002). L'importance de ce système est illustrée par le fait que s'il est supprimé par une maladie (SIDA...) ou pour raisons médicales (greffes), l'organisme devient extrêmement sensible à une grande variété d'agents infectieux.

Chez les Vertébrés, on distingue classiquement une composante innée non spécifique et une composante acquise spécifique (Roitt *et al.*, 2001).

- La composante innée repose essentiellement sur des cellules réalisant une phagocytose (neutrophiles ou hétérophiles, monocytes, macrophages) ou une attaque cellulaire (éosinophiles et cellules tueuses naturelles (NK)). En plus de ces cellules différentes molécules interviennent dans la réponse immunitaire (histamine, interférons...).

- La composante acquise se manifeste sous deux formes : une réponse immunitaire à médiation cellulaire (activation des lymphocytes T) et une réponse immunitaire à médiation humorale (production d'anticorps par les lymphocytes B). Au cours de cette réaction spécifique, certaines cellules se mettent dans un état de repos qui peut persister des années, voire toute la vie. Elles forment la mémoire immunitaire qui permet une réponse immunitaire accélérée et plus intense si le même micro-organisme pénètre à nouveau dans le corps (c'est sur ce principe qu'est fondée la vaccination).

En plus du système immunitaire, les hôtes présentent de nombreux autres systèmes de résistance essentiellement en rapport avec l'apparence physique et les comportements (Combes, 1995). On sait par exemple que différentes espèces d'oiseaux choisissent leurs sites de reproduction pour éviter les parasites (Christe *et al.*, 1994 ; Danchin *et al.*, 1998). De même, les migrations saisonnières permettraient notamment de diminuer les risques d'exposition à certains parasites (Combes, 1995).

### **1.2.2) Pourquoi la défense de l'hôte est-elle imparfaite ?**

Malgré leur efficacité, les systèmes de défense de l'hôte ne sont pas parfaits et ne permettent pas de lutter totalement contre tous les parasites. Pour expliquer cette imperfection, un principe très débattu en biologie évolutive considère que ces systèmes de défense présentent un coût pour l'hôte. Il s'établirait ainsi un compromis d'allocation entre le coût de mise en place d'une défense (qui limite la perte de valeur sélective imputable au parasite) et le besoin d'assurer les autres composantes de la valeur sélective (Sheldon & Verhulst, 1996 ; Coustau *et al.*, 2000).

Cet aspect a été particulièrement étudié pour le système immunitaire. Le coût de son activation a été mis en évidence récemment grâce à des expériences qui testent les effets de l'activation du système immunitaire (challenge immunitaire). Ainsi, différentes espèces d'oiseaux présentent une diminution du taux

d'approvisionnement de leur poussin lorsque leur système immunitaire est stimulé (Ilmonen *et al.*, 2000 ; Råberg *et al.*, 2000 ; Bonneaud *et al.*, 2003).

Une hypothèse considère que le **coût de la résistance est énergétique** : la réponse immunitaire monopoliserait une partie des ressources partagées avec d'autres fonctions liées à la fitness (Lochmiller *et al.*, 1993). Moret et Schmid-Hempel (2000) ont montré que, chez le Bourdon terrestre *Bombus terrestris*, la survie d'individus dont le système immunitaire a été stimulé dépend de l'accès aux ressources alimentaires. Certains auteurs ont même quantifié l'impact énergétique de cette stimulation. Ils obtiennent des augmentations de 9% à 29% du métabolisme quand le système immunitaire est stimulé (Demas *et al.*, 1997 ; Ots *et al.*, 2001 ; Martin *et al.*, 2002). Cependant l'hypothèse du coût énergétique de la réponse immunitaire reste équivoque car certains travaux ne trouvent pas ou très peu de relations entre budget énergétique et fonctions immunitaires (Svensson *et al.*, 1998) De plus, le coût énergétique de la réaction immunitaire semble faible au regard des autres fonctions physiologiques (Nilsson, 2002 ; Eraud, 2003). Plus qu'un coût énergétique global, la réponse immunitaire pourrait avoir un impact sur **certains nutriments** comme les protéines (Klasing *et al.*, 1987 ; Lochmiller & Deerenberg, 2000). Ainsi, la composition protéinique de la nourriture affecte le développement des organes liés à l'immunocompétence (Lochmiller *et al.*, 1993).

Enfin, pour d'autres auteurs, le coût de l'immunocompétence est à rechercher non pas en terme d'énergie, mais dans le risque d'endommager les tissus de l'organisme (Svensson *et al.*, 1998) Ce risque conduirait à un **compromis entre immunocompétence et immunopathologie** (Råberg *et al.*, 1998). Deux grands types de risques peuvent en fait être liés à une activation du système immunitaire : d'une part, l'augmentation de la probabilité de développer des réactions auto-immunes (Pasare & Medzhitov, 2003), d'autre part, la production massive de radicaux libres et de métabolites oxydants (Von Schantz *et al.*, 1999). Ces molécules agressives provoquent des attaques moléculaires et cellulaires et pourraient figurer parmi les principaux déterminants de l'espérance de vie d'un individu (Beckman & Ames, 1998 ; Bendich, 1996 ; Finkel & Holbrook, 2000).

Les différents coûts liés à l'activation du système immunitaire ne sont pas indépendants les uns des autres. Certains nutriments peuvent être utilisés par le système immunitaire (immunostimulants) mais aussi pour protéger l'organisme des radicaux libres (anti-oxydants). C'est notamment le cas des caroténoïdes dont certains travaux récents montrent l'importance (Saino *et al.*, 1999 ; Fenoglio *et al.*, 2002 ; Blount *et al.*, 2003 ; Faivre *et al.*, 2003a et b). Les compromis d'allocation de la ressource en caroténoïdes ne sont cependant pas encore complètement compris.

A l'issue de cette présentation, on pourrait croire que les connaissances acquises cernent suffisamment l'incidence des parasites. Cependant, la plupart de ces connaissances concernent des parasites présentant un intérêt médical ou vétérinaire. D'une manière générale, le rôle des infections parasitaires au sein des populations naturelles est donc très mal maîtrisé. Nous allons aborder ce point et nous présenterons également l'importance de la prise en compte de la variabilité spatiale pour l'étude de la relation hôte-parasite.

## **2) Pathogénicité des parasites au sein des systèmes naturels**

### **2.1) Effet des parasites au niveau individuel et variabilité des hôtes**

Pour étudier l'impact des parasites, la démarche la plus évidente consiste à déterminer leurs effets sur l'hôte. Ainsi la médecine a depuis longtemps permis de déterminer des listes d'effets pathogènes pour de nombreux parasites de l'homme (appelés symptômes). Au sein des populations naturelles, il est également tout à fait possible de vérifier l'existence de relations entre les parasites et une altération de traits biologiques de l'hôte. Cependant, l'existence d'une forte variabilité des hôtes complique la mise en évidence de l'impact des parasites au sein des milieux naturels (Wilson *et al.*, 2002) et il est nécessaire de prendre en compte les différents facteurs de variabilité entre individus. En effet, selon ses caractéristiques, un hôte

infecté ne subira pas les mêmes coûts, indépendamment de l'action propre du parasite.

On connaît aujourd'hui de très nombreux facteurs d'hétérogénéité interindividuelle pouvant influencer la relation hôte-parasite. Nous ne présenterons cependant ici que trois facteurs (l'âge, le sexe et les facteurs extrinsèques) qui sont des facteurs pouvant avoir une incidence majeure sur la relation hôte-parasite et facilement mesurables au sein des populations naturelles d'oiseaux.

En premier lieu, l'âge semble pouvoir modifier les conséquences des infections, qui peuvent être plus pathogènes chez les jeunes individus (Sol *et al.*, 2003 ; Valkiūnas, 2005). De plus, de nombreuses études ont mis en évidence des variations de l'infection en fonction de l'âge (par exemple Loye & Zuk, 1991; Hudson & Dobson, 1995 ; Clayton & Moore, 1997 ). Il est en théorie possible de relier ces variations à des informations épidémiologiques et notamment à la mortalité induite par le parasite (Hudson & Dobson, 1995). Cependant, au sein des populations naturelles, ces études sont compliquées car l'âge précis des individus est souvent difficilement déterminable sans la mise en place d'études longues. De plus, il existe de nombreux mécanismes pouvant provoquer des différences de niveau d'infestation selon l'âge sans que ceci ne soit lié aux effets des parasites : exposition différentielle aux parasites, modifications liées à la maturation sexuelle... (Wilson *et al.*, 2002).

Différentes analyses comparatives ont montré que les mâles sont souvent plus fortement infectés par les parasites (Poulin, 1996 ; Schalk & Forbes, 1997 mais voir McCurdy *et al.*, 1998). Cette différence peut être attribuée à des facteurs écologiques (différence de comportement, d'alimentation ou de taille corporelle) ou physiologiques (Zuk & McKean, 1996). Parmi les causes physiologiques, l'hypothèse la plus étudiée est celle du handicap d'immunocompétence lié à l'effet immunosuppresseur des hormones androgènes et notamment de la testostérone (Folstad & Karter, 1992). Toutefois, cette hypothèse reste très discutée (Roberts *et al.*, 2004).

En plus des facteurs propres à l'hôte, l'effet parasitaire peut dépendre de facteurs environnementaux et contextuels tels que le type d'habitat, la saison ou l'année. Ces facteurs influencent de nombreux paramètres à la fois chez l'hôte et chez le parasite. Ainsi, un refroidissement saisonnier provoque chez l'hôte un effort de thermorégulation, modifie ses ressources et son comportement alimentaire et peut donc accroître sa vulnérabilité aux infections (Nelson, 2004). Cela dit, les mêmes conditions peuvent aussi modifier le développement et le taux de mortalité des stades infectants du parasite (Wilson *et al.*, 2002).

L'environnement biotique peut également fortement contraindre les effets des parasites. Le stress associé à un statut social inférieur peut provoquer des changements neuroendocriniens qui induisent l'immunosuppression (Barnard *et al.*, 1998).

## **2.2) Parasites et dynamique des populations hôtes**

En population naturelle, l'action des parasites sur leur hôte n'est bien connue que pour quelques parasites et quelques hôtes. Si l'action des parasites est parfois spectaculaire (Hudson *et al.*, 1998 ; Gregory & Hudson, 2000), elle ne concerne qu'un nombre très limité d'espèces. Ceci a longtemps conduit les écologues à considérer que les parasites sont en général bénins pour les populations (Lack, 1954 *in* Hudson *et al.*, 2002). Les épidémies n'étaient envisagées que comme des exceptions à la règle générale résultant d'une rupture de la relation hôte-parasite habituelle. Cette vision a été remise en cause il y a un peu plus de vingt-cinq ans par des travaux théoriques qui démontrent que les parasites peuvent réguler les populations. Le premier modèle mathématique reliant populations de parasites et d'hôtes date de 1971 (Crofton). Malgré son intérêt, ce modèle était trop simplificateur (May, 1977) et il fallut attendre les travaux d'Anderson et May (Anderson, 1978 ; Anderson & May, 1979 ; May & Anderson, 1979) pour obtenir une première approche théorique complète de l'influence des parasites sur leur population hôte. Les modèles ainsi créés ont ensuite été de plus en plus adaptés pour se rapprocher

de situations réelles, intégrant par exemple des parasites dépendants de plusieurs hôtes (Woolhouse *et al.*, 2001).

Tous ces travaux théoriques ont confirmé le rôle potentiel des parasites dans la régulation des populations hôtes, conduisant à la mise en place de vérifications expérimentales. Les démonstrations les plus convaincantes en faveur d'une régulation proviennent toutes de perturbations qui ont modifié le fonctionnement d'une population. (Scott & Dobson, 1989). La plupart des données sont issues de perturbations appliquées à des systèmes hôte-parasite maintenus expérimentalement (Anderson & Crombie, 1984 ; Scott & Anderson, 1984 ; Scott, 1987). En conditions naturelles, la plus belle illustration de l'impact d'un parasite sur une population est certainement celle de Hudson et de ses collaborateurs (Hudson *et al.*, 1992 ; Dobson & Hudson, 1992). Ces auteurs ont mis en évidence le rôle de parasites nématodes *Trichostrongylus tenius* sur la survie et la fécondité de son hôte, le Lagopède rouge d'Écosse (*Lagopus (lagopus) scoticus*). Cet impact explique les fluctuations cycliques d'effectifs observées chez le Lagopède. Ce rôle a été démontré en 1998 (Hudson *et al.*, 1998) puisque les populations ayant reçu un traitement anti-helminthes ne présentent plus les fluctuations des populations témoins.

Si la meilleure manière de démontrer une régulation parasitaire en conditions naturelles consiste à manipuler une population, ceci n'est que rarement réalisable car ce type de manipulation pose de nombreux problèmes, notamment logistiques et éthiques. Une autre manière de détecter la régulation des hôtes par les parasites dans les populations sauvages consiste à mettre en évidence des effets sur la survie et/ou la reproduction de leurs hôtes. Ces démonstrations sont aisées dans le cas de populations contrôlées mais se compliquent fortement dans la majorité des cas, en particulier pour l'estimation de la survie associée au statut parasitaire, qui pose deux problèmes majeurs dans les populations sauvages :

- les populations sont ouvertes et les individus ne peuvent pas tous être suivis (Lebreton *et al.*, 1992). Un individu non recapturé n'est donc pas forcément mort.
- en général, l'association hôte-parasite ne dure pas toute la vie de l'hôte

(Combes, 1995). Ceci complique l'estimation de l'impact des parasites sur les populations.

Estimer les modifications de la survie et de la reproduction par les parasites n'est pas chose facile et a fortement limité les vérifications empiriques de l'action des parasites sur la dynamique des populations hôtes (Albon *et al.*, 2002). Ainsi, la validation « générale » d'un impact des parasites sur la dynamique de populations sauvages passe donc par une meilleure estimation de l'impact parasitaire sur la survie et la fécondité.

### **2.3) Prise en compte de la structuration spatiale des populations**

L'étude et la description de la distribution spatiale des parasites est une approche ancienne en médecine qui a permis d'établir des aires de répartition et des cartes du risque parasitaire pour de nombreuses maladies (Meade *et al.*, 1988). Ces patrons peuvent ensuite être confrontés à différentes variables environnementales et il est ainsi possible de définir les caractéristiques environnementales favorables à la présence d'un parasite. Cette démarche s'est amplifiée grâce au développement des systèmes d'information géographiques (SIG), outils informatiques permettant de représenter et d'analyser des données spatialisées (Graham *et al.*, 2004). L'un des plus beaux exemples concerne l'étude de la distribution des tiques *Ixodes ricinus*. En effet, certains modèles utilisant différents facteurs environnementaux (température, altitude, nature de la végétation...) permettent de prédire avec plus de 80% de certitude la présence de tiques (Furlanello & Merler, 2000).

Cependant, cette démarche n'est qu'un premier pas pour comprendre la structuration spatiale de la relation hôte-parasite. L'abondance d'un parasite n'est pas le seul paramètre en jeu. Pour un hôte, le risque d'infection dépend de l'abondance du parasite mais aussi de sa résistance et de bien d'autres facteurs. Il existe encore peu d'études qui permettent de déterminer si les différences géographiques de parasitémie sont imputables à des différences d'expositions plutôt qu'à des variations du niveau de résistance des populations hôtes (mais voir Sol *et al.*, 2000).

# CHAPITRE I

## Relation entre l'infestation parasitaire et la condition de l'hôte

Remarque : Pour les parasites Haemosporidae, les résultats présentés dans ce chapitre correspondent à ceux présentés dans un manuscrit en annexe (Annexe 2). Malgré leurs nombreuses similitudes, ces deux parties diffèrent par les données utilisées puisque ce chapitre prend en compte les individus issus de différents sites de capture alors que le manuscrit ne traite que des individus issus du site de l'Arquebuse.

# **1) Introduction**

Plus de la moitié des espèces animales de la planète sont des parasites. Au cours des trente dernières années, de nombreux travaux ont mis en évidence l'impact des parasites dans les systèmes naturels. Parmi ces travaux, diverses études empiriques soulignent l'effet des infections parasitaires sur la reproduction, la survie et la dispersion (Møller, 1990 ; Davidar & Morton, 1993 ; Norris *et al.*, 1994 ; Richner *et al.*, 1995 ; Oppliger *et al.*, 1997 ; Heeb *et al.*, 1999 ; Boulinier *et al.*, 2001 ; Dawson & Bortolotti, 2001 ; Hōrak *et al.*, 2001). A l'inverse, d'autres études obtiennent des résultats plus ambigus que ce soit sur la survie ou la reproduction (Gibson, 1990 ; Weatherhead & Bennett, 1991 ; Dale *et al.*, 1996 ; Sanz *et al.*, 2001). De plus, il existe de nombreux parasites dont l'influence n'a tout simplement pas été testée en populations naturelles. Ainsi, pour les Haemosporidae, parmi 236 études montrant un effet létal sur l'hôte, 5% seulement concernent des populations sauvages (Bennett *et al.*, 1993b).

Pour mieux percevoir l'impact parasitaire au sein d'une population naturelle, il peut être important, dans un premier temps d'explorer la manière dont le parasite agit sur son hôte. Récemment, différents travaux ont souligné l'importance d'étudier les mécanismes impliqués dans la pathogénicité des parasites (Ots & Hōrak, 1998 ; Hatchwell *et al.*, 2001 ; Booth & Elliot, 2003 ; Garvin *et al.*, 2003). Ce type d'approche nécessite de mesurer des paramètres qui reflètent l'état de santé de l'hôte et sa réaction face au parasite.

Plusieurs paramètres assez facilement accessibles peuvent être pris en compte par rapport à cet objectif. Premièrement, les paramètres hématologiques sont largement utilisés pour étudier la condition des individus au sein des populations d'oiseaux. Les dénombrements de cellules du système immunitaire servent ainsi d'indicateurs de la réponse immunitaire. L'immunité spécifique est une réaction engendrée par la détection d'antigènes qui se traduit notamment par l'augmentation du nombre de lymphocytes dans le sang (Roitt *et al.*, 2001 ; Campbell, 1995). L'immunité non spécifique est un système de défense généraliste,

dont l'activation se manifeste par une multiplication des cellules non spécifiques (hétérophiles, éosinophiles, macrophages). Ainsi, quelle que soit la composante du système immunitaire engagée, la réaction de l'hôte s'accompagne généralement d'une augmentation du nombre de leucocytes.

Deuxièmement, la masse corporelle est un descripteur de la manière dont l'hôte supporte le parasite. En effet, la masse est un caractère fortement contraint chez les animaux sauvages et particulièrement chez les oiseaux, dont le vol ne permet pas la constitution de réserves énergétiques importantes. De nombreux travaux ont montré la relation entre la condition corporelle (masse corrigée par la taille ; Brown, 1996) et le succès reproducteur ou la survie hivernale (voir Green, 2001 pour une revue).

Ce chapitre est dédié à une approche corrélative de quelques mécanismes impliqués dans la pathogénicité. Pour cela, nous allons vérifier s'il existe une corrélation entre l'infection (Haemosporidae et tiques), les dénombrements de cellules du système immunitaire et la condition corporelle. Cependant, selon ses caractéristiques, un hôte infecté ne subira pas les mêmes coûts et il est donc nécessaire de prendre en compte plusieurs caractéristiques individuelles et en particulier l'âge et le sexe.

## **2) Parasites sanguins**

### **2.1) Matériel et méthodes**

#### **2.1.1) Présentation des données utilisées**

Les oiseaux ont été capturés entre 1998 et 2002 durant la saison de reproduction de mars à juillet. Seuls les oiseaux adultes (de plus d'un an) ont été considérés pour l'analyse tout en distinguant les individus de deuxième année (yearling) des individus plus âgés ou indéterminés. Les données proviennent de cinq sites de captures : l'Arquebuse (21), la Coulée verte (21), la forêt des Crochères (21),

Villeurbanne (69) et la fondation Pierre Vérots (69).

La lecture des frottis sanguins nous a permis de déterminer la prévalence et l'intensité en parasites sanguins (voir « Matériel et méthodes » général) De la même manière, les différents types de cellules immunitaires ont été identifiés selon leur aspect (Campbell & Dein, 1984) et dénombrés. Pour satisfaire aux conditions de normalité, le nombre de chaque type cellulaire a subi une transformation logarithmique avant d'être analysé statistiquement (Sokal & Rohlf, 1995).

Afin de déterminer la condition corporelle, nous avons utilisé la masse corporelle divisée par la longueur du tarse au cube.

### **2.1.2) Analyses statistiques**

Nous avons cherché à expliquer les variations de la condition corporelle et des dénombrements cellulaires en fonction de la présence de *Plasmodium* et d'*Haemoproteus*. Nous avons également intégré dans ces analyses l'année et le site de capture, ainsi que l'âge et le sexe des individus et enfin la date de capture comme une covariable (nombre de jours depuis le premier mars).

Pour les individus capturés plusieurs fois, seule une des captures a été retenue, au hasard. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées par la construction de modèles de régression linéaire utilisant une méthode d'élimination pas à pas des variables non significatives pour produire le modèle final (Sokal & Rohlf, 1995).

Le modèle de départ contient donc toutes les variables explicatives testées ainsi que toutes les interactions deux à deux possibles de ces variables (sauf pour les sites de capture). Toutes les analyses sont réalisées avec le logiciel JMP 5.0.1 (SAS Institute Inc.).

## **2.2) Résultats**

Les individus porteurs de *Plasmodium* présentent plus d'éosinophiles et de lymphocytes que les individus sains (Figure 8 et Tableau 4, page 44). De même, la condition corporelle est liée au statut parasitaire vis-à-vis de *Plasmodium*. Cependant, de manière surprenante, les individus infectés ont une meilleure condition corporelle que les individus sains (Annexe 2). En revanche, il ne semble pas y avoir de différence entre les individus porteurs d'*Haemoproteus* et les autres, à la fois pour les dénombrements cellulaires et pour la condition corporelle (Tableau 4).

De plus, en ce qui concerne les autres variables intégrées à l'analyse, on remarque que les différents types de cellules immunitaires varient d'une année sur l'autre (Tableau 4, page 44). Les hétérophiles présentent ainsi des variations qui dépendent à la fois de l'année considérée et de l'avancement de la saison de reproduction. L'état des individus ne semble pas être lié à leur âge, sauf dans le cas des yearlings, chez qui les hétérophiles sont plus nombreux. En revanche, les individus présentent de fortes variations du nombre de cellules immunitaires selon leur sexe. Pour les lymphocytes, l'effet du sexe est cependant lié à l'année considérée. Enfin, le site de capture modifie les dénombrements en éosinophiles.

Tableau 4 : Variation des leucocytes et de la condition corporelle en fonction de la présence de parasites. Diverses variables confondantes sont intégrées à l'analyse : âge et sexe des individus, temps en nombre de jours écoulés depuis le premier mars, année et site de capture. Dans chaque cas, les valeurs ne sont présentées que si le facteur a été retenu par la procédure d'analyse pas à pas. La condition corporelle correspond à la masse divisée par la longueur du tarse élevée au cube.

	Eosinophiles (en Log)		Hétérophiles (en Log)		Lymphocytes (en Log)		Condition Corporelle	
	F <sub>df</sub>	p	F <sub>df</sub>	p	F <sub>df</sub>	p	F <sub>df</sub>	p
Age	-----	-----	3,06 <sub>2,259</sub>	0,0484	-----	-----	-----	-----
Temps	-----	-----	2,27 <sub>1,259</sub>	0,1333	-----	-----	-----	-----
Année	5,71 <sub>4,267</sub>	0,0002	4,31 <sub>4,259</sub>	0,0022	3,82 <sub>4,278</sub>	0,0048	-----	-----
Sexe	6,77 <sub>1,267</sub>	0,0098	7,12 <sub>1,259</sub>	0,0081	1,83 <sub>1,278</sub>	0,17	24,58 <sub>1,216</sub>	<0,0001
Site de capture	5,32 <sub>4,267</sub>	0,0004	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>Haemoproteus</i>	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>Plasmodium</i>	11,74 <sub>1,267</sub>	0,0007	-----	-----	61,22 <sub>1,278</sub>	<0,0001	5,12 <sub>1,216</sub>	0,025
Année * Sexe	-----	-----	-----	-----	2,90 <sub>4,278</sub>	0,022	-----	-----
Année * Temps	-----	-----	2,81 <sub>4,259</sub>	0,0262	-----	-----	-----	-----

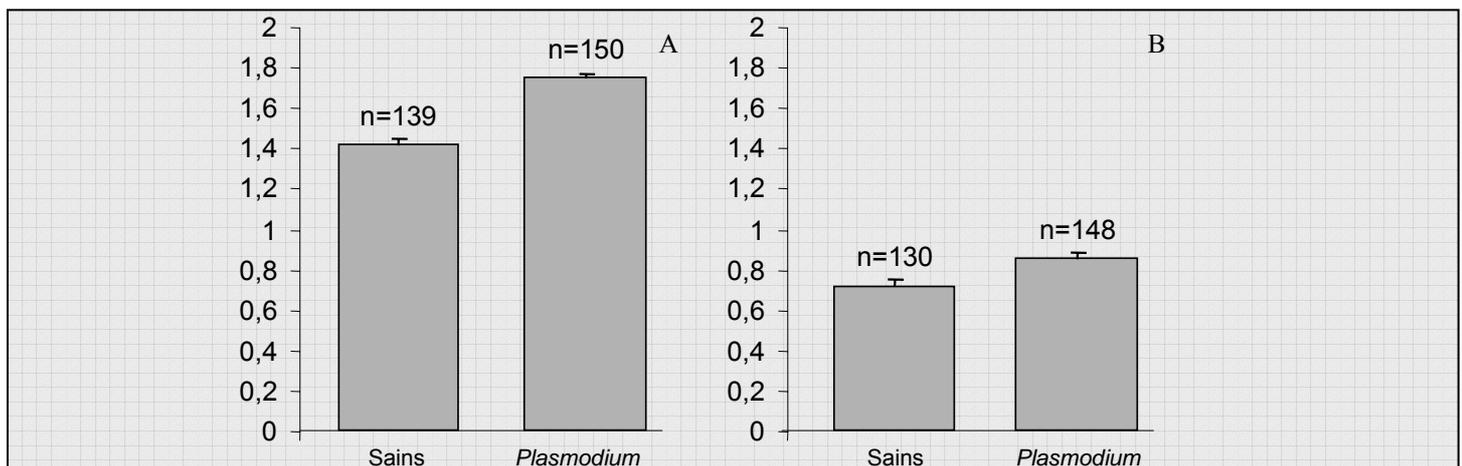


Figure 8 : Nombre de lymphocytes (A) et d'éosinophiles (B) pour les individus sains ou infectés par *Plasmodium* (pour 10000 globules rouges). Les valeurs moyennes des dénombrements cellulaires sont représentées en Logarithme + erreur standard.

## **3) Tiques**

### **3.1) Matériel et méthodes**

#### **3.1.1) Présentation des données utilisées**

##### **a) Données locales**

Puisque les tiques sont quasiment absentes en ville dans les sites considérés (Grégoire *et al.*, 2002), nous avons utilisé uniquement les données issues du site de la forêt des Crochères (21). Les captures des individus adultes ont eu lieu de 1998 à 2002, durant les mois de mars à juillet. Comme précédemment, le nombre de cellules immunitaires a été transformé en logarithme avant d'être analysé statistiquement (Sokal & Rohlf, 1995). Afin de déterminer la condition corporelle, nous avons utilisé la masse divisée par la longueur du tarse élevée au cube.

##### **b) Données nationales**

Au niveau national, les données proviennent de 40 sites suivis de 2001 à 2003 dans le cadre du programme STOC. Les captures ont eu lieu de mai à juillet.

Pour la condition corporelle, l'utilisation de la longueur du tarse n'est pas possible car cette mesure n'est pas relevée au niveau national. Nous avons donc remplacé cette mesure par la mesure de la longueur de l'aile droite. Cette mesure est en effet une bonne approximation de la longueur du tarse pour un échantillon de Merles analysé localement (corrélation  $n = 118$  ;  $p < 0,0001$ ). Les indices ainsi obtenus sur un même jeu de données, soit en utilisant la longueur du tarse soit celle des ailes, sont hautement comparables (corrélation  $n = 118$  ;  $p < 0,0001$ ).

#### **3.1.2) Analyses statistiques**

Nous avons cherché à expliquer les variations de la condition corporelle et des dénombrements cellulaires en fonction de la prévalence et de l'intensité en tiques.

Nous avons également intégré dans ces analyses l'année de capture, l'âge et le sexe des individus ainsi que la date de capture comme une covariable (nombre de jours depuis le premier mars). Pour les données nationales, nous avons de plus intégré une variable « site de capture » (40 sites, pour lesquels toutes les informations étaient disponibles, ont été retenus).

Pour les individus capturés plusieurs fois, seule une des captures a été retenue, au hasard, pour figurer dans les analyses. Les modèles de départ contiennent toutes ces variables explicatives ainsi que toutes les interactions deux à deux possibles de ces variables.

Toutes les analyses statistiques sont réalisées par la construction de modèles de régression linéaire utilisant une méthode d'élimination pas à pas des variables non significatives pour produire le modèle final avec le logiciel JMP 5.0.1 (SAS Institute Inc.).

## **3.2) Résultats**

### **3.2.1) Cellules sanguines**

Parmi les 62 individus pour lesquels nous avons réalisé des dénombrements de cellules immunitaires, seuls quatre sont dépourvus de tiques. Prendre en compte l'influence de la prévalence des tiques n'est donc pas réalisable. En revanche, le nombre de tiques (intensité) est lui utilisable dans les analyses.

Le nombre de tiques est relié positivement au nombre de lymphocytes ( $F_{df} = 4,93_{1,58}$ ;  $p = 0,031$ ) et au nombre d'hétérophiles ( $F_{df} = 6,16_{1,57}$ ;  $p = 0,016$ ). De plus, les différents types de cellules immunitaires varient d'une année sur l'autre (Eosinophiles :  $F_{df} = 4,86_{2,49}$ ;  $p = 0,012$  / Hétérophiles :  $F_{df} = 5,87_{2,57}$ ;  $p = 0,001$  / Lymphocytes :  $F_{df} = 2,66_{2,58}$ ;  $p = 0,043$ ). Pour les autres facteurs (âge, sexe, nombre de jours), aucun effet significatif n'a été détecté.

### **3.2.2) Condition corporelle**

#### **a) Données locales**

La seule variable retenue dans le modèle final est le sexe ( $F_{df} = 34,65_{1,116}$  ;  $p < 0,0001$ ). Aucun autre facteur (et donc ni la présence de tiques ni leur nombre) ne semble donc lié à la condition corporelle des individus.

#### **b) Données nationales**

La condition corporelle varie selon le sexe et l'âge des individus ainsi que selon le site de capture (Tableau 5). En revanche, les autres facteurs (et notamment la présence de tiques) ne semblent, comme dans le cas des données locales, pas être liés à la condition corporelle.

**Tableau 5** : Variation de la condition corporelle en fonction de la présence de tiques au niveau national. Diverses variables ont été intégrées à l'analyse : âge et sexe des individus, temps en nombre de jours depuis le premier mars, année et site de capture. Dans chaque cas, les valeurs ne sont présentées que si le facteur a été retenu par la procédure d'analyse pas à pas. La condition corporelle est calculée en divisant la masse par la longueur de l'aile.

	<b>F<sub>df</sub></b>	<b>p</b>
<b>Age</b>	21,72 2,526	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Temps</b>	-----	-----
<b>Année</b>	-----	-----
<b>Sexe</b>	344,55 1,526	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Site de capture</b>	2,44 39,526	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Tiques</b>	-----	-----

## **4) Discussion**

Pour mettre en évidence de possibles effets pathogènes des parasites, nous nous sommes intéressés à des variables qui illustrent la réaction et d'une certaine manière « l'état de santé » des individus hôtes : les dénombrements de cellules sanguines et la condition corporelle. Nous avons montré l'influence de facteurs externes majeurs comme le site, l'année ou le contexte saisonnier ainsi que de l'âge et du sexe. L'influence de ce type de caractéristiques est un phénomène bien documenté (Voir par exemple Creswell, 1998 ; Maxwell & Robertson, 1998 ; Ots *et al.*, 1998)

### **4.1) La réponse immunitaire**

Les analyses montrent une relation entre un niveau élevé de lymphocytes et l'infection, que ce soit par *Plasmodium* ou par les tiques. Cette relation positive entre l'infection et le nombre de lymphocytes peut refléter l'investissement dans une réponse immunitaire spécifique. Ainsi, des niveaux élevés de lymphocytes ont déjà été relevés pour d'autres infections par des malaras aviaires et ont été interprétés dans ce sens (Massey *et al.*, 1996 ; Ots & Hōrak, 1998 ; Figuerola *et al.*, 1999).

Le nombre d'hétérophiles est associé positivement avec le nombre de tiques. Cette association peut refléter la réponse immunitaire puisqu'on sait que la fixation des tiques engendre fréquemment des réactions inflammatoires auxquelles participent les hétérophiles (Wikel, 1996 ; Doby & Bigaignon, 1997) Le fait que l'infection par *Plasmodium* soit aussi associée à un nombre élevé d'éosinophiles peut également correspondre à une réponse immunitaire liée au parasite. Bien que le rôle des éosinophiles ne soit pas totalement élucidé, il semble qu'ils jouent un rôle important dans la lutte contre certains parasites (Meeusen & Balic, 2000). Cependant, des niveaux élevés d'éosinophiles et d'hétérophiles peuvent aussi être observés chez des individus immunodéficients (Campbell & Dein, 1984). Eosinophiles et hétérophiles sont des cellules impliquées non seulement dans la résistance parasitaire mais également dans les processus allergiques et dans les nécroses tissulaires (Harmon, 1998 ; Maxwell & Robertson, 1998).

D'une manière générale, il convient de rester prudent quant à l'interprétation de ces indices hématologiques (Norris & Ewans, 2000). En effet, un nombre élevé de lymphocytes chez les individus parasités peut représenter une réponse protectrice face à un parasite mais aussi refléter des individus affaiblis par d'autres facteurs et qui ne peuvent plus lutter efficacement contre les parasites.

## **4.2) La condition corporelle**

Chez les individus infectés par les tiques ou par *Haemoproteus*, la condition corporelle n'a pas varié. Elle est toutefois meilleure chez les individus infectés par *Plasmodium* sans que ceci ne semble lié à une diminution de l'investissement reproducteur des individus infectés (Annexe 2). Ce résultat peut paraître surprenant puisque différentes études expérimentales ont montré une perte de poids chez des individus infectés (Atkinson *et al.*, 1988, 1995 ; Atkinson & Van Riper III, 1991). Cependant Svensson *et al.*, (1998) constatent un gain de poids en stimulant le système immunitaire chez des Mésanges bleues. Ce résultat suggère que la production lymphocytaire est liée à la prise de poids et pourrait expliquer pourquoi les individus infectés présentant une augmentation du nombre de lymphocytes sont en meilleure condition corporelle.

Une autre explication possible est liée aux contraintes écologiques. En effet, si maximiser sa condition corporelle est probablement avantageux en captivité, il n'en est pas forcément de même en conditions naturelles. L'augmentation du poids d'un oiseau peut diminuer ses capacités de vol et donc augmenter les risques de prédation. Il est donc possible qu'en conditions naturelles, il y ait un avantage à être léger. Ainsi Ots et Hōrak (1998) enregistrent une condition corporelle inférieure chez les individus sains de Mésange charbonnière et l'interprètent comme un avantage.

## **4.3) Effet pathogène des parasites ?**

Les relations entre statut infectieux et état de l'hôte ne peuvent être détectées que si le parasite considéré a un impact plus grand que tous les facteurs de variabilité non pris en compte (Ots & Hōrak, 1998) et notamment que toutes les espèces parasitaires non contrôlées. Pour les tiques et *Plasmodium*, les résultats

ont permis de détecter une relation entre la présence de parasites et l'abondance de certains leucocytes. De plus, pour *Plasmodium*, une modification de la condition corporelle a aussi été constatée. Ces résultats suggèrent donc que ces parasites pourraient représenter une pression de sélection importante pour leur hôte. L'absence de relation entre l'infection par *Haemoproteus* et la réponse immunitaire ou la condition corporelle correspond au point de vue fréquemment accepté qu'*Haemoproteus* est généralement peu pathogène (Atkinson & Van Riper III, 1991).

Cependant, même si ces relations nous conduisent à penser que ces parasites présentent probablement un effet pathogène au niveau individuel, ceci ne nous renseigne en rien sur leur action populationnelle. On peut en effet se demander si leur effet est suffisant pour se traduire au niveau des populations, notamment par une modification de la démographie. Le chapitre suivant abordera cet impact populationnel des parasites en tentant d'estimer lorsque cela est possible, l'influence des parasites sur la survie des individus.

## **CHAPITRE II**

Influence des Haemosporidiae  
sur la dynamique des  
populations

# **1) Introduction**

Depuis les premiers travaux théoriques d'Anderson et May (Anderson, 1978 ; Anderson & May, 1979 ; May & Anderson, 1979) qui ont mis en évidence le rôle que peuvent jouer les parasites, seules quelques études ont vérifié que les effectifs des populations hôtes sont réellement modifiés par l'action des parasites. Cette situation s'explique par la difficulté méthodologique à mettre en évidence un effet parasitaire. Si des manipulations du système sont possibles, elles posent de nombreux problèmes méthodologiques et éthiques et ne sont donc envisageables que pour un nombre limité de cas.

Cependant, de nombreuses populations peuvent être suivies par des protocoles de capture-marquage-recapture (CMR) qui sont plus facilement réalisables. En se basant sur les données issues de tels protocoles, il est théoriquement possible de détecter un effet régulateur des parasites sur la population hôte à travers leurs liens avec la survie et/ou la reproduction des hôtes. Cependant, si ces démonstrations sont aisées dans le cas de populations contrôlées, elles se compliquent fortement dans le cas de populations naturelles, en particulier pour l'estimation de la survie associée au statut parasitaire. Cette difficulté méthodologique impose l'utilisation d'outils spécifiques, que peuvent être les modèles de CMR. Nous présenterons au cours de ce chapitre divers résultats issus de l'utilisation de modèles\* de CMR et de modèles d'équations différentielles. Ce type d'analyses par CMR nécessite des tailles d'échantillons et des taux de recapture assez importants et nous n'avons donc pu les développer que pour les parasites sanguins et les populations urbaines. En effet, seuls les Merles urbains ont donné lieu à des recaptures en nombre suffisant et au sein de ce milieu, seuls les parasites sanguins sont présents.

\* Dans ce chapitre nous emploierons fréquemment le terme « modèle ». Selon le contexte, ce terme fera référence à des modèles statistiques permettant de comprendre des données observées ou à des modèles mathématiques d'hypothèses permettant de tester des hypothèses *a priori*.

## **2) Etude de l'incidence des parasites sur la survie adulte**

### **2.1) Introduction**

Les suivis épidémiologiques de populations naturelles conduisent à l'obtention de données complexes. En effet, à l'inverse des analyses de survie en épidémiologie humaine, le suivi individuel est massivement non exhaustif. Ainsi, à chaque occasion de capture, seuls quelques individus d'une population sont capturés, marqués et relâchés dans la population. Par la suite, les individus déjà capturés peuvent, ou non, l'être de nouveau. Cependant, un individu non recapturé n'est pas forcément mort. Il peut tout simplement échapper à la recapture. En d'autres termes, les données de CMR ainsi récoltées ne permettent pas de distinguer simplement les probabilités de survie des probabilités de recapture. Cette difficulté méthodologique peut être contournée par l'utilisation de modèles de CMR qui réalisent une estimation de la probabilité de survie indépendamment de la probabilité de recapture (Lebreton *et al.*, 1992).

Dans le cadre de la mise en évidence d'un impact parasitaire, un second problème se pose : un individu peut présenter différents états parasitaires au cours du temps (Combes, 1995). Ceci rend plus complexe la mise en évidence de l'impact parasitaire sur la survie. Cette difficulté méthodologique peut cependant être contournée par l'utilisation de modèles de CMR multi-états. Ces modèles sont une généralisation des modèles de CMR qui intègrent le fait que les individus peuvent changer d'état entre chaque occasion de capture (pour une revue, voir Lebreton *et al.*, 1992). A l'origine, ces modèles ont été développés pour prendre en compte des populations réparties spatialement dans différents sites, mais leur utilisation a été étendue en biologie évolutive pour analyser différents états individuels (Clutton-Brock, 1988 ; Gimenez, 2003). En considérant ce type d'approche, l'estimation du rôle des parasites sanguins sur la survie des Merles a été effectuée en collaboration avec Grégoire (voir Grégoire, 2003).

## **2.2) Origine des données**

Le modèle de capture-marquage-recapture (CMR) a été réalisé grâce aux données issues de l'analyse des frottis sanguins effectués sur les Merles adultes capturés de 1998 à 2002 dans le jardin de l'Arquebuse à Dijon (21). Seules les données issues de captures entre les mois de mars et juillet ont été considérées. En cas de captures multiples au cours d'une même année, un seul événement de capture a été aléatoirement conservé. Afin de limiter le nombre d'états, trois situations ont été retenues : sain, parasité par *Haemoproteus*, parasité par *Plasmodium*. Ainsi, les individus qui comportaient d'autres genres de parasites, ou des biinfections (*Plasmodium* et *Haemoproteus*) n'ont pas été considérés. Le sexe des individus n'a pas été pris en compte.

## **2.3) Réalisation des modèles multi-états**

### **2.3.1) Présentation**

Les analyses effectuées ici utilisent des modèles de CMR multi-états. Dans notre cas, l'utilisation de ces modèles permet l'estimation de trois types de paramètres entre deux saisons de reproduction successives : une probabilité de survie ( $F$ ), une probabilité de recapture ( $p$ ) et une probabilité de transition ( $\theta$ ). On définit ainsi  $\theta_{rsi}$  comme la probabilité conditionnelle à la survie d'être dans l'état parasitaire  $s$  à l'occasion  $i+1$  pour un individu dans l'état parasitaire  $r$  à l'occasion  $i$ . Le modèle le plus général considère que ces différentes probabilités peuvent varier en fonction du temps : c'est le modèle CAS (*Conditional Arnason-Schwarz modèle*, Arnason, 1973 ; Schwarz *et al.*, 1993).

### **2.3.2) Jeu de modèles**

Les différents modèles ajustés sont présentés dans le tableau 6. A l'exception du modèle CAS, aucun modèle considérant un effet du temps n'a été ajusté. De nombreux autres modèles peuvent être réalisés, mais seuls les modèles ayant une interprétation biologique *a priori* ont été ajustés (Burnham & Anderson 1998).

### **2.3.3) Choix des modèles**

La qualité d'ajustement du modèle CAS a été testée selon la méthodologie proposée par Pradel *et al.* (2003) avec la version 2.0 de U-Care (Choquet *et al.* 2003a). Nous avons utilisé le critère d'AIC (*Akaike Information Criterion*, Akaike 1973 ; Burham & Anderson 1998) pour sélectionner le meilleur modèle. Ce critère d'AIC est un critère général de choix des modèles qui pondère la qualité d'ajustement d'un modèle par son degré de parcimonie. Le plus faible AIC indique le meilleur modèle. Ces analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel M-SURGE (Choquet *et al.* 2003b).

Tableau 6 : Description des différents modèles en fonction des hypothèses *a priori* concernant l'estimation des probabilités de survie, de transition et de recapture. Le terme « STATUT PARASITAIRE » indique que la probabilité diffère selon les différents statuts parasitaires (individus sains, parasités par *Plasmodium*, parasité par *Haemoproteus*). Le terme « CONSTANTE » correspond à des probabilités indépendantes du statut parasitaire. Pour le modèle CAS, l'indication « STATUT PARASITAIRE \* ANNEE » indique que la probabilité diffère selon les différents statuts parasitaires mais aussi entre année.

Nom du modèle	Probabilité de survie estimée <i>F</i>	Probabilité de transition estimée $\phi$	Probabilité de recapture estimée <i>p</i>
CAS	STATUT PARASITAIRE * ANNEE	STATUT PARASITAIRE * ANNEE	STATUT PARASITAIRE * ANNEE
M1	STATUT PARASITAIRE	STATUT PARASITAIRE	STATUT PARASITAIRE
M2	STATUT PARASITAIRE	STATUT PARASITAIRE	CONSTANTE
M3	STATUT PARASITAIRE	CONSTANTE	CONSTANTE
M4	CONSTANTE	STATUT PARASITAIRE	CONSTANTE
M5	CONSTANTE	CONSTANTE	CONSTANTE

## **2.4) Résultats**

Au total, les histoires de capture de 144 oiseaux ont été analysées. Nous avons commencé par construire le modèle CAS. Les différents tests effectués afin d'évaluer la qualité d'ajustement de ce modèle indiquent que l'ajustement est tout à fait acceptable ( $\text{Chi}^2 = 16,641$  ; ddl = 21 ;  $p = 0,731$  ; Voir Grégoire, 2003 pour plus de détails). Ce modèle est donc une bonne approximation des données et il peut être comparé à ceux construits *a priori* grâce au calcul d'AIC (Tableau 7, page 56). Le modèle qui possède l'AIC le plus faible (M4) considère que les probabilités de survie et de recapture sont constantes et indépendantes du statut parasitaire (en d'autres

termes, que les parasites ne modifient pas la survie des individus).

Ce modèle considère aussi que les probabilités de transition diffèrent entre les états parasitaires (Tableau 8). On constate notamment que la probabilité de maintien des individus infectés par *Haemoproteus* dans le même état est nulle. Ce résultat provient du fait que dans nos données, aucun des individus parasités par *Haemoproteus* n'a été recapturé vivant avec ce même parasite (même si le modèle retenu (M4) ne montre pas d'effet des parasites sur la survie).

**Tableau 7** : Choix du meilleur modèle selon les critères d'AIC. Le modèle qui est retenu selon sa valeur d'AIC est indiqué en gras. Les modèles sont classés dans l'ordre dans lequel ils ont été réalisés (voir tableau 6 pour la signification des différents modèles). *NP* correspond au nombre de paramètres. Le *Delta AIC*, correspond à l'augmentation de l'AIC des différents modèles par rapport au modèle de plus faible AIC (M4).

Nom	AIC	Delta AIC	NP	Déviance
CAS	398,73	53,90	45	308,73
M1	351,41	6,58	12	327,41
M2	348,22	3,39	10	328,22
M3	351,40	6,57	5	341,40
<b>M4</b>	<b>344,83</b>	<b>0,00</b>	<b>8</b>	<b>328,83</b>
M5	348,24	3,41	3	342,24

**Tableau 8** : Valeurs des paramètres de la population estimées par le modèle M4 de CMR.

Etat initial	Etat final	Probabilité de transition
Sain	<i>Haemoproteus</i>	0,055
	<i>Plasmodium</i>	0,357
	Sain	0,589
<i>Haemoproteus</i>	<i>Plasmodium</i>	0,640
	Sain	0,360
	<i>Haemoproteus</i>	0
<i>Plasmodium</i>	<i>Haemoproteus</i>	0,258
	Sain	0,232
	<i>Plasmodium</i>	0,511

## **2.5) Bilan**

Parmi les modèles ajustés, le meilleur considère la survie et la probabilité de recapture constante (i.e. indépendante du statut parasitaire). Ainsi, il n'existe pas de relation entre le statut parasitaire des individus (*Plasmodium* et *Haemoproteus*) et leur survie. En revanche, les probabilités de transition dépendent des états parasitaires et ce modèle considère que, d'une année à l'autre, des individus parasités peuvent « guérir » ou être parasités par un autre genre de parasites.

Même si le modèle retenu ici ne met pas en évidence d'influence significative des Haemosporidae sur la survie, plusieurs points doivent nuancer l'interprétation de ces résultats.

Tout d'abord, aucun des individus parasités par *Haemoproteus* n'a été recapturé vivant avec ce même parasite (probabilité nulle de maintien des individus infectés par *Haemoproteus* dans le même état). Deux interprétations biologiques de ce résultat sont possibles : soit tous ces individus se sont débarrassés de ce parasite, soit ils sont morts. La seconde hypothèse devrait être rejetée car elle n'est compatible ni avec l'absence d'effet des parasites sur la survie ni avec la faiblesse de l'effet pathogène apparent d'*Haemoproteus* (voir Chapitre 1). Cependant, ce point de vue est à relativiser car ce parasite est présent à de faibles prévalences dans notre population, ce qui peut rendre difficile la détection d'un éventuel effet (faible puissance). De plus, le second meilleur modèle (M2) considère des probabilités de survie proches pour les individus sains et parasités par *Plasmodium* (respectivement 0,448 et 0,424) mais nettement inférieures pour ceux parasités par *Haemoproteus* (0,325). *Haemoproteus* pourrait donc bien diminuer la survie pour son hôte.

Face à cette situation, la réponse la plus évidente consisterait à augmenter la taille de l'échantillon analysé pour augmenter la puissance des tests. Cependant, à partir des modèles de CMR, il est possible d'évaluer la taille d'échantillon nécessaire pour mettre en évidence un effet d'*Haemoproteus* sur la survie (R. Pradel *in* Grégoire, 2003). Dans notre cas, si la plus faible survie des individus porteurs d'*Haemoproteus* est bien réelle, il faudrait au moins 10 fois plus de données pour qu'elle devienne significative, ce qui représente un effort de capture difficilement envisageable.

De plus, nous avons étudié l'influence des parasites sur la survie et les probabilités de transition chez des Merles adultes. Or, la survie adulte n'est pas la seule composante à prendre en compte et le fonctionnement du système peut être différent chez les jeunes oiseaux (Valkiūnas, 2005). Ainsi, chez le Pigeon biset *Columbia livia*, l'intensité en *Haemoproteus* affecte la probabilité de recapture des juvéniles, mais pas des oiseaux plus vieux (Sol *et al.* 2003). Cet aspect n'est malheureusement pas facile à étudier car, chez le Merle, les jeunes ont quitté le nid avant que le parasite ne soit détectable dans le sang.

L'étude de la relation hôte-parasite chez les juvéniles et la mise en évidence de l'importance éventuelle d'un effet d'*Haemoproteus* nécessite l'utilisation d'autres méthodes. Nous allons montrer comment la construction de modèles mathématiques peut constituer un outil intéressant pour aborder ces questions.

### **3) Démographie d'une population de Merles soumise à deux parasites sanguins**

#### **3.1) Introduction**

Bien que les modèles mathématiques suscitent encore parfois des réticences, liées principalement à une mauvaise compréhension de leur rôle (voir encart 2, page 59), ils ont depuis longtemps fait la preuve de leur importance dans l'étude des impacts parasitaires. Ainsi la modélisation a apporté une contribution importante dans l'efficacité de certains programmes de contrôle de la Malaria ou de l'Onchocercose (Aron & Silverman, 1994). Pour les épizooties, on peut citer la myxomatose chez les lapins (Dwyer *et al.*, 1990) ou la modélisation du rôle des nématodes *Trichostrongylus tenuis* chez le lagopède rouge d'Écosse, *Lagopus lagopus scoticus* qui a permis la mise en place de manipulations expérimentales des populations (Dobson & Hudson, 1992).

Pour aborder la relation hôte-parasite chez les juvéniles et mettre en évidence un éventuel effet d'*Haemoproteus*, nous utiliserons des modèles à compartiments classiquement utilisés pour l'étude de systèmes hôte/microparasite, (Tompkins *et*

al., 2002). Ce type de modèle permet de simuler la dynamique de la population hôtes. Ceux-ci sont divisés en différentes classes épidémiologiques, renfermant des individus non infectés (sensibles), infectés par *Plasmodium* ou infectés par *Haemoproteus*. Un système d'équations différentielles décrit les flux entrant et sortant de ces compartiments et leur dynamique associée. L'ajustement des modèles aux systèmes biologiques est permis par les estimations réalisées par le modèle de CMR.

### Encart 2 : Importance de la démarche modélisatrice en biologie

La modélisation mathématique est la représentation sous une forme mathématique d'un objet, d'un processus ou d'un système. L'utilité de la démarche modélisatrice est longtemps restée débattue en biologie, en particulier à cause d'une incompréhension fréquente des objectifs et des résultats obtenus.

Une des critiques fréquemment formulée à l'encontre des modèles est de considérer qu'ils ne sont que des simplifications de la réalité et qu'ils n'apportent pas d'informations utiles à la compréhension de systèmes biologiques complexes. Il est vrai qu'aucun modèle ne peut faire l'impasse d'une simplification qui peut être forte (c'est même leur intérêt). Mais cette simplification n'implique pas que le modèle soit inutile. Ainsi, une carte est un modèle extrêmement simplifié d'une portion de la surface du globe, qui ne représente au mieux qu'une partie de la complexité du terrain, notamment topographique (Combes, 1995). Malgré sa simplicité, personne ne nie l'utilité des cartes.

Une autre critique faite à certains modèles est qu'ils mettent en évidence le rôle de paramètres qui ne sont pas mesurables en conditions naturelles. Cette critique se justifie parfois, si le modèle contient de nombreuses variables et prédictions qui ne peuvent être mesurées expérimentalement. Cependant, si le modèle met en évidence l'importance d'une variable qui n'est pas encore mesurable, ceci n'implique pas que cette variable ne joue pas un grand rôle. De plus, ceci ne rend pas le modèle inutilisable. Les médecins utilisent en permanence des modèles qui postulent l'existence d'éléments qui n'ont pas encore été découverts.

Enfin, il est vrai qu'un certain nombre de modèles fournissent des résultats qui étaient déductibles des conditions choisies sans passer par un formalisme mathématique. Ceci ne remet cependant pas en cause la démarche, car dans bien des cas, les modèles permettent de quantifier cette connaissance. En outre, cette critique intervient souvent *a posteriori*, ce qui en limite la portée. Enfin, il faut signaler que de nombreux modèles fournissent des résultats originaux et qui n'auraient pas été mis en évidence autrement.

Aujourd'hui, l'apport de la modélisation est très largement reconnu en biologie. Au même titre que l'on utilise un microscope bien qu'il n'offre qu'une représentation imparfaite et limitée d'une cellule, on utilise des modèles pour décrire et comprendre le fonctionnement de nombreux systèmes biologiques.

## 3.2) Présentation des modèles

Dans un premier temps, il faut modéliser la dynamique de la population en l'absence de parasite : on considère qu'elle suit une croissance logistique (Verhulst, 1838) :

$$\frac{dN}{dt} = rN \left( 1 - \frac{N}{K} \right)$$

$N$  : nombre total d'oiseaux adultes au temps  $t$

$r$  : taux de croissance, égal à  $b-m$

$b$  : taux d'individus issus de la reproduction qui survivent jusqu'à l'âge adulte

$m$  : taux intrinsèque de mortalité naturelle en l'absence d'infection

$K$  : capacité limite du milieu

Pour modéliser l'effet des parasites, un certain nombre de simplifications du système biologique doivent être opérées. En premier lieu, le nombre de compartiments doit être limité, afin que l'étude analytique soit envisageable. A l'exception de leur statut pathologique, les individus seront considérés comme identiques. D'un certain point de vue, cette simplification ne semble pas être abusive puisque, dans cette étude, ni le sexe ni l'âge (yearling *vs* adultes) ne paraissent liés à la prévalence parasitaire (Chapitre 1). On a donc considéré un modèle à trois compartiments : les individus sains ( $S$ ), les individus infectés par *Plasmodium* ( $P$ ) et enfin les individus infectés par *Haemoproteus* ( $H$ ). L'effectif total de la population correspond donc à la somme des effectifs de chaque compartiment ( $N=S+H+P$ ). Le taux de transition des individus d'un compartiment 1 à un compartiment 2 est exprimé par  $\sigma_{\text{compartiment}_1\text{compartiment}_2}$ . Ainsi, le taux de transition des individus entre le compartiment « sain » vers le compartiment « *Haemoproteus* » s'écrit  $\sigma_{SH}$ .

Il reste à prendre en compte la reproduction. On considèrera dans les modèles que les parasites n'influencent pas le succès reproducteur. En effet, nous n'avons pas réussi à mettre en évidence de différence dans le succès reproducteur des individus parasités (voir Annexe 1). Il n'y a pas non plus d'arguments *a priori* pour considérer que la survie future des jeunes issus de parents infectés soit plus faible. En plus du nombre de jeunes produits, il faut considérer le statut parasitaire de

ces jeunes lorsqu'ils atteignent l'âge adulte. Ceci dépend en fait de la probabilité d'être infesté. Celle-ci peut être très différente de celles des adultes. Pour prendre en compte cette variable, trois types de situations contrastées ont été considérées.

Tout d'abord, on considère que tous les juvéniles qui atteignent l'âge adulte sont sains (Modèle A : MA). Dans ce cas le système peut s'écrire :

$$\text{MA} \left\{ \begin{array}{l} \frac{dS}{dt} = b(S + H + P) - mS - r \frac{N}{K} S - \sigma_{SH} S - \sigma_{SP} S + \sigma_{HS} H + \sigma_{PS} P \quad (1) \\ \frac{dH}{dt} = -mH - r \frac{N}{K} H - \sigma_{HS} H - \sigma_{HP} H + \sigma_{SH} S + \sigma_{PH} P \quad (2) \\ \frac{dP}{dt} = -mP - r \frac{N}{K} P - \sigma_{PS} P - \sigma_{PH} P + \sigma_{SP} S + \sigma_{HP} H \quad (3) \end{array} \right.$$

Ensuite, on considère que les juvéniles qui atteignent le stade adulte ont été infestés par *Plasmodium* et *Haemoproteus* dans les mêmes proportions que les adultes (Modèle B : MB). On considère cependant que contrairement aux adultes, les guérisons ou les changements d'états ne sont pas possibles. Par exemple, si on considère que chez les adultes la probabilité annuelle d'être infecté par *Haemoproteus* est de 5% et par *Plasmodium* de 50%, alors parmi les juvéniles qui atteignent le stade adulte 45% seront sains, 5% porteront *Haemoproteus* et 50% *Plasmodium*. Dans ce cas le système devient :

$$\text{MB} \left\{ \begin{array}{l} \frac{dS}{dt} = b(S + H + P)(1 - \sigma_{SH} - \sigma_{SP}) - mS - r \frac{N}{K} S - \sigma_{SH} S - \sigma_{SP} S + \sigma_{HS} H + \sigma_{PS} P \quad (1) \\ \frac{dH}{dt} = b(S + H + P)\sigma_{SH} - mH - r \frac{N}{K} H - \sigma_{HS} H - \sigma_{HP} H + \sigma_{SH} S + \sigma_{PH} P \quad (2) \\ \frac{dP}{dt} = b(S + H + P)\sigma_{SP} - mP - r \frac{N}{K} P - \sigma_{PS} P - \sigma_{PH} P + \sigma_{SP} S + \sigma_{HP} H \quad (3) \end{array} \right.$$

Enfin, on considère une situation où tous les juvéniles qui atteignent l'âge adulte sont infectés (Modèle C : MC). Cette situation est modélisée en utilisant les probabilités chez les adultes mais en réallouant les individus sains aux parasites selon les probabilités relatives d'infestation. Si on reprend l'exemple précédent, parmi les juvéniles qui atteignent le stade adulte, 0% sera sain, 9,1% porteront *Haemoproteus* et 90,9% *Plasmodium*. Dans ce cas le système devient :

$$\text{MC} \left\{ \begin{array}{l} \frac{dS}{dt} = -mS - r \frac{N}{K} S - \sigma_{SH} S - \sigma_{SP} S + \sigma_{HS} H + \sigma_{PS} P \quad (1) \\ \frac{dH}{dt} = b(S + H + P)\sigma_{SH} + \frac{\sigma_{SH}}{\sigma_{SH} + \sigma_{SP}} b(S + H + P)(1 - \sigma_{SH} - \sigma_{SP}) - mH - r \frac{N}{K} H - \sigma_{HS} H - \sigma_{HP} H + \sigma_{SH} S + \sigma_{PH} P \quad (2) \\ \frac{dP}{dt} = b(S + H + P)\sigma_{SP} + \frac{\sigma_{SP}}{\sigma_{SH} + \sigma_{SP}} b(S + H + P)(1 - \sigma_{SH} - \sigma_{SP}) - mP - r \frac{N}{K} P - \sigma_{PS} P - \sigma_{PH} P + \sigma_{SP} S + \sigma_{HP} H \quad (3) \end{array} \right.$$

### **3.3) Dynamique des populations sans effet des parasites sur la survie**

#### **3.3.1) Paramétrage du modèle**

A partir du meilleur modèle de CMR (M4 ; page 56), il est possible d'estimer toutes les probabilités de transition d'une occasion de capture à la suivante (Tableau 9). Ces estimations ont été transformées en temps continu pour être utilisées dans le modèle en prenant le logarithme de la valeur plus 1 (Bernstein, *com. pers.*). On considérera que ces taux de transmission sont indépendants des effectifs d'individus infectés.

Tableau 9 : Valeurs des paramètres de la population estimées par CMR et valeurs transformées en temps continu pour être utilisées dans les modèles (logarithme de la valeur plus 1). Les probabilités de transition ( $\emptyset$ ) et les taux de transition ( $\sigma$ ) sont exprimés en fonction des compartiments entre lesquels s'effectue la transition. Ainsi, par exemple, le taux de transition des individus sains vers *Haemoproteus* s'écrit  $\sigma_{SH}$ .

Valeurs estimées par les analyses de CMR		Valeurs utilisées dans les modèles de dynamique des populations	
$\emptyset_{SH}$	0,055	$\sigma_{SH}$	0,054
$\emptyset_{SP}$	0,357	$\sigma_{SP}$	0,305
$\emptyset_{HP}$	0,640	$\sigma_{HP}$	0,495
$\emptyset_{HS}$	0,360	$\sigma_{HS}$	0,307
$\emptyset_{PH}$	0,258	$\sigma_{PH}$	0,229
$\emptyset_{PS}$	0,232	$\sigma_{PS}$	0,209
Mortalité	0,565	m	0,447
		b	Variable
		K	1000

### **3.3.2) Résultats**

#### **a) Simulations**

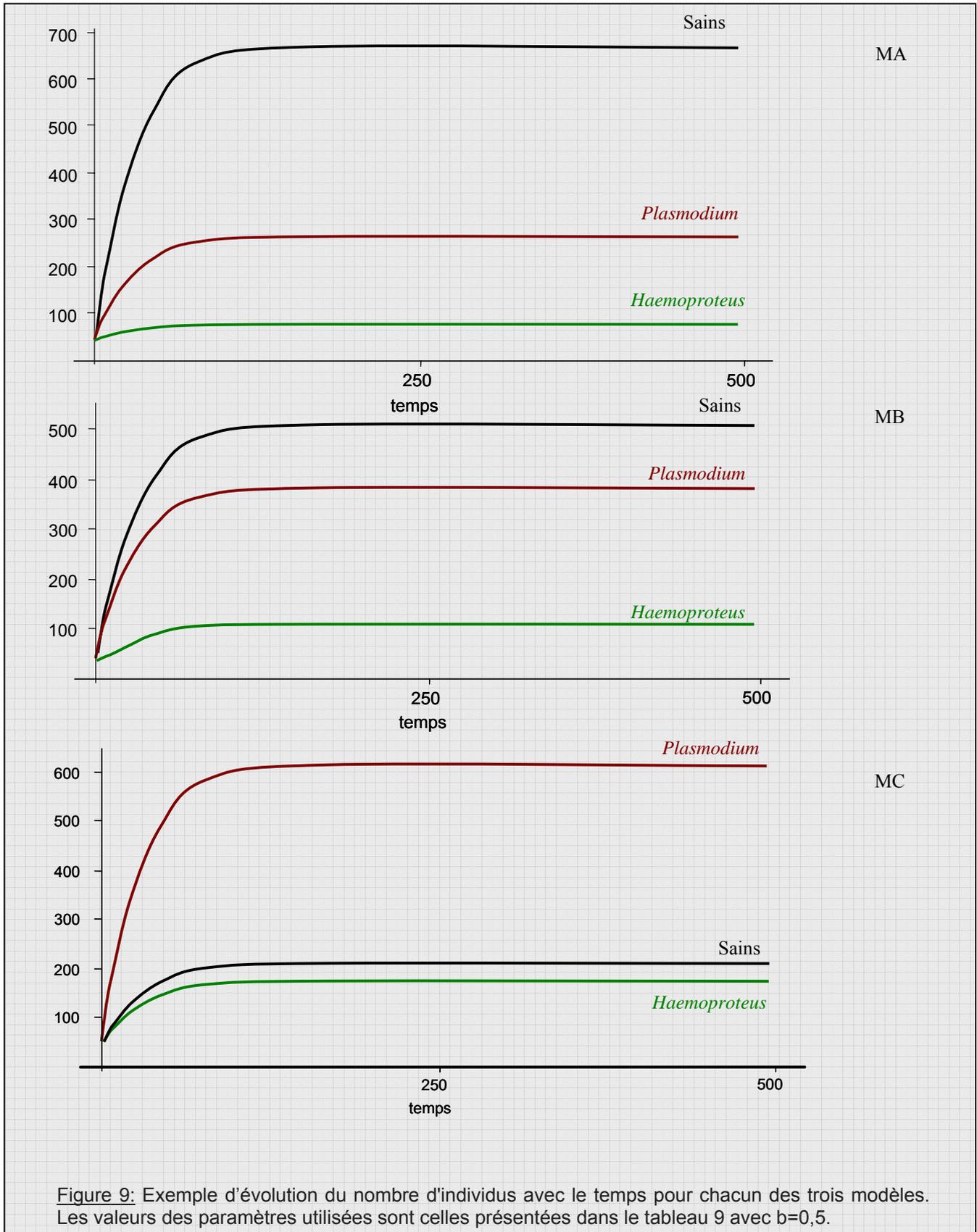
Dans un premier temps, des simulations ont été réalisées à l'aide du logiciel Dynatica (<http://biomserv.univ-lyon1.fr/proMath/DYNATICA/dynatica.html>). Ces simulations permettent d'effectuer une étude empirique et d'observer le comportement des modèles dans diverses conditions (valeurs de paramètres et conditions à l'origine). Les simulations pour le modèle à trois équations montrent qu'un état d'équilibre est atteint par les trois sous populations de statut pathologique différent (Figure 9, page 64).

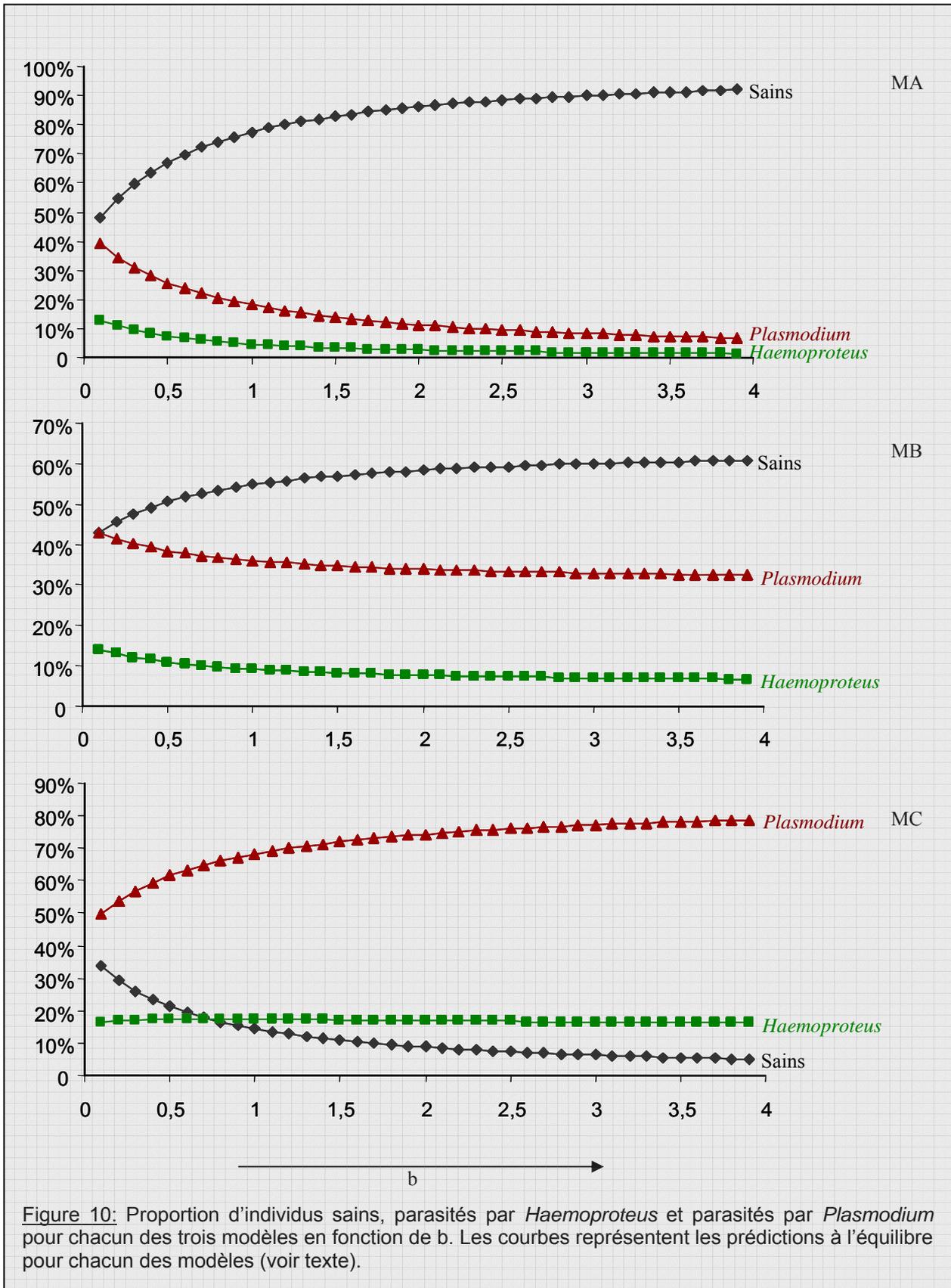
#### **b) Calcul des points d'équilibre**

Dans un premier temps, les points d'équilibre de ce système sont calculés. En dehors de l'équilibre trivial  $S=H=P=0$ , il n'existe qu'un seul équilibre dans chacun des modèles. En utilisant les valeurs des paramètres connus pour notre population, nous avons calculé le nombre d'individus à l'équilibre pour chacun des compartiments et pour les trois modèles en fonction des valeurs de  $b$  (Figure 10, page 65). Les équilibres ne sont cependant stables que pour de valeurs de  $b \geq 0,5$ , sinon, le seul équilibre stable obtenu est la disparition de la population

### **3.4) Dynamique des populations avec un effet des infections par *Haemoproteus* sur la survie**

Pour tester l'influence d'une mortalité plus forte des individus porteurs d'*Haemoproteus*, on remplace dans chacun des trois modèles le  $m$  de la seconde équation par un  $M$  qui correspond à la mortalité supérieure des individus des porteurs d'*Haemoproteus* (modèle M2 de CMR, page 56). Les valeurs utilisées dans les différents modèles sont  $m = 0,447$  et  $M = 0,516$ . Les trois modèles ainsi obtenus ont été résolus numériquement. Cette modification des modèles n'influence en rien les résultats obtenus qui sont exactement les mêmes que ceux présentés précédemment (voir Figures 9 et 10, page 64 et 65).





### **3.5) Bilan**

La réalisation des modèles d'équations différentielles a permis de montrer que seuls deux équilibres sont possibles : soit l'extinction de la population (équilibre trivial), soit la coexistence des individus sains, parasités par *Haemoproteus* et par *Plasmodium*.

De plus, si la proportion de jeunes qui survivent jusqu'à l'âge adulte est supérieur à 0,5, la situation de coexistence correspond à un équilibre stable (en dessous, seule l'extinction de la population est possible car les autres équilibres sont instables). Cette valeur correspond en fait à une situation où la natalité compense la mortalité (estimée ici à 0,447).

Pour comparer les valeurs prédites par les modèles à celles obtenues dans les populations, il faut définir une gamme de valeurs de  $b$  réalistes. Au sein de la population étudiée, une étude du succès reproducteur a mis en évidence qu'une femelle produit en moyenne 1,22 jeunes par an (Préault, 2003). Cette estimation est peut être une sous-estimation car certaines nichées ont pu échapper au suivi de reproduction. La survie des juvéniles est elle, difficilement quantifiable variant entre 28 % et 88 % (*in* Cramp, 1988). Bien que les estimations de la survie des juvéniles jusqu'à l'âge adulte soient incertaines, il semble donc que  $b$  puisse être parfois supérieur à 0,5. De plus, même si la reproduction n'assure pas le maintien de la population, celle-ci peut être soutenue par l'apport d'individus immigrants venant d'autres populations par exemple à travers un fonctionnement « source-puit » (Pulliam, 1988). Nous n'avons pas d'arguments précis à ce sujet dans notre cas (en dehors de captures, à chaque fin de saison de reproduction, de juvéniles d'origine extérieure à notre population urbaine), mais un tel fonctionnement chez le Merle noir a été clairement suggéré par Ribaut (1964) et Hatchwell *et al.* (1996).

La modélisation de trois situations contrastées pour les juvéniles montre que cet aspect a une influence essentielle sur les prévalences observées chez les adultes. En revanche, la prise en compte d'une mortalité plus forte des individus adultes parasités par *Haemoproteus* ne change absolument rien aux prévalences observées. Les modèles permettent d'estimer que les juvéniles qui atteignent le stade adulte ont été infestés par *Plasmodium* et *Haemoproteus* dans des

proportions légèrement supérieures aux adultes (correspondant à une situation entre les modèles MB et MC). Ce résultat rejoint un certain nombre d'observations qui montrent une plus grande infection des juvéniles par rapport aux adultes (voir Valkiūnas (2005) pour un bilan sur les relations entre âge de l'hôte et infection par des Haemosporidae).

Différents mécanismes peuvent être évoqués pour comprendre l'évolution de la prévalence des juvéniles de leur naissance jusqu'à l'âge adulte. On peut par exemple penser que la prévalence chez les adultes reflète les capacités de résistance au sein de la population juvénile puisque l'acquisition d'une immunité peut se faire très tôt dans la vie des individus (Wilson *et al.*, 2002). Les prévalences observées chez les adultes peuvent aussi être dues à l'existence d'une mortalité liée aux parasites chez les juvéniles. En effet, si nous n'avons pas mis en évidence d'effet des parasites sur la survie des adultes, les choses peuvent être très différentes chez les juvéniles (Sol *et al.*, 2003). Etant donnée l'importance du stade juvénile sur le fonctionnement du système chez les adultes, il semble essentiel de mettre en place des études visant à décrire et à comprendre les facteurs qui influencent l'évolution des prévalences et l'effet des parasites chez les juvéniles.

## **4) Discussion générale sur les modèles**

### **4.1) Limites de cette étude**

Malgré son intérêt, cette étude présente différentes limites. Il est tout d'abord important de préciser que les modèles multi-états utilisés ici reposent sur des processus markoviens d'ordre 1. Ceci signifie que ces modèles considèrent que le paramètre mesuré au temps  $i$  dépend uniquement de l'état de l'individu au temps  $i-1$ . De plus, par rapport au nombre de paramètres à estimer, la taille de l'échantillon était relativement faible (Gimenez, 2003). Ceci conduit à des estimations peu précises de certains paramètres de transition (voir Grégoire, 2003 pour plus de détails). Enfin, nous avons utilisé des méthodes de détection visuelle des parasites qui peuvent conduire à sous estimer les prévalences parasitaires (voir Chapitre 3).

Concernant les modèles d'hypothèses qui en découlent, des contraintes particulières s'ajoutent. L'une d'entre elles est liée au choix d'un modèle logistique pour représenter la densité-dépendance de la croissance de la population. Le choix d'une mortalité densité-dépendante et d'une natalité constante ne peut être vérifié à partir de nos données. Ce choix peut conduire à une stabilité excessive des effectifs autour de la capacité limite du milieu.

De plus, ces modèles considèrent que les taux de transition et de mortalité déterminés à partir de l'étude de notre population durant cinq ans correspondent à des taux constants. Ainsi, on suppose que les caractéristiques de la population d'oiseaux, de l'environnement et des parasites ne se modifient pas au cours du temps. Ceci n'est pas une limite forte puisque l'environnement est relativement stable sur de courtes périodes et on peut donc considérer que les caractéristiques de la population ne se modifient pas. Nous avons également considéré que les taux de transition étaient constants quels que soient les effectifs en Merles et en parasites. Ceci est probablement le cas pour *Plasmodium*, généralement considéré comme un parasite à large spectre d'hôtes et dont les effectifs dépendent probablement de la dynamique de nombreuses autres espèces d'oiseaux (Valkiūnas, 2005). En revanche, pour *Haemoproteus* qui présente un spectre plus restreint, cet aspect est plus discutable. En effet, la probabilité pour un individu de se faire infecter n'est pas *a priori* indépendante du nombre d'individus infectés dans la population. Enfin, nous avons considéré que les taux de transition estimés par les modèles de CMR étaient des estimations précises. Ce point est discutable pour certaines d'entre elles et il semblerait intéressant d'approfondir l'incidence d'éventuelles mauvaises estimations (analyse de stabilité).

## **4.2) Intérêt de la démarche**

La mise en évidence de l'effet des parasites sur la survie au sein des populations naturelles est un problème complexe car ces populations sont généralement ouvertes et les individus peuvent changer de statut parasitaire au cours de leur vie. L'utilisation des statistiques associées aux données de CMR multi-états telle que proposée ici permet une approche rigoureuse de ce type de

situation et pourrait donc être utilisée pour d'autres types de parasites en populations sauvages. Un autre intérêt de ces modèles est qu'ils estiment tous les taux de transition entre les états parasitaires. Ils fournissent ainsi les paramètres nécessaires pour la réalisation de différents modèles d'hypothèses (basés sur des équations différentielles) permettant de prendre en compte des paramètres difficilement accessibles par d'autres démarches.

Les modèles populationnels que nous avons développés ne concernent que la population de l'Arquebuse. Or, le Merle est une espèce ubiquiste que l'on retrouve dans presque tous les milieux. Nous aborderons au cours du prochain chapitre, l'incidence du milieu de vie (structuration spatiale) sur le fonctionnement de la relation hôte-parasite.

## **CHAPITRE III**

Structuration spatiale de la  
relation Merle noir - parasites :  
mise en évidence et  
facteurs explicatifs

# **1) Introduction**

Les écologues ont longtemps prêté peu d'attention à la distribution spatiale des populations (Hanski, 1999). Cependant, le développement de modèles de métapopulations (Levins, 1968 *in* Hanski, 1999) a progressivement conduit à mettre en évidence son importance. De plus, l'hétérogénéité spatiale de l'habitat est renforcée par l'action humaine. En effet, l'homme fragmente et réduit les habitats naturels au profit de surfaces agricoles et urbanisées. Ainsi, en France, les surfaces anthropisées et urbaines (habitats, infrastructures, bâtiments divers, équipements sportifs ou de loisirs) représentent 8% du territoire national. Les superficies de ces zones artificielles sont passées de 38 000 km<sup>2</sup> à 43 000 km<sup>2</sup> en huit ans (1992-2000), soit une augmentation annuelle de 1,6% (Institut français de l'environnement, 2005).

Ces modifications ont permis à certaines espèces de s'implanter durablement avec des effectifs parfois importants dans des habitats nouveaux comme le milieu urbain (Luniak *et al.*, 1990 ; Vuorisalo *et al.*, 2003). L'étude des populations urbaines semble particulièrement intéressante car, de par ses spécificités, le milieu urbain impose des contraintes parfois très différentes du milieu d'origine. Cependant, ces populations urbaines ont longtemps été sous étudiées par les écologues. Ainsi, chez les oiseaux, 75% des 101 études portant sur le milieu urbain ont été réalisées au cours de ces vingt dernières années (Marzluff *et al.*, 2001). De plus, parmi ces études, la plupart s'attachent à décrire les communautés, les études intra-spécifiques et populationnelles demeurant largement minoritaires (37 études seulement pour la période 1900-2000 ; Marzluff *et al.*, 2001). Ces travaux semblent insuffisants pour comprendre la complexité du fonctionnement des populations urbaines et *a fortiori*, la relation avec leurs parasites.

Nous chercherons au cours de ce chapitre à identifier des différences inter-habitats dans la distribution des parasites mais aussi à déterminer de possibles

facteurs explicatifs. En effet, les variations spatiales de la relation hôte-parasite peuvent s'interpréter en termes de modifications des facteurs écologiques (comme par exemple différents facteurs abiotiques) ou par d'autres facteurs (comme une résistance locale des populations).

Mieux appréhender l'incidence des facteurs du milieu sur la présence de parasites au sein des villes est essentiel pour comprendre le fonctionnement des populations (voir par exemple Robert *et al.*, 2003). Cette démarche, visant à préciser les conséquences de l'anthropisation sur les relations hôte-parasite, est aussi en lien avec les problématiques de santé publique. En effet, l'augmentation du nombre d'animaux sauvages dans les villes accroît nettement la fréquence des contacts avec l'homme et les animaux domestiques. Or, parmi les causes de développement des maladies dites émergentes figure le franchissement de la barrière spécifique, franchissement favorisé par le contact récurrent avec des animaux qui servent de réservoir de maladies infectieuses. C'est par exemple le cas de la Fièvre de Corée (virus Hantaan) transmise par les rongeurs ou le cas du virus du SRAS qui a sauté la barrière d'espèce probablement d'un animal comestible à l'homme (Institut Pasteur, 2005). Le problème est d'ailleurs renforcé chez les oiseaux car, en plus d'être abondants, ils présentent la particularité de pouvoir facilement se disperser dans les différents milieux et sont donc potentiellement capables d'introduire des parasites en milieu urbain.

Le Merle représente de ce point de vue, une espèce modèle très intéressante. En effet, on observe chez cette espèce des densités jusqu'à dix fois plus forte en milieu urbain alors que la colonisation du milieu urbain est récente (XIX<sup>ème</sup> siècle) (Isenmann, 2000). Bien qu'aucune relation de cause à effet n'ait été établie, il existe des disparités dans les prévalences parasitaires au sein de chaque habitat. Il semble que la prévalence en parasites sanguins soit plus faible en ville (Grégoire, 2003), mais cette étude ne compare qu'un site urbain à un site forestier et ne peut donc réellement différencier l'effet site de l'effet habitat : les tendances qui s'en dégagent demandent donc à être confirmées. De plus, les méthodes de détection optique utilisées conduisent à une forte sous estimation des prévalences qui semblent dépendante du niveau d'infestation (Jarvi *et al.*, 2002 ; Waldenström *et*

*al.*, 2002). Nous avons donc développé une méthode d'analyse moléculaire qui permet d'améliorer la détection. Nous discuterons ce qu'implique l'utilisation de cette nouvelle méthode pour notre compréhension du fonctionnement spatial de la relation hôte-parasite. Enfin, une étude récente a montré à l'échelle de la région de Bourgogne, que les populations urbaines présentent une *quasi* absence de tiques alors que plus de 70% des individus forestiers sont infectés (Grégoire *et al.*, 2002). Nous chercherons à étudier à plus grande échelle s'il est possible de mettre en évidence une structuration des prévalences parasitaires en tiques et si ces variations peuvent s'expliquer par des résistances locales des populations ou par des différences de structure du milieu.

## **2) Variabilité inter-habitat des parasites sanguins**

### **2.1) Mise en évidence d'une variabilité**

#### **2.1.1) Matériel et méthodes**

##### **a) Obtention des données**

Les données utilisées dans ces analyses correspondent à des captures réalisées de mars à juillet entre 1998 et 2002. Seuls les individus adultes et yearling ont été pris en compte. En cas de captures multiples d'un individu, une seule donnée a été aléatoirement conservée. Les prévalences et les intensités en parasites ont été déterminées par lecture de frottis sanguins (voir matériel et méthodes général). Quatre sites ont été pris en compte :

- deux sites en habitat urbain à Dijon (parcs de l'Arquebuse et de la Coulée verte)
- deux autres sites au sein du massif forestier des Crochères, situé à environ 30 km à l'est de Dijon (Crochères partie « Auxonne » et partie « Dole »)

Afin de nous affranchir d'un effet potentiel d'une structuration temporelle entre les sites de capture, les données retenues ont été choisies pour que les dates de

capture soient comparables entre les différents sites (Kruskall-Wallis : ddl = 3 ;  $\text{Chi}^2 = 4,53$  ;  $p = 0,21$ ).

De plus, deux autres sites ont été étudiés ponctuellement dans la région lyonnaise. L'un correspond à un parc urbain situé sur le campus de la Doua à Villeurbanne et l'autre est un site forestier situé à environ 35 km de Lyon, appartenant à la fondation Pierre Vérots. Toutefois, les faibles effectifs obtenus et le caractère ponctuel de ces captures ne nous ont pas permis d'intégrer les données de la région lyonnaise dans nos analyses. Ces données ne nous serviront donc qu'à titre d'illustration.

## **b) Analyse statistique**

Pour analyser la structuration spatiale des prévalences, nous avons utilisé un modèle de régression logistique. Les facteurs habitat et site ont été hiérarchisés en considérant que chaque type d'habitat se subdivise en deux sites. Les analyses ont été réalisées avec JMP 5.0.1 ( SAS Institute Inc.).

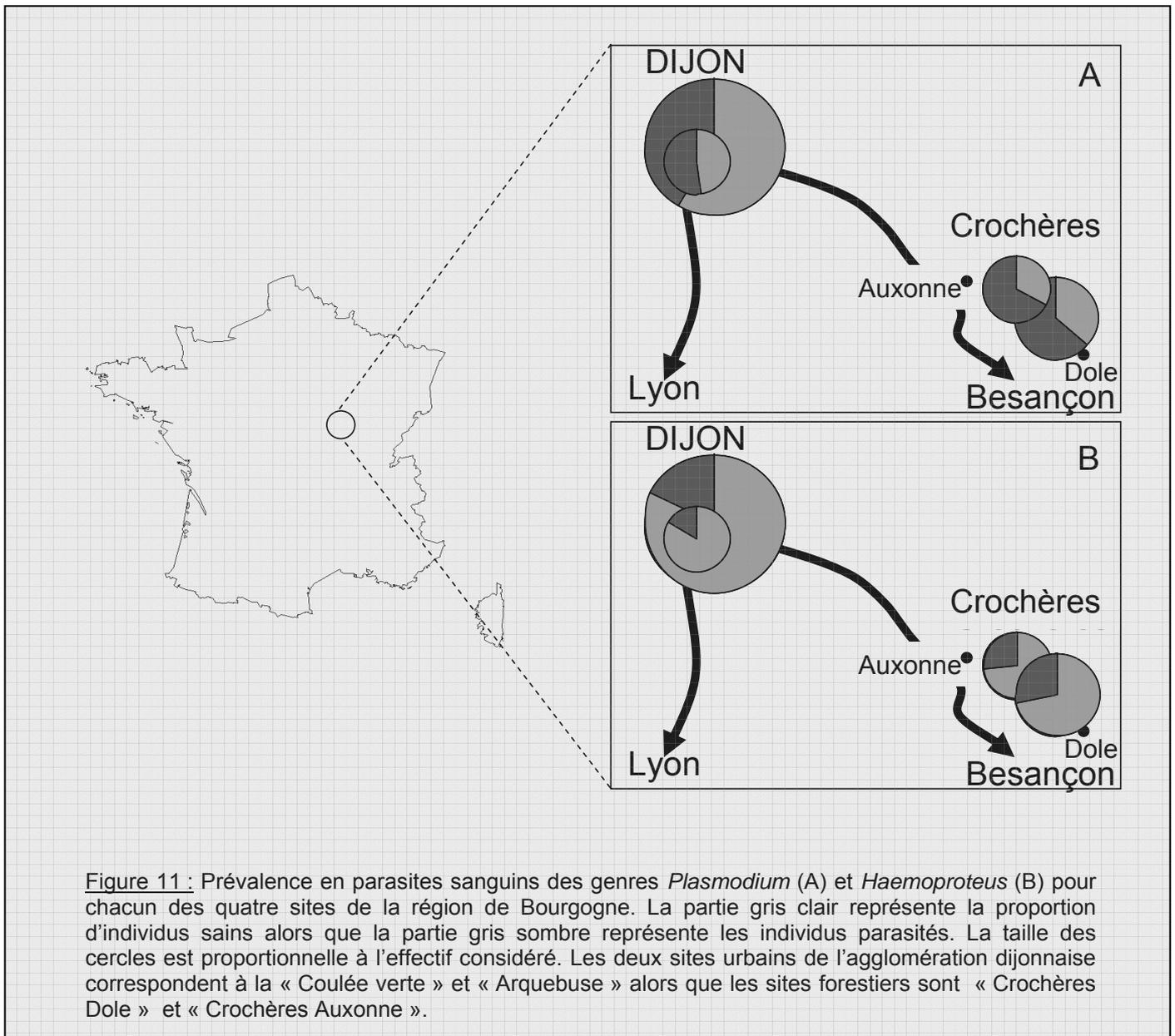
### **2.1.2) Résultats**

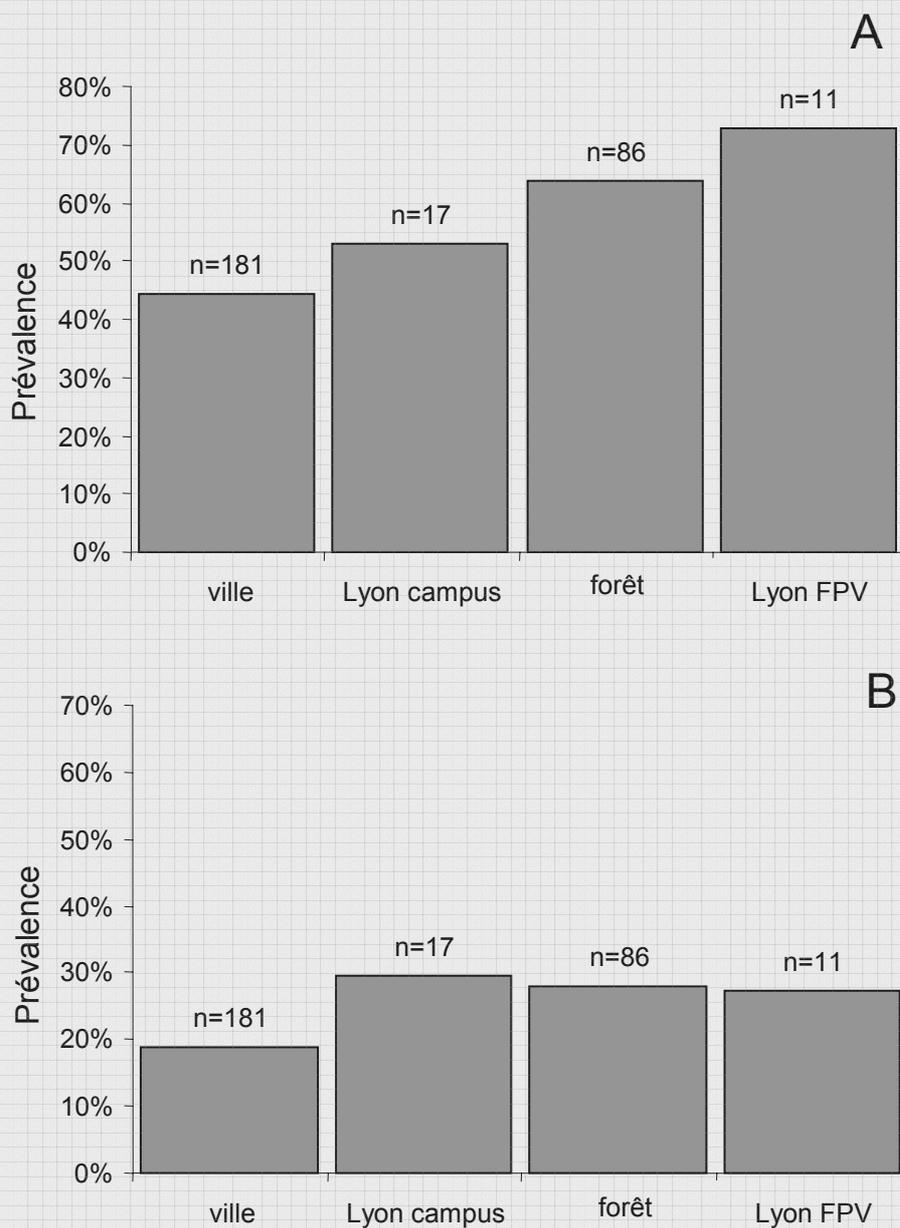
Entre les quatre sites de capture, les proportions de chaque sexe, de yearling et d'adultes ne diffèrent pas significativement (respectivement :  $\text{Chi}^2$  de Pearson = 0,985 ;  $p = 0,805$  |  $\text{Chi}^2$  de Pearson = 2,038 ;  $p = 0,916$  ). Les données ont donc été regroupées.

Pour *Plasmodium*, la prévalence en parasites est plus importante au sein des habitats forestiers que dans les habitats urbains ( $\text{Chi}^2$  de Wald = 4,195 ; ddl = 1 ;  $p = 0,038$  ; Figure 11 A, page 75). En revanche, au sein de chaque habitat, les sites ne diffèrent pas les uns des autres ( $\text{Chi}^2$  de Wald = 1,180 ; ddl = 2 ;  $p = 0,554$ ).

Pour *Haemoproteus*, aucun patron n'est observé que ce soit entre habitats ( $\text{Chi}^2$  de Wald = 2,520 ; ddl = 1 ;  $p = 0,112$  ; Figure 11 B, page 75) ou entre sites au sein de ces habitats ( $\text{Chi}^2$  de Wald = 0,231 ; ddl = 2 ;  $p = 0,891$ ).

Si l'on compare les résultats obtenus en Bourgogne avec ceux obtenus dans la région lyonnaise, on observe pour *Plasmodium* une structuration entre habitat urbain et forestier qui semble similaire (Figure 12 A, page 76). Pour *Haemoproteus*, aucune différence ne semble se manifester entre les deux sites (Figure 12 B, page 76).





**Figure 12 :** Comparaison des prévalences en parasites sanguins des genres *Plasmodium* (A) et *Haemoproteus* (B) entre les sites de la région Bourgogne et ceux de la région lyonnaise. « ville » correspond aux deux sites urbains bourguignons alors que « forêt » correspond aux deux sites

forestiers bourguignons. « Lyon campus » est un site urbain situé à Villeurbanne alors que « Lyon FPV » est un site forestier situé à 35km de Lyon au sein de la Fondation Pierre Vérots.

## **2.2) Importance de la méthode de détection des parasites**

Pour compléter notre travail sur la variabilité spatiale, nous avons voulu vérifier l'importance de la méthode de détection utilisée sur les patrons de distribution spatiale. Pour cela, en collaboration avec S. Bentz (ATER, Université de Bourgogne), nous avons mis au point une méthode de détection moléculaire que nous avons ensuite comparée à la méthode traditionnelle par détection visuelle.

### **2.2.1) Matériel et méthodes**

#### **a) Définition des types moléculaires de parasites**

Un sous échantillon de vingt prélèvements représentant la plus grande diversité possible de morphotypes déterminés par lecture de frottis (notamment les différentes espèces de *Plasmodium* et d'*Haemoproteus* déterminées visuellement ; voir Figure 4, page 19) a été sélectionné pour analyser la diversité génétique. Ces échantillons ont été séquencés pour (i) vérifier la concordance entre la variabilité morphologique et la variabilité moléculaire (définition de types moléculaires) et (ii) définir des enzymes de restriction permettant de caractériser chacun des types moléculaires.

#### **b) Extraction de l'ADN**

L'ADN est isolé à partir de 400µL de sang conservé dans du tampon de conservation (Queen's lysis buffer ; Seutin *et al.*, 1991). Les échantillons sont incubés avec 20µL de protéinase K (10mg/mL) à 55°C pendant deux heures. Ensuite, une première extraction est faite avec une solution alcoolique de phénol-chloroforme-isoamyl (25:24:1). Une seconde extraction a lieu dans une solution alcoolique de chloroforme-isoamyl (24:1). L'ADN est ensuite précipité dans une

solution d'éthanol à 95%, additionnée avec 1/10 d'acétate de sodium 3M (pH=5,5), lavé deux fois avec de l'éthanol à 70% et repris dans 50 µL d'H<sub>2</sub>O.

### **c) Détermination des primers et conditions de réalisation des PCR\***

Les primers sont déterminés grâce à un alignement des séquences réalisé en utilisant le logiciel BioEdit (Hall, 1999) et grâce à 80 séquences du cytochrome b publiées pour les espèces de *Plasmodium*, *Haemoproteus* et *Leucocytozoon* et obtenues sur des hôtes aussi différents que les mammifères, les oiseaux et les « reptiles » (banque de données « Entrez Nucleotides » disponible sur le site du NCBI < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide>>). Nous avons défini deux primers : HaemoFmod (5' TTACAAGGTAGCTCTAATCCTTT 3'), qui est le même que HaemoF (Perkins & Schall, 2002) mais qui est un petit peu plus court à l'extrémité 3' et CytbHaeR (5' TTGTGGTAATTGACATCCAAT 3').

Pour obtenir un contrôle de la qualité de l'ADN utilisé, nous avons aussi déterminé des primers spécifiques de l'ADNr 18S du Merle noir (OisF18 : 5' GTGAAACTGCGAATGGCTCAT 3' et OisR18 : 5' CAAGATCCAACACTACGAGCTTT 3'). Pour vérifier l'absence d'une éventuelle contamination de nos échantillons, nous avons intercalé un échantillon blanc (eau sans ADN) tous les 10 échantillons.

L'ADN a été dilué dix fois pour les réactions de PCR. Le « Mix » de PCR a été réalisé avec Eurobio Taq et les réactifs fournis par le fabricant (Laboratoire Eurobio). La PCR a été réalisée dans des volumes finaux de 50 µl avec une concentration de 1,3 mM de MgCl<sub>2</sub>. Les échantillons ont ensuite été soumis à 35 cycles de 4 minutes (dénaturation : 95°C, 1min ; hybridation : 50°C, 1min ; élongation 72°C, 2min | T3Thermocycler, Biometra) se terminant par 10 minutes à 72°C. Les produits d'amplification ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5%.

#### **d) Définition des types génétiques**

\* PCR constitue l'abréviation anglaise de *réaction de polymérisation en chaîne* (Polymerase Chain Reaction).

purifiés en utilisant un kit de purification de l'agarose (Fermentas) et envoyés à MacroGen pour séquençage. Les 20 séquences obtenues étaient constituées de trois « génotypes ». Ces séquences ont été analysées avec le serveur BLAST (<http://www.ncbi.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>) pour examiner le degré de similitude avec des séquences existantes. Or, les espèces déterminées à partir de la lecture de frottis (*Haemoproteus fallisi*, *H. minutus*, *Plasmodium giovanolai* et *P. vaughani*) n'apparaissent pas dans la base de données de séquences disponibles (banque de données « Entrez Nucleotides »). Nous ne pouvons donc confirmer nos déterminations optiques avec les génotypes. Cependant, nous pouvons rapprocher nos séquences des autres séquences connues.

Le premier des trois génotypes correspond aux deux morphotypes d'*Haemoproteus* identifiés visuellement (*H. fallisi* et *H. minutus*). Cette séquence est très proche de celles du genre *Haemoproteus* et ne présente que 4 différences parmi les 400 bases alignées avec *Haemoproteus* sp. haplotype HLW1 (AY099042.1) et *Haemoproteus* sp. haplotype 22 (AF465574.1).

Le second génotype correspond au morphotype de *Plasmodium vaughani*. La séquence ressemble à celle de *Plasmodium* sp. souche OZ35 (AY540217.1) puisqu'il n'y a que 12 bases différentes sur 400.

Enfin, le troisième génotype avait été identifié visuellement comme *Plasmodium giovanolai*. La séquence que nous avons obtenue se rapproche de six autres séquences de *Plasmodium* (7 bases différentes sur 400) : *Plasmodium relictum* isolat ATCC (AY733089.1), *Plasmodium* sp. issu de *Larosternai* (AY099036.1), *Plasmodium relictum* souche ATCC (AY099032.1), *Plasmodium relictum* isolat jB3 (AY733088.1), *Plasmodium* sp. haplotype 56 (AF465556.1) et *Plasmodium* sp. E2 (AY640145.1). Dans la suite de ce travail, nous parlerons pour chacun des trois types génétiques de *Haemoproteus* sp., *Plasmodium* sp. 1 et *Plasmodium* sp. 2 respectivement.

Pour chacun de ces types, une carte de restriction a été établie sous Bioedit et a permis de choisir des endonucléases permettant de les discriminer :

- MunI est spécifique du type *Haemoproteus*.
- si MunI ne coupe pas la séquence, BsrDI permet de distinguer *Plasmodium sp. 1* et *Plasmodium sp. 2*,

- enfin, Ssp1 coupe toujours les séquences mais selon des patrons spécifiques. Elle est utilisée systématiquement en complément des deux enzymes précédentes pour confirmer les résultats et minimiser ainsi les risques d'erreur vis-à-vis d'autres espèces de parasites qui pourraient être présentes.

L'utilisation de ces trois endonucléases permet donc d'identifier par PCR-RFLP\* chacun des trois génotypes. Dans la suite de ce travail, nous ne distinguerons cependant pas *Plasmodium sp. 1* et *Plasmodium sp. 2* car cette distinction n'a pas pu être réalisée pour la méthode visuelle. Nous parlerons donc plus généralement de *Plasmodium*.

### **e) Analyses statistiques**

Un sous échantillon de 85 individus répartis au sein des milieux urbains et forestiers a été pris en compte. Pour comparer l'efficacité de la détection par PCR à celle par lecture optique, nous avons utilisé un test des signes. De plus, en considérant que la PCR diminue le seuil de détection (approchant ainsi la « vraie » prévalence), nous avons calculé pour la méthode de détection optique la **sensitivité** (la probabilité de détection visuelle du parasite sachant, par PCR, que l'individu est infecté) et la **spécificité** (la probabilité de ne pas détecter visuellement le parasite sachant, par PCR, que l'individu n'est pas infecté).

Pour les deux genres de parasites sanguins et pour chacune des méthodes de détection, nous n'avons pas trouvé d'influence significative du sexe ou de l'année de capture. Les données seront donc regroupées pour les analyses. De même, aucune interaction n'a été détectée entre les différents genres parasitaires et nous avons

\* Le sigle RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism ou Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction) évoque la méthode qui consiste à utiliser des endonucléases pour digérer les produits de l'amplification par PCR, afin d'en révéler le polymorphisme.

donc traité chaque genre séparément. Toutes les analyses ont été réalisées en utilisant JMP 5.0.1 (SAS Institute Inc.).

## **2.2.2) Résultats**

### **a) Comparaison des deux méthodes**

La méthode par PCR améliore de manière significative la détection des parasites (Test des signes :  $n = 85$  ;  $p < 0,0001$ ). Cette amélioration semble générale puisqu'elle concerne les deux genres de parasites ainsi que les individus bi-infectés (Figure 13).

Cette amélioration de la détection a été quantifiée par le calcul de la sensibilité de la méthode de détection optique. D'une manière générale, 69,9% des individus portant au moins un des parasites (détection par PCR) sont réellement détectés comme infectés par détection optique. Si l'analyse est menée pour chaque situation parasitaire, le niveau de détection par la méthode visuelle chute, en particulier pour les individus bi-infectés (Tableau 10, page 82). La spécificité de la détection visuelle reste en revanche bonne que ce soit d'une manière générale (87,5%) ou pour chaque situation parasitaire (Tableau 10, page 82).

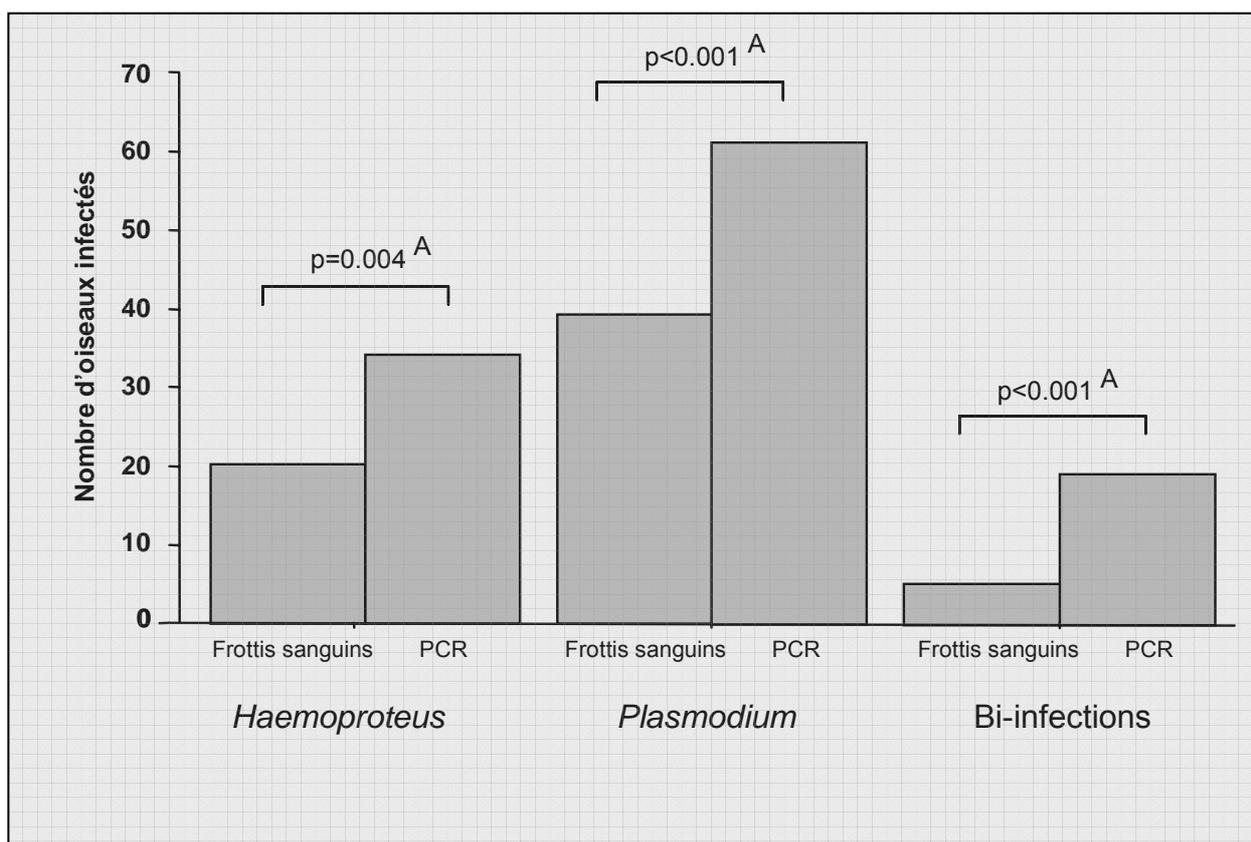


Figure 13: Nombre d'oiseaux infectés par des parasites pour chaque genre de parasites et pour les individus bi-infectés selon la méthode de détection utilisée. A indique les valeurs de  $p$  obtenues par un test des signes comparant les deux méthodes.

Tableau 10: Prévalence estimée par PCR et par lecture optique de frottis sanguins. La sensibilité et la spécificité de la lecture optique par rapport à la PCR sont aussi indiquées (n = 85).

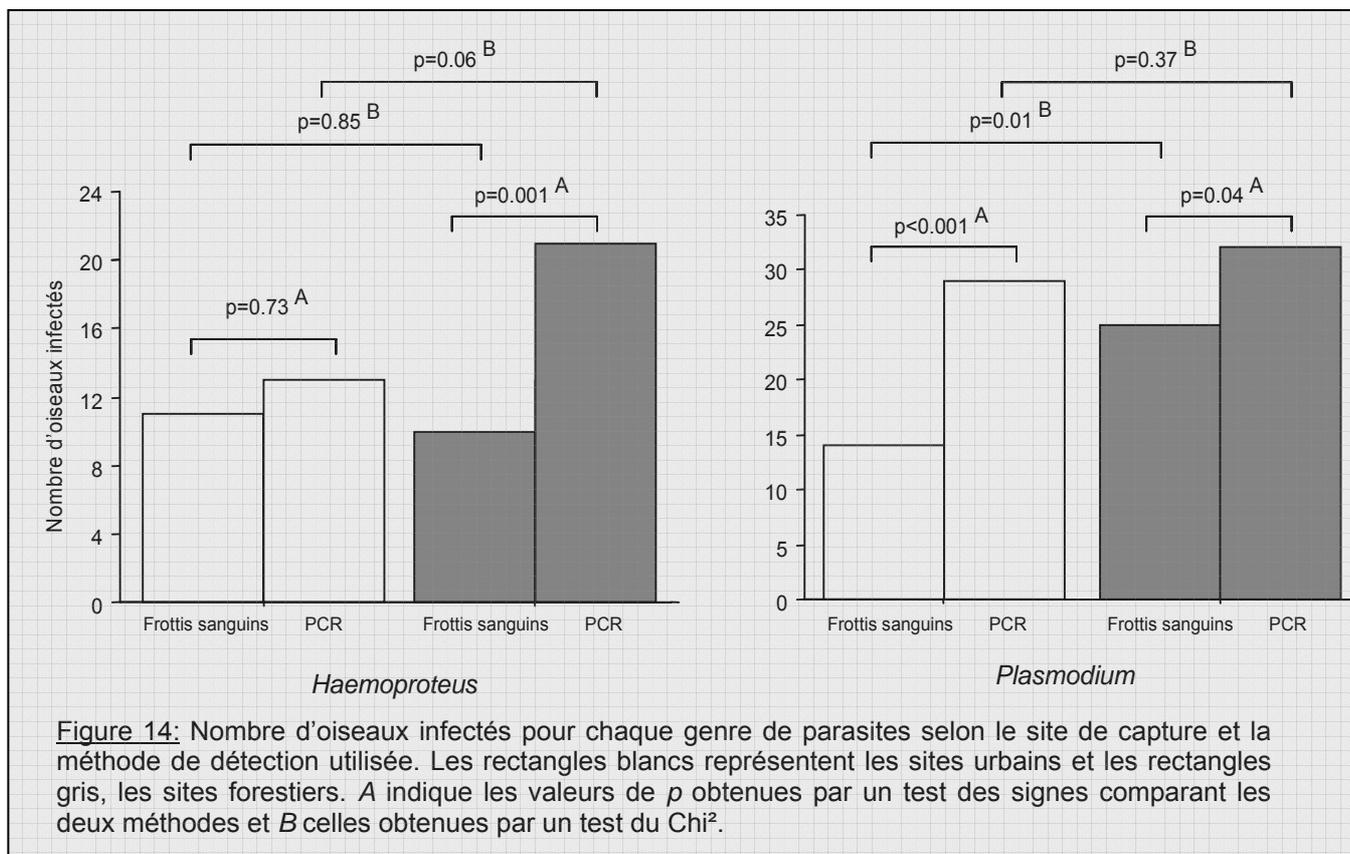
	Prévalence par PCR (vraie)	Prévalence par frottis sanguins (estimation)	Sensitivité de la méthode par frottis	Spécificité de la méthode par frottis
<i>Haemoproteus</i>	40%	24,7%	61,7%	85,7%
<i>Plasmodium</i>	71,76%	45,88%	58,5%	95,1%
Bi-infection	22,35%	5,88%	26,3%	100%

## **b) Variabilité spatiale des prévalences avec chacune des méthodes**

A partir de l'analyse des frottis sanguins, aucune différence significative n'a été observée entre les sites urbains et forestiers pour la prévalence en *Haemoproteus*. La même comparaison effectuée cette fois avec les données issues de PCR ne montre pas non plus de différence significative, mais il existe une tendance à observer des prévalences plus fortes en forêt (Figure 14, page 83).

Pour *Plasmodium*, les résultats sont inversés. L'analyse des frottis sanguins montre une prévalence plus forte en forêt alors que l'analyse par PCR ne montre aucune différence significative entre les deux sites (Figure 14, page 83).

Ces résultats s'expliquent par une amélioration de la détection, différente selon les habitats. Ainsi, pour *Haemoproteus*, la PCR augmente significativement la détection en forêt mais pas en ville. A l'inverse, pour *Plasmodium*, la PCR augmente beaucoup plus fortement la détection en ville qu'en forêt.



### **3) Structuration spatiale des prévalences en tiques**

#### **3.1) Matériel et méthodes**

##### **3.1.1) Obtention des données**

Nous avons analysé ici uniquement les données nationales issues de la collaboration avec le CRBPO (voir Grégoire *et al.*, 2002 pour une analyse des données locales). En complément, pour chacun des 56 sites de capture, nous avons pu obtenir des descriptions du milieu qui correspondent à l'occupation du sol selon la nomenclature CORINE LAND COVER (Institut français de l'environnement, 2005). Ce programme repose sur une nomenclature standard selon cinq grands

types d'occupation du territoire, eux-mêmes subdivisés en sous catégories. L'utilisation de modèles SIG a permis de déterminer pour chaque site la proportion de ces différentes catégories (R. Julliard, *com.pers.*).

### **3.1.2) Analyses statistiques**

Pour les individus capturés plusieurs fois, seule une des captures a été retenue, au hasard, pour figurer dans les analyses. Les données en prévalence ont tout d'abord été analysées pour vérifier l'existence d'un effet station en utilisant une régression logistique. Nous avons également pris en compte dans nos analyse l'âge (yearling vs adulte), le jour de capture (nombre de jours depuis le premier mars), et la station de capture.

Nous avons comparé les prévalences en tiques sur les Grives musiciennes et les Merles noirs (dans les stations où les effectifs de Grives et de Merles sont supérieurs à dix) avec un test de Kolmorov-Smirnov. Pour simplifier les descriptions des milieux, nous avons réalisé une ACP sur ces stations. Les axes ont été interprétés en terme de description globale de structuration du milieu. Les coordonnées factorielles de chaque station représentent donc une mesure de cette description globale pour chacune des stations. Ces valeurs ont par la suite été utilisées pour réaliser une régression logistique avec les prévalences observées au sein de ces stations. En dehors de l'ACP réalisée avec ADE4 (Thioulouse *et al.*, 1997), les analyses ont été réalisées avec JMP 5.0.1 ( SAS Institute Inc.).

## **3.2) Résultats**

### **3.2.1) Mise en évidence d'une structuration spatiale**

Les prévalences en tiques ne variant ni entre années (Voir Chapitre 1 :  $\text{Chi}^2 = 3,29$  ; ddl = 2 ; p = 0,19), ni entre mâles et femelles (Voir Chapitre 1 :  $\text{Chi}^2 = 1,48$  ; ddl = 1 ; p = 0,22), ces paramètres n'ont pas été pris en compte dans l'analyse

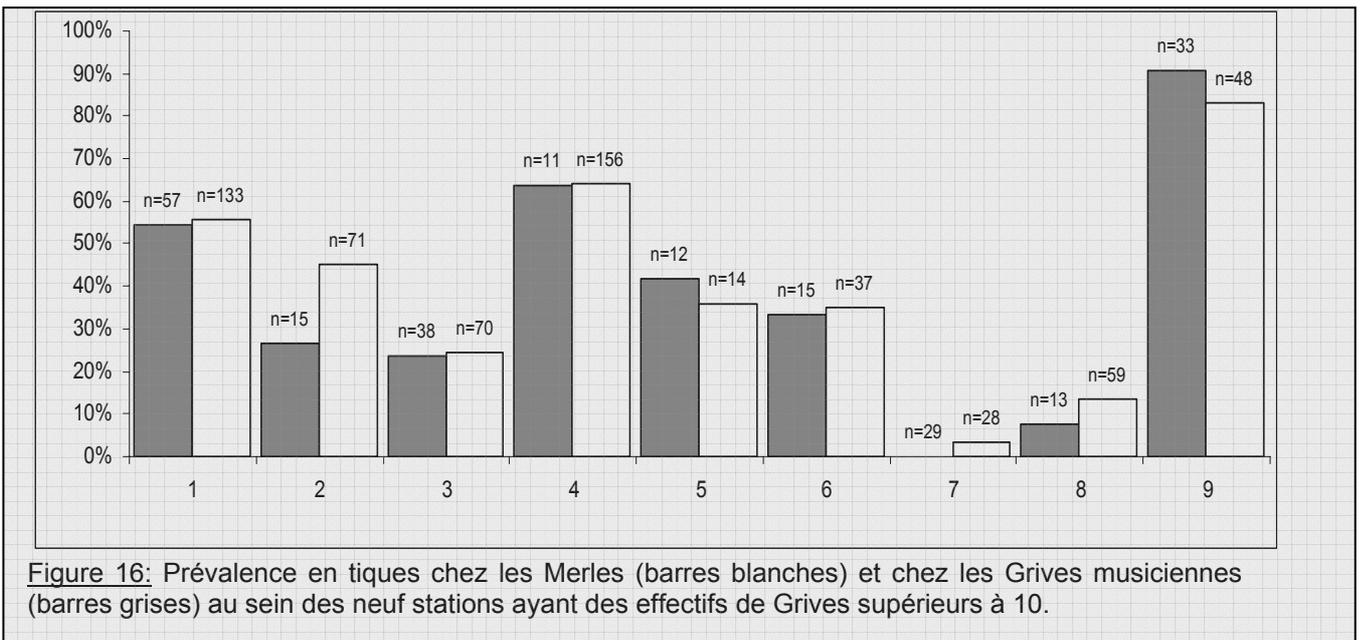
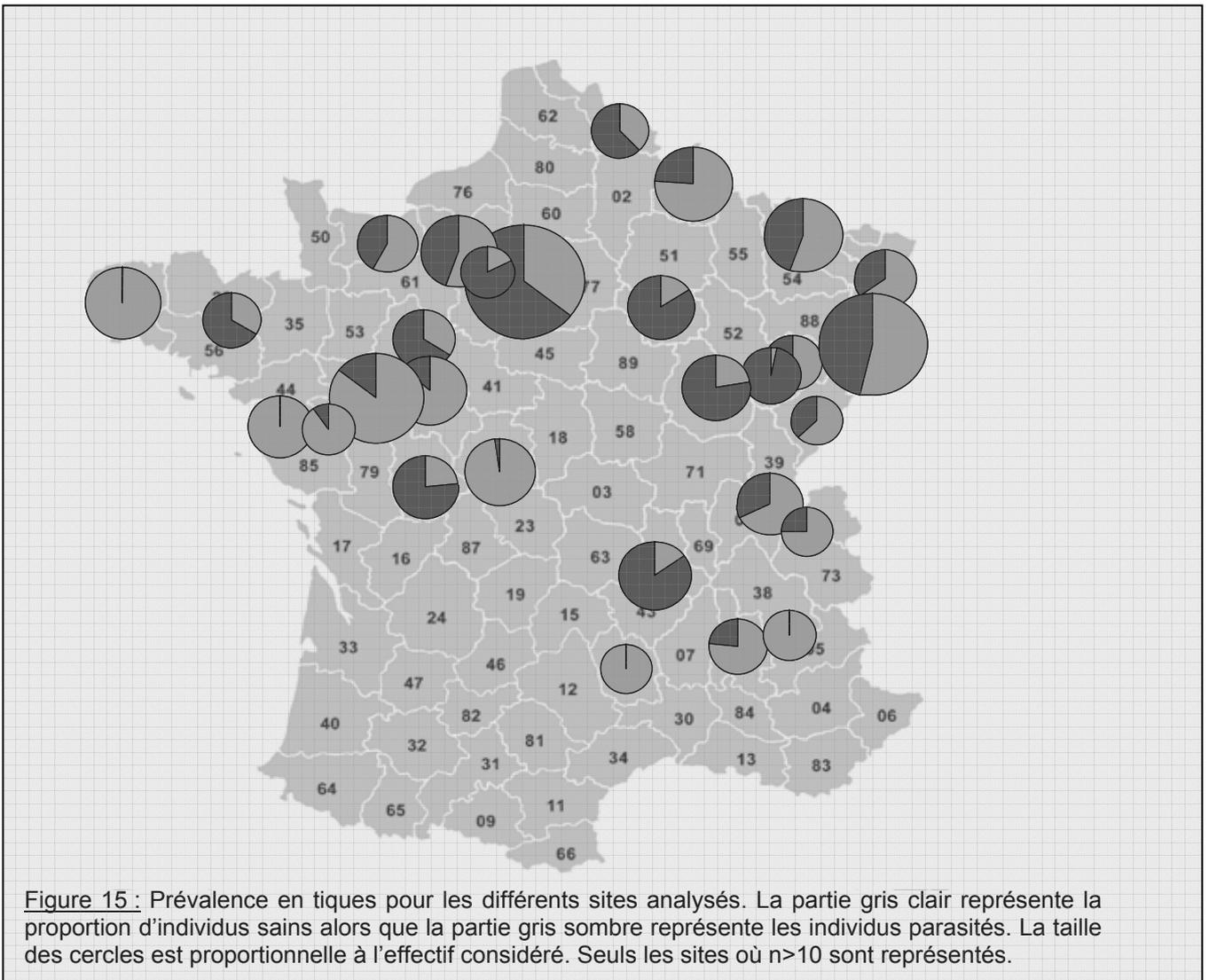
La prévalence présente une relation quadratique avec le jour de capture (Tableau 11). En plus de cette variation temporelle, la prévalence varie entre station.

Tableau 11 : Variabilité de la prévalence en tiques en fonction de l'âge des hôtes et de paramètres spatiotemporels (n=650). *p* correspond à la probabilité déterminée à partir du Chi<sup>2</sup> de Wald du modèle logistique.

	<b>ddl</b>	<b>Chi<sup>2</sup> de Wald</b>	<b>p</b>
<b>Jour</b>	1	24,38	<0,0001
<b>Station</b>	55	265,76	<0,0001
<b>Age</b>	3	13,43	0,004

Nous avons ainsi pu établir une carte de France des prévalences observées (Figure 15, page 86). On constate sur celle-ci que les tiques semblent plus rares sur la côte atlantique et au nord du bassin méditerranéen. Cependant, la variabilité des prévalences n'est pas totalement explicable par des critères géographiques, puisque des stations proches peuvent présenter des prévalences très contrastées, comme par exemple dans le département des Yvelines où deux stations distantes de 25 km présentent des prévalences très différentes (40% et 82%).

Afin de tenter de vérifier si ces différences de prévalences chez le Merle sont imputables à des phénomènes de résistance locale, nous les avons comparées aux prévalences en tiques chez la Grive musicienne pour quelques stations. Aucune différence n'a pu être mise en évidence entre les deux distributions (Kolmogorov : diff maxi = 0,222 ; Chi<sup>2</sup> = 0,889 ; *p* > 0,999 / Figure 16, page 86).



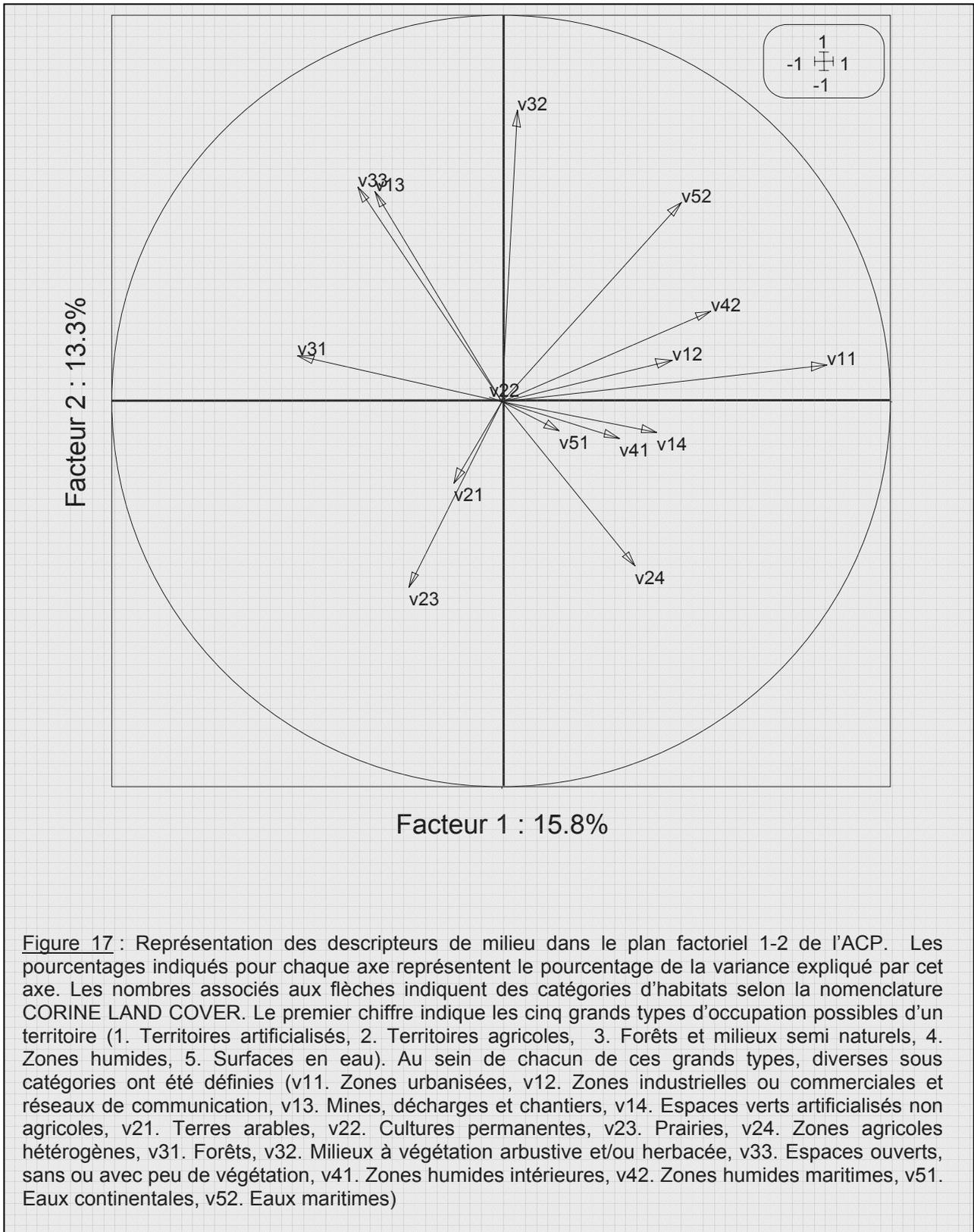
### **3.2.2) Influence des facteurs abiotiques de l'environnement ?**

Deux axes factoriels ont été retenus pour l'analyse par ACP des stations (surfaces occupées selon le code CORINE LAND COVER ; Figure 17, page 88) :

- l'axe factoriel 1 oppose essentiellement des zones urbanisées (11), industrielles ou commerciales et des réseaux de communication (12) à des zones de Forêts (31). Il peut donc être globalement interprété comme un axe d'urbanisation.

- l'axe factoriel 2 oppose des milieux à végétation arbustive et/ou herbacée (32) et des espaces ouverts, sans ou avec peu de végétation (33) à des zones agricoles prairiales et hétérogènes (23 et 24) et peut donc être globalement interprété comme un axe opposant les milieux agricoles aux milieux semi naturels non forestiers.

La prévalence en tiques est liée négativement à l'axe 1 ( $\text{Chi}^2$  de Wald = 7,24 ;  $p = 0,007$ ), indiquant une diminution des prévalences en tiques sur les oiseaux si le milieu s'urbanise. Pour l'axe 2, la relation est elle aussi négative ( $\text{Chi}^2$  de Wald = - 11,92 ;  $p = 0,0006$ ), ce qui indique que les prévalences sont plus fortes dans les zones agricoles prairiales que dans les zones semi naturelles non forestières.



## **4) Discussion**

### **4.1) Parasites sanguins**

L'analyse par lecture optique de frottis sanguins ne nous permet pas de mettre en évidence de différences d'infestation par *Haemoproteus* entre les sites étudiés. En revanche, il existe une structuration spatiale des prévalences en *Plasmodium* car les oiseaux sont moins infectés dans les sites urbains que dans les sites forestiers. De plus, les quelques données issues de la région lyonnaise présentent également le même type de différences entre habitats et semblent donc montrer que cette structuration est généralisable. L'existence de structuration de ce type entre habitats urbains et forestiers avait déjà été suggérée par Grégoire (2003) mais avec un faible échantillon et en ne comparant qu'un seul site par habitat. Plus généralement, ces résultats rejoignent un certain nombre de données sur la variabilité spatiale des prévalences en Haemosporidae chez les oiseaux (Bennett *et al.*, 1982 ; Merilä *et al.*, 1995 ; Sol *et al.*, 2000).

Une hypothèse permettant d'expliquer cette différence inter-habitat des prévalences en *Plasmodium* passerait par une hétérogénéité dans la distribution des vecteurs comme cela a été noté dans le cas du Pigeon biset (*Columba livia*) chez qui les variations de prévalence en *Haemoproteus* semblent s'expliquer par la distribution du vecteur hématophage (Hipoboscidae ; Sol *et al.*, 2000). De même, à Hawaï, la distribution altitudinale de certaines espèces d'oiseaux semble pouvoir s'expliquer par rapport à la présence ou non des moustiques vecteurs de *Plasmodium relictum* (Atkinson *et al.*, 1995). En adaptant cette hypothèse, la plus faible pression parasitaire subie par les individus urbains pourrait être l'un des facteurs expliquant les fortes densités des populations de Merles en ville (bien que nous n'ayons pu formellement identifier l'impact de ces parasites sur la survie (voir Chapitre 2)).

Le fait que, contrairement à *Plasmodium*, *Haemoproteus* ne présente pas de structuration spatiale peut également s'expliquer par le fonctionnement des populations de vecteurs. En effet, les vecteurs principaux de *Plasmodium* sont des moustiques (Culicidae) alors que pour *Haemoproteus*, ce sont des mouches

hématophages (Ceratopogonidae et Hippoboscidae) qui sont très différentes notamment dans leur dispersion, leur reproduction, leurs exigences écologiques et leur spécificité vis-à-vis de leur hôte (Valkiūnias, 2005). Toutefois, d'autres explications sont également envisageables, comme une variabilité de tolérance ou de résistance chez les Merles entre les populations urbaines et forestières.

Malgré son intérêt, cette étude basée sur des lectures de frottis sanguins présente une limite importante du fait de la faible sensibilité de ces lectures (Jarvi *et al.*, 2002 ; Waldenström *et al.*, 2002 ; Valkiūnias, 2005). De récents travaux menés sur ce sujet ont montré que, même avec un effort de lecture très important, les infections de faible intensité sont très mal détectées (Jarvi *et al.*, 2002). Cette mauvaise détection est problématique pour ce type d'analyse spatiale puisqu'elle peut conduire à interpréter une variation d'intensité comme une différence de prévalence. Nous avons donc mis au point une méthode moléculaire par PCR, plus efficace quels que soient les parasites et les sites concernés – même si l'augmentation est moins drastique que dans d'autres études (Jarvi *et al.*, 2002 ; Waldenström *et al.*, 2002). Cette méthode confirme en même temps que l'identification visuelle des deux genres de parasites est acceptable.

Au-delà de l'augmentation globale des prévalences, la prise en compte de la structuration spatiale montre que l'augmentation n'est pas homogène entre les habitats urbains et forestiers. Pour *Haemoproteus* qui ne présentait aucune différence entre habitats, l'analyse par PCR montre une plus forte prévalence en ville, mais cette différence demeure toutefois non significative. A l'inverse, pour *Plasmodium*, le contraste de prévalence observée entre ville et forêt par lecture de frottis devient non significatif quand on utilise la PCR. Il semble donc que les populations urbaines ne présentent pas de plus faibles prévalences en *Plasmodium* mais plutôt des intensités plus faibles qui conduisent à sous estimer fortement la prévalence par lecture optique.

Si l'on considère que l'intensité parasitaire est largement dépendante de la capacité immunitaire des individus, ce patron s'interprète plus en terme de

condition des individus que de distribution des vecteurs. L'influence de la condition de l'hôte sur la capacité à maintenir une intensité parasitaire basse a déjà été mise en évidence, notamment chez des oiseaux migrateurs (Gylfe *et al.*, 2000). Ces différences en intensité parasitaire pourraient donc être la résultante d'un milieu urbain plus favorable à l'hôte qui, bien que présentant les mêmes risques d'exposition aux parasites, fournirait aux oiseaux les ressources nécessaires pour lutter plus efficacement contre les parasites. Toutefois, cette interprétation n'est que l'une des hypothèses possibles. On peut bien sûr envisager qu'une plus faible intensité en *Plasmodium* dans le milieu urbain provienne d'une moindre abondance du vecteur dans cet habitat et par conséquent d'une fréquence réduite des infestations.

D'une manière plus générale, notre étude souligne la variabilité inter-habitat des parasites (du moins en intensité), mais aussi le danger de n'utiliser que des lectures optiques pour ce type d'études spatiales. D'autres analyses sont nécessaires pour appréhender avec plus de précisions le fonctionnement spatial de la relation Merle-parasite sanguin.

## **4.2) Tiques**

La forte variabilité entre stations est un résultat notable, étant donnée l'échelle à laquelle le travail a été réalisé. La distribution des infestations semble partiellement explicable par les variations climatiques et géographiques. Ainsi, les faibles prévalences observées pour les stations du Sud de la France correspondent aux données sur la répartition de *Ixodes ricinus* (faible présence en climat méditerranéen ; Delaye, 1998).

Cependant, la variabilité observée est parfois forte entre des sites géographiquement proches. Pour mieux comprendre ces variations, nous avons comparé les prévalences observées chez le Merle et chez la Grive musicienne pour neuf sites. Les valeurs observées au sein de chaque site pour ces deux espèces sont toujours très proches. Ce résultat semble donc exclure l'existence de phénomènes

de résistance locale des populations de Merles puisqu'il supposerait alors que les populations de Grives musciennes présentent les mêmes résistances que le Merle, ce qui paraît peu probable. Il semble beaucoup plus vraisemblable que le patron de distribution observé soit lié à des variations du risque d'exposition. La variabilité de ce risque entre sites peut provenir de différences environnementales. En effet, les tiques nécessitent des conditions précises pour survivre durant leurs phases libres (Gray, 1998). Elles sont en particulier sensibles à la dessiccation, mais aussi à l'excès d'humidité qui peut survenir durant l'hiver dans les zones largement inondées (Gray, 1998).

Pour tenter d'identifier de manière synthétique des facteurs environnementaux qui expliqueraient plus précisément une variabilité d'infestation, nous avons réalisé une ACP sur les données environnementales de chaque station de capture (données issues des descriptions d'habitats par le programme CORINE LAND COVER). Ce travail nous a permis de montrer que la prévalence en tiques diminue avec l'artificialisation du milieu. Ce résultat rejoint ainsi les données de Grégoire *et al.* (2002) qui montrent une quasi absence de tiques sur les individus urbains. Cette relation est peut être liée à la diminution de la densité en hôtes au sein de ces milieux. En effet, les tiques ont besoin d'au moins un repas de sang par stases pour compléter leur cycle (Delaye, 1998), repas réalisés en général sur trois hôtes différents. Or, si la densité des Merles est plus forte en milieu urbain, celle des mammifères de taille moyenne (qui constituent les hôtes finaux préférentiels) est beaucoup plus faible en milieu urbain qu'en forêt (Doby *et al.*, 1994 ; Ostfeld *et al.*, 1996). L'artificialisation du milieu pourrait ainsi diminuer la capacité des tiques à compléter leur cycle. Outre la diminution du nombre d'hôtes, le milieu urbain présente des caractéristiques microclimatiques et environnementales différentes qui pourraient ne pas permettre la reproduction et la survie des tiques (Randolph & Storey, 1999).

La prévalence en tiques est également plus faible au sein des milieux semi naturels (notamment arbustifs à tendance forestière) qu'au sein des milieux agricoles et prairiaux. Ceci peut paraître surprenant puisqu'il semble que le milieu

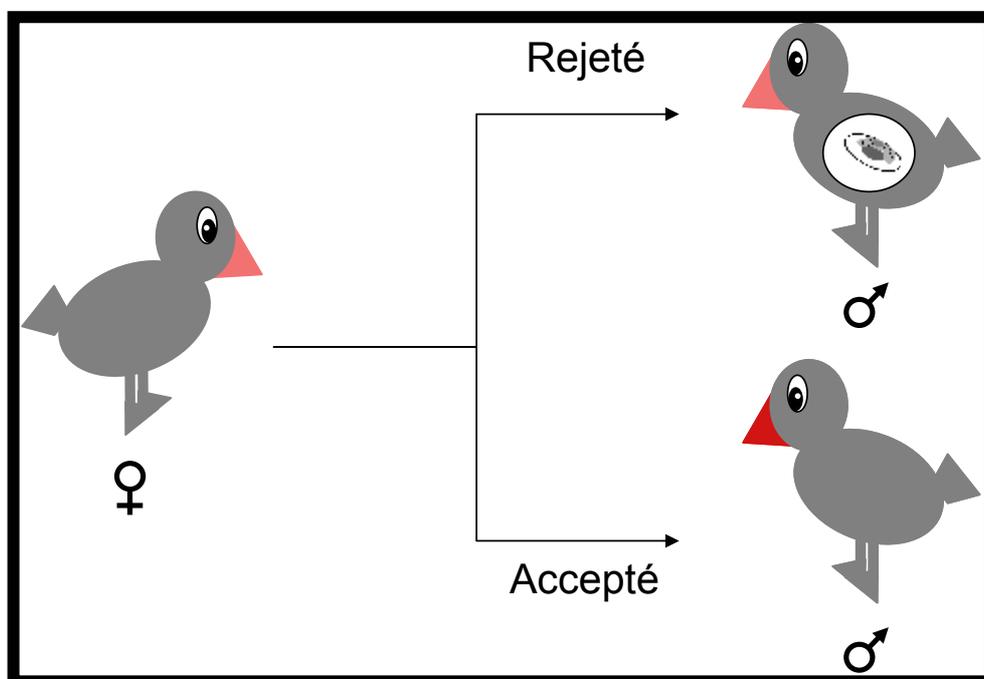
forestier constitue un milieu favorable aux tiques. Gray (1998) rapporte en effet que les tiques sont plus abondantes en forêt de feuillus (en particulier les forêts de chêne ou de hêtre) ou en forêt mixte. Cependant, sous certaines conditions, on peut également rencontrer de fortes densités dans certains prés si les précipitations sont abondantes, le couvert végétal important et si le bétail peut jouer le rôle d'hôte notamment pour les stades adultes Gray, 1998). Cette forte prévalence au sein des milieux agricoles s'explique peut être également par un choix des tiques plus orienté sur les oiseaux. En effet, outre la présence de tiques dans le milieu, la prévalence observée sur une espèce hôte dépend du choix fait par les tiques. Ce choix de l'hôte est soumis à de nombreuses influences et notamment à la hauteur de la strate herbacée et à l'humidité (Mejlon & Jaenson, 1997 ; Mawby & Lovett, 1998) qui diffèrent entre milieux prairiaux et forestiers.

Cette analyse souligne le rôle des caractéristiques environnementales sur la prévalences en tiques. D'un point de vue général, nos résultats mettent en avant le rôle « protecteur » de l'urbanisation du milieu vis-à-vis du risque d'être infecté par ce parasite. Cependant, la structuration spatiale est probablement largement modifiée lors de la période de migration des Merles. Ainsi, sur les îles d'Ouessant et de Noirmoutier, les Turdidae en nidification ne portent pas de tiques, mais en automne, les îles sont envahies de migrants porteurs de tiques. (Julliard, *com. pers.*). De même, des suivis réalisés en migration par l'ONCFS ont révélé de fortes prévalences en tiques même au sein de zones résidentielles largement urbanisées (Boutin, données non publiées). Il semble donc qu'en dehors des saisons de reproduction, les Merles dispersent largement les tiques, mais que l'implantation de ces dernières ne soit possible que pour certaines conditions de milieu. Ce rôle de dispersion des Merles lors des migrations peut avoir un impact très important sur le fonctionnement des populations de tiques. En effet, on sait que la structuration génétique des mâles d'*Ixodes ricinus* est plus forte que celle des femelles à l'échelle locale, ce qui pourrait s'expliquer par des choix d'hôtes différents selon le sexe (les mâles préféreraient les oiseaux et donc disperseraient plus que les femelles; de Meeûs *et al.*, 2002). Ce type d'influence des oiseaux sur les populations de tiques a déjà été montré par des analyses génétiques pour *Ixodes uriae* sur les colonies

d'oiseaux marins. Elles montrent l'existence de « races » de tiques, notamment en fonction des espèces hôtes utilisées : ces études permettent de mieux comprendre le fonctionnement hôte-parasite à large échelle spatiale (Boulinier *et al.*, 2001 ; Mc Koy *et al.*, 2001 ; 2002 ; 2003a et b). Il semble donc particulièrement intéressant d'étudier le sexe et la diversité génétique des tiques notamment en relation avec les migrations d'oiseaux.

# Seconde Partie

Parasites et sélection sexuelle: le rôle clef des caroténoïdes



# **INTRODUCTION**

# 1) Présentation des mécanismes de la sélection sexuelle

Selon Darwin (1859), la sélection naturelle est un processus qui conduit à la conservation des variations accidentellement produites uniquement quand elles avantagent l'individu. Si ce principe permet d'expliquer une grande partie de la diversité des formes naturelles, il existe fréquemment des traits (couleurs, morphologies...) dont l'extravagance ne semble pas explicable. Dès 1859, Darwin (1859, 1871) propose un processus spécifique, appelé sélection sexuelle, qui suppose que ces caractères extravagants assurent un succès reproducteur plus élevé qui contrebalance le désavantage en terme de survie. Il existe deux formes de sélection sexuelle : la compétition entre individus du même sexe (sélection intra-sexuelle) et le choix du partenaire par les individus de l'autre sexe (sélection inter-sexuelle).

La sélection intra-sexuelle concerne souvent les mâles qui entrent en compétition pour l'accès direct ou indirect aux femelles. Elle favorise bien sûr les caractères qui assurent directement les capacités combatives des mâles tels que des organes de combat ou une taille corporelle relativement importante (Andersson, 1994). Mais elle favorise aussi des signaux qui forment des « armes dissuasives » tels que les couleurs ou les chants. En effet, ces signaux pourraient avoir une fonction de menace envers les compétiteurs, en signalant la présence et/ou la qualité de l'émetteur (Rohwer, 1982 ; Butcher & Rohwer, 1989 ; Andersson, 1994).

La sélection inter-sexuelle s'appuie généralement sur le choix des femelles pour des mâles présentant des caractères attrayants (Møller, 1994). Il existe deux types de modèles de sélection inter-sexuelle. Tout d'abord, les **modèles de choix arbitraire** considèrent que certains traits morphologiques des mâles sont favorisés parce qu'ils correspondent à un biais sensoriel chez les femelles (Ryan, 1990). Par la suite, ce processus peut être renforcé par un déséquilibre de liaison entre les allèles codant pour la préférence et les allèles codant pour le trait qui permettrait un renforcement simultané du trait et de la préférence (Lande, 1981 ; Kirkpatrick, 1982 ; Pomiankowski *et al.*, 1991).

A l'opposé, les **modèles du signal honnête** considèrent que la préférence des femelles se fait selon des critères qui représentent la qualité du mâle (Zahavi, 1975). Ainsi le niveau d'expression d'un caractère sexuel secondaire d'un mâle serait un signal honnête de sa qualité propre dont la femelle peut tirer bénéfice. Cette qualité peut être génétique (Zahavi, 1975 ; Hamilton & Zuk, 1982 ; Kodrick-Brown & Brown, 1984 ; Iwasa *et al.*, 1991) ou indiquer des ressources matérielles (territoire, alimentation...) non directement héréditaires (Heywood, 1989 ; Hoelzer, 1989 ; Price *et al.*, 1993, Lozano, 1994)

## **2) Les parasites comme facteur explicatif**

Parmi les différents modèles basés sur le principe du signal honnête, celui dit de «Hamilton-Zuk» (Hamilton & Zuk, 1982) est l'un de ceux qui ont généré le plus de travaux (Bennett & Owens, 2002). Ce modèle propose que les parasites, via les coûts qu'ils imposent aux individus, soient la garantie de l'honnêteté du signal.

Selon ce principe, la mise en place d'ornementations chez une espèce devrait être liée à la pression parasitaire qu'elle subit ; les espèces aux ornements les plus développés seraient ainsi les plus parasitées. Il pourrait donc exister une association positive entre des caractères soumis à sélection sexuelle (brillance du plumage, complexité du chant...) et la prévalence en parasites. Ces prédictions ont suscité une multitude de travaux, certains vérifiant, d'autres contredisant les résultats attendus (Hamilton & Zuk, 1982 ; Pagel & Harvey, 1988 ; Read & Weary, 1990 ; Møller *et al.*, 2000 ; Badyaev & Hill, 2003). Aujourd'hui, au niveau interspécifique, le débat est loin d'être achevé comme le souligne Bennett et Owens, (2002) : « Both the potential explanatory power and the analytical problems of Hamilton and Zuk's original paper are legendary » .

Le modèle d'Hamilton-Zuk peut aussi s'appliquer de manière intra-spécifique, ce qui permet de supprimer la part de complexité liée aux méthodes comparatives (Møller, 1990). Au sein d'une même espèce, les individus génétiquement les plus sensibles aux parasites devraient être ceux chez qui les traits sexuels secondaires sont les moins développés (Møller, 1990). Parmi les différents traits sexuels

secondaires, les colorations dépendantes des caroténoïdes semblent particulièrement pertinentes dans ce cadre théorique. En effet, la pluralité de leurs fonctions (immunostimulant, antioxydant, pigmentaire) permet d'évoquer des mécanismes physiologiques potentiels à la base de ce modèle (Lozano, 1994).

### **3) Rôle des caroténoïdes dans les processus de sélection sexuelle liés aux parasites**

Les caractères sexuels secondaires liés aux caroténoïdes sont très nombreux chez les animaux même si les caroténoïdes doivent être ingérés avec la nourriture (Goodwin, 1984) et ne sont apparemment pas disponibles *ad libitum* (Hill, 2000). Une fois absorbés, ils assurent à la fois un rôle de pigments pour des caractères sexuels secondaires et possède aussi une action d'immuno-stimulante et antioxydante (Encart 3). Lozano (1994) fut le premier à exprimer clairement l'idée selon laquelle ces caractéristiques des caroténoïdes permettent de réaliser un lien direct entre la condition d'un individu et le développement du signal sexuel. De nombreux travaux soutiennent l'idée selon laquelle les signaux caroténoïdes-dépendants reflètent l'état de santé et la capacité de résistance des individus aux parasites (revue de Møller *et al.*, 2000 ; Prévault, 2003). Cependant, un nombre non négligeable d'études trouvent une relation positive, ou une absence de relation, entre l'intensité de la coloration et la charge en parasites (par exemple : Burley *et al.*, 1991 ; Weatherhead *et al.*, 1993 ; Seutin, 1994 ; Dufva & Allander, 1995 ). Ces résultats en désaccord avec les prédictions théoriques peuvent s'expliquer par le fait que le statut infectieux des individus n'est pas une représentation fidèle de leur résistance aux parasites. Ainsi, un individu sain peut tout simplement ne pas avoir été exposé au parasite et donc ne pas avoir eu à lutter (Norris & Evans, 2000). De plus, l'utilisation d'approches corrélatives n'autorise guère d'interprétation non équivoque.

L'utilisation de challenges immunitaires permet de contourner partiellement ces difficultés. Ces challenges consistent en l'injection d'antigènes « neutres » qui provoquent une réaction immunitaire sans présenter de pathogénicité. La mesure de la réponse immunitaire d'un individu face à ce nouvel antigène est considérée comme une mesure objective de son immunocompétence (Norris & Ewans, 2000). Il faut cependant attendre 2003 pour que deux études publiées conjointement apportent la première démonstration expérimentale de l'existence d'un compromis entre fonctions immunitaires et signal sexuel (Blount *et al.*, 2003 ; Faivre *et al.*, 2003a). Blount *et al.*, (2003) montrent que la supplémentation en caroténoïdes accroît la coloration des becs et la réponse immunitaire à médiation cellulaire chez des mâles de Diamants mandarins. Faivre *et al.*, (2003a) observent quant à eux une diminution de la couleur du bec de Merles noirs soumis à un challenge immunitaire provoquant une réponse humorale.

Ces travaux suggèrent que le lien entre l'intensité du signal et l'immunocompétence est quelque chose de relativement général puisqu'il existe pour différentes espèces d'oiseaux et différents types de challenges immunitaires. Cependant, l'utilisation de challenges immunitaires pour tester l'immunocompétence a été récemment discutée et d'autres approches plus générales pourraient être mise en oeuvre (Adamo, 2004). De plus, certains facteurs environnementaux (dont la disponibilité en ressource ou encore le contexte social) peuvent avoir une incidence sur la physiologie des individus en général et sur les mécanismes d'allocation des caroténoïdes en particulier. Ces aspects méritent d'être pris en compte et nous testerons plus précisément comment les caroténoïdes stimulent le système immunitaire ainsi que leur incidence sur la résistance parasitaire des individus (Chapitre 4). En outre, on ignore pour l'instant l'incidence de facteurs externes sur ce trade-off. Nous étudierons au cours du chapitre 5 comment le contexte social dans lequel vit un individu peut modifier l'allocation des caroténoïdes (cet aspect sera abordé en intégrant l'influence d'un challenge immunitaire).

### **Encart 3 : Les différentes fonctions des caroténoïdes**

#### **-Rôle pigmentaire**

Les caroténoïdes représentent un groupe de plus de 600 pigments colorés constitués d'hydrocarbures sous forme oxygénée (xanthophylles) ou non (carotènes) (Olson & Owens, 1998). Ces pigments sont synthétisés par les algues, les bactéries, les champignons et les plantes (Goodwin, 1984). En plus de leur abondance chez les végétaux, ils ont un rôle pigmentaire extrêmement fréquent au sein du règne animal notamment chez les poissons, les reptiles et les oiseaux (voir pour une revue Møller *et al.*, 2000 et Prévault, 2003).

#### **-Fonctions physiologiques**

Outre leur rôle de pigments, les caroténoïdes interviennent dans de nombreux processus physiologiques (Bendich, 1993a ; Chew, 1993, 1996 ; Olson & Owens, 1998 ; Møller *et al.*, 2000). Si la plupart des études ont été conduites chez les mammifères, nous disposons aujourd'hui d'informations relatives à d'autres classes d'animaux, comme les poissons et les oiseaux qui semblent confirmer ces résultats (Amar *et al.*, 2000 ; Møller *et al.*, 2000) dont certains présentent un intérêt particulier dans une perspective de compromis évolutif.

Tout d'abord, les caroténoïdes ont la propriété de neutraliser les radicaux libres. Les radicaux libres sont des molécules qui contiennent un électron non apparié. Ils sont potentiellement dangereux, car leur nature très réactive les fait se combiner aléatoirement avec d'autres molécules de l'organisme (lipides, protéines, ADN...), provoquant ainsi l'inactivation ou l'inhibition de leurs fonctions (Barja *et al.*, 1994 ; Collins & Horváthová, 2001 ; Nordberg & Arnér, 2001). Les radicaux libres sont produits naturellement par le métabolisme, mais pour limiter leurs dommages, les organismes possèdent un système de protection. Ce système comporte des enzymes (la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathione peroxydase principalement) mais également des molécules protectrices qui piègent les radicaux libres et les neutralisent (Beckman & Ames, 1998). C'est notamment le cas des caroténoïdes dont la longue chaîne poly-insaturée permet de piéger les radicaux libres (Faure *et al.*, 1999).

Les caroténoïdes présentent également un effet immunostimulant (Hughes, 1999 ; Krinsky, 2001). En effet, les caroténoïdes permettent d'accroître la prolifération des leucocytes et stimulent l'activité des cytokines (Bendich, 1993b ; Chew, 1993 ; Edge *et al.*, 1997 ; Møller *et al.*, 2000). De plus, l'efficacité des cellules du système immunitaire dépend en grande partie de la présence d'acides gras polyinsaturés qui assurent la fluidité des membranes plasmiques. Ainsi, la perte de fluidité membranaire diminue la capacité des lymphocytes à répondre à un challenge immunitaire (Bendich, 1993b). Cependant, ces acides gras sont particulièrement sensibles aux attaques radicalaires qui dégradent leurs propriétés. Cette fragilité est renforcée par les taux importants de radicaux libres produits par certaines cellules immunitaires. Par leur capacité à neutraliser les radicaux libres, les caroténoïdes permettent de maintenir l'intégrité des acides gras et donc l'efficacité du système immunitaire.

## **CHAPITRE IV**

Caroténoïdes, immunocompétence,  
radicaux libres et parasites

# **1) Introduction**

Le rôle central des caroténoïdes dans plusieurs mécanismes physiologiques a conduit à mettre en place récemment des études expérimentales (Blount *et al.*, 2003 ; Faivre *et al.*, 2003a et b ; McGraw & Ardia, 2003). Les résultats obtenus sont considérés comme très probants pour soutenir le principe du signal honnête de qualité dans le cadre de la sélection sexuelle (Hörak & Saks, 2003). Ce raisonnement nécessite cependant de considérer que les mécanismes d'action des caroténoïdes sont les mêmes chez toutes les espèces (Hill, 1999). Lozano (2001) affirme ainsi que les propriétés mises en évidence sur quelques espèces seraient générales car elles correspondraient aux propriétés antioxydantes de ces molécules intrinsèquement liées à leur nature chimique. Par leur capacité à neutraliser les radicaux libres, les caroténoïdes permettraient de protéger les membranes cellulaires des leucocytes et donc l'efficacité du système immunitaire (Bendich, 1993b). De plus, les caroténoïdes provoqueraient une augmentation du nombre de leucocytes en assurant une durée de vie plus longue de ces cellules et/ou une augmentation de leur production (Chew & Soon Park, 2004). Cependant, avant de conclure à la généralité de l'action des caroténoïdes, d'autres travaux sont nécessaires. En effet, l'essentiel des travaux concernent des mammifères chez qui les concentrations en caroténoïdes sont très différentes d'autres groupes, ce qui peut modifier leurs propriétés (Hill, 1999). De plus, les mammifères ne présentent pas de signaux colorés par les caroténoïdes. Enfin, les mesures du statut antioxydant utilisées dans ces études ne sont jamais exhaustives. Dans ce contexte, il peut être intéressant de tester chez les oiseaux si une augmentation de la disponibilité en caroténoïdes s'accompagne bien à la fois d'un accroissement des aptitudes immunitaires et du statut antioxydant.

Au-delà de l'existence d'un mécanisme commun, les caroténoïdes ne peuvent constituer un lien direct entre immunité et signaux colorés que si leur action immunostimulante présente une magnitude suffisante. Les différences de réponse immunitaire entre des individus ne peuvent pas *a priori* être considérées comme directement représentatives de la résistance à des parasites (Keil *et al.*, 2001 ; Adamo, 2004). Pour démontrer réellement que les individus présentant des signaux colorés intenses sont plus immunocompétents, il faudrait montrer sur quelques

pathogènes que les différences obtenues par challenge immunitaire correspondent à des différences de résistance parasitaire. A notre connaissance, la seule étude visant spécifiquement à le démontrer a été menée par Navara & Hill (2003). Cependant, cette étude (qui utilise des individus infectés par *Mycoplasma gallisepticum*) n'a pu mettre en évidence des différences de réponse immunitaire et donc ne peut vérifier la relation avec la résistance parasitaire. Ainsi, l'intérêt de prospecter de la manière la plus directe possible le lien entre réponse à un challenge immunologique et résistance parasitaire reste entier.

Au cours de ce chapitre, nous nous proposons d'explorer l'existence du trade-off immunité/coloration chez le Merle noir. Le trade-off a déjà été clairement suggéré pour cette espèce en testant la réponse immunitaire humorale (Faivre *et al.* 2003a). A l'aide d'un protocole expérimental différent et en testant la réponse immunitaire à médiation cellulaire, nous tenterons de vérifier si ce trade-off s'applique pour les différentes composantes du système immunitaire. Nous testerons également si les deux mécanismes fréquemment évoqués pour expliquer l'action immunostimulante des caroténoïdes, à savoir une augmentation de la résistance radicalaire et du nombre de leucocytes, semblent être des explications possibles. Enfin, nous vérifierons si les différences d'immunocompétence mise en évidence par challenge immunitaire reflètent la résistance des individus aux parasites.

## **2) Matériel et méthodes**

### **2.1) Protocole expérimental**

Durant la saison de reproduction 2004, un échantillon de 37 mâles infectés par des parasites sanguins (Haemosporidae) a été capturé dans différents parcs urbains de Dijon. Les individus ont tous été maintenus en captivité plus de quinze jours avant le début de l'expérience dans des cages individuelles (0.70m x 0.45m x 0.80m) placées dans une volière extérieure. L'eau et la nourriture (granulés commerciaux pour turdidés, COFNA) étaient disponibles *ad libitum*.

La couleur du bec et la masse corporelle ont été mesurées pour chaque individu. De plus, chaque individu a subi un prélèvement sanguin pour déterminer la concentration en caroténoïdes circulants et le statut anti-oxydant. Un frottis sanguin a également été réalisé pour dénombrer les différents types de leucocytes et déterminer les intensités en parasites sanguins (voir le « matériel et méthodes » général).

Les individus ont été répartis en deux groupes en veillant à ce que les durées passées en captivité soient comparables dans chaque groupe. Durant les cinq semaines qui ont suivi, le groupe témoin (19 individus) a continué de recevoir le même régime alimentaire alors que le groupe test (18 individus) a été supplémenté en caroténoïdes tous les deux jours à raison de 60 mL d'une solution d'Oro Glo liquide (Kemin France SRL, Nantes) diluée au vingtième soit (2,64 mg de lutéine et 0,13 mg de zeaxanthine) additionnée de 0,13 mg de  $\beta$ -carotènes (Roche). A l'issue de ces cinq semaines, les mêmes mesures ont été réalisées et l'immunité cellulaire a été testée.

## **2.2) Mesure de la couleur du bec**

La coloration est mesurée de manière indiciaire par comparaison avec un nuancier colorimétrique (gamme colorimétrique Roche établie selon les normes du système trichromatique) échelonné de un (jaune pâle) à quinze (orange soutenu). Des mesures par spectroradiomètre ont montré que la valeur indiciaire est un bon indicateur du degré de saturation en pigments du bec (Faivre *et al.*, 2001). De plus, les valeurs indiciaires obtenues sont répétables à la fois entre observateurs et pour un même observateur (Préault, 2003).

## **2.3) Dosage des caroténoïdes circulants**

Les caroténoïdes plasmatiques sont extraits en réalisant une dilution de 10  $\mu$ L de plasma dans 190  $\mu$ L d'éthanol. La solution est ensuite centrifugée 10 min à 1500 g de manière à obtenir un surnageant épuré des différents débris cellulaires. Pour

chaque échantillon, deux réplicats de 100 µL sont lus grâce à un spectrophotomètre à 450 nm.

La concentration en caroténoïdes est calculée par comparaison avec une gamme de référence réalisée grâce à différentes concentrations de lutéine pure (0,0 - 0,1 - 0,31 - 0,625 - 1,25 - 2,5 - 5 et 10 µg/mL).

## **2.4) Test de la réponse cellulaire**

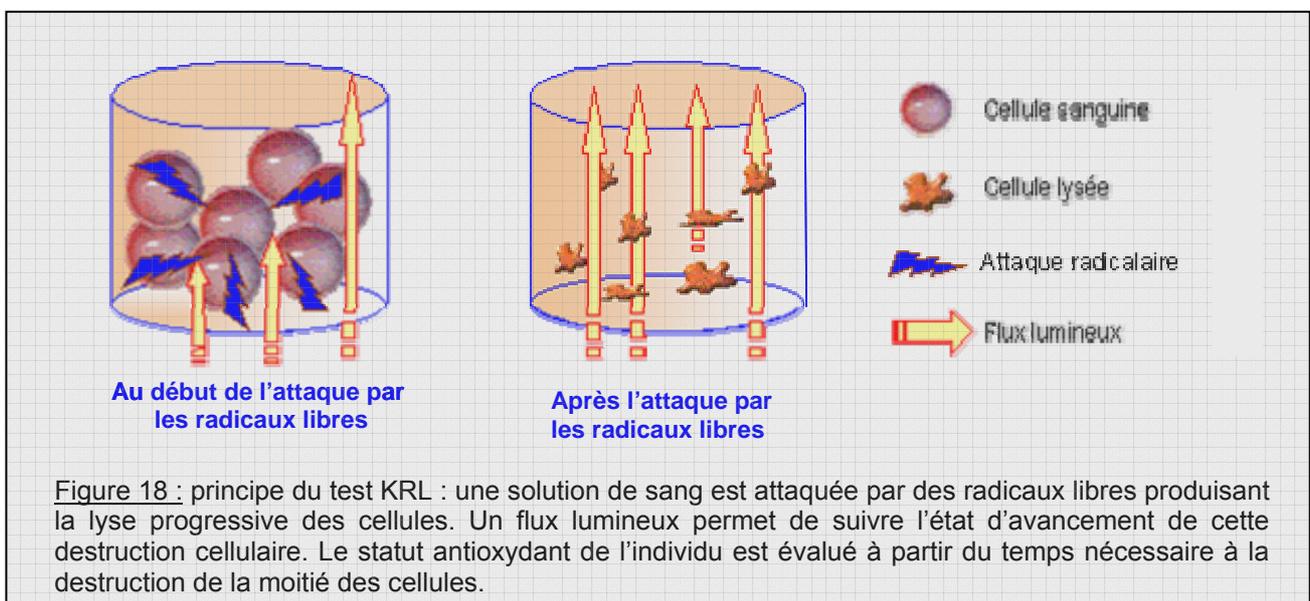
La réponse immunitaire à médiation cellulaire est quantifiée par l'injection sous cutanée de phytohémagglutinine (PHA). Ce test est considéré comme une mesure fiable de l'immunocompétence dépendante des lymphocytes T (Lochmiller *et al.*, 1993 ; Merino *et al.*, 1999). La PHA est en effet, un agent mitogène qui provoque la prolifération des lymphocytes T et entraîne une cascade de réactions cellulaires aboutissant à l'inflammation locale de la zone injectée (Lochmiller *et al.*, 1993 ; Norris & Evans, 2000).

L'épaisseur du patagium de l'aile droite est mesurée à l'aide d'un spessimètre d'une précision de 0,01mm. L'aile est ensuite injectée au niveau de ce patagium avec 100 µL d'une solution de PHA (Sigma, Réf. L 8754) diluée dans du PBS (10 mg/ml). 24 heures après cette injection, le patagium est de nouveau mesuré ce qui permet de quantifier l'inflammation correspondant à la différence entre l'épaisseur mesurée 24 heures après l'injection et l'épaisseur avant l'injection.

## **2.5) Mesure du statut antioxydant**

Le statut anti-oxydant (SAO) individuel a été estimé par le Test KRL (Brevet Spiral, France). Ce test, initialement conçu pour les mammifères, a été adapté récemment aux caractéristiques des oiseaux (Devevey, 2003). Le principe de l'analyse consiste à soumettre une solution de sang à une agression de type oxydatif dans des conditions strictement contrôlées et standardisées. Le sang est un tissu qui estime bien la totalité du statut antioxydant d'un individu puisqu'il contient tous les types d'antioxydants de l'organisme (Stocker *et al.*, 2003).

Pour chaque individu, 90 µl de sang dilué dans du tampon sont placés à 40°C en présence d'un Générateur de Radicaux Libres (GRL : 2,2'-azobis(amidinopropane)hydrochloride)). A cette température, le GRL libère des radicaux libres (Rojas Wahl *et al.*, 1998) provoquant une lyse progressive des cellules, suivie par mesure de la densité optique (Figure 18). L'attaque par les radicaux libres mobilise tout l'équipement anti-radicalaire du sang pour résister à l'agression et cette méthode constitue donc un estimateur de la totalité du statut antioxydant. Pour chaque échantillon, trois réplicats sont réalisés.



### **3) Résultats**

#### **3.1) Caroténoïdes, couleur du bec et réponse à un challenge immunitaire**

La supplémentation en caroténoïdes (cinq semaines) provoque une augmentation de la concentration en caroténoïdes circulants et de la couleur du bec alors que dans le groupe témoin, ces deux paramètres diminuent (Figure 19, page 108). De plus, la réponse inflammatoire des individus injectés avec de la PHA est plus

importante pour les individus supplémentés (Figure 20 ; Test de Mann-Withney :  $n = 37$  ;  $z = -2,412$  ;  $p = 0,0159$ ). En revanche, la masse ne varie pas au cours de l'expérience tant pour les supplémentés (Test des signes :  $p = 0,815$ ) que pour les témoins (Test des signes :  $p > 0,999$ ).

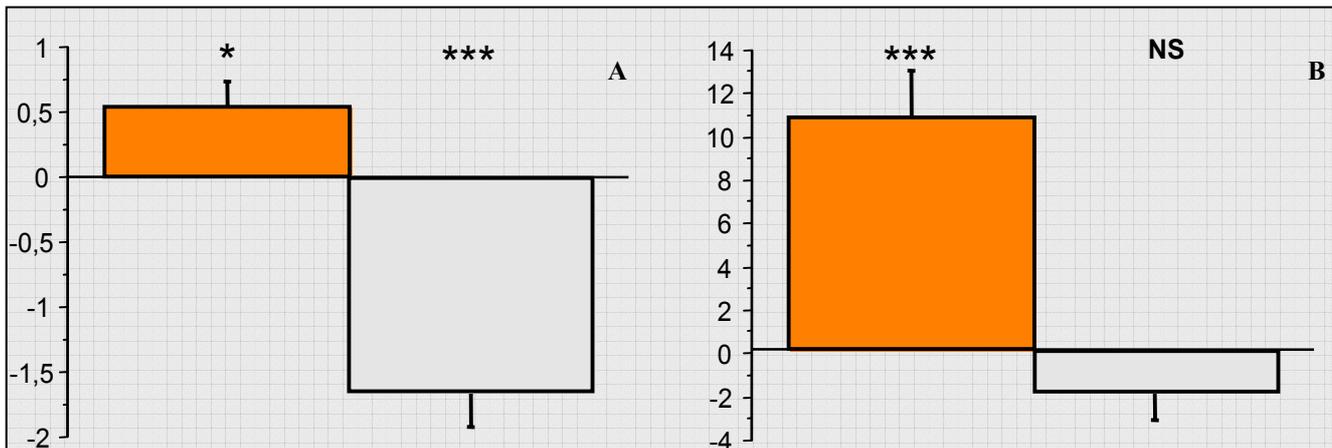


Figure 19 : Variation de (A) la coloration du bec (indice colorimétrique) et de (B) la concentration en caroténoïdes circulants ( $\mu\text{g/ml}$ ) pour les mâles de Merle noir. Les histogrammes colorés en orange correspondent au groupe supplémenté en caroténoïdes alors que ceux colorés en gris clair représentent les valeurs du groupe témoin. Les valeurs représentent les moyennes  $\pm$  l'erreur standard. Les étoiles indiquent le niveau de significativité de test des signes (différence par rapport à 0) avec NS= $p>0,05$ , \*= $p<0,05$  et \*\*\*= $p<0,001$ .

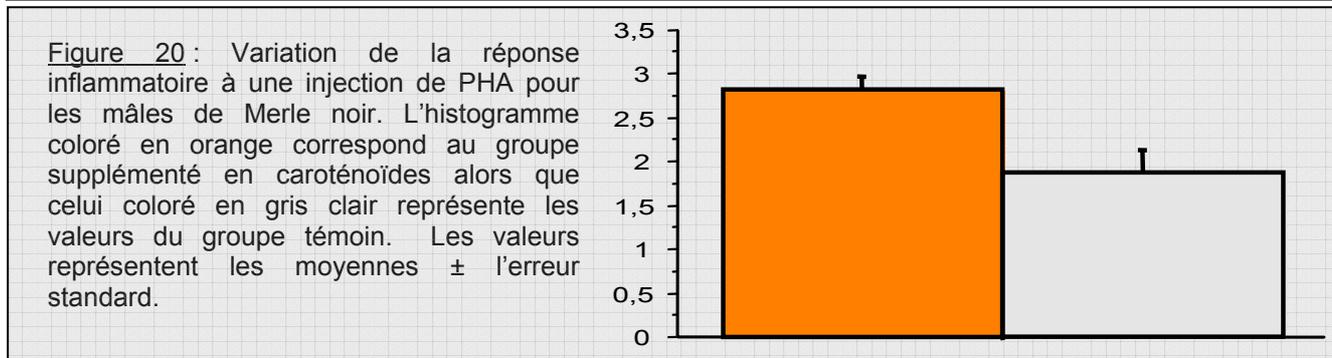


Figure 20 : Variation de la réponse inflammatoire à une injection de PHA pour les mâles de Merle noir. L'histogramme coloré en orange correspond au groupe supplémenté en caroténoïdes alors que celui coloré en gris clair représente les valeurs du groupe témoin. Les valeurs représentent les moyennes  $\pm$  l'erreur standard.

### **3.2) Mécanisme d'action des caroténoïdes**

Malgré l'augmentation de la réponse à la PHA, les individus ne présentent pas d'augmentation de leur statut antioxydant (Test des signes :  $n = 18$  ;  $p = 0,815$ ). De plus, le statut antioxydant n'est lié ni au taux circulant de caroténoïdes à la fin de l'expérience (Corrélation de Spearman :  $n = 37$  ;  $Rh\hat{o} = 0,255$  ;  $p = 0,156$ ) ni à l'intensité de la réponse immunitaire (Corrélation de Spearman :  $n = 37$  ;  $Rh\hat{o} = -0,96$  ;  $p = 0,564$ )

Le groupe d'individus supplémentés en caroténoïdes ne présente pas non plus d'augmentation du nombre de cellules du système immunitaire par rapport au groupe témoin (Tableau 12).

Tableau 12 : Comparaison du nombre de cellules du système immunitaire pour les individus témoins et supplémentés. Les probabilités sont obtenues par un test de Mann-Withney.

	Moyenne Témoins (n=19)	Moyenne Supplémentés (n=18)	z	probabilité
Lymphocytes	63,73	57,88	-0,92	0,355
Eosinophiles	10,07	9,83	0,00	>0,999
Hétérophiles	5,56	11,19	-1,09	0,276
Leucocytes totaux	79,36	78,9	-0,58	0,564

### **3.3) Immunocompétence et résistance parasitaire**

Les individus supplémentés ne présentent pas de modification de l'intensité en parasites sanguins (Test des signes : *Plasmodium* : n = 16 ; p = 0,302 / Total : n = 16 ; p = 0,210). De plus, l'intensité parasitaire finale n'est pas liée à la coloration du bec (Corrélation de Spearman : *Plasmodium* : n = 37 ; Rhô = 0,016 ; p = 0,926 / Total : n = 37 ; Rhô = -0,019 ; p = 0,911) ou à l'intensité de la réponse face à l'antigène (Corrélation de Spearman : *Plasmodium* : n = 37 ; Rhô = - 0,124 ; p = 0,499 / Total : n = 37 ; Rhô = -0,127 ; p = 0,488).

## **4) Discussion**

Les individus supplémentés en caroténoïdes présentent une forte augmentation du taux de caroténoïdes circulants et de la couleur du bec. La supplémentation augmente également la réponse à médiation cellulaire face à l'injection de PHA. Notre étude permet de confirmer l'importance des caroténoïdes qui constituent un lien entre l'intensité d'un signal coloré et la réponse immunitaire. La démonstration de ce lien avait déjà été réalisée chez le Diamant mandarin pour la réponse à médiation cellulaire (Blount *et al.*, 2003) et pour la réponse à médiation humorale chez le Merle (Faivre *et al.*, 2003a). Cependant, au sein de chaque espèce, les différentes réponses du système immunitaire ne sont pas toujours corrélées positivement (Faivre *et al.*, 2003b ; Mallon *et al.*, 2003). De plus, les relations entre ces réponses peuvent être différentes d'une espèce à l'autre notamment parce que le système immunitaire a évolué face à des pressions parasitaires contrastées. Les relations mises en évidence au sein de chacune de ces espèces peuvent donc masquer des relations inverses sur d'autres composantes du système immunitaire.

A notre connaissance, la mise en évidence d'un compromis d'allocation des caroténoïdes se basant sur différents types de réponses immunitaires n'a été réalisée que sur une seule espèce d'oiseaux : le Diamant mandarin (Blount *et al.*, 2003 ; Mc Graw & Ardia, 2003). Nos résultats associés à ceux de Faivre *et al.* (2003a) montrent pour une seconde fois que les caroténoïdes peuvent induire une augmentation de la réponse la réponse immunitaire au sein de la même espèce. La concordance des résultats pour des tests indépendants, utilisant des protocoles différents et testant différents compartiments du système immunitaire constitue un indice fort en faveur d'un effet positif général des caroténoïdes sur le système immunitaire.

Le statut antioxydant ne présente pas d'augmentation chez les individus supplémentés et n'est pas corrélé à l'intensité de la réponse immunitaire. L'absence d'effet de la supplémentation sur le statut antioxydant total a déjà été montrée avec différentes doses de caroténoïdes chez les Diamants mandarins (Alonso-Alvarez *et al.*, 2004). Il semble donc que la valeur du statut antioxydant ne soit pas uniquement limitée par la concentration en caroténoïdes circulants. De plus, les individus supplémentés ne présentent pas d'augmentation du niveau de base de

cellules du système immunitaire et la réponse immunitaire à la PHA n'est pas corrélée aux dénombrements leucocytaires. Nos résultats ne permettent donc pas de vérifier que les deux mécanismes évoqués en général pour expliquer l'effet immunostimulant des caroténoïdes expliquent bien l'augmentation de la réponse immunitaire à médiation cellulaire.

Le mode d'action des caroténoïdes au sein d'un organisme est très complexe. Les relations entre caroténoïdes et immunité ont été étudiées de manière intensive chez l'homme sans parvenir à cerner complètement le rôle et le mode d'action des caroténoïdes (Hughes, 1999). Nos résultats soulignent que les mécanismes fréquemment évoqués en écologie évolutive pour expliquer l'action immunostimulante des caroténoïdes ne semblent pas clairs. D'autres mécanismes d'actions doivent donc expliquer le rôle des caroténoïdes sur le système immunitaire comme l'altération de la cascade à acide arachidonique et la stimulation du facteur kappa B qui sont des mécanismes suspectés chez l'homme (voir Hughes, 1999).

Au cours de notre expérience, nous voulions tester la signification biologique d'une réponse immunitaire plus forte face à un antigène. Les individus supplémentés ne présentent pas de modification significative de l'intensité en parasites sanguins. De plus, l'intensité parasitaire finale n'est pas liée à la coloration du bec ou à l'intensité de la réponse face à l'antigène. Ces résultats relativisent la réalité biologique d'une amélioration de l'immunocompétence apportée par les caroténoïdes. En effet, l'hypothèse implicite selon laquelle les tests d'immunocompétence sont corrélés à la capacité de résistance aux parasites (Norris & Evans, 2000) n'est ici pas vérifiée. Ce résultat rejoint un certain nombre de travaux qui ne parviennent pas à mettre en évidence un lien entre mesure immunitaire et résistance parasitaire (Keil *et al.*, 2001 ; Navara & Hill, 2003). Bien sûr, ces résultats ne peuvent présager de la résistance face à d'autres parasites qui n'ont pas été étudiés et notamment avec les parasites de groupes taxonomiques éloignés qui sont régulés de manière différente par le système immunitaire (Roitt *et al.*, 2001). Ainsi, des lignées de poulets (*Gallus domesticus*) sélectionnées pour produire une réponse humorale plus forte face à un challenge (SRBC), présentent une résistance plus forte face à certains parasites (*Mycoplasma gallisepticum*,

*Ornithonyssus sylvarium*, virus *Splenomegalia* et virus de Newcastle) et une résistance égale ou plus faible face à d'autres (*Escherichia coli*, *Streptococcus aureus* et *Eimeria necatrix*) (Gross *et al.*, 1980).

Les caroténoïdes semblent présenter une ressource clef pouvant garantir que les signaux colorés représentent honnêtement la résistance parasitaire des individus (Hörak & Saks, 2003). Cependant, le mode d'action et la réalité biologique de l'amélioration de l'immunocompétence ne sont pas bien compris aujourd'hui et nos résultats illustrent la complexité de ces aspects. Il semble pourtant nécessaire d'éclaircir ces différents points pour conclure à l'existence et à la généralité du rôle des caroténoïdes. De plus, les travaux actuels négligent l'influence de facteurs externes de variabilité alors qu'on peut imaginer que l'allocation des caroténoïdes est optimisée en fonction des coûts et bénéfices selon le contexte environnemental. Nous aborderons cette hypothèse en testant le rôle du contexte social.

## **CHAPITRE V**

Influence du contexte social  
sur l'allocation des  
caroténoïdes

# **1) Introduction**

Les animaux subissent en permanence l'influence du milieu dans lequel ils vivent. Celui-ci est bien sûr constitué de divers paramètres physico-chimiques mais aussi des autres êtres vivants et des congénères. Face à ces contraintes, les animaux doivent optimiser leur comportement (Danchin *et al.*, 2005). Ainsi, il existe des preuves d'une modulation de nombreux comportements en fonction du contexte social (McGregor, 2005). Chez le Diamant mandarin, les mâles produisent des chants plus puissants quand ils sont en présence de conspécifiques (Cynx & Gell, 2004). Au-delà de ce type de modification comportementale, le contexte social peut influencer le fonctionnement physiologique des individus, comme chez le Hamster (*Mesocricetus auratus*) chez qui il modifie l'effet de l'ocytocine (Harmon *et al.*, 2002).

En fait, si des coûts et/ou des bénéfices sont associés à un signal, l'émission de celui-ci devrait, en toute logique, être optimisée en fonction des contraintes extérieures. Ainsi, chez le poisson combattant du siam (*Betta splendens*), la présence d'un individu spectateur peut modifier les comportements manifestés par deux mâles en interaction (Doutrelant *et al.*, 2001). Si le spectateur est une femelle, les mâles vont augmenter la fréquence des comportements qui ont aussi une utilité pour les interactions mâle-femelle au détriment des comportements utilisés uniquement pour les interactions mâle-mâle. On peut de même s'attendre à ce que, chez les oiseaux dont les mâles présentent un signal coloré choisi par les femelles lors de la reproduction, le contexte social modifie l'expression de ce signal si celui-ci est coûteux. C'est notamment le cas pour l'expression des signaux caroténoïdes dépendants dont l'intensité est obtenue au détriment de leur utilisation pour les autres fonctions physiologiques. Cependant, à notre connaissance, l'effet du contexte social sur l'intensité des colorations n'a jamais été testée.

Nous avons choisi d'utiliser des Diamants mandarins (*Taeniopygia guttata*) car ils constituent un modèle biologique particulièrement intéressant pour aborder ce sujet. Espèce sociale qui vit et se reproduit en communauté (Zann, 1996) socialement monogame, les couples de Diamants mandarins se forment en général pour la vie en conditions naturelles et en captivité. Ces caractéristiques en font donc un excellent modèle pour tester l'influence de l'environnement social sur les traits liés à la reproduction. D'une part, cette espèce est étudiée par de nombreuses

équipes, ce qui a permis d'acquérir de solides connaissances sur sa biologie. On sait que, les mâles de cette espèce présentent un bec dont la coloration, variant de l'orange au rouge sombre, influence les femelles dans le choix de leur partenaire sexuel (les femelles choisissent les mâles qui présentent les becs les plus rouges (Burley & Coopersmith, 1987 ; Collins & Ten Cat, 1996 ; Blount *et al.*, 2003). D'autre part, la couleur du bec des mâles est liée à la présence de caroténoïdes et cette coloration est affectée par l'activation du système immunitaire (Alonso-Alvarez *et al.*, 2004 ; McGraw & Ardia, 2003 ; Blount *et al.*, 2003 ). Enfin, il a été récemment démontré que les mâles de cette espèce utilisent les informations émises par leurs conspécifiques pour ajuster leur comportement envers les femelles : ceci renforce l'idée que le contexte social est un paramètre très important chez cette espèce (Vignal *et al.*, 2004).

## **2) Méthodes**

### **2.1) Déroulement de l'expérience**

Les Diamants mandarins adultes ont été maintenus en contrôlant le cycle de la lumière (13L : 11D) et la température ( $22 \pm 2$  °C). La nourriture (mélange commercial de graines) et l'eau sont fournies *ad libitum*.

Les individus ont été répartis dans des cages individuelles (0.6 x 0.4 x 0.4 m) séparées en deux compartiments. Dans cette expérience, nous avons maintenu les mâles de Diamants mandarins dans deux contextes sociaux :

- un groupe de mâles choisis au hasard (n = 24) a été placé avec des femelles (n = 24) dans un contexte social « mixte »,
- un autre groupe de mâles (n = 24) a été placé avec d'autres mâles (n = 24) dans un contexte social « monosexé ».

De plus, au sein de chaque pièce, deux ensembles de cages sont placés face à face, ce qui implique que chaque oiseau voit et entend plusieurs congénères. La communication inter et intra-sexuelle est donc possible pour le groupe mixte alors que seule la communication intra-sexuelle l'est dans l'autre groupe.

Deux répétitions ont été réalisées pour chacun des groupes (i.e., deux pièces avec un contexte social « mixte » et deux autres avec un contexte « monosexé » ). Au

cours de l'expérience, la moitié des mâles de chaque groupe a été traitée chaque semaine avec une solution de lipopolysaccharides (LPS) de *E. coli* qui mime une attaque parasitaire, alors que l'autre moitié constituait un groupe témoin et a été traitée avec une solution saline (PBS).

Au début (jour 0) et à la fin de l'expérience (jour 21), la couleur du bec a été mesurée en utilisant le nuancier colorimétrique (Dulux) et le sang a été collecté pour mesurer la concentration en caroténoïdes. L'expérience a été répétée quelques semaines plus tard avec d'autres individus, en utilisant 24 oiseaux par groupe (au total  $n = 96$ ). Cependant, trois mâles sont morts dans chaque groupe réduisant la taille de l'échantillon à 90.

## **2.2) Analyse de la couleur du bec**

La couleur du bec a été évaluée en utilisant un nuancier colorimétrique sous condition de lumière standardisée. Nous avons utilisé une gamme spécifique (Dulux) à neuf niveaux, allant du rouge clair au rouge sombre, établie par Blount *et al.* (2003) : les informations en italique indiquent la teinte, le numérateur la luminosité et le dénominateur la saturation. (**1** (69YR 34/780), **2** (56YR 28/778), **3** (44YR 26/756), **4** (34YR 20/708), **5** (31YR 18/648), **6** (16YR 16/594), **7** (19YR 13/558), **8** (09YR 11/475), **9** (14YR 10/434)).

Pour chaque individu, la couleur du bec a été estimée indépendamment par trois observateurs et les scores obtenus sont répétables entre observateurs ( $p < 0,001$  ;  $n = 96$ ). Nous avons donc utilisé la moyenne des mesures comme score individuel de la couleur du bec.

## **2.3) Analyse des caroténoïdes circulants**

Les échantillons de sang (150 à 200  $\mu$ l) sont collectés au niveau de la veine brachiale en utilisant des capillaires héparinés. Le sang est immédiatement centrifugé (4000 rpm, 4°C, 15 min) et le plasma est conservé à -80°C pour permettre le dosage des caroténoïdes plasmatiques (= circulants). L'extraction des caroténoïdes est réalisée en deux étapes :

- Première étape : 15 µl de plasma et 3200 ng de standard interne (astaxanthine) sont placés dans 200 µl de méthanol pur. La solution est alors centrifugée (4000 rpm, 4°C, 10 min) et le surnageant est conservé.

- Seconde étape : le culot est additionné de 200 µl de MTBE (Methyl Tertio Buthyl Ether) et il est de nouveau centrifugé (4000 rpm, 4°C, 10 min).

Le surnageant obtenu est ajouté au premier et la solution ainsi obtenue est évaporée. Enfin, on la dilue avec 50 µl de solution de MTBE et de méthanol (v :v 50/50) et on l'analyse par HPLC (high-performance liquid chromatography).

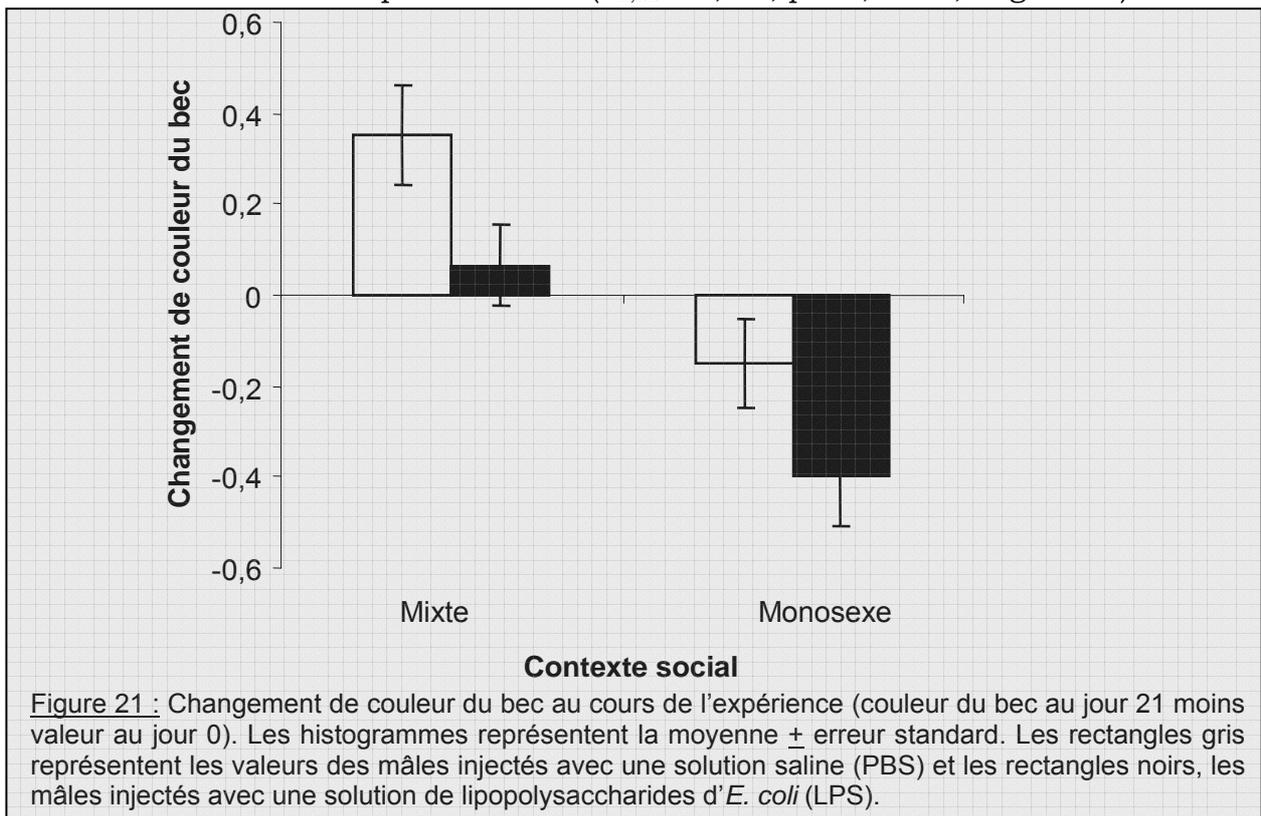
Les analyses précédentes ont montré que la pigmentation du bec des Diamants mandarins est due à quatre types de pigments caroténoïdiques : lutéine, zeaxanthine, anhydrolutéine and β-cryptoxanthine (McGraw & Ardia, 2003). Les concentrations plasmatiques de ces quatre pigments sont fortement corrélées (toutes les probabilités sont inférieures à 0,001 ; McGraw & Ardia, 2003) et nous avons donc considéré uniquement la concentration totale en caroténoïdes.

Pour des raisons techniques, l'analyse par HPLC n'était pas utilisable pour le réplicat réalisé quelques semaines plus tard. Nous avons donc utilisé une technique de colorimétrie dont les résultats sont fortement corrélés à ceux obtenus par HPLC chez cette espèce (Alonso-Alvarez *et al.*, 2004). Cette méthode consiste à diluer 20 µl de plasma dans 180 µl d'éthanol absolu. Cette solution est homogénéisée par vortex, puis centrifugée à 1500 g pendant 10 minutes pour précipiter les protéines. Un volume de 100µl de surnageant est ensuite utilisé pour être analysé par un spectrophotomètre qui permet de déterminer la densité optique de la solution pour une longueur d'onde de 450 nm. La concentration en caroténoïdes est calculée par rapport à une courbe étalon construite à partir de concentrations croissantes de lutéine pure (0,0 ; 0,1 ; 0,31 ; 0,625 ; 1,25 ; 2,5 ; 5 et 10µg/mL).

### **3) Résultats**

Une analyse de variance en mesures répétées montre que le contexte social (temps x contexte social :  $F_{1,85} = 20,63$  ;  $p < 0,0001$ ) et le traitement immunitaire (temps x traitement immunitaire :  $F_{1,85} = 6,02$  ;  $p = 0,016$ ) affectent la couleur du bec. Les deux expériences donnant les mêmes résultats (pas d'effet significatif du réplicat), nous avons donc regroupé les données.

Les mâles injectés avec du PBS en contexte monosexe et ceux injectés avec du LPS en contexte mixte maintiennent une couleur de bec similaire tout au long de l'expérience (toutes les probabilités sont supérieures à 0,1 ; Figure 21). Les oiseaux en contexte monosexe injectés avec du LPS ont une couleur du bec qui diminue ( $F_{1,22} = 12,65$  ;  $p = 0,0019$ ) alors que ceux injectés avec du PBS en contexte mixte ont une couleur de bec qui s'intensifie ( $F_{1,22} = 8,65$  ;  $p = 0,0078$  ; Figure 21).

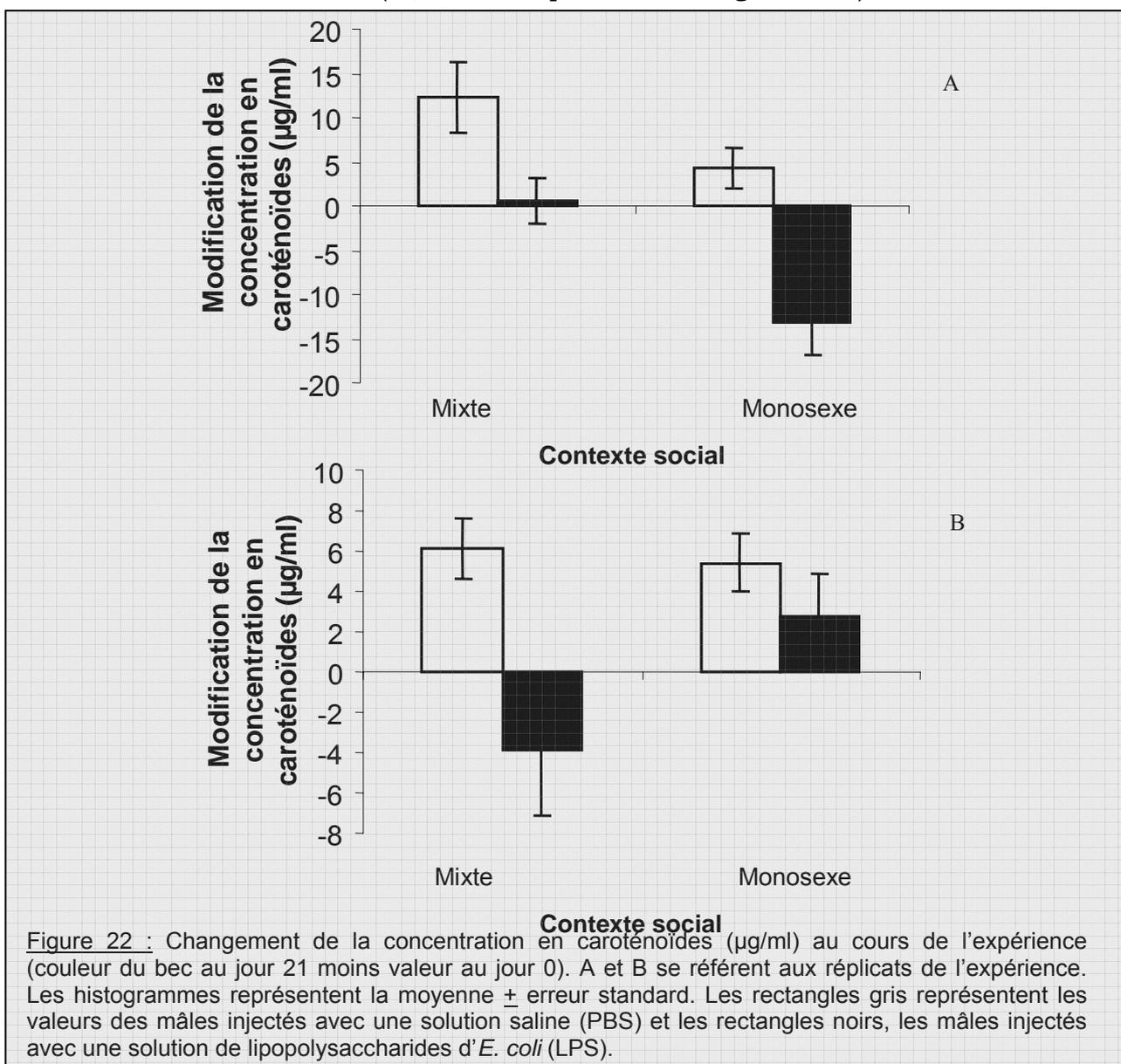


Un patron plus complexe a été obtenu pour les caroténoïdes plasmatiques puisque les deux expériences présentent des différences pour certains résultats. Ceci se traduit par un effet significatif du replicat au sein des effets traitements (temps x traitement immunitaire x replicat :  $F_{1,72} = 4,28$  ;  $p = 0,0421$ ) et du contexte social (temps x contexte social x replicat :  $F_{1,72} = 10,64$  ;  $p = 0,0017$ ). Nous avons donc décidé d'analyser séparément les deux réplicats.

La première expérience montre que, comme pour la couleur du bec, les mâles injectés avec du PBS en contexte monosexe et ceux injectés avec du LPS en contexte mixte maintiennent leur concentration en caroténoïdes circulants (toutes les probabilités sont supérieures à 0,08 ; Figure 22 A, page 119). Les oiseaux en

contexte monosexé injectés avec du LPS ont une concentration en caroténoïdes circulants qui diminue ( $F_{1,9} = 12,34$  ;  $p = 0,0066$ ) alors que ceux injectés avec du PBS en contexte mixte ont une concentration en caroténoïdes circulants qui augmente ( $F_{1,11} = 9,02$  ;  $p = 0,012$  ; Figure 22 A).

L'analyse de la seconde expérience montre que le traitement immunitaire modifie l'évolution du taux de caroténoïdes circulants. Les oiseaux injectés avec du LPS ont significativement moins de caroténoïdes que les individus PBS (temps x traitement immunitaire :  $F_{1,30} = 6,05$  ;  $p = 0,0199$  ; Figure 22 B). Cependant, contrairement à la première expérience, le contexte social ne modifie pas l'évolution des caroténoïdes circulants ( $F_{1,30} = 1,29$  ;  $p = 0,2654$  ; Figure 22 B).



## **4) Discussion**

Nos résultats montrent un effet négatif des challenges immunitaires sur un signal sexuel. Ce résultat a déjà été observé sur d'autres oiseaux présentant un signal sexuel caroténoïdes-dépendant (Faivre *et al.*, 2003a ; Alonso-Alvarez *et al.*, 2004). Ces résultats sont en accord avec les prédictions de la théorie d'allocation des ressources (Stearns, 1992) qui prédit que l'allocation d'une ressource à une fonction (système immunitaire) ne peut se faire qu'aux dépens d'une autre fonction (trait sexuel secondaire).

De plus, les concentrations en caroténoïdes plasmatiques suivent les changements de couleur du bec dans au moins une des deux expériences. La diminution des caroténoïdes circulants suite à un challenge immunitaire a déjà été observée chez le Canard colvert (*Anas platyrhynchos*) (Peters *et al.*, 2004) et le Diamant mandarin (Alonso-Alvarez *et al.*, 2004). Les caroténoïdes circulants étant supposés jouer un rôle protecteur important (Mortensen *et al.*, 1997 ; Chew & Soon Park, 2004 ; Hill, 1999 ; Olson & Owens, 1998 ; Lozano, 1994, 2001), leur diminution témoignerait d'un coût à la réponse immunitaire. Nos résultats semblent donc indiquer l'existence d'un mécanisme proximal en relation avec l'hypothèse selon laquelle les signaux sexuels reflètent l'état de santé des individus (Lozano, 1994)

Nous avons également montré que le contexte social (présence ou non de femelles) peut modifier l'expression d'un signal de sélection sexuelle caroténoïdes-dépendant (couleur du bec). De plus, ce contexte module également l'effet du challenge immunitaire. L'allocation des caroténoïdes aux différentes fonctions semble donc rapidement répondre à des changements de conditions environnementales. L'activation du système immunitaire consomme des caroténoïdes qui auraient été alloués au signal sexuel et correspondent donc à une contrainte sur l'expression du trait. Cependant, en présence de femelles, les mâles semblent capables de réaliser une modification en allouant plus de caroténoïdes au bec. Puisque la couleur du bec est un critère utilisé par les femelles pour choisir leur partenaire reproducteur, la flexibilité d'allocation des caroténoïdes chez les mâles pourrait être adaptative. Ainsi, en présence de partenaires reproducteurs potentiels, les mâles seraient capables de réaliser une modification adaptative de l'allocation des caroténoïdes.

D'un point de vue mécanistique, nos résultats posent la question de savoir si le contexte social peut modifier ou non le taux de caroténoïdes circulants. Ainsi, les différences entre les deux réplicats suggèrent que les mécanismes gouvernant les changements de caroténoïdes circulants sont complexes et non totalement élucidés. Il est ainsi bien connu que l'environnement peut affecter le système endocrinien et le niveau d'hormones circulantes (Nelson, 2000). Ceci laisse penser que le contexte social pourrait influencer l'expression des caractères sexuels secondaires *via* un contrôle hormonal de l'allocation des ressources clés vers les signaux. Les hormones pourraient être responsables d'une telle signalisation biochimique, mais on maîtrise très mal les mécanismes liant hormones, absorption et conversion des caroténoïdes et l'expression des signaux sexuels caroténoïdes-dépendants (Furr & Clark, 1997).

# **Discussion et** **conclusion**

# **1) Synthèse des principaux résultats**

Nous avons mis en évidence diverses relations entre la présence de parasites (Haemosporidae et tiques) et divers indicateurs de condition des individus (Chapitre 1). Ces résultats semblent indiquer un effet pathogène de ces parasites. Nous avons également montré que les populations de milieu urbanisé présentent des prévalences parasitaires plus faibles que celles vivant en milieu forestier (Chapitre 3). Ces deux résultats laissent penser que les fortes densités de Merles observées en ville (Luniak *et al.*, 1990 ; Isenman, 2000) s'expliquent au moins en partie par la diminution des coûts parasitaires au sein des milieux urbains.

D'autres explications sont néanmoins possibles car les relations que nous avons mises en évidence entre la présence de parasites et la condition des individus ne sont que corrélatives. On peut ainsi considérer que la présence de parasites n'est pas la cause mais le reflet de l'état des individus. (Un individu pourrait être « faible » non pas parce qu'il serait parasité, mais avoir été parasité parce qu'il était faible, et donc, peu capable de se défendre). D'un point de vue spatial, le milieu urbain pourrait constituer un biotope plus favorable (Luniak *et al.*, 1990), dans lequel les Merles seraient donc physiologiquement plus « résistants » et donc moins parasités. L'utilisation de méthodes de détection moléculaire (Chapitre 3) semblerait confirmer que les différences interhabitat sont des différences d'intensité parasitaire qui peuvent s'interpréter en terme de résistance des Merles à l'infection.

Nos résultats ne permettent pas de totalement clarifier les effets parasitaires. Ainsi, pour les Haemosporidae, il existe des relations entre parasite et condition des individus (Chapitre 1) mais n'avons pu identifier d'effets sur la survie (Chapitre 2). Il semble aujourd'hui nécessaire de mettre en place des études expérimentales (infestations contrôlées...) afin de mieux comprendre et de quantifier la pathogénicité de ces parasites chez le Merle.

Le rôle des parasites au sein de la sélection sexuelle a également été abordé. Nos résultats confirment le rôle des caroténoïdes comme lien entre l'immunité des mâles et l'intensité de leurs signaux colorés. Cependant, ils soulignent aussi une certaine complexité du processus :

- d'une part, il semble bien que le contexte social module cette relation (Chapitre 5). Cette modulation remet partiellement en cause l'idée selon laquelle les caroténoïdes constituent un mécanisme universel garant de l'honnêteté des signaux (Lozano, 1994).

- d'autre part, Lozano affirmait en 2001 que les effets immunostimulants des caroténoïdes étaient quelque chose d'universel car ils reposent sur la propriété biochimique qu'ont les caroténoïdes de neutraliser les radicaux libres. Pourtant, en supplémentant des individus en caroténoïdes, nous avons obtenu une augmentation de la réponse immunitaire et de la concentration en caroténoïdes dans le sang sans que la moindre augmentation de la résistance des cellules sanguines aux radicaux libres n'ait été détectée (Chapitre 4).

- enfin, la relation entre les mesures de l'immunité par challenge immunitaire et la résistance aux parasites n'est pas démontrée (Chapitre 4 ; Adamo, 2004).

D'une manière générale, on considère souvent que les études expérimentales constituent *in se* une méthodologie plus recommandable que les études corrélatives. Cependant, la transposition au milieu naturel peut être compliquée par les méthodologies utilisées (Chapitre 4) et par les contraintes propres aux systèmes naturels qui sont parfois négligées (Chapitre 5). Il semble important de développer des approches qui utilisent de « vrais parasites » pour confirmer les résultats obtenus avec des challenges immunitaires et donc le rôle clef des caroténoïdes au sein des processus de sélection sexuelle.

## **2) Perspectives**

De par la diversité des approches utilisées, ce travail est porteur de très nombreuses perspectives dont un grand nombre a déjà été évoqué. Nous ne présenterons que trois thèmes qui sont bien entendus des perspectives directes de ce travail, mais qui nous semblent aussi pouvoir conduire à des développements prometteurs pour la compréhension de la relation hôte-parasite.

### **2.1) Comment les Haemosporidae agissent-ils sur leur hôtes ?**

Depuis les travaux d'Hamilton-Zuk (1982), les études utilisant les Haemosporidae se sont multipliées (Atkinson & Van Riper III, 1991). Un grand nombre d'entre elles se basent sur la prévalence déterminée par lecture optique de frottis sanguins. Cette méthode présente l'avantage d'être facile à réaliser, peu coûteuse et de fournir une estimation des intensités parasitaires. Cependant, divers travaux récents ont souligné son faible niveau de détection, ce qui conduit à sous évaluer fortement les prévalences pour des infections de faible intensité (Jarvi *et al.*, 2002 ; Waldenström *et al.*, 2002) : ceci peut poser des problèmes d'interprétation des résultats. Ainsi, nous avons montré que l'amélioration de détection des parasites pouvait varier selon l'habitat, conduisant à une mauvaise interprétation des patrons spatiaux (Chapitre 3). De la même manière, on peut penser que les effets mis en évidence en terme de prévalence par lecture de frottis sanguins sont faussés par l'existence de nombreux « faux négatifs », c'est-à-dire des individus considérés comme sains alors qu'ils sont parasités.

En fait, l'effet des Haemosporidae pourrait être beaucoup plus lié à leur intensité parasitaire qu'à leur simple présence (Atkinson & Van Riper III, 1991 ; Sol *et al.*, 2003). Ceci paraît d'autant plus logique que les études expérimentales qui montrent un effet des parasites le détectent pour de fortes intensités (Valkiūnas, 2005). Pour mieux cerner comment ces parasites interagissent avec leur hôte, il

semble particulièrement intéressant de mettre au point des méthodes moléculaires de détection quantitative (PCR quantitative) qui permettraient de mieux comprendre comment ces parasites agissent sur leur hôtes et de mettre en évidence de possibles effets seuils.

## **2.2) Urbanisation, parasites et santé publique**

Notre travail a permis de mettre en évidence le rôle de la modification du milieu (urbanisation) sur la parasitémie en tiques et en Haemosporidae (Chapitre 3). Ce rôle protecteur des villes vis-à-vis du risque parasitaire s'explique par les caractéristiques spécifiques du milieu urbain. Cependant, le développement du milieu urbain s'accompagne d'un accroissement des espaces verts (jardins, squares, parcs...) qui deviennent également de plus en plus « naturels ». Jusqu'à récemment, la plupart des parcs urbains recevaient à peu près le même traitement, axé sur le maximum de surfaces gazonnées, uniformes, régulièrement tondues et traitées. Désormais, la gestion de ces zones se veut moins uniforme et interventionniste comme par exemple à Montréal : « ...aujourd'hui, dans le paysage montréalais, des parcs agrémentés d'arrangements floraux sophistiqués côtoient des espaces où s'affirme la nature dans toute sa simplicité » (Ville de Montréal, 2001). Il serait intéressant de vérifier si les démarches visant à « faire rentrer la nature en ville » conduisent à créer des nouveaux sites au sein desquels les parasites pourraient accomplir leur cycle dans des zones à forte densité humaine.

Dans le cas du Merle, il est fort probable qu'à chaque migration, les individus apportent au sein du milieu urbain des tiques dont certaines porteuses de la maladie de Lyme (car le Merle semble constituer un réservoir de cette maladie ; Humair *et al.*, 1998). Actuellement, il semble que les tiques ne se maintiennent pas car le milieu ne leur permet pas de survivre. Mais la politique de la « nature en ville » pourrait bien modifier la situation. Il est probable que ce type de modification soit en cause dans l'augmentation depuis le milieu des années 90 du nombre de pathologies vectorielles à tiques (George & Chastel, 2002). De plus, le rôle des oiseaux dans la

dispersion et le maintien de cette maladie a déjà été suggéré à grande échelle pour expliquer son existence en Irlande (Gray *et al.*, 2000 ; Kirstein *et al.*, 1997). Il conviendrait de développer les études visant à comprendre et à identifier les facteurs responsables de la dispersion et de l'implantation des tiques.

### **2.3) Rôle des caroténoïdes dans les processus de sélection sexuelle**

Bien que de nombreux modèles biologiques montrent une relation entre le développement des ornements des mâles et les parasites -ou l'immunocompétence- (par exemple Andersson, 1994 ; Møller, 1994 ; Hamilton & Poulin, 1997), l'hypothèse d'Hamilton-Zuk reste sujette à controverse. Récemment, des travaux ont permis de mettre en avant un mécanisme basé sur les caroténoïdes qui pourrait relier directement certains signaux sexuels et l'immunocompétence (voir introduction de la seconde partie), et ce de manière universelle.

Nous avons cependant montré que la présence ou non de partenaires potentiels pouvait moduler l'allocation des caroténoïdes au bec chez les mâles de Diamants mandarins (Chapitre 5). Des études du même type menées sur d'autres espèces d'oiseaux permettraient de confirmer la généralité de cette modulation. Cette démonstration est d'importance car, si l'allocation des caroténoïdes aux différentes fonctions est modulable, on peut se demander quel est l'intérêt évolutif du maintien d'une couleur de bec élevée en dehors des périodes de reproduction.

D'un point de vue plus mécanistique, les hormones associées à la reproduction pourraient constituer le lien physiologique permettant de favoriser le maintien de la couleur durant les périodes où celle-ci présente un avantage direct. Une expérience récente chez le canard a d'ailleurs montré que les individus qui investissent dans une réponse immunitaire ont à la fois une diminution dans la concentration en caroténoïdes circulants et en testostérone (Peters *et al.*, 2004). Ce mécanisme hormonal pourrait ainsi constituer un lien avec la théorie du handicap d'immunocompétence (voir Folstad & Karter, 1992 ; Roberts *et al.*, 2004). La

réalisation d'expériences qui contrôlent à la fois l'apport en caroténoïdes et les niveaux d'hormones semble donc prometteuse.

**Références**

**Bibliographiques**

## A

- Adamo SA, 2004. How should behavioural ecologist interpret measurements of immunity. *Animal Behaviour* 68:1443-1449.
- Akaike H, 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood theory principle. In: International symposium on Information Theory (Petrand BN, Czàki F, eds). Budapest : Akadémiai Kiadi; 267-281.
- Albon SD, Stien A, Langvatn R, Roptad E, Halvorsen O, 2002. The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. *Proceedings of the Royal Society of London B* 269:1625-1632.
- Alonso-Alvarez C, Bertrand S, Devevey GL, Gaillard M, Prost J, Faivre B, Sorci G, 2004. An experimental test of the dose-dependent effect of carotenoids and immune activation on sexual signals and antioxidant activity. *The American Naturalist* 164:651-659.
- Amar EC, Kiron V, Satoh S, Okamoto N, Wataabe T, 2000. Effects of dietary beta-carotene on the immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science* 66:1068-1075.
- Anderson RM, May RM, 1979. Population biology of infectious disease: Part I. *Nature* 280:361-367.
- Anderson RM, Crombie JA, 1984. Experimental studies of age-prevalence curves for *Shistosoma mansoni* infections in populations of *Biomphalaria glabrata*. *Parasitology* 89:79-105.
- Anderson RM, May RM, 1982. Coevolution of hosts and parasites. *Parasitology* 85:411-426.
- Anderson RM, 1978. The regulation of host population growth by parasitic species. *Parasitology* 76:119-157.
- Andersson M, 1994. Sexual selection. Princeton: Princeton University Press.
- Arnason AN, 1973. The estimation of population size, migration rates and survival in a stratified population. *Researches on Population Ecology* 15:1-8.
- Aron JL, Silverman BA, 1994. Models and public health applications. In: Parasitic and infectious diseases - epidemiology and ecology (Scott ME, G.Smith, eds). London: Academic Press; 73-81.
- Atkinson CT, Forrester DJ, Greiner EC, 1988. Pathogenicity of *Haemoproteus meleagridis* (Haemosporina: Haemoproteidae) in experimentally infected domestic turkeys. *The Journal of Parasitology* 74:228-239.
- Atkinson CT, Van Riper III C, 1991. Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: *Plasmodium*, *Leucocytozoon* and *Haemoproteus*. In: Bird-parasite interactions (Loye JE, Zuk M, eds). Oxford: Oxford university press; 19-48.
- Atkinson CT, Woods KL, Dusek RJ, Sileo LS, Iko WM, 1995. Wildlife disease and conservation in Hawaii: pathogenicity of avian malaria (*Plasmodium relictum*) in experimentally infected iiwi (*Vestiaria coccinea*). *Parasitology* 111:S59-S69.

## B

- Badyaev AV, Hill GE, 2003. Avian sexual dichromatism in relation to phylogeny and ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 34:27-49.
- Balcerowiak S, 2003. *Medecine: futur anterieur ou les perspectives d'avenir inspirees par deux grandes decouvertes scientifiques du XIXe siècle: la théorie microbienne et les rayons X*. Reims: Université de Reims Faculté de medecine.
- Barja G, Cadenas S, Rojas C, Perez-Campo R, Lopez-Torres M, 1994. Low mitochondrial free radical production per unit O<sub>2</sub> consumption can explain the simultaneous presence of high longevity and high aerobic metabolic rate in birds. *Free radical research* 21:317-328.

- Barnard CJ, Behnke JM, Gage AR, Brown H, Smithurst PR, 1998. The role of parasite-induced immunodepression, rank and social environment in the modulation of behaviour and hormone concentration in male laboratory mice (*Mus musculus*). *Proceedings of the Royal Society of London B* 265:693-701.
- Beckman KB, Ames BM, 1998. The free radical theory of ageing matures. *Physiological Reviews* 78:547-581.
- Bendich A, 1993a. Biological functions of dietary carotenoids. *Annals of the New York Academy of Sciences* 691:61-67.
- Bendich A, 1993b. Physiological roles of antioxidants in the immune system. *Journal of Dairy Science* 76:2789-2794.
- Bendich A, 1996. Antioxydants, vitamins and human immune response. *Vitamines and Hormones* 52:35-62.
- Bennett GF, Bishop MA, Peirce MA, 1993a. Checklist of the avian species of *Plasmodium* Marchiafava and Celli, 1885 (Apicomplexa) and their distribution by avian family and Wallacean. *Systematic Parasitology* 26:171-179.
- Bennett GF, Thommes F, Blancou J, Artois M, 1982. Blood parasites of some birds from the Lorraine region, France. *Journal of Wildlife Diseases* 18:81-88.
- Bennett GF, Peirce MA, 1988. Morphological form in the avian Haemoproteidae and an annotated checklist of the genus *Haemoproteus* Kruse, 1980. *Journal of Natural History* 22:1683-1696.
- Bennett GF, Peirce MA, Ashford RW, 1993b. Avian Haemotozoa: mortality and pathogenicity. *Journal of Natural History* 27:993-1001.
- Bennett GF, Peirce MA, Earlé RA, 1994. An annotated checklist of the valid avian species of *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* (Apicomplexa: Haemosporida) and *Hepatozoon* (Apicomplexa: Haemogregarinidae). *Systematic Parasitology* 29:61-73.
- Bennett PM, Owens IPF, 2002. *Evolutionary ecology of birds: life histories, mating systems, and extinction*. Oxford: Oxford University Press.
- Blount JD, Metcalfe NB, Birkhead TR, Surai PF, 2003. Carotenoid modulation of immune function and sexual attractiveness in zebra finches. *Science* 300:125-127.
- Bonneaud C, Mazuc J, Gonzalez G, Haussy C, Chastel O, Faivre B, Sorci G, 2003. Assessing the cost of mounting an immune response. *The American Naturalist* 161:367-379.
- Booth CE, Elliot PE, 2003. Hematological responses to hematozoa in North American and neotropical songbirds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 133:451-467.
- Boulinier G, McCoy KD, Sorci G, 2001. Dispersal and parasitism. In: *Dispersal* (Clobert J, Nichols JD, Danchin E, Dhont A, eds). Oxford: Oxford University Press; 169-179.
- Brown ME, 1996. Assessing body condition in birds. *Current Ornithology* 13:67-135.
- Brownie C, Hines JE, Nichols KH, Pollock KH, Hestbeck JB, 1993. Capture-recapture studies for multiple strata including non-Markovian transitions. *Biometrics* 49:1173-1187.
- Bull JJ, 1994. Perspective: Virulence. *Evolution* 48:1423-1437.
- Burley N, Coopersmith CB, 1987. Bill color preferences of zebra finches. *Ethology* 76:133-151.
- Burley N, Tidemann SC, Halupka K, 1991. Bill colour and parasite levels of zebra finches. In: *Bird-parasite interactions* (Loye JE, Zuk M, eds). Oxford: Oxford University Press; 359-376.
- Burnham KP, Anderson DR, 1998. *Model selection and inference: a practical information-theoretic approach*. New York: Springer Verlag.
- Bush AO, Fernández JC, Esch GW, Seed JR, 2001. *Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Butcher GS, Rohwer S, 1989. The evolution of conspicuous and distinctive coloration for communication in birds. *Current Ornithology* 6:51-108.

## C

- Campbell TW, Dein JF, 1984. Avian hematology : the basics. Veterinary clinics of north America: Small animal practice 14:223-248.
- Campbell TW, 1995. Avian hematology and cytology. Ames: Iowa State University Press.
- Cassier P, Brugerolle G, Combes C, Grain J, Raibaut A, 1998. Le parasitisme, un équilibre dynamique. Paris: Masson.
- Centers for disease control and prevention, 1982. A Cluster of Kaposi's Sarcoma and *Pneumocystis carinii* Pneumonia among Homosexual Male Residents of Los Angeles and range Counties, California. CDC MMWR 31:305-307.
- Centre National de Référence des Borrelia, 2005. Missions spécifiques, consulté le 26/04/2005, <<http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/borrelia/frame-borrelia-missions.html#interet>>.
- Cheng TC, 1991. Is parasitism symbiosis ? A definition of terms and the evolution of concepts. In: Parasite-host associations, coexistence or conflict ? (Toft CA, Aeschlimann A, Bolis L, eds). Oxford: Oxford University Press; 15-36.
- Chew BP, 1993. Role of carotenoids in the immune response. Journal of Dairy Science 76:2804-2811.
- Chew BP, 1996. Importance of antioxydant vitamins in immunity and health in animals. Animal Feed Science and Technology 59:103-114.
- Chew BP, Soon Park S, 2004. Carotenoid action on immune response. The Journal of Nutrition 134:257-261.
- Choquet R, Reboulet AM, Pradel R, Gimenez O, Lebreton J-D, 2003a. User's manual for M-SURGE 1.0, consulté en 2003, <<ftp://ftp.cefe.cnrs-mop.fr/biom/Soft-CR/manual.doc>>.
- Choquet R, Reboulet AM, Pradel R, Gimenez O, Lebreton J-D, 2003b. U-Care user's guide, version 2.0, consulté en 2003, <<ftp://ftp.cefe.cnrs-mop.fr/biom/Soft-CR/>>.
- Christe P, Oppliger A, Richner H, 1994. Ectoparasite affects choice and use of roost sites in the great tit, *Parus major*. Animal Behaviour 47:895-898.
- Clayton DH, Moore J, 1997. Host-parasite evolution: general principles and avian models. Oxford: Oxford University Press.
- Clutton-Brock TH, 1988. Reproductive success. Chicago: University of Chicago Press.
- Collins SA, Ten Cate C, 1996. Does beak colour affect female preference in Zebra finches? Animal Behaviour 52:105-112.
- Collins AR, Horváthová E, 2001. Oxidative DNA damage, antioxidants and DNA repair: applications of the comet assay. Biochemical Society Transactions 29:337-341.
- Combes C, 1995. Interactions durables. Ecologie et évolution du parasitisme. Paris: Masson.
- Coustau C, Chevillon C, French-Constant R, 2000. Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? Trends in Ecology and Evolution 15:378-383.
- Cramp, S. 1988. Handbook of the Birds of Europe, the Middle East and North Africa, Vol.5. Oxford: Oxford University Press.
- Creighton E, 2000. Reproductive Strategies in the European Blackbird, *Turdus merula*. Milton Keynes: The Open University.
- Cresswell W, 1998. Diurnal and seasonal mass variation in Blackbirds *Turdus merula*: consequences for mass-dependent predation risk. Journal of Animal Ecology 67:78-90.
- Crofton HD, 1971. A model of host-parasite relationships. Parasitology 63:343-364.
- Cynx J, Gell C, 2004. Social mediation of vocal amplitude in a songbird, *Taeniopygia guttata*. Animal Behaviour 67:451-455.

## D

- Dale S, Kruszewicz A, Slagsvold T, 1996. Effects of blood parasites on sexual and natural selection in the pied flycatcher. *Journal of Zoology* 238:373-393.
- Danchin E, Giraldeau L-A, Cézilly F, 2005. *Ecologie comportementale : cours et questions de réflexion*. Paris: Dunod.
- Danchin E, Boulinier T, Massot M, 1998. Conspecific reproductive success and breeding habitat selection: implications for the study of coloniality. *Ecology* 79:2415-2428.
- Darwin CR, 1859. *On the origin of species by means of natural selection*. London: Murray.
- Darwin CR, 1871. *The descent of man, and selection in relation to sex*. London: Murray.
- Davidar P, Morton ES, 1993. Living with parasites: Prevalence of a blood parasite and its effect on survivorship in the Purple Martin. *The Auk* 110:109.
- Dawkins R, Krebs JR, 1979. Arms races between and within species. *Proceedings of the Royal Society of London B* 205:489-511.
- Dawson RD, Bortolotti GR, 2001. Sex-specific associations between reproductive output and hematozoan parasites of American kestrels. *Oecologia* 126:193-200.
- Delaye C, 1998. *Structuration génétique de populations de tiques (Ixodes ricinus) vecteur de micropathogènes*. Montpellier: Université de Montpellier II.
- Demas GE, Chefer V, Talan MI, Nelson R, 1997. Metabolic costs of mounting an antigen-stimulated immune response in adult and aged C57BL/6J mice. *American Journal of Physiology* 42:R1631-R1637.
- Devevey GL, 2003. *Approche évolutive du lien entre statut antioxydant et longévité chez les oiseaux (DEA)*. Dijon: Université de Bourgogne.
- Dobson AP, Keymer AE, 1990. Population dynamics and community structure of parasite helminths. In: *Living in a Patchy Environment* (Shorrocks B, Swingland IR, eds). Oxford: Oxford University Press; 107-125.
- Dobson AP, Hudson PJ, 1992. Regulation and stability of a free-living host parasite system-*Trichostrongylus tenuis* in red grouse. II: Population models. *Journal of Animal Ecology* 61:487-498.
- Doby JM, Bigaignon G, Degeilh B, Guigen C, 1994. Ectoparasites des grands mammifères sauvages, cervidés et suidés, et Borréliose de Lyme. Recherche de *Borrelia burgdorferi* chez plus de 1400 tiques, poux, pupipares et puces. *Revue de Médecine vétérinaire* 145:743-748.
- Doby JM, Bigaignon G, 1997. Tiques Ixodidae parasites d'oiseaux et leur rôle pathogène. *Revue de Médecine vétérinaire* 148:853-860.
- Doutrelant C, McGregor PK, Oliveira RF, 2001. The effects of an audience on intrasexual communication in male Siamese fighting fish, *Betta splendens*. *Behavioral Ecology* 12:283-286.
- Dufva R, Allander K, 1995. Intraspecific variation in plumage coloration reflects immune response in great tit (*Parus major*) males. *Functional Ecology* 9:785-789.
- Dwyer G, Levin SA, Buttel L, 1990. A simulation model of the population dynamics and evolution of myxomatosis. *Ecological Monographs* 60:423-447.

## E

- Ebert D, 1998. The evolution and expression of parasite virulence. In: *Evolution in Health and Disease* (Stearns SC, ed). Oxford: Oxford university press; 161-175.
- Ebert D, Bull JJ, 2003a. Challenging the trade-off model for the evolution of virulence: is virulence management feasible ? *Trends in Microbiology* 11:15-20.
- Ebert D, Bull JJ, 2003b. Response to: Eliot and Gandon and Day: revisiting virulence management. *Trends in Microbiology* 11:208-209.

- Ebert D, 1994. Virulence and local adaptation of a horizontally transmitted parasite. *Science* 265:1084-1086.
- Edge R, McGarvey DJ, Truscott TG, 1997. The carotenoids as anti-oxidants - a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 41:189-200.
- Eggleton P, Gaston KJ, 1990. "Parasitoid" species and assemblages: convenient definitions or misleading compromises? *Oikos* 59:417- 421.
- Elliot SL, 2003. The virulence-transmission trade-off and virulence management. *Trends in Microbiology* 11:205-206.
- Eraud C, 2003. Le coût énergétique de l'activation du système immunitaire chez la tourterelle turque *Streptopelia decaocto* (DEA). Dijon: Université de Bourgogne.
- Euzet L, 1989. Ecologie et parasitologie. *Bulletin Ecologique* 20:277-280.
- Ewald PW, 1995. The evolution of virulence: a unifying link between parasitology and ecology. *Journal of Parasitology* 81:659-669.

## F

- Faivre B, Prévault M, Théry M, Secondi J, Patris B, Cézilly F, 2001. Breeding strategy and morphological characters in an urban population of blackbirds, *Turdus merula*. *Animal Behaviour* 61:969-974.
- Faivre B, Grégoire A, Prévault M, Cézilly F, Sorci G, 2003a. Immune activation rapidly mirrored in a secondary sexual trait. *Science* 300:103.
- Faivre B, Prévault M, Salvadori F, Théry M, Gaillard M, Cézilly F, 2003b. Bill colour and immunocompetence in the European blackbird. *Animal Behaviour* 65:1125-1131.
- Faure H, Fayol V, Galabert C, Grolier P, Le Moël G, Steghens J-P, Van Kappel A, Nabet F, 1999. Les caroténoïdes : 1. Métabolisme et physiologie. *Annales de Biologie Clinique* 57:169-183.
- Fenoglio S, Cucco M, Malacarne G, 2002. The effects of a carotenoid-rich diet on immunocompetence and behavioural performances in Moorhen chicks. *Ethology Ecology and Evolution* 14:149-156.
- Figuerola J, Muñoz E, Gutiérrez R, Ferrer D, 1999. Blood parasites, leucocytes and plumage brightness in Cirl bunting, *Emberizia cirlus*. *Functional Ecology* 13:594-601.
- Finkel T, Holbrook NJ, 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408:239-247.
- Folstad I, Karter AJ, 1992. Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *The American Naturalist* 139:603-622.
- Freeland WJ, 1981. Parasitism and behavioral dominance among male mice. *Science* 213:461-462.
- Fromont E, 1997. Analyse comparative de la transmission de cinq virus dans des populations de chats domestiques (*Felis catus* L.). Lyon: Université de Lyon 1.
- Furlanello C, Merler S, 2000. Boosting of Tree-based Classifiers for Predictive Risk Modeling in GIS. In: First International Workshop on Multiple Classifier Systems (Roli F, ed). London : Springer-Verlag; 220-229
- Furr HC, Clark RM, 1997. Intestinal Absorption and Tissue Distribution of Carotenoids. *Journal of Nutritional Biochemistry* 8:364-377.

## G

- Gandon S, Day T, 2003. Understanding and managing pathogen evolution: a way forward. *Trends in Microbiology* 11:206-207.
- Garvin MC, Homer BL, Greiner EC, 2003. Pathogenicity of *Haemoproteus danilewskyi*, Kurse, 1890, in Blue jays (*Cyanocitta cristata*). *Journal of Wildlife Diseases* 19:161-169.

- George JC, 2005. Les tiques, consulté le 26/04/2005, <<http://www.ifrance.com/maladies-atiques/Les%20tiques.htm>>.
- George J-C, Chastel C, 2002. Maladies vectorielles à tiques et modifications de l'écosystème en Lorraine. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique 95:95-100.
- Gibson RM, 1990. Relationships between blood parasites, mating success and phenotypic cues in male Sage Grouse *Centrocercus urophasianus*. American Zoologist 30:271.
- Gilbert L, Norman R, Laurenson KM, Reid HW, Hudson PJ, 2001. Disease persistence and apparent competition in a three-host community: an empirical and analytical study of large-scale, wild populations. Journal of Animal Ecology 70:1053-1061.
- Gimenez O, 2003. Estimation et tests d'adéquation pour les modèles de capture-recapture multiétats. Montpellier: Université de Montpellier II.
- Godfrey RDJ, Fedynich AM, Pence DB, 1987. Quantification of haematozoa in blood smears. Journal of Wildlife Diseases 23:558-565.
- Goodwin TW, 1984. The biochemistry of carotenoids. London: Chapman and Hall.
- Graham AJ, Atkinson PM, Danson FM, 2004. Spatial analysis for epidemiology. Acta Tropica 91:219-225.
- Gray JS, 1998. The ecology of ticks transmitting Lyme borreliosis. Experimental and Applied Acarology 22:249-258.
- Gray JS, Robertson JN, Key S, 2000. Limited role of rodents as reservoirs of *Borrelia burgdorferi* sensus lato in Ireland. European Journal of Epidemiology 16:101-103.
- Green AJ, 2001. Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results? Ecology 82:1473-1483.
- Gregory RD, Hudson PJ, 2000. Parasites take control. Nature 406:33-34.
- Grégoire A, Faivre B, Heeb P, Cézilly F, 2002. A comparison of infestation patterns by *Ixodes* ticks in urban and rural populations of the common blackbird *Turdus merula*. Ibis 144:640-645.
- Grégoire A, 2003. Démographie et différenciation chez le Merle noir *Turdus merula* : liens avec l'habitat et les relations hôtes-parasites. Dijon: Université de Bourgogne.
- Gross W, Siegel P, Hall R, Domermuth C, Dubois R, 1980. Production and persistence of antibodies in chickens to sheep erythrocytes. 2. Resistance to infectious diseases. Poultry Science 59:205-210.
- Gylfe A, Bergström S, Lundström J, Olsen B, 2000. Reactivation of *Borrelia* infection in birds. Nature 403:724-725.

## H

- Hamilton WD, Zuk M, 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? Science 218:384-387.
- Hamilton WJ, Poulin R, 1997. The Hamilton and Zuk hypothesis revisited : a meta-analytical approach. Behaviour 134:299-320.
- Hanski IA, 1999. Metapopulation Ecology. Oxford: Oxford University Press.
- Harmon BG, 1998. Avian heterophils in inflammation and disease resistance. Poultry Science 77:972-977.
- Harmon AC, Moore TO, Huhman KL, Albers HE, 2002. Social experience and social context alter the behavioral response to centrally administered oxytocin in female syrian hamsters. Neuroscience 109:767-772.
- Hatchwell BJ, Wood MJ, Anwar M, Perrins CM, 2000. The prevalence and ecology of the haematozoan parasites of European blackbirds, *Turdus merula*. Canadian Journal of Zoology 78:684-687.
- Hatchwell BJ, Wood MJ, Ali Anwar M, Chamberlain DE, Perrins CM, 2001. The haematozoan parasites of common Blackbirds *Turdus merula*: associations with host condition. Ibis 143:420-426.

- Hatchwell BJ, Chamberlain DE, Perrins C, 1996. The demography of blackbirds *Turdus merula* in rural habitats: is farmland a sub-optimal habitat? *Journal of Applied Ecology* 33:1114-1124.
- Heeb P, Werner I, Mateman AC, Kölliker M, Brinkhof MWG, Lessells CM, Richner H, 1999. Ectoparasite infestation and sex-biased local recruitment of hosts. *Nature* 400:63-65.
- Herre GA, 1993. Population structure and the evolution of virulence in nematode parasites of fig wasps. *Science* 259:1442-1444.
- Heywood JS, 1989. Sexual selection by the handicap mechanism. *Evolution* 43:1387-1397.
- Hill GE, 1999. Is there an immunological cost to carotenoid-based ornamental coloration? *The American Naturalist* 154:589-595.
- Hill GE, 2000. Energetic constraints on expression of carotenoid-based plumage coloration. *Journal of Avian Biology* 31:559-566.
- Hoezler GA, 1989. The good parent process of sexual selection. *Animal Behaviour* 38:1067-1078.
- Hörak P, Ots I, Vellau H, Spottiswoode C, Møller AP, 2001. Carotenoid-based plumage coloration reflects hemoparasite infection and local survival in breeding great tits. *Oecologia* 126:166-173.
- Hörak P, Saks L, 2003. Animal allure and health linked by plant pigments. *Bioessays* 25:746-747.
- Hudson PJ, Newborn D, Dobson AP, 1992. Regulation and stability of a free-living host-parasite system: *Trichostrongylus tenuis* in red grouse. I. Monitoring and parasite reduction experiments. *Journal of Animal Ecology* 61:477-486.
- Hudson PJ, Dobson AP, Newborn D, 1998. Prevention of population cycles by parasite removal. *Science* 282:2256-2258.
- Hudson PJ, Dobson PA, 1995. Macroparasites observed patterns. In: *Ecology of infectious diseases in natural populations* (Grenfell BT, Dobson AP, eds). Cambridge: Cambridge University Press; 144-176.
- Hudson PJ, Rizzoli A, Grenfell BT, Heesterbeek H, Dobson AP, 2002. *The ecology of wildlife diseases*. Oxford: Oxford University Press.
- Hughes DA, 1999. Effects of carotenoids on human immune function. *Proceedings of the Nutrition Society* 58:713-718.
- Humair P-F, Turrian N, Aeschlimann A, Gern L, 1993. *Ixodes ricinus* immatures on birds in a focus of Lyme borreliosis. *Folia Parasitologica* 40:237-242.
- Humair P-F, Postic D, Wallich R, Gern L, 1998. An avian reservoir (*Turdus merula*) of the Lyme Borreliosis Spirochetes. *Zentralblatt für Bakteriologie* 287:521-538.
- Hurd H, 1993. Reproductive disturbances induced by parasites and pathogens of insects. In: *Parasites and pathogens of insects* (Beckage NE, Thompson SN, Federici BA, eds). San Diego: Academic Press; 87-105.

## I

- Ilmonen P, Taarna T, Hasselquist D, 2000. Experimentally activated immune defence in female Pied Flycatchers results in reduced breeding success. *Proceedings of the Royal Society of London B* 267:665-670.
- Institut français de l'environnement, 2005. Indicateurs de développement durable, consulté le 26/04/2005, <<http://www.ifen.fr/donIndic/Indicateurs/idd2002/chiffres/>>.
- Institut Pasteur, 2005. Les virus émergents, consulté le 26/04/2005, <<http://www.pasteur.fr/actu/presse/dossiers/emergent/index.html>>.
- Ilsenmann P, 2000. *Le Merle noir*. Angoulême: Eveil nature.
- Iwasa Y, Pomiankowski A, Nee S, 1991. The evolution of costly mate preferences. II. The « Handicap » Principle. *Evolution* 45:1431-1442.

## J

- Jarvi SI, Schultz JJ, Atkinson CT, 2002. PCR diagnostics underestimate the prevalence of avian malaria (*Plasmodium relictum*) in experimentally-infected passerines. *Journal of Parasitology* 88:153-158.
- John JL, 1997. The Hamilton-Zuk theory and initial test: an examination of some parasitological criticisms. *International Journal for Parasitology* 27:1269-1288.

## K

- Keil D, Luebke RW, Nee SB, 2001. Quantifying the relationship between multiple immunological parameters and host resistance: probing the limits of reductionism. *The Journal of Immunology* 167:4543-4552.
- Kierszenbaum F, 1999. Chagas' Disease and the Autoimmunity Hypothesis. *Clinical Microbiology Reviews* 12:210 - 223.
- Kirkpatrick M, 1982. Sexual selection and the evolution of female choice. *Evolution* 36:1-12.
- Kirstein F, Rijpkema S, Molkenboer M, Gray JS, 1997. The distribution and prevalence of *B. burgdorferi* genomospecies in *Ixodes ricinus* ticks in Ireland. *European Journal of Epidemiology* 13:67-72.
- Klasing K, Laurin D, Peng R, Fry D, 1987. Immunologically mediated growth depression in chicks: influence of feed-intake, corticosterone and interleukin-1. *Journal of Nutrition* 117:1629-1637.
- Kodrick-Brown A, Brown JH, 1984. Truth in advertising: the kinds of traits favoured by sexual selection. *The American Naturalist* 124:309-323.
- Krinsky NI, 2001. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition* 17:815-817.

## L

- Lande R, 1981. Models of speciation by sexual selection on polygenic traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 78:3721-3725.
- Lebreton J-D, Burnham KP, Clobert J, Anderson DR, 1992. Modelling survival and testing biological hypothesis using marked animals: a unified approach with case studies. *Ecological Monographs* 62:67-118.
- Levin BR, 1996. The evolution and maintenance of virulence in microparasites. *Emerging Infectious Diseases* 2:93-102.
- Levin SA, Pimentel D, 1981. Selection of intermediate rates of increase in parasite-host systems. *The American Naturalist* 117:308-315.
- Lochmiller RL, Vestrey MR, Boren JC, 1993. Relationship between protein nutritional status and immunocompetence in northern bobwhite chicks. *The Auk* 110:503-510.
- Lochmiller RL, Deerenberg C, 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos* 88:87-98.
- Loye JE, Zuk M, 1991. *Bird-Parasite Interactions. Ecology, Evolution and Behaviour*. Oxford: Oxford University Press.
- Lozano GA, 1994. Carotenoids, parasites, and sexual selection. *Oikos* 70:309-311.
- Lozano GA, 2001. Carotenoids, parasites and sexual selection: comparing apples and oranges? *The American Naturalist* 158:200-203.
- Luniak M, Mulsow R, Walasz K, 1990. Urbanization of the European blackbird - Expansion and adaptations of urban population. In: *Urban ecological studies in central and eastern Europe*. (Luniak M, ed). Ossolineum : Wroclaw; 186-200.

## M

- Malaguarnera L, Musumeci S, 2002. The immune response to *Plasmodium falciparum* malaria. *The Lancet Infectious Diseases* 2:472-478.
- Mallon E, Loosli R, Schmid-Hempel P, 2003. Specific versus nonspecific immune defense in the bumblebee, *Bombus terrestris* L. *Evolution* 57:1444-1447.
- Martin LB, Scheuerlein A, Wikelski M, 2002. Immune activity elevates energy expenditure of house sparrows: a link between direct and indirect costs? *Proceedings of the Royal Society of London B* 270:153-158.
- Marzluff JM, Bowman R, Donnelly R, 2001. A historical perspective on urban bird research: trends, terms and approaches. In: *Avian ecology and conservation in an urbanizing world* (Marzluff JM, Bowman R, Donnelly R, eds). Norwell: Kluwer Academic Publisher; 1-17.
- Massey JG, Graczyk TK, Cranfield MR, 1996. Characteristics of naturally acquired *Plasmodium relictum* capistranoae infections in naive Hawaiian crows (*Corvus hawaiiensis*) in Hawaii. *Journal of Parasitology* 82:182-185.
- Mawby TV, Lovett AA, 1998. The public health risks of lyme disease in Breckland, U.K.: an investigation of environmental and social factors. *Social Science and Medicine* 46:719-727.
- Maxwell MH, Robertson GW, 1998. The avian heterophil leucocyte: a review. *World's Poultry Science Journal* 54:155-179.
- May RM, 1977. Dynamical aspects of host-parasite associations : Crofton's model revisited. *Parasitology* 75:259-276.
- May RM, Anderson RM, 1979. Population biology of infectious diseases: Part II. *Nature* 280:455-461.
- McCoy KD, Boulinier T, Tirard C, Michalakis Y, 2001. Host specificity of a generalist parasite: genetic evidence of sympatric host races in the seabird tick *Ixodes uriae*. *Journal of Evolutionary Biology* 14:395-405.
- McCoy KD, Boulinier T, Schjorring S, Michalakis Y, 2002. Local adaptation of the ectoparasite *Ixodes uriae* to its seabird host. *Evolutionary Ecology Research* 4:441-456.
- McCoy KD, Boulinier T, Tirard C, Michalakis Y, 2003a. Host-dependent genetic structure of parasite populations: differential dispersal of seabird tick host races. *Evolution* 57:288-296.
- McCoy KD, Tirard C, Michalakis Y, 2003b. Spatial genetic structure of the ectoparasite *Ixodes uriae* within breeding cliffs of its colonial seabird host. *Heredity* 91:422-429.
- McCurdy DG, Shutler D, Mullie A, Forbes MR, 1998. Sex-biased parasitism of avian hosts: relations to blood parasite taxon and mating system. *Oikos* 82:303-312.
- McGraw KJ, Ardia DR, 2003. Carotenoids, immunocompetence, and the information content of sexual colors: an experimental test. *The American Naturalist* 162:704-712.
- McGregor PK, 2005. *Animal Communication Networks*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Meade MS, Florin V, Gesler WM, 1988. *Medical geography*. New York: Guilford Press.
- de Meeûs T, Béati L, Delaye C, Aeschlimann A, Renaud F, 2002. Sex-biased genetic structure in the vector of Lyme disease, *Ixodes ricinus*. *Evolution* 56:1802-1807.
- Meeusen ENT, Balic A, 2000. Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites? *Parasitology Today* 16:95-101.
- Mejlon HA, Jaenson TGT, 1997. Questing behaviour of *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology* 21:247-254.
- Merilä J, Björklund M, Bennett GF, 1995. Geographic and individual variation in haematozoan infections in the greenfinch, *Carduelis chloris*. *Canadian Journal of Zoology* 73:1798-1804.

- Merino S, Martínez J, Møller AP, Sanabria L, de Lope F, Perez J, Rodriguez-Caabeiro F, 1999. Phytohaemagglutinin injection assay and physiological stress in nestling house martins. *Animal Behaviour* 58:219-222.
- Moret Y, Schmid-Hempel P, 2000. Survival for immunity: the price of activation for bumblebee workers. *Science* 290:1166-1167.
- Møller AP, 1990. Effects of parasitism by a haematophagous mite on reproduction in the barn swallow. *Ecology* 71:2345-1357.
- Møller AP, 1994. *Sexual selection and the barn swallow*. Oxford: Oxford University Press.
- Møller AP, Biard C, Blount JD, Houston DC, Ninni P, Saino N, Surai PF, 2000. Carotenoid-dependent signals: Indicators of foraging efficiency, immunocompetence or detoxification ability? *Avian and Poultry Biology Reviews* 11:137-159.
- Mortensen A, Skibsted LH, Sampson J, Rice-Evans C, Everett SA, 1997. Comparative mechanisms and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. *FEBS Letters* 418:91-97.

## N

- Navara KJ, Hill GE, 2003. Dietary carotenoid pigments and immune function in a songbird with extensive carotenoid-based plumage. *Behavioral Ecology* 14:909-916.
- Nelson R, 2000. *An Introduction to Behavioural Endocrinology*, 2d edition. Massachusetts: Sinauer Associates Inc.
- Nelson R, 2004. Seasonal immune function and sickness responses. *Trends in Immunology* 25:187-192.
- Nilsson J-A, 2002. Metabolic consequences of hard work. *Proceedings of the Royal Society of London B* 269:259-263.
- Nordberg J, Arnér ES, 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine* 31:1287-1312.
- Norris K, Anwar M, Read AF, 1994. Reproductive effort influences the prevalence of haematozoan parasites in great tits. *Journal of Animal Ecology* 63:601-610.
- Norris KJ, Evans MR, 2000. Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. *Behavioural Ecology* 11:19-26.

## O

- Olson VA, Owens IPF, 1998. Costly sexual signals: are carotenoids rare, risky or required? *Trends in Ecology and Evolution* 13:510-514.
- Oppliger A, Christe P, Richner H, 1997. Clutch size and malarial parasites in female great tits. *Behavioral Ecology* 8:148-152.
- Ostfeld SR, Miller MC, Hazler KR, 1996. Causes and consequences of tick (*Ixodes scapularis*) burdens on white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). *Journal of Mammalogy* 77:266-273.
- Ots I, Hõrak P, 1998. Health impact of blood parasites in breeding great tits. *Oecologia* 116:441-448.
- Ots I, Kerimov AB, Ivankina EV, Ilyina TA, Hõrak P, 2001. Immune challenge affects basal metabolic activity in wintering great tits. *Proceedings of the Royal Society of London B* 268:1175-1181.
- Ots I, Murumägi A, Hõrak P, 1998. Haematological health state indices of reproducing Great Tits: methodology and sources of natural variation. *Functional Ecology* 12:700-707.

## P

- Pagel M, Harvey PH, 1988. Recent developments in the analysis of comparative data. *The Quarterly Review of Biology* 63:413-440.
- Pasare C, Medzhitov R, 2003. Toll-like receptors: balancing host resistance with immune tolerance. *Current Opinion in Immunology* 15:677-682.
- Perkins SL, Schall JS, 2002. A molecular phylogeny of malarial parasites recovered from cytochrome *b* gene sequences. *Journal of Parasitology* 88:972-978.
- Peters A, Delhey K, Denk AG, Kempenaers B, 2004. Trade-offs between immune investment and sexual signaling in male mallards. *The American Naturalist* 164:51-59.
- Pomiankowski A, Iwasa Y, Nee S, 1991. The evolution of costly mate preferences. I. Fisher and biased mutation. *Evolution* 45:1422-1430.
- Poulin R, 1996. How many parasite species are there: are we close to answers? *International Journal for Parasitology* 26:1127-1129.
- Pradel R, Winterbert C, Gimenez O, 2003. A proposal for a goodness-of-fit test to the Arnason-Schwarz multisite capture-recapture model. *Biometrics* 59:43-53.
- Préault M, 2003. Sélection sexuelle et qualité individuelle chez le Merle noir (*Turdus merula*). Dijon: Université de Bourgogne.
- Price PW, 1980. *Evolutionary biology of parasites*. Princeton: Princeton University Press.
- Price T, Schluter D, Heckman NE, 1993. Sexual selection when the female directly benefits. *Biological Journal of the Linnean Society* 48:187-211.
- Pulliam HR, 1988. Sources, sinks, and population regulation. *The American Naturalist* 132:652-661.

## R

- Råberg L, Grahn M, Hasselquist D, Svensson E, 1998. On the adaptive significance of stress-induced immunosuppression. *Proceedings of the Royal Society of London B* 265:1637-1641.
- Råberg L, Nilsson J, Ilmonen P, Stjernman M, Hasselquist D, 2000. The cost of an immune response: vaccination reduces parental effort. *Ecology Letters* 3:382-386.
- Randolph SE, Storey K, 1999. Impact of Microclimate on Immature Tick-Rodent Host Interactions (Acari: Ixodidae): Implications for Parasite Transmission. *Journal of Medical Entomology* 36:741-748.
- Read AF, Weary DM, 1990. Sexual selection and the evolution of bird song: a test of the Hamilton-Zuk hypothesis. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 26:47-56.
- Ribaut J, 1964. Dynamique d'une population de Merles noirs *Turdus merula*. *Revue Suisse de Zoologie* 71:815-902.
- Richner H, Christe P, Oppliger A, 1995. Paternal investment affects prevalence of malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 92:1192-1194.
- Robert V, Macintyre YRE K, Keating J, Trape J-F, Duchemin J-B, Warren M, Beier JC, 2003. Malaria transmission in urban sub-saharan africa. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 68:169-176.
- Roberts ML, Buchanan KL, Evans MR, 2004. Testing the immunocompetence handicap hypothesis: a review of the evidence. *Animal Behaviour* 68:227-239.
- Rohwer S, 1982. The evolution of reliable and unreliable badges of fighting ability. *American Zoologist* 22:531-546.
- Roitt I, Brostoff J, Male D, 2001. *Immunology*, 6<sup>th</sup>. London: Mosby.

Rojas Wahl RU, Zeng L, Stephen A, Madison SA, De Pinto RL, Brian Shay BJ, 1998. Mechanistic studies on the decomposition of water soluble azo-radical-initiators. *Journal of Chemical Society Perkin Transactions 2* 9:2009-2018.

Ryan MJ, 1990. Sexual selection, sensory systems and sensory exploitation. *Oxford Surveys in Evolutionary biology* 7:157-195.

## S

Saino N, Stradi RD, Ninni P, Pini E, Møller AP, 1999. Carotenoid plasma concentration, immune profile and plumage ornamentation of male barn swallows (*Hirunda rustica*). *The American Naturalist* 154:441-448.

Sanz JJ, Arriero E, Moreno J, Merino S, 2001. Female hematozoan infection reduces hatching success but not fledging success in Pied flycatchers *Ficedula hypoleuca*. *The Auk* 118:750-755.

Schalk G, Forbes MR, 1997. Male biases in parasitism of mammals: effects of study type, host age, and parasite taxon. *Oikos* 78:67-74.

Schall JJ, Dearing MD, 1987. Malarial parasitism and male competition for mates in the western fence lizard, *Sceloporus occidentalis*. *Oecologia* 73:389-392.

Schwarz CJ, Schweigert JF, Arnason AN, 1993. Estimating emigration rate using tag-recovery data. *Biometrics* 49:177-193.

Scott ME, Anderson RM, 1984. The population dynamics of *Gyrodactylus bullatarudis* (Monogenea) on guppies (*Poecilia reticulata*). *Parasitology* 89:159-194.

Scott ME, 1987. Regulation of mouse colony abundance by *Heligmosomoides polygyrus*. *International journal for Parasitology* 95:111-124.

Scott ME, Dobson AP, 1989. The role of parasites in regulating host abundance. *International Journal for Parasitology* 5:176-183.

Seutin G, White BN, Boag PT, 1991. Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Canadian Journal of Zoology* 69:82-90.

Seutin G, 1994. Plumage redness in redpoll finches does not reflect hemoparasitic infection. *Oikos* 70:280-286.

Sheldon BC, Verhulst S, 1996. Ecological immunology : costly parasites defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 11:317-321.

Smith-Trail DR, 1980. Behavioral interactions between parasites and hosts: host suicide and the evolution of complex life cycles. *The American Naturalist* 116:77-90.

Sokal RR, Rohlf FJ, 1995. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research.*, 3rd ed. New York: Freeman and Co.

Sol D, Jovani R, Torres J, 2000. Geographical variation in blood parasites in feral pigeons: the role of vectors. *Ecography* 23:307-314.

Sol D, Jovani R, Torres J, 2003. Parasite mediated mortality and host immune response explain age-related differences in blood parasitism in birds. *Oecologia* 135:542-547.

Stearns SC, 1992. *The evolution of life histories.* Oxford: Oxford University Press.

Stocker P, Lesgards J-F, Vidal N, Chalier F, Prost M, 2003. ESR study of a biological assay on whole blood: antioxidant efficiency of various vitamins. *Biochimica et Biophysica Acta* 1621:1-8.

Svensson L, 1992. *Identification guide to european passerines.* Stockholm: Publié par l'auteur.

Svensson E, Råberg L, Koch C, Hasselquist D, 1998. Energetic stress, immunosuppression and the costs of an antibody response. *Functional Ecology* 12:912-919.

## T

- Thioulouse J, Chessel D, Dolédec S, Olivier JM, O, 1997. ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing* 7:75-83.
- Thomas SR, Elkinton JS, 2004. Pathogenicity and virulence. *Journal of Invertebrate Pathology* 85:146-151.
- Toft CA, Karter AJ, 1990. Parasite-host coevolution. *Trends in Ecology and Evolution* 5:326-329.
- Tompkins DM, Dobson AP, Arneberg P, Begon ME, Cattadori IM, Greenman JV, Heesterbeek JAP, Hudson PJ, Newborn D, Pugliese A, Rizzoli AP, Rosà R, Rosso F, Wilson K, 2002. Parasites and host population dynamics. In: *The ecology of wildlife diseases* (Hudson PJ, Rizzoli A, Grenfell BT, Heesterbeek H, Dobson AP, eds). Oxford: Oxford University Press; 45-62.

## V

- Valkiūnas G, 2005. Avian malaria parasites and other Haemosporidae. New York: CRC press.
- Van Valen L, 1973. A new evolutionary law. *Evolutionary Theory* 1:1-30.
- Verhulst P-F, 1838. Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement. *Correspondance mathématique et physique* X:113-121.
- Vignal C, Mathevon N, Mottin S, 2004. Audience drives male songbird response to partner's voice. *Nature* 430:448-451.
- Ville de Montréal, 2001. La naturalisation des espaces verts: un entretien différent pour des besoins différents, consulté le 26/04/2005, <<http://www2.ville.montreal.qc.ca/parcs/entretien/naturalisation.htm>>.
- Von Schantz T, Bensch S, Grahn M, Hasselquist D, Wittzell H, 1999. Good genes, oxidative stress and condition-dependant sexual signals. *Proceedings of the Royal Society of London B* 266:1-12.
- Vuorisalo T, Andersson H, Hugg T, Lahtinen R, Laaksonen H, Lehikoinen E, 2003. Urban development from an avian perspective: causes of hooded crow (*Corvus corone cornix*) urbanisation in two Finnish cities. *Landscape and Urban Planning* 62:69-87.

## W

- Waldenström J, Bensch S, Kiboi S, Hasselquist D, Ottosson U, 2002. Cross-species infection of blood parasites between resident and migratory songbirds in Africa. *Molecular Ecology* 11:1545-1554.
- Weatherhead PJ, Bennett GF, 1991. Ecology of red-winged blackbird parasitism haematozoa. *Canadian Journal of Zoology* 69:2352-2359.
- Weatherhead PJ, Metz KJ, Bennett GF, Irwin RE, 1993. Parasite faunas, testosterone and secondary sexual traits in male red-winged blackbirds. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 33:13-23.
- Wikel SK, 1996. Host immunity to ticks. *Annual Review of Entomology* 41:1-22.
- Wilson K, Bjørnstad ON, Dobson AP, Merler S, Poglayen G, Randolph SE, Read AF, Skorping A, 2002. Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes. In: *The ecology of wildlife diseases* (Hudson PJ, Rizzoli A, Grenfell BT, Heesterbeek H, Dobson AP, eds). Oxford: Oxford University Press; 6-44.
- Woolhouse MEJ, Taylor LH, Haydon DT, 2001. Population biology of multihost pathogens. *Science* 292:1109-1112.

## Z

- Zahavi A, 1975. Mate selection - A selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology* 53:205-214.
- Zann RA, 1996. *The zebra finch, a synthesis of field and laboratory studies*. Oxford: Oxford University Press.
- Zuk M, Stoehr AM, 2002. Immune defense and host life history. *The American Naturalist* 160:S9-S22.
- Zuk M, McKean KA, 1996. Sex differences in parasite infections: patterns and processes. *International Journal for Parasitology* 26:39-68.

# **Annexes**

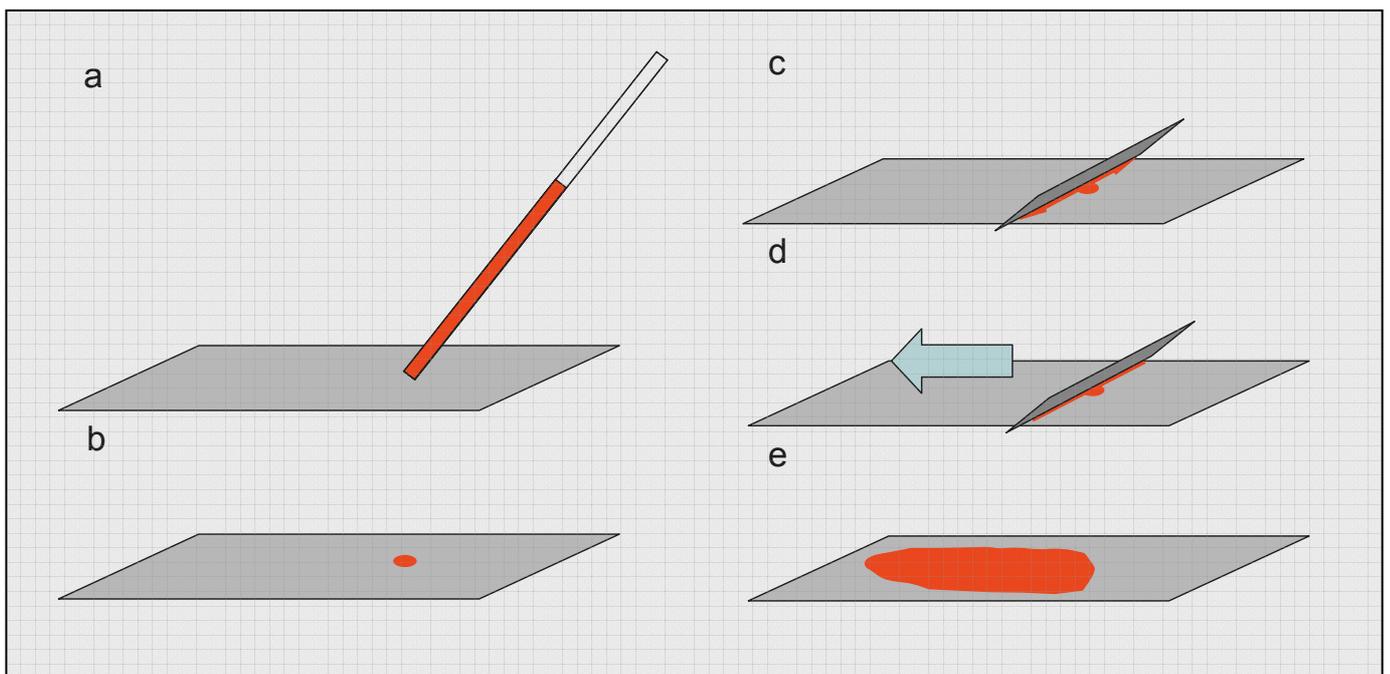
# Annexe 1 :

## Réalisation et analyse de frottis sanguins

### aviaires

### Réalisation

Les échantillons sanguins sont prélevés en utilisant des microcapillaires pré-héparinés sur la veine brachiale. Pour réaliser le frottis, on place une goutte de sang (0.1  $\mu$ l) sur une lame porte-objet nettoyée (a et b). Une lamelle couvre-objet est appliquée à un angle de 30-35° de manière à toucher la goutte de sang qui coule le long du bord (c). La lamelle est ensuite poussée le long de la lame, avec un mouvement régulier, ni trop lent, ni trop rapide (d). Les globules rouges d'oiseau étant nucléés, la réalisation de cet étalement est une étape clef qui doit être réalisée avec minutie pour obtenir un frottis exploitable (Bennett, 1970). Si elle est bien réalisée, elle produit un frottis mince, régulier et entièrement contenu sur la lame (il ne doit pas en déborder) (e).



## Fixation et coloration

Les frottis sont séchés à l'air et fixés dès que possible (et au maximum sous quatre jours) dans du méthanol à 100 % pendant trois minutes (Bennett, 1970). Plus la fixation aura été tardive, moins les contrastes de coloration seront importants. Les frottis sanguins sont ensuite stockés dans un milieu froid et sans poussière jusqu'à coloration.

Ils sont colorés 45 minutes dans une solution de Giemsa (Sigma) composée d'un mélange de 10 mL de colorant avec 190 mL d'eau distillée (voir Campbell, 1995 pour une liste des colorants utilisables). Après 45 min, chaque lame est rincée par un léger filet d'eau tamponnée (pH=7). Une fois débarrassés des impuretés de surface, ces frottis sont mis à sécher puis stockés dans une boîte spéciale les préservant de la poussière et de la lumière.

Bennett GF, 1970. Simple techniques for making avian blood smears. *Canadian Journal of Zoology* 48:585-586.  
Campbell TW, 1995. *Avian hematology and cytology*. Ames: Iowa State University Press.

Annexe 2 :

Avian malaria, hematological parameters and  
body condition in the European blackbird  
*Turdus merula*

**(ARTICLE SOUMIS LE 27/04/2005)**

MARCO BARROCA<sup>1\*</sup>, ARNAUD GREGOIRE<sup>2</sup>, CHRISTOPHE GRAFF<sup>1</sup>, ANNE SABATIER<sup>1</sup>, MATTHEW  
J. WOOD<sup>3</sup>, AND BRUNO FAIVRE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Equipe Ecologie-Evolutive, UMR CNRS 5561 BioGéosciences, Université de Bourgogne, 21000 Dijon, France.*

<sup>2</sup>*Stellenbosch University, Department of Zoology, Private Bag XI, Matieland 7602, South Africa.*

<sup>3</sup>*Edwrad Grey Institute of Field Ornithology, Department of Zoology, South Parks Road, Oxford, OX1 3PS, U.K.*

---

## INTRODUCTION

More than half of the species on earth are parasitic (Price 1980), but until recently, the influences of parasites on the behaviour, ecology and evolution of wild hosts had been largely overlooked. Over the past two decades, biologists have become increasingly aware of the multiple ways in which parasites can significantly impact their hosts (Combes 2001). In the avian literature, hematozoa are one of the more frequently parasitic models used (Atkinson & Van Riper III 1991, Bennett *et al.* 1991). Empirical studies have highlighted avian malaria infections as important factors in the evolution and dynamic of populations. For instance, some studies have shown a relation between hematozoa infection and reproduction investment (e.g. Norris *et al.* 1994, Oppliger *et al.* 1997, Dawson & Bortolotti 2001). In addition, these parasites may affect survival in the wild (Dawson & Bortolotti 2000, Hōrak *et al.* 2001). Despite the growing appreciation of the importance of these parasites, the mechanisms mediating costs of infections in natural populations are often unclear. Several studies have recently emphasized the importance of examining these mechanisms in natural populations to better understand parasite pathogenicity and potential parasite effects on host life-history (Ots & Hōrak 1998, Hatchwell *et al.* 2001, Booth & Elliot 2003).

In addition, the impact of multiple infections by hematozoa has been frequently overlooked since most studies consider only a single genus or species of infection. However, many hematozoa species co-exist in the same host and multiple infections may occur frequently (Richie 1988, Atkinson & Van Riper III 1991, Cox 2001). The impact of these mixed infections is poorly understood in birds. Parasite taxa may interact within hosts either through the host immune system, resource competition or other mechanisms (Richie 1988, Cox 2001, Read & Taylor 2001). For example, in lizards, *Plasmodium agamae* facilitates infection by *P. giganteum* (Schall & Bromwich 1994). Conversely, *P. falciparum* infections can suppress growth of *P. vivax* in humans (Paul *et al.* 2003). These interactions could also have a substantial impact on pathogenic effects. Experimental studies on rodent malaria *P. chabaudi* have shown that mixed-clone infection can result in higher virulence (Taylor *et al.*

1998, but see de Rood & Read 2003). Taken together, these results are somewhat ambiguous and warrant further investigation (Read & Taylor 2001).

Here, we investigate host-parasite interactions between two hematozoa genera and the European blackbird (*Turdus merula*). This species is frequently parasitized by several genera of blood parasites and is therefore a useful model for such a study (Hatchwell *et al.* 2000). In this study, we investigated the interactions between two hematozoan genera *Haemoproteus* and *Plasmodium* in an urban blackbird population. Patterns of variation in host body condition and hematological parameters with parasite presence/absence and intensity were studied, to examine parasite pathogenicity and potential effects on host life-history. Finally, we investigated potential effects of blood parasites on breeding success.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **General methods and host sampling**

From 1998 to 2002, adult (two years and older) birds were captured using mist nets between March and July in the Botanical Garden of Dijon (France, 47°19'N, 5°02'E). Sex was determined according to plumage characteristics as described in Cramp (1988) and Svensson (1992). Individuals were weighed ( $\pm 0.1$ g) and the right tarsus measured using dial calipers (mean of two measurements  $\pm 0.02$ mm). Each bird was ringed with a unique numbered metal ring (Museum National d'Histoire Naturelle-CRBPO). In addition, a unique combination of coloured rings was assigned to each individual for the study of reproductive success (Faivre *et al.* 2001). The number of eggs laid and number of fledglings produced per breeding season were recorded for breeding birds. For individuals trapped more than once, one capture event was randomly chosen for analyses. Capture date correspond to the number of days elapsed since March 1<sup>st</sup>.

### **Parasite detection and haematological parameters**

Blood samples were collected from the brachial vein using sterile needles and heparinized capillary tubes. Blood smears were fixed in 100% methanol for 3 min and stained with Giemsa solution (Sigma) for 45 min. They were examined under a light microscope at 1000x magnification under oil immersion for parasite and cell counts. The number of white and parasitized cells in each smear was determined on the basis of the examination of 10 000 erythrocytes (Hatchwell *et al.* 2000). Blood parasites were identified using descriptions of Valkiūnas (2005). In most cases, parasites were identified to genus level, due to the difficulty in (i) identifying species from blood stages alone (Bennett *et al.* 1993) and (ii) the number of infected erythrocytes (infection intensity) was low. All leucocytes types were identified and counted following Campbell and Dein (1984), the three most common types (lymphocytes, heterophils and eosinophils) being retained for analysis.

### **Statistical analyses**

A comparison between theoretical ( $N_t$ ) and observed ( $N_o$ ) number of co-infected individuals is used to detect positive or negative association between parasites (Rhode 1981, Fernandez & Esch 1991). If double infection occurs at random, the theoretical number of co-infected host is  $N_t = N p_H p_P$ , where  $N$  is the total number of host,  $p_H$  and  $p_P$  represent the prevalence of *Haemoproteus* and *Plasmodium* respectively. In the same way, a theoretical intensity is obtained from the sum of observed mean intensities for the two single-genus infections. For each method, a chi-square test was used to compare observed and theoretical values.

General Linear Models were used to investigate the potential effects of parasites on leucocytes and body condition. To reach normality, the number of leucocytes was log-transformed prior to analysis. Residuals from the regression of body mass on cubed tarsus length were taken as a body condition index. The effects of blood parasites infection on each leucocyte type were considered with year, host sex and sample date as a covariate. Analyses of the different types of leucocytes and body condition were conducted separately. All analyses used general linear modelling with a step-wise elimination of non-significant variables to produce the final model. When parasite prevalence was considered, all two-way interactions were included, yet when parasite intensity was considered, the small sample size allowed us only to test factors alone.

Egg and fledgling numbers were standardized to a mean of 0 and a standard deviation of 1 for each year (Faivre *et al.* 2001). Differences in reproductive performance between parasitized and uninfected birds were tested using a Mann-Whitney test (Siegel & Castellan 1988).

Analyses were performed using Statistica 6.0 (StatSoft Inc.).

## RESULTS

Three genera of blood parasites were found : *Leucocytozoon*, *Plasmodium* and *Haemoproteus*. However, *Leucocytozoon* genus was uncommon (prevalence = 3.8%), so we restricted analyses to the two more prevalent genera, *Plasmodium* and *Haemoproteus* (table 1).

### Interaction between parasite genus

We found no significant difference between observed and theoretical numbers of each infectious status (*Chi-square* = 1.178, *P* = 0.277). We also found no significant difference between observed and theoretically predicted intensities (*Z* = 1.42, *P* = 0.155).

### Leucocytes and parasite infection

Only *Plasmodium* infection and the interaction between *Plasmodium* and *Haemoproteus* affected the number of lymphocytes (respectively  $F_{1,174} = 17.32$ ,  $P < 0.001$  and  $F_{1,174} = 4.63$ ,  $P = 0.033$ ). Individuals parasitized by *Plasmodium* or by both genera had a higher lymphocyte count than other individuals. Eosinophil count was higher in birds infected by *Plasmodium* ( $F_{1,171} = 9.71$ ,  $P = 0.002$ ). Furthermore, no factor influenced the number of heterophils. Among the other factors included in the analysis, only sex seemed to affect significantly eosinophils ( $F_{1,171} = 4.77$ ,  $P = 0.030$ ), which were more numerous in males (females: *mean* = 57.5, *standard error* = 4.7; males: *mean* = 50.0, *standard error* = 4.2). In addition, no effect of *Plasmodium* or *Haemoproteus* intensities was detected on the number of leucocytes (We only found the same type of sex effect on the number of eosinophils :  $F_{1,76} = 7.54$ ,  $P = 0.007$ ).

### **Body condition and parasite infection**

Only *Plasmodium* affected significantly the body condition ( $F_{1,131} = 6.15$ ,  $P = 0.014$ ). Surprisingly, this difference was induced by a better condition of individuals infected by *Plasmodium* (Fig. 2). In addition, sex was the only other factor affecting body condition ( $F_{1,129} = 10.63$ ,  $P = 0.001$ ) which was higher in females ( $mean = 2.39$ ,  $standard\ error = 0.90$ ) than in males ( $mean = -1.02$ ,  $standard\ error = 0.85$ ). Finally, analyses considering parasite intensity detected a negative effect of *Plasmodium* on host body condition ( $F_{1,56} = 8.91$ ,  $P = 0.004$ ) whereas *Haemoproteus* do not affect body condition ( $F_{1,26} = 0.007$ ,  $P = 0.933$ ).

To investigate further the positive association between *Plasmodium* infection and body condition, we examined the effect of infectious status on reproductive success. Indeed, parasites may affect investment in reproduction, which is associated with body condition (Golet & Irons 1999). However, there was no difference between uninfected (17 females and 22 males) and parasitized groups (20 females and 17 males), either in the number of eggs laid (females:  $Z = -0.32$ ,  $P = 0.75$ ; males:  $Z = -1.05$ ,  $P = 0.29$ ), or in the number of fledglings produced (females:  $Z = 0$ ,  $P = 1$ ; males:  $Z = -0.71$ ,  $P = 0.48$ ).

### **DISCUSSION**

This study found that blood parasites affect the number of leucocytes and body condition. The global prevalence detected is comparable with that conducted in Oxford, U.K. by Hatchwell *et al.* (2000). However, relative prevalences detected here strongly differ with those reported in this previous work. This difference probably highlights the high spatial variability that may occur in host-parasite interactions due to variation in vector abundance, host resistance or other ecological factors (Atkinson & Van Riper III 1991, Tella *et al.* 1999, Merilä *et al.* 1995, Sol *et al.* 2000, Eisen & Wright 2001, Bensch & Åkesson 2003).

Only *Plasmodium* affects was associated with elevated leucocyte counts through an increase in lymphocyte and eosinophil counts in infected birds. Lymphocytes increase may be caused by the host investment in specific immunity, which includes a step characterised by lymphocytes proliferation (Abbas *et al.* 1994). A positive

association between lymphocyte number and malaria has been reported in other birds species, such as Hawaiian crows (Massey *et al.* 1996), great tits (Ots & Hōrak 1998), or ciril bunting (Figuerola *et al.* 1999). In addition, the higher number of eosinophils showed by infected birds may indicate the activation of the non-specific component of the immune system (Walsh 1999). These association between *Plasmodium* infection and immune cell number suggests that this parasite may cause serious damage to the host, as the detection of such an association is possible only if it has a greater impact than other concurrent diseases (Ots & Hōrak 1998). However, eosinophils are non-specific immune cells implicated not only in parasite resistance but also in inflammatory, allergic processes and in tissue necrosis. Thus, proliferation of these cells may also reflect an individual in a generally poor state of health (Campbell & Dein, 1984) and consequently with low immunocompetence that may therefore have increased host susceptibility to *Plasmodium* infection.

In our examination of hematological parameters, host body condition was positively related to *Plasmodium* infection. This result is somewhat surprising as experimental studies have detected a weight loss in *Plasmodium* infected individuals (Atkinson *et al.* 1988, 1995, Atkinson & Van Riper III 1991). Several hypotheses may be proposed to explain this effect. First, as shown in several studies, parasites may reduce host investment in reproduction (Richner *et al.* 1993). As reproduction is costly and frequently associated with weight loss (Gorman & Nager 2003), birds infected by *Plasmodium* should reduce their reproductive investment and could benefit by allocation resources to self-maintenance. However, such an explanation remains unlikely because we detected no difference between the reproductive components of uninfected and parasitized birds. Second, we hypothesize that our results may suggest a selective effect of *Plasmodium* through the increased mortality of individuals with poor body condition and therefore a lower capacity to resist to parasites. Negative effects of parasites on host survival have been already observed in the black-browed albatross (Bergström *et al.* 1999) and the red grouse (Hudson *et al.* 1998). This view is supported by the negative correlation between *Plasmodium* infection intensity and host body condition observed in this study, which suggests a cost inflicted on these birds unable to resist parasite infection. Third, the host physiological response to *Plasmodium* may increase body mass and therefore body condition. Ots & Hōrak (1998) found a weight gain in urban infected great tits and interpreted it as an advantage of being thin. In this hypothesis heavier birds can suffer from more cost and have an advantage to lose weight for reduce flight cost (Freed 1981, Norberg 1981, Gosler *et al.* 1995). Infected birds

may suffer from increased investment in parasite resistance and are therefore unable to maintain an optimal weight. This hypothesis seems to have been examined indirectly by Svensson *et al.* (1998), who induced an experimental stimulation of the immune system of blue tits *Parus caeruleus* and observed a resultant weight gain.

In this study, we showed that *Plasmodium* infection in blackbirds is associated with an increased investment in immune response and a higher body condition, whereas birds infected by *Haemoproteus* do not significantly differ from uninfected ones. Despite the inability of correlational studies to imply causation, our results present further evidence to support the established view that avian *Plasmodium* is more pathogenic than *Haemoproteus* (Atkinson & Van Riper III 1991). We detected no association (neither positive, nor negative) between *Haemoproteus* and *Plasmodium* infections, both in terms of prevalence and intensity. These results suggest a lack of interaction between the two genus of parasites in the host, contrary to the study of Hatchwell *et al.* (2000) which detected fewer co-infected individuals than expected in a blackbird population in Oxford, U.K. Such a difference may depend on the potentially interacting parasite species involved and their relative frequencies (Richie 1988).

According to the classical view that the short-term intra-host competition favours selection for the increased virulence of competing species (Mosquera & Adler 1998), co-infected individuals should present at least the sum of clinical signs associated with infection by each genus only. In fact, we found no difference between co-infected individuals and individuals uninfected or infected by *Haemoproteus* for body condition and eosinophils number. For lymphocyte count, the presence of *Haemoproteus* was associated with a decrease in *Plasmodium* effects. Whatever the proximal mechanisms involved, it seems likely that *Plasmodium* does not have the same effect on blackbirds when coexisting with *Haemoproteus*, suggesting a potential competitive interaction that is not detected if only parasite prevalence and intensity are considered. Moreover, this interaction seems to lead to a decrease of the pathogenicity and consequently does not favour an increase in virulence. Further investigation of such a scenario may be particularly important to our understanding of the evolutionary consequences of

multiple host-parasite interactions. Further studies, particularly experimental, are required to elucidate avian host-parasite interactions and parasite interactions within the host.

We thank the C.R.B.P.O, the Ville de Dijon and the ville d'Auxonne for licences and access to the study sites. Financial support was provided by the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (doctoral grant to MB), the ONCFS, the Région Bourgogne (bourse doctorale to AG) and the IFB. We thank Marina Prévault, Yann Doisneau, Christelle Pillien and other assistants for their invaluable contribution to fieldwork.

## REFERENCES

- Abbas, K.A., Lichtman, A.H. & Pober, J.S.** 1994. *Cellular and molecular immunology*. 2nd edn. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Atkinson, C.T., Forrester, D.J. & Greiner, E.C.** 1988. Pathogenicity of *Haemoproteus meleagridis* (Haemosporina: Haemoproteidae) in experimentally infected domestic turkeys. *J. Parasitol.* **74**: 228-239.
- Atkinson, C.T. & Van Riper III, C.** 1991. Pathogenicity and epizootiology of avian hematozoa: *Plasmodium*, *Leucocytozoon* and *Haemoproteus*. In Loye, J.E. & Zuk, M. (eds) *Bird-Parasite Interactions: Ecology, Evolution, and Behavior*. 19-48. Oxford: Oxford University Press.
- Atkinson, C.T., Woods, K.L., Dusek, R.J., Sileo, L.S. & Iko, W.M.** 1995. Wildlife disease and conservation in Hawaii: pathogenicity of avian malaria (*Plasmodium relictum*) in experimentally infected iiwi (*Vestiaria coccinea*). *Parasitology* **111**: S59-S69.
- Bennett, G. F., Bishop, M. A. & Peirce, M. A.** 1991. The species and distribution of the haemoproteids of the avian family Muscicapidae *sensu lato* (Passeriformes). *J. Nat. Hist.* **25**: 23-43.
- Bennett, G.F., Bishop, M.A. & Peirce, M.A.** 1993. Checklist of the avian species of *Plasmodium* Marchiafava & Celli, 1885 (Apicomplexa) and their distribution by avian family and Wallacean life zones. *Syst. Parasitol.* **26**: 171-179.
- Bensch, S. & Åkesson, S.** 2003. Temporal and spatial variation of Hematozoans in scandinavian willow warblers. *J. Parasitol.* **89**: 388-391.
- Bergström, S., Haemig, P.D. & Olsen, B.** 1999. Increased mortality of black-browed albatross chicks at a colony heavily-infested with the tick *Ixodes uriae*. *Int. J. Parasitol.* **29**: 1359-1361.
- Booth, C.E. & Elliot, P.E.** 2003. Hematological responses to hematozoa in North American and neotropical songbirds. *Comp. Biochem. Physiol. A* **133**: 451-467.
- Campbell, T.W. & Dein, J.F.** 1984. Avian hematology. The basics. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* **14**: 223-248.
- Combes, C.** 2001. *Parasitism*. London: The University of Chicago Press.
- Cox, F.E.G.** 2001. Concomitant infections, parasites and immune responses. *Parasitology* **122**: Suppl:S23-38.
- Cramp, S.** (ed.)1988. *Handbook of the Birds of Europe, the Middle East and North Africa*, Vol.5. Oxford:

Oxford University Press.

- Dawson, R.D. & Bortolotti, G.R.** 2000. Effects of hematozoan parasites on condition and return rates of american kestrels. *Auk* **117**: 373-380.
- Dawson, R.D. & Bortolotti, G.R.** 2001. Sex-specific associations between reproductive output and hematozoan parasites of American kestrel. *Oecologia* **126**: 193-200.
- de Roode, J.C. & Read, A.F.** 2003. Evolution and ecology, after the malaria genomes. *Trends Ecol. Evol.* **18**: 60-61.
- Eisen, R. J. & Wright, N. M.** 2001. Landscape features associated with infection by malaria parasite (*Plasmodium mexicanum*) and the importance of multiple scale studies. *Parasitology* **122**: 507-513.
- Faivre, B., Pr eault, M., Th ery, M., Secondi, J., Patris, B. & C ezilly, F.** 2001. Breeding strategy and morphological characters in an urban population of blackbirds, *Turdus merula*. *Anim. Behav.* **61**: 969-974.
- Fernandez, J. & Esch, G.W.** 1991. Guild structure of larval trematodes in the snail *Helisoma anceps*: patterns and processes at the individual host level. *Journal of Parasitology* **77**: 528-539.
- Figuerola, J., Muñoz, E., Gutierrez, R. & Ferrer, D.** 1999. Blood parasites, leucocytes and plumage brightness in the ciril bunting, *Emberiza cirilus*. *Funct. Ecol.* **13**: 594-601.
- Freed, L.** 1981. Loss of mass in breeding wrens: stress or adaptation. *Ecology* **62**: 1179-1186.
- Golet, G.H. & Irons, D.B.** 1999. Raising young reduces body condition and fat stores in black-legged kittiwakes. *Oecologia* **120**: 530 - 538.
- Gorman, H.E. & Nager, R.G.** 2003. State-dependent incubation behaviour in the zebra finch. *Anim. Behav.* **65**: 745-754.
- Gosler, A., Greenwood, J. J. D. & Perrins, C. M.** 1995. Predation risk and the cost of being fat. *Nature* **377**: 621-623
- Hatchwell, B.J., Wood, M.J., Anwar, M. & Perrins, C.M.** 2000. The prevalence and ecology of the hematozoan parasites of European blackbirds, *Turdus merula*. *Can. J. Zool.* **78**: 684-687.
- Hatchwell, B.J., Wood, M.J., Ali Anwar, M., Chamberlain, D.E. & Perrins, C.M.** 2001. The hematozoan parasites of common blackbirds *Turdus merula*: associations with host condition. *Ibis* **143**: 420-426.
- H rak, P., Ots, I., Vellau, H., Spottiswoode, C. & M ller, A.P.** 2001. Carotenoid-based plumage coloration

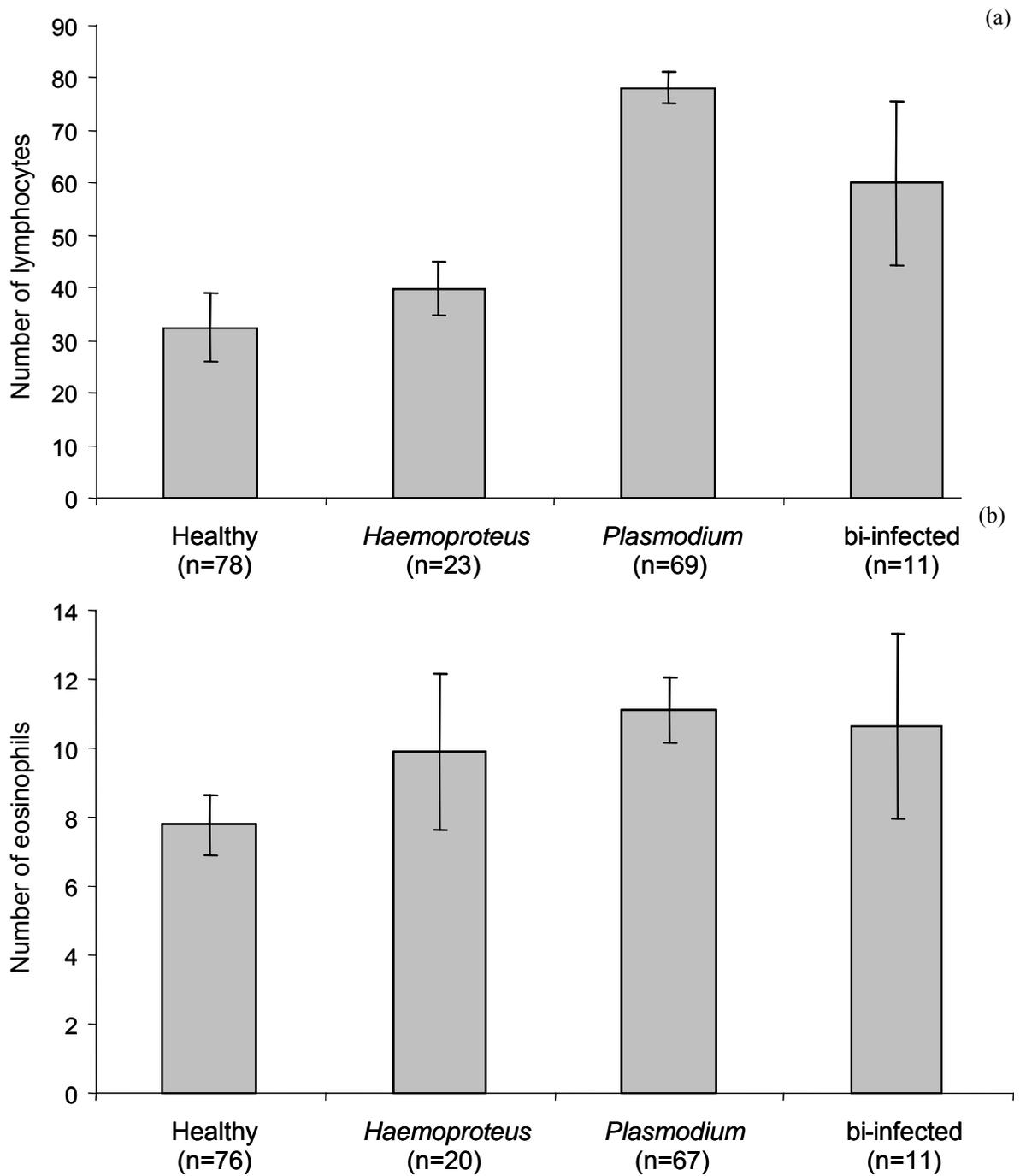
- reflects hemoparasite infection and local survival in breeding great tits. *Oecologia* **126**: 166-173.
- Hudson, P.J., Dobson, A.P. & Newborn, D.** 1998. Prevention of population cycles by parasite removal. *Science* **282**: 2256-2258.
- Massey, J.G., Graczyk, T.K. & Cranfield, M.R.** 1996. Characteristics of naturally acquired *Plasmodium relictum capistranoae* infections in naive Hawaiian crows (*Corvus hawaiiensis*) in Hawaii. *J. Parasitol.* **82**: 182-185.
- Merilä, J., Björklund, M. & Bennett, G. F.** 1995. Geographic and individual variation in hematozoan infections in the greenfinch, *Carduelis chloris*. *Can. J. Zool.* **73**: 1798-1804.
- Mosquera, J. & Adler, F.R.** 1998. Evolution of virulence: a unified framework for coinfection and superinfection. *J. Theor. Biol.* **195**: 293-313.
- Norberg, R.A.** 1981. Temporary weight decrease in breeding birds may result in more fledged young. *Am. Nat.* **118**: 838-850.
- Norris, K., Anwar, M. & Read, A.F.** 1994. Reproductive effort influences the prevalence of hematozoan parasites in great tits. *J. Anim. Ecol.* **63**: 601-610.
- Oppliger, A., Christe, P. & Richner, H.** 1997. Clutch size and malarial parasites in female great tits. *Behav. Ecol.* **8**: 148-152.
- Ots, I. & Hõrak, P.** 1998. Health impact of blood parasites in breeding great tits. *Oecologia* **116**: 441-448.
- Paul, R.E.L., Ariey, F. & Robert, V.** 2003. The evolutionary ecology of *Plasmodium*. *Ecol. Lett.* **6**: 866-880.
- Price, P.W.** 1980. *Evolutionary Biology of Parasites*. Princeton: Princeton University Press.
- Read, A.F. & Taylor, L.H.** 2001. The ecology of genetically diverse infections. *Science* **292**: 1099-1102.
- Rhode, K.** 1981. Population dynamics of two snails species, *Planaxis sulcatus* and *Cerithium moniliferum*, and their trematode species at Heron Island, Great Barrier Reef. *Oecologia* **49**: 344-352.
- Richie, T.L.** 1988. Interactions between malaria parasites infecting the same vertebrate host. *Parasitology* **96**: 607-639.
- Richner, H., Oppliger, A. & Christe, P.** 1993. Effect of an ectoparasite on reproduction in great tits. *J. Anim. Ecol.* **62**: 703-710.
- Schall, J.J. & Bromwich, C.R.** 1994. Interspecific interactions tested: two species of malarial parasite in a West African lizard. *Oecologia* **97**: 326-332.

- Siegel, S. & Castellan, N.J. Jr.** 1988. *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. 2nd edn. Sidney: McGraw-Hill International Editions.
- Sol, D., Jovani, R. & Torres, J.** 2000. Geographical variation in blood parasites in feral pigeons: the role of vectors. *Ecography* **23**: 307-314.
- Svensson, L.** 1992. *Identification guide to european passerines*. Stockholm: British Trust for Ornithology.
- Svensson, E., Raberg, L., Koch, C. & Hasselquist, D.** 1998. Energetic stress, immunosuppression and the cost of an antibody response. *Funct. Ecol.* **12**: 912-919.
- Taylor, L.H., Mackinnon, M.J. & Read, A.F.** 1998. Virulence of mixed-clone infections of the rodent malaria *Plasmodium chabaudi*. *Evolution* **52**: 583-591.
- Tella, J.L., Blanco, G., Forero, M.G., Gajón, Á., Donázar, J.A. & Hiraldo, F.** 1999. Habitat, world geographic range, and embryonic development of hosts explain the prevalence of avian hematozoa at small spatial and phylogenetic scales. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**: 1785-1789.
- Valkiūnas, G.** 2005. Avian malaria parasites and other Haemosporidae. New York: CRC press.

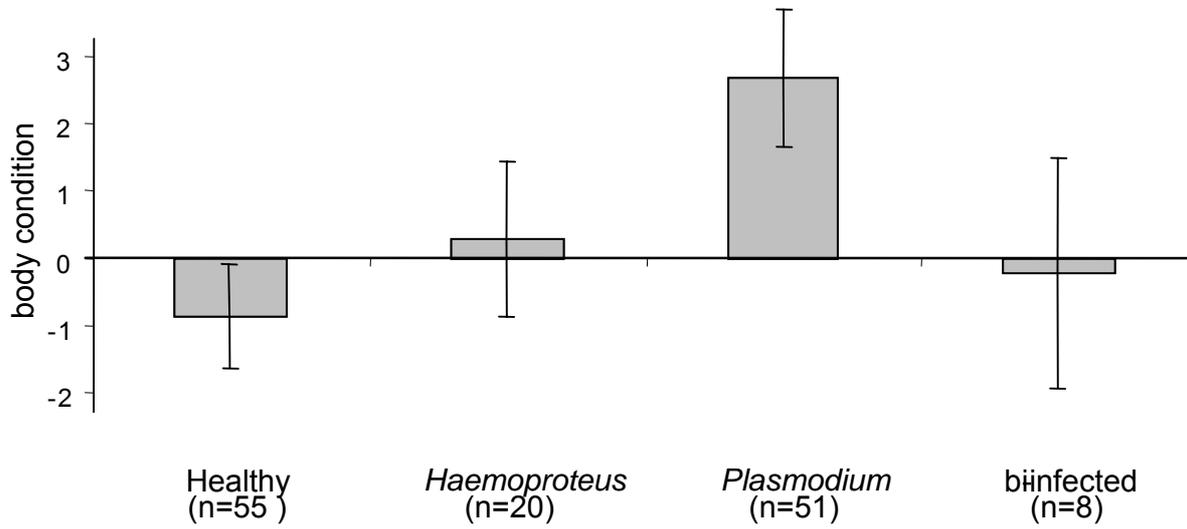
**Table 1.** The observed and theoretically predicted numbers of infected blackbirds, with prevalences and intensities of hematozoan parasites. Intensity corresponds to the mean number of infected erythrocytes per 10000. Theoretical data are obtained by negative binomial adjustment; n represents the number of individuals (see Methods).

	<b>Observed</b>			<b>Theoretical</b>	
	n	Prevalence	Intensity	n	Prevalence
<b>Heathy</b>	78	43.09 %	0	82.02	45.31 %
<i>Plasmodium sp.</i>	69	38.12 %	11.16	64.98	35.90 %
<i>Haemoproteus sp.</i>	23	12.71 %	6.57	18.97	10.48 %
<b>Co-infection</b>	11	6.08 %	12.45	15.03	8.30 %

**Figure 1.** Infection status of blackbirds and leucocyte number: (a) lymphocytes and (b) eosinophils. Leucocytes counts were determined by the examination of 10 000 red blood cells. Untransformed data are displayed with means  $\pm$ 1SE.



**Figure 2.** Infectious status of blackbirds and host body condition. The residuals from the regression of body mass on cubed tarsus length were taken as an index of body condition. Untransformed data are displayed with means  $\pm$ 1SE.



Annexe 3 :  
Social context modulates the trade-off  
between immune activation and a carotenoid-  
based sexual signal

**(ARTICLE SOUMIS)**

Patrick Gautier<sup>1</sup>, Marco Barroca<sup>1</sup>, Sophie Bertrand<sup>2</sup>, Maria Gaillard<sup>1</sup>, Michael Hamman<sup>1</sup>, Sébastien Motreuil<sup>1</sup>,  
Gabriele Sorci<sup>2</sup> & Bruno Faivre<sup>1</sup>

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

2 Laboratoire de Parasitologie Evolutive, CNRS UMR 7103, Université Pierre et Marie Curie, 7 quai St.  
Bernard, Case 237, 75252 Paris cedex 05, France

**Carotenoid-based sexual signals have attracted considerable attention in the last decade since allocation of carotenoids to secondary sexual traits is assumed to reduce immune function and antioxidant defenses. If a signal is used by females as a cue to choose a mate, we might expect that in the presence of females, males could up-regulate the expression of the signal, diverting carotenoids from other physiological functions. Here, we tested this hypothesis and found that the social context modulates the expression of a carotenoid-based sexual trait and the cost induced by an immune injury in a passerine bird. To our knowledge, this is the first report of the effect of social context on the expression of a morphological sexual trait and its trade-off with immune activation.**

According to the indicator models of sexual selection, sexual advertisements should honestly reflect the phenotypic and/or genetic quality of their bearers (1). The main assumption of these models is that signals must be costly to be honest, and that individuals have to face trade-offs between the expression of the signal and other traits (2, 3). A potential cost is that resources allocated to secondary sexual traits may be diverted from immune defenses and reduce individual resistance to parasites (4, 5). Because carotenoids have multiple functions (6, 7) and are assumed to be a limiting factor for most vertebrates (8, 9), carotenoid-based sexual traits have often been put forward as classical examples of honest advertisements, possibly indicating male quality in terms of immune functioning and antioxidant defenses (10, 11). In agreement with this view, recent works have shown that an experimental activation of the immune system reduces the expression of carotenoid-based sexual traits, suggesting a shift in the allocation of carotenoids between sexual signalling and the immune/detoxification system (12, 13). However, the plasticity of carotenoid allocation to competing functions has been poorly investigated, and particularly, the environmental modulation of carotenoid allocation to sexual signals and the immune defenses. Social context may be a crucial environmental parameter that should modulate the allocation rule of carotenoids. Social environment is known to influence individual behaviors in different contexts (the search for food, aggressive interactions, sexual display) with fitness consequences for both signalers and receivers, thus representing, an important force in the evolutionary process (14-17). It is straightforward to imagine that if a signal is used by females to choose a mate, in the presence of females, males should up-regulate the expression of the signal, diverting carotenoids from other physiological functions. Surprisingly, the effect of social context on the expression of carotenoid-based sexual traits has never been experimentally investigated.

Similarly, we still ignore if and how the social environment modulates the investment of carotenoids to sexual advertisements under immune challenge.

We tested this hypothesis in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). Male zebra finches exhibit a colored bill that ranges from orange to dark red, and females have been shown to prefer males with redder bills in several studies (18-20). Bill color in zebra finches, is a carotenoid-dependent trait (13, 19, 21), whose expression has been shown to be affected by the activation of the immune system (13). Finally, it has recently been reported that male zebra finches use information provided by conspecifics to adjust their behavior towards female partners, reinforcing the idea that social context is an important environmental characteristic for this species (17).

In this experiment we maintained male zebra finches under two social contexts: one group of randomly chosen males (n = 24) was housed together with females (n = 24) in a mixed social context, whereas another group of randomly chosen males (n = 24) was housed with other males (n = 24) in a male-only social context. Each social context treatment was repeated twice (i.e., two rooms with a female social context and two rooms with a male social context; the four rooms were of equal size resulting in equal densities). Therefore, inter- and intra-sexual communication was possible in the mixed social context, whereas only intrasexual communication occurred in the male-only social context. During the experiment, half of the males from both groups were injected weekly with a lipopolysaccharide solution (LPS) of *E. coli*, whereas the other half of males were injected with a phosphate buffered saline solution (PBS) for control. At the beginning (*day 0*) and at the end (*day 21*) of the experiment, bill color was measured by comparison with a color chart that varies from 1 (yellow-orange) to 9 (dark red), and blood was collected for carotenoid assessment in the plasma by using high-performance liquid chromatography (HPLC) and colorimetry techniques. The experiment was repeated a few weeks later using different individuals, giving a sample size of 24 birds per group (total n = 96). However, three males died in each of the two experiments reducing the overall sample size to 90.

A repeated measurement analysis of variance showed that both the social context (time x social context,  $F_{1,85} = 20.63$ ,  $p < 0.0001$ ) and the immune treatment (time x immune treatment,  $F_{1,85} = 6.02$ ,  $p = 0.016$ ) affected bill color. The two repeated experiments gave the same results: the replicate by immune treatment, replicate by social context, and the replicate as a main effect, were not statistically significant (all  $p$ 's  $> 0.15$ ). In particular, PBS individuals in the male-only social context and LPS individuals in the mixed social context maintained similar bill color throughout the experiment (all  $p$ 's  $> 0.1$ ; Figure 1). Conversely, birds in the male social

context, injected with LPS, showed a significant decrease in bill color ( $F_{1,22} = 12.65$ ,  $p = 0.0019$ ), whereas birds in the mixed social context, injected with PBS, exhibited a redder bill at the end of the experiment ( $F_{1,22} = 8.65$ ,  $p = 0.0078$ ; Figure 1).

A more complex pattern was found for plasma carotenoids, because the two replicated experiments provided, to some extent, different results. This heterogeneity between replicates translated into a statistically significant replicate by immune treatment interaction (time x immune treatment x replicate,  $F_{1,72} = 4.28$ ,  $p = 0.0421$ ) and replicate by social context interaction (time x social context x replicate,  $F_{1,72} = 10.64$ ,  $p = 0.0017$ ). We therefore decided to analyze the two experiments separately. The analysis of the first experiment showed that, as for bill color, PBS individuals in the male-only social context and LPS individuals in the mixed social context maintained similar values of circulating carotenoids throughout the experiment (all  $p$ 's > 0.08; Figure 2A). However, birds in the male social context injected with LPS showed a significant decrease in plasma carotenoids ( $F_{1,9} = 12.34$ ,  $p = 0.0066$ ), whereas birds in the mixed social context injected with PBS had higher concentration of plasma carotenoids at the end of the experiment ( $F_{1,11} = 9.02$ ,  $p = 0.012$ , Figure 2A). The analysis of the second experiment revealed that the immune treatment affected the change in the amount of circulating carotenoids, with LPS-injected birds having significant fewer carotenoids than PBS individuals (time x immune treatment,  $F_{1,30} = 6.05$ ,  $p = 0.0199$ , Figure 2B); however, in contrast to the first experiment, the social context did not affect the change in the amount of circulating carotenoids ( $F_{1,30} = 1.29$ ,  $p = 0.2654$ , Figure 2B).

We showed that the social context, through the presence or the absence of females, can affect the expression of a carotenoid-based sexual signal and can modulate the effect of an immune insult on such an expression. A negative effect of immune challenge on sexual signals has been previously observed in birds exhibiting carotenoid based signals (12, 13). In accordance with the principle of resource allocation (22), our results show that allocation of carotenoids to one function (immune system) cannot be achieved without diverting carotenoids from another function (secondary sexual trait). In addition, changes in the amount of plasma carotenoids paralleled changes in bill color, at least in one of the two repeated experiments. Plasma carotenoid reduction after immune challenge has also been observed in male mallards (*Anas platyrhynchos*) (23) and zebra finches (13). Because carotenoids have an important role in self-maintenance (6-11), such results underline a proximal mechanism supporting the idea that sexual signals mirror the health status of the bearer (10). However, our results show that the allocation pattern of carotenoids to the different functions can be rather plastic and rapidly

responds to changes in environmental conditions. Whereas the activation of the immune system diverts carotenoids from the signal, and can, in this sense, be seen as a constraint on the expression of the trait: males seem to adaptively respond to the social context they are facing, by up-regulating the amount of carotenoids allocated to the bill when females were present. Since bill color is used by females as a cue to choose a mate (18-20), the observed flexibility may be adaptive for the males because the presence of females can indicate an opportunity to mate and breed soon. From a mechanistic point of view, our results open the question whether circulating carotenoids may be controlled by the social context. Indeed, the discrepancy between the two experiments suggests that the proximal mechanisms that govern the changes in circulating carotenoids are complex and far from being elucidated. It is well known that social environment may affect the endocrine system and the level of circulating hormones (24). This suggests that social context may influence the expression of secondary sexual traits via an hormonal control system that might regulate the use of key resources and insure the plasticity of the signal. Once ingested and absorbed, carotenoids can be stored in tissues, such as the liver, and can be released from tissues back into the plasma (25). Although, hormones might be likely candidates for such biochemical signalling, the mechanism underlying the release of stored carotenoids is still unknown, and more generally, the mechanisms linking hormones, carotenoid absorption and conversion, and the expression of carotenoid-based sexual signals are far from conclusive (25).

## References and Notes

1. M. Andersson, *Sexual Selection* (Princeton University Press, Princeton, 1994).
2. A. Zahavi, *J. Theor. Biol.* **53**, 205 (1975).
3. A. Zahavi, A. Zahavi, *The handicap principle* (Oxford University Press, New York, 1997).
4. W. D. Hamilton, M. Zuk, *Science* **218**, 384 (1982).
5. I. Folstad, A. J. Karter, *Am. Nat.* **139**, 603 (1992).
6. A. Mortensen, L. H. Skibsted, J. Sampson, C. Rice-Evans, S. A. Everett, *FEBS Lett.* **418**, 91 (1997).
7. B. P. Chew, J. S. Park, *J. Nutr.* **134**, 257S (2004).
8. G. E. Hill, *Am. Nat.* **154**, 589 (1999).
9. V. A. Olson, I. P. F. Owens, *Trends Ecol. Evol.* **13**, 510 (1998).
10. G. A. Lozano, *Oikos* **70**, 309 (1994).
11. G. A. Lozano, *Am. Nat.* **158**, 200 (2001).
12. B. Faivre, A. Grégoire, M. Prévault, F. Cézilly, G. Sorci, *Science* **300**, 103 (2003).
13. C. Alonso-Alvarez *et al.*, *Am. Nat.* **164**, 651 (2004).
14. A. P. Baltz, A. B. Clark, *Anim. Behav.* **53**, 1017 (1997).
15. C. Doutrelant, P. K. McGregor, R. F. Oliveira, *Behav. Ecol.* **12**, 283 (2001).
16. E. Danchin, L.-A. Giraldeau, T. J. Valone, R. H. Wagner, *Science* **305**, 487 (2004).
17. C. Vignal, N. Mathevon, S. Mottin, *Nature* **430**, 448 (2004).
18. N. Burley, C. B. Coopersmith, *Ethology* **76**, 133 (1987).
19. J. D. Blount, N. B. Metcalfe, T. R. Birkhead, P. F. Surai, *Science* **300**, 125 (2003).
20. S. A. Collins, C. Ten Cate, *Anim. Behav.* **52**, 105 (1996).

21. K. J. McGraw, D. R. Ardia, *Am. Nat.* **162** (2003).
22. S. C. Stearns, *The evolution of life histories* (Oxford University Press, Oxford, 1992).
23. A. Peters, K. Delhey, A. G. Denk, B. Kempaeners, *Am. Nat.* **164**, 51 (2004).
24. R. Nelson, *An introduction to behavioral endocrinology* (Sinauer, Sunderland, UK, 1995).
25. H. C. Furr, R. M. Clark, *J. Nutr. Biochem.* **8**, 364 (2004).
26. We thank T. Boulinier, C. Doutrelant and E. Haine for helpful comments on the manuscript; S. Garnier and C. Mondet for they technical assistance in the immunological assays; and T. Rigaud for discussion of the experimental design.

Figure 1. Change in bill color during the three weeks of the experiment (bill color values at day 21<sup>st</sup> minus values at day 0). The histograms represent the mean  $\pm$  SE. The open bars represent values from males injected with PBS and black bars, males injected with LPS.

Figure 1

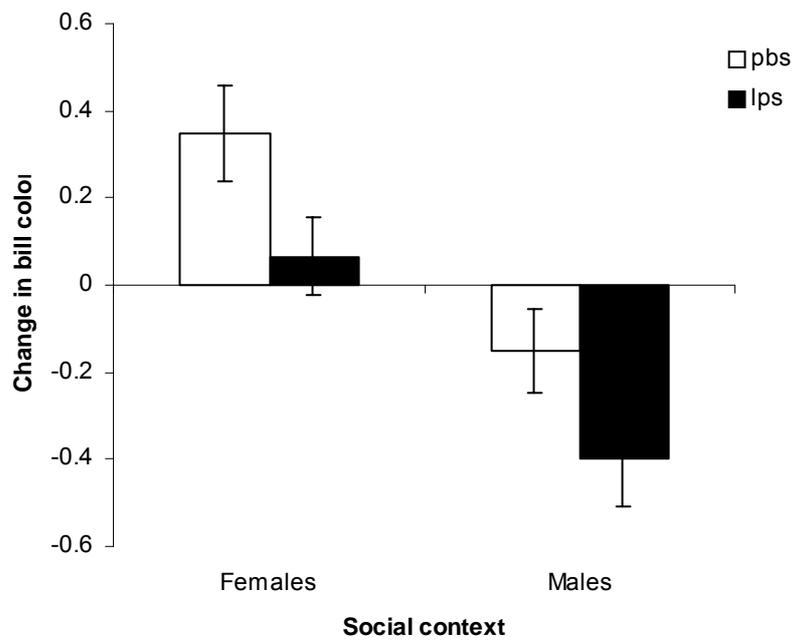
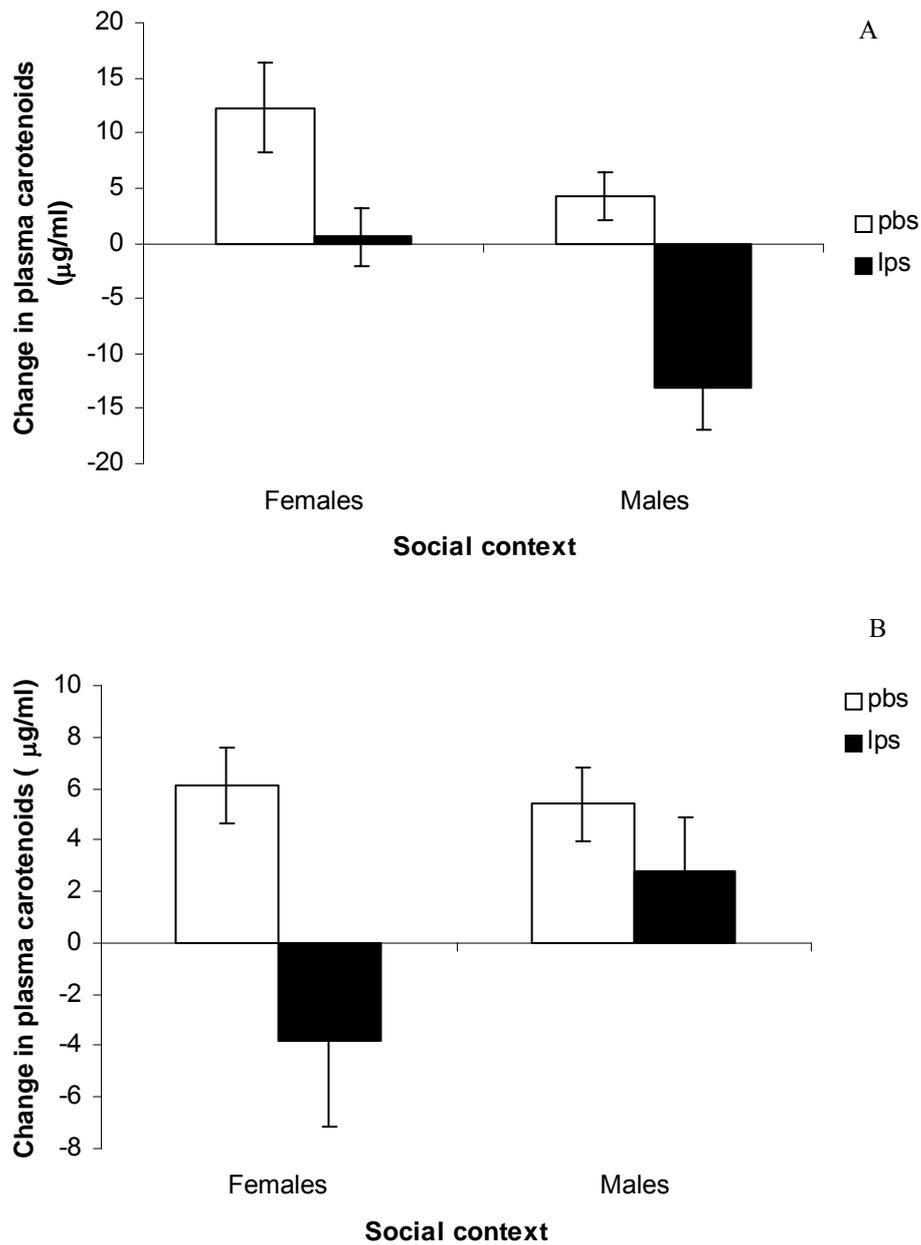


Figure 2. Change in plasma carotenoids ( $\mu\text{g/ml}$ ) during the three weeks of the experiment (plasma carotenoid values at day 21<sup>st</sup> minus values at day 0). A) and B) refer to the two replicated experiments. The histograms represent the mean  $\pm$  SE. The open bars represent values from males injected with PBS and black bars, males injected with LPS

Figure 2



## Methods

Adult zebra finches (*Taeniopygia guttata*) were housed under controlled daily light cycle (13L: 11D) and temperature ( $22 \pm 2$  °C). Food (a commercial seed mix) and water were provided *ad libitum*. Individuals were maintained in 0.6 x 0.4 x 0.4 m cages separated in two compartments. In mixed conditions, each male was caged in one compartment with a female in the other one. Males kept with males only were caged in one compartment with a male as a neighbor. In addition, cages were placed opposite each other. Therefore, each male saw and heard several neighbors (males and females or males only). Two rooms were used for mixed conditions, whereas two other rooms contained only males. Neither initial bill color, nor initial carotenoid concentration differed between rooms (all  $p$ 's > 0.9). Challenged birds were injected intraperitoneally with 100  $\mu$ l of a LPS solution (0.01 mg/0.1 ml) and control males received 100  $\mu$ l of a PBS solution by the same way.

Blood samples (150 to 200  $\mu$ l) were collected from brachial vein by using steril needles and heparinized capillaries. Blood was immediately centrifugated (4000 rpm, 4°C, 15 min) and plasma was stored at – 80°C. Before using high-performance liquid chromatography (HPLC), plasma carotenoids were extracted by two steps. First 15  $\mu$ l of plasma were added with 200  $\mu$ l of pure methanol plus an internal standard (astaxanthine) before centrifugation (4000 rpm, 4°C, 10 min), and supernatant was recovered. Second, the residue obtained from the first extraction was added with 200  $\mu$ l of MTBE (Methyl Tertio Buthyl Ether) before centrifugation in the same conditions. The supernatant was recovered and added with the supernatant issued from the first extraction before complete evaporation. Then, the extracted carotenoids were diluted in 50  $\mu$ l of a MTBE plus methanol solution (v:v 50/50) and the solution was analysed by HPLC. Previous analyses have shown that bill pigmentation is due to carotenoids, and have identified four main pigments in zebra finch plasma: lutein, zeaxanthin, anhydrolutein and  $\beta$ -cryptoxanthin (1). Plasma concentrations of the four types of carotenoids were highly correlated (all  $P$ 's < 0.001) as previously shown in other studies (1). Thus, we have considered only total concentrations of circulating carotenoids for subsequent analyses. For technical reasons the HPLC was not available to measure circulating carotenoids for the second experiment. We therefore used a colorimetry technique known to provide values highly correlated to those obtained by HPLC (2). Briefly, 20  $\mu$ l of plasma were diluted in 180  $\mu$ l of absolute ethanol. The dilution was mixed in a vortex and the flocculent protein was precipitated by centrifuging the sample at 1500 g for 10 minutes. We examined the supernatant in a spectrophotometer and determined the

optical density of the carotenoid peak at 450 nm. Carotenoid concentration was determined from a standard curve of lutein.

Bill color was assessed using a Dulux Trade Colour chart (Dulux) under the same light conditions. A specific scale, ranging from less red to redder colors, was used: 1 (69YR 34/780), 2 (56YR 28/778), 3 (44YR 26/756), 4 (34YR 20/708), 5 (31YR 18/648) 6 (16YR 16/594), 7 (19YR 13/558), 8 (09YR 11/475), 9 (14YR 10/434), where the first number and letters indicate the hue, the numerator is the brightness, and the denominator is the saturation (3). For each individual, bill color was measured independently by three observers and bill color scores were repeatable through observers ( $p < 0.001$   $n = 4$ ). Therefore, we retained the mean values as individual score.

1. K. J. McGraw, D. R. Ardia, *Am. Nat.* **162** (2003).
2. C. Alonso-Alvarez *et al.*, *Am. Nat.* **164**, 651 (2004).
3. J. D. Blount, N. B. Metcalfe, T. R. Birkhead, P. F. Surai, *Science* **300**, 125 (2003).

