

UNIVERSITE DE BOURGOGNE

UMR CNRS / uB 5561 Biogéosciences

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Bourgogne
Discipline : Ecologie Evolutive

Colin De Bruyn

14 décembre 2010

Modalités fonctionnelles et évolutives des parasitoses
développées par les crabes Pinnotheridae aux dépens des
échinides fouisseurs

Directeur de thèse Thierry Rigaud

Co-directeur de thèse Chantal De Ridder

Jury

Directeur, Dr Rigaud Thierry
Co-directeur, Dr De Ridder Chantal
Président, Dr Dubois Philippe
Secrétaire, Dr Aron Serge,
Dr Morand Serge,
Dr David Bruno,

Directeur de recherches CNRS (uB)
Chargé de cours (ULB)
Maître de recherches FNRS (ULB)
Directeur de recherches FNRS (ULB)
Directeur de recherches CNRS (um2)
Directeur de recherches CNRS (uB)

« *Le biologiste passe, la grenouille reste* »

Jean Rostand

Remerciements

Je tiens, tout d'abord, à remercier le Professeur Michel Jangoux de m'avoir accueilli pendant ces quatre années au laboratoire de biologie marine et de m'avoir conseillé de façon avisée sur mes orientations de carrière.

Par ailleurs, je souhaite aussi remercier le directeur de l'UMR Biogéosciences, le Professeur Pascal Neige, qui m'a permis d'effectuer ma thèse en co-tutelle à l'université de Bourgogne.

Je tiens à remercier très chaleureusement mes promoteurs, Chantal De Ridder et Thierry Rigaud ainsi que Bruno David qui m'ont accompagnés pendant quatre ans et une raouette (en belge). Votre dynamisme, votre enthousiasme et votre sympathie m'ont aidé à garder le cap tout au long de la thèse. Merci encore pour vos nombreuses corrections de mon « franglais » et de mes tournures de phrase « colinesques » dont j'ai parfois du mal à me défaire. La pédagogie de Thierry, l'imagination de Chantal et la rigueur de Bruno m'ont été d'un grand secours lors des analyses statistiques et de la rédaction des articles.

Je remercie le Fond National de la Recherche Scientifique dont le financement a permis la réalisation de ce travail de thèse.

Je remercie Serge Aron de m'avoir autorisé à me faire la main dans son laboratoire de génétique. Par ailleurs, je remercie chaleureusement Laurent Grumiau qui m'a accompagné et conseillé dans mes premiers pas en génétique et dans la mise au point de mon protocole. Et surtout d'avoir gardé un calme olympien malgré mes innombrables questions. Par ailleurs, je remercie Quentin Jossart dont le travail m'a permis d'éviter de nombreuses nuits blanches au laboratoire.

Je remercie aussi Sébastien Motreuil d'être venu m'aider lors de la seconde mission à la Jamaïque. Sa bonne humeur, sa gentillesse et son sérieux ont rendu ce séjour de travail vraiment très enrichissant. Je le remercie aussi pour la conception de la pompe sous-marine et des cages, bien qu'elles n'aient pas tenu le coup cela représente pour moi un travail énorme.

Je remercie Rémi Wattier pour son écolage en génétique et son dynamisme parfois déroutant. Je remercie aussi Maria Gaillard et Christine Dubreuil pour leur aide précieuse dans la mise au point des microsatellites.

Je remercie l'ensemble des membres de la station marine de Discovery Bay à la Jamaïque pour leur accueil et leur sympathie.

Je tiens à remercier tout particulièrement Edith Bricourt pour son écoute et son aide logistique précieuse en histologie et en informatique.

Je tiens à remercier Gauthier pour ses conseils et nos interminables discussions. Sur ce point, je tiens à nous excuser si l'on a perturbé la bonne marche du laboratoire avec nos douces voix de barytons.

Je tiens à remercier Philippe Dubois pour ses recommandations et ses conseils. Je le remercie aussi pour les bons moments passés à la pause-café.

Je remercie aussi David Gillan qui m'a motivé à continuer la plongée et m'a fait partager ses goûts cinématographiques inimitables.

Je souhaite remercier Rémi Laffont pour son aide et ses explications en morphométrie. Cela m'a permis de lever le voile (en partie) sur le monde tortueux des analyses de Fourier. Plus largement, je souhaite remercier l'ensemble des membres du laboratoire de Biogéosciences qui ont toujours été serviables et d'un accueil plus que chaleureux.

Je tiens à dire un grand merci aux différents membres du laboratoire de biologie marine : Julie notamment pour l'organisation des dîners de Noël, à Ana pour son aide à la recherche d'article, à Claire pour m'avoir montré comment nager tout habillé dans l'Atlantique en plein mois de novembre, à Stéphanie pour sa sympathie et sa bonne humeur contagieuse. Je remercie aussi Thierry, Saloua, Mathieu, Philippe et Viviane pour leur aide et leurs conseils.

Je remercie aussi les membres du laboratoire de biologie marine de Mons pour leur accueil et leur gentillesse.

Je tiens tout particulièrement à remercier Flore pour m'avoir aidé tout au long de ma thèse. Tes conseils et surtout ta patience m'ont permis de tenir la route pendant ces quatre années.

Je remercie aussi ma famille et mes amis pour leur soutien et leur écoute, même si j'en suspecte certains de ne pas avoir tout compris à ce que je leur expliquais. Une chose est sûre, ils savent que j'ai travaillé sur des p'tits crab'...

Résumé

Ce travail s'est intéressé aux liens existant entre la stratégie d'exploitation développée par un crustacé ectoparasite et son comportement reproductif. Le crabe Pinnotheridae *Dissodactylus primitivus* exploite deux espèces Spatangidae vivant dans la Mer des Caraïbes, *Meoma ventricosa* et *Plagiobrissus grandis*. Des approches comportementales, démographiques et génétiques ont été adoptées afin de mettre en lumière le fonctionnement et la biologie de cette symbiose. Par son comportement alimentaire, le crabe occasionne des lésions tégumentaires sur ses hôtes. Celles-ci affectent la fitness de *M. ventricosa*, au travers de son développement gonadique. *Dissodactylus primitivus* exploite ses deux espèces hôtes de façon asymétrique. La reproduction des parasites se déroule sur les deux hôtes, alors que le recrutement ne s'effectue que sur *M. ventricosa*. Ce cycle vital asymétrique du crabe serait stabilisé par la qualité et la rareté de *P. grandis*. En outre, Le comportement sexuel du crabe sur *M. ventricosa* répondrait aux critères de la polygynandrie à femelles mobiles. Selon ce modèle, les mâles et les femelles se déplacent entre les hôtes à la recherche de partenaires multiples. Lors de ces déplacements, le crabe s'aiderait de son aptitude à localiser chimiquement ses hôtes. Néanmoins, ce mécanisme s'avère plastique et pourrait refléter l'asymétrie du cycle vital. En effet, cette différence n'a pas d'origine génétique, car les crabes vivant au sein du site d'étude constituent la même population quelle que soit l'espèce hôte considérée. Les marqueurs moléculaires microsatellites mis au point dans ce travail permettront lors de futurs travaux d'affiner les observations sur les modalités d'accouplement du crabe et d'estimer sa capacité de dispersion.

Mots clés : Brachyoure, échinides, ectoparasite, mobilité, comportement reproductif, cycle vital.

Abstract

This work aimed to highlight the relationships between the host exploitation strategy of an ectoparasite crustacean and its mating system. The pea crab *Dissodactylus primitivus* exploits two Spatangidae species living in the Caribbean Sea, *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis*. Behavioural, demographic and genetic approaches have been conducted to examine the functioning and biology of this symbiosis. Owing to its feeding behaviour, the crab wounds the host tegument. The wounds negatively affect *M. ventricosa*'s fitness through its gonadic development. *Dissodactylus primitivus* asymmetrically exploits its two host species. The reproduction of the parasites happens on each host, but the recruitment only takes place on *M. ventricosa*. The asymmetrical life cycle would be stabilised par the quality and the scarcity of *P. grandis*. The mating system of crabs living on *M. ventricosa* would correspond to the Pure-search polygynandry of mobile females criteria. According to this model, the males and the females practice the host switching behaviour to find several sexual partners. During these movements, the crab could use its chemodetection ability to locate its hosts. However, this mechanism is plastic and presumably reflects the asymmetrical life cycle of the crab. This difference has indeed not a genetic cause because the crabs living inside the investigated region belong to the same population, whatever the regarded host species. In future studies, the microsatellites markers developed for this work could be used to test the mating system of *D. primitivus* and to estimate its dispersion ability.

Key words: Brachyura, echinids, ectoparasite, mobility, mating system, life cycle.

Table des matières

Introduction générale.....	11
1. Le parasitisme	11
2. Changements d'hôtes dans les cycles parasitaires	17
3. Les ectosymbioses marines chez les crustacés comme modèle pour explorer les stratégies de changement d'hôte.....	22
4. Modèles biologiques	27
a. Le parasite : le crabe <i>Dissodactylus primitivus</i>	27
a.1 Les Pinnotheridae ou crabes « petits pois » : une famille de crabes symbiotiques	31
a.2 Le complexe <i>Dissodactylus</i> et l'espèce <i>Dissodactylus primitivus</i>	37
b. Les hôtes : les spatangues <i>Meoma ventricosa</i> et <i>Plagiobrissus grandis</i>	42
c. La symbiose <i>Dissodactylus primitivus</i> - <i>Meoma ventricosa</i> - <i>Plagiobrissus grandis</i>	45
Buts du travail	48
La zone géographique étudiée : Discovery Bay	51
Résultats	53
Chapitre 1. Symbiose entre le crabe <i>Dissodactylus primitivus</i> et son hôte échinide <i>Meoma ventricosa</i> : conséquences possibles sur le comportement reproductif du crabe	53
a. Résumé	53
b. Symbiosis between the pea crab <i>Dissodactylus primitivus</i> and its echinoid host <i>Meoma ventricosa</i> : potential consequences for the crab mating system	55
Chapitre 2. Exploitation asymétrique de deux hôtes échinides par un crabe parasite et ses conséquences sur le cycle parasitaire	75
a. Résumé	75
b. Asymmetric exploitation of two echinoid host species by a parasitic pea crab and its consequences for the parasitic life cycle	77
Chapitre 3. Détection chimique et attraction différentielle chez un crabe parasite infectant deux espèces d'échinides	93
a. Résumé	93
b. Chemical host detection and differential attraction in a parasitic pea crab infecting two echinoids.....	95
Chapitre 4. La charge symbiotique et la compétition intra-sexuelle comme inducteurs du changement d'hôte chez un crabe parasite	111
a. Résumé	111
b. Symbiotic burden and intra-sexual competition as inducers of host-switching behaviour in a parasitic crab.....	113
Chapitre 5. Structure génétique d'une population de parasites exploitant deux hôtes sympatriques.....	123

a. Isolation et caractérisation de 15 loci microsatellites chez le crabe Pinnotheridae <i>Dissodactylus primitivus</i>	123
b. Structure génétique au sein d'une population du crabe <i>Dissodactylus primitivus</i>	126
Discussion générale.....	134
Références bibliographiques	145

INTRODUCTION GENERALE

Tableau 1. Diversité des parasites métazoaires, S : cycle vital simple, C : cycle vital complexe, M : milieu marin, D : milieu dulcicole, T : milieu terrestre (d'après Poulin 2007)

Taxa des parasites	Nb d'espèces parasites	Cycle vital	Habitat
Phylum Mesozoa	+80	S	M
Phylum Myxozoa	+1350	C	M, D
Phylum Cnidaria	1(?)	C(?)	D
Phylum Plathelminthes			
Classe Trematoda	+15000	C	M, D, T
Classe Monogenea	+20000	S	M, D
Classe Cestoidea	+5000	C	M, D, T
Phylum Nemertinea	+10	S	M
Phylum Acanthocephala	+1200	C	M, D, T
Phylum Nematomorpha	+350	S & C	D, T
Phylum Nematoda	+10500	S & C	M, D, T
Phylum Mollusca			
Classe Bivalvia	+600	S	D
Classe Gastropoda	+5000	S	M
Phylum Annelida			
Classe Hirudinea	+400	S	M, D
Classe Polychaeta	+20	S	M
Phylum Pentastomida	+100	C	D, T
Phylum Arthropoda			
Sous-Phylum Chelicerata			
Classe Arachnida			
Sous-Classe Ixodida	+800	S & C	T
Sous-Classe Acari	+30000	S	M, D, T
Sous-phylum Crustacea			
Classe Branchiura	+150	S	M, D
Classe Copepoda	+4000	S	M, D
Classe Cirripedia			
Sous-Classe Ascothoracida	+100	S	M
Sous-Classe Rhizocephala	+260	S	M
Classe Malacostraca			
Ordre Isopoda	+600	S	M
Ordre Amphipoda	+250	S	M
Sous-Phylum Uniramia			
Classe Insecta			
Ordre Diptera	+2300	S	T
Ordre Phthiraptera	+4000	S	T
Ordre Siphonaptera	+2500	S	T
Ordre Strepsiptera	+600	S	T

Introduction générale

1. Le parasitisme

Bien que les associations parasitaires soient connues depuis des décennies, leur fonctionnement et leurs impacts écologiques sont restés longtemps ignorés. A l'exception du domaine médical, l'étude du parasitisme ne présentait, aux yeux des scientifiques, qu'un intérêt limité. Ces associations n'étaient que le résultat isolé et spectaculaire de processus intenses d'interactions entre deux espèces (Combes 2001). Le nombre total de parasites reste vague et son estimation peu robuste, car elle est tributaire du nombre d'hôtes connus (Poulin 1996, Rodhe 2002). Néanmoins, on estime le nombre de parasites métazoaires à plus de 110.000 espèces (Poulin 2007). Les taxons les plus représentatifs, car les plus étudiés, sont les helminthes (plathelminthes et nématodes) et les arthropodes (Tableau 1). Cette ubiquité du monde parasitaire, alliée à des caractéristiques propres aux systèmes hôtes-parasites, font que depuis plusieurs années, les interactions hôte-parasite commencent à se placer au centre des débats relatifs aux processus écologiques et évolutifs (Brown et al 2001, Gandon 2004, Parker et al 2003). Les parasites vivent en effet dans un environnement discret, dans l'espace et le temps qui est assez bien défini : l'hôte qu'ils exploitent. Cette caractéristique fait des parasites un modèle biologique appréciable pour étudier des patrons généraux en écologie évolutive.

Le parasitisme se définit comme un cas particulier de symbiose. C'est en 1879 qu'Heinrich Anton De Bary, un mycologue allemand, introduit pour la première fois la notion de symbiose sous le terme « *symbiosis* » (du grec *sun*, avec, et *bios*, vie). Dans cette définition originelle, cette association est définie comme « *la vie en commun d'organismes de noms différents* » ; cela implique donc des organismes, au moins, d'espèces différentes (Sapp 1994). Trois catégories de symbioses sont reconnues sur base des bénéfices ou des préjudices qu'entraîne l'association pour les partenaires ; il s'agit du mutualisme, du commensalisme et du parasitisme. Le **mutualisme** est une symbiose à bénéfices réciproques : hôtes et symbiotes profitent de l'association. Le **commensalisme** (*sensu lato*) est une symbiose qui bénéficie au symbiote et qui est neutre pour l'hôte. Différents noms sont donnés au commensalisme selon la nature du bénéfice obtenu par le symbiote. Ainsi on parle de commensalisme (*sensu stricto*) si le bénéfice est trophique, d'**épizoïsme** (hôte animal) et d'**épiphytisme** (hôte végétal) si l'hôte sert de support, de **phorésie** si l'hôte sert de moyen de transport, d'**inquilinisme** si l'hôte sert d'abri et d'**endoécisme** si l'hôte partage son abri avec le symbiote. Morton (1989) a, en outre, ajouté le terme d'**aegisme** qui est un commensalisme dans lequel le symbiote

reçoit une protection de la part de l'hôte. L'aegisme, on le conçoit aisément, peut éventuellement concerner toutes les associations précédentes. Le **parasitisme** constitue la troisième catégorie et sera développé ci-dessous. Notons que la limite entre les catégories symbiotiques n'est pas toujours claire, car les effets positifs ou négatifs restent difficiles à apprécier, et qu'ils peuvent agir en antagonisme au sein d'une même relation symbiotique. Une relation symbiotique donnée doit donc être classée sur un continuum allant du mutualisme au parasitisme, en fonction du rapport coûts/bénéfices imposé à l'hôte.

Afin d'éviter toute ambiguïté dans la suite de ce texte, nous utiliserons la définition la plus largement acceptée du parasitisme. Le parasite est défini comme un organisme vivant sur ou dans un autre organisme (l'hôte), se nourrissant de ce dernier ou à ses dépens, montrant un certain degré d'adaptation et ayant un impact négatif sur son hôte (Poulin 2007). Les parasites sont donc, par définition, nuisibles à l'hôte. La mesure de leur impact sur la **fitness**¹ de l'hôte est, par conséquent, essentielle. Cependant, ce paramètre est généralement difficile à déterminer, car les effets sont généralement multiples et cumulatifs. Ainsi, pris indépendamment, certains effets peuvent être neutres voire positifs pour l'hôte. Bien que les parasites imposent un coût à l'hôte, ils ne réduisent pas systématiquement sa fitness à zéro (Thomas et al 2000). Par exemple, le parasite peut l'affecter au travers d'une réduction de sa fécondité. Dans ce cas, l'impact est peu ou non visible au niveau de l'individu, mais important au niveau de la population de l'hôte (Dobson & Hudson 1992). Enfin, afin de mieux cerner la parasitose, il faut ajouter l'environnement dans lequel interagissent les deux partenaires. Ce facteur peut influencer considérablement l'association symbiotique au point d'en changer la nature. En effet, l'impact négatif du parasite peut disparaître ou au contraire être accru sous certaines conditions environnementales. Dès lors, une association parasitaire est considérée comme un système dynamique dont les effets sont variables dans le temps et l'espace (Araújo et al 2003).

Traditionnellement, les parasites sont classables en fonction de différents paramètres. On peut d'abord faire la distinction entre les microparasites, considérés comme les plus hautement pathogènes, et les macroparasites, considérés comme moins néfastes pour l'hôte. En effet, ces derniers ne se multiplient généralement que peu ou pas après infestation de l'hôte (Combes 2001). C'est sur ce dernier type de parasites que s'est focalisé ce travail de thèse. La position

¹ **Fitness**: expression de l'aptitude d'un organisme à propager ses gènes d'une génération à la suivante au travers de la sélection naturelle (Allaby 1985).

qu'occupe le parasite chez son hôte peut aussi faire l'objet d'une classification. Si la parasitose est interne, elle est qualifiée d'**endoparasitisme** et le parasite, d'**endoparasite**. Si elle est externe, elle est qualifiée d'**ectoparasitisme** et le parasite, d'**ectoparasite** (Smith & Douglas 1987). C'est également sur ce dernier type d'association qu'a porté ce travail de thèse. Le parasite tire trois avantages d'une telle association : l'habitat, la nourriture et le transport. L'habitat relativement stable qu'est l'hôte réduit les effets négatifs d'un environnement abiotique changeant et de la prédation. Le temps de recherche de nourriture est limité, ce qui diminue considérablement le taux de mortalité du parasite par rapport aux formes libres. L'utilisation d'un hôte comme moyen de transport réduit la quantité d'énergie nécessaire à la dissémination des propagules. Ceci permet au parasite d'allouer une plus large partie de ses ressources à la reproduction afin d'augmenter les chances de sa descendance de coloniser de nouveaux hôtes (Combes 2001).

Au niveau populationnel, « l'hôte » ne représente pas un environnement stable et prédictible. La distribution des parasites au sein d'une espèce hôte varie en effet selon les individus ou les populations de ce dernier. En effet, les individus d'une espèce hôte sont génétiquement et phénotypiquement variables, ce qui influence les possibilités de colonisation. En fait, l'apparente stabilité d'une association parasitaire cache une guerre incessante entre les deux partenaires. Cette situation est décrite dans « **l'hypothèse de la reine rouge**² » proposée par Van Valen (1973), dans laquelle l'hôte s'adapte sans cesse aux attaques parasitaires (sélection de résistances, de tolérance, etc.) et le parasite s'adapte également aux réponses de l'hôte (contournement des résistances par exemple).

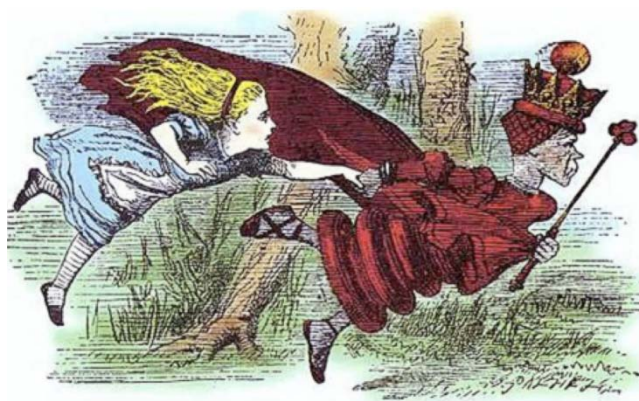


Figure 1. Alice et la reine rouge dans leur course effrénée (Lewis Carroll, *De l'autre côté du miroir*)

² **L'hypothèse de la reine rouge** : référence au roman de Lewis Carroll "*De l'autre côté du miroir*" (Figure 1). Alice et la reine rouge se lancent dans une course effrénée pour se rendre compte qu'elles restent sur place malgré leurs efforts. La reine lui explique qu'au Pays des Merveilles il faut courir pour rester sur place comme c'est le cas dans de nombreux systèmes hôte-parasite (Van Valen 1973).

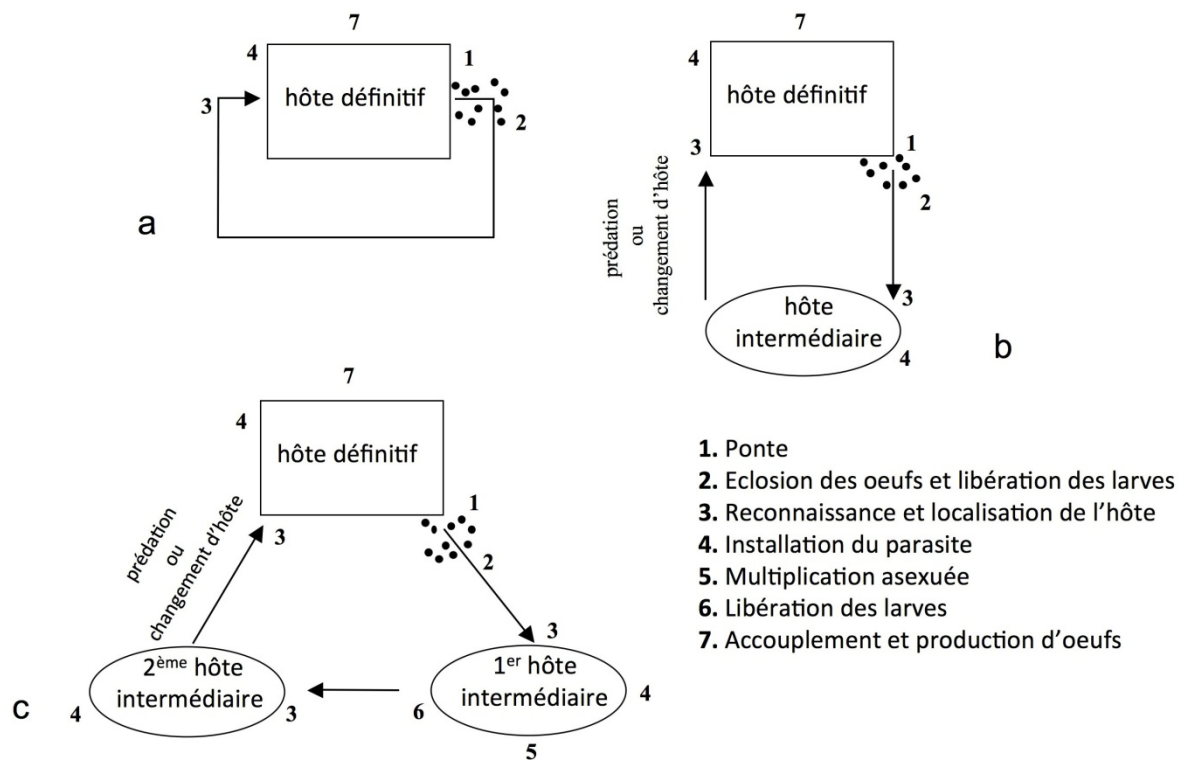
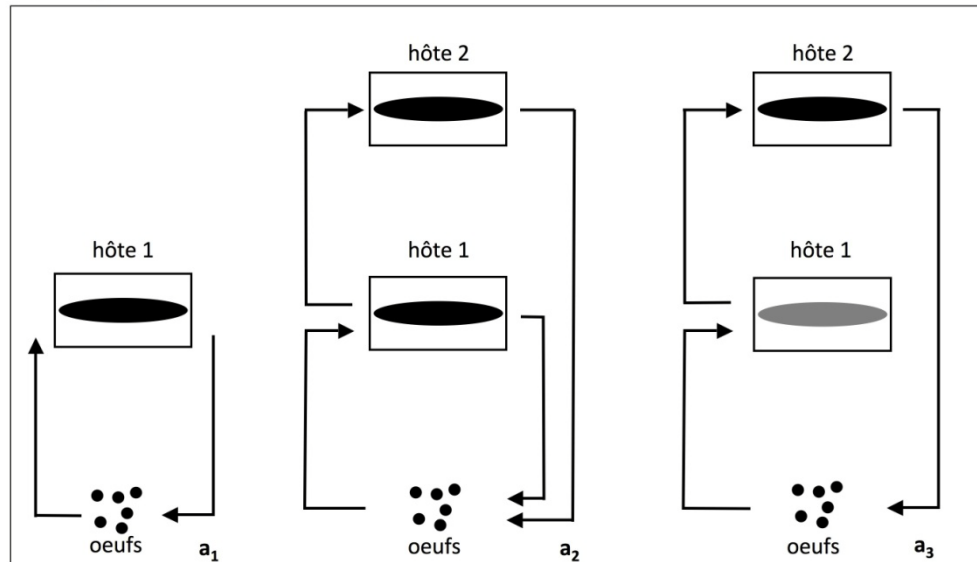


Figure 2. Cycle à un hôte ou holoxène chez un monogène (a), Cycle complexe à deux hôtes ou hétéroxène chez un cestode (b) et à trois hôtes ou hétéroxène chez un digène (c). Les adaptations liées au cycle sont indiquées à chaque étape de la transmission d'un hôte à l'autre (d'après Poulin 2007)

Il est souvent admis que le parasite possède toujours « un coup d'avance » au niveau de ses adaptations, mais est talonné par celles de l'hôte. Ce processus aboutit à une coévolution du parasite et de son hôte, ce qui peut dans certains cas conduire à des processus de co-spéciation (Poulin 2007). Cependant, les parasites peuvent contourner ce processus de co-spéciation en colonisant un nouvel hôte (Boeger et al 2005). Ainsi, un parasite peut présenter un spectre d'hôte important. Ceci permet de définir le degré de spécificité du parasite vis-à-vis de son ou ses hôtes. Le spectre d'hôte est régulé par une série de mécanismes repris sous les concepts de « filtre de rencontre » et de « filtre de compatibilité » (Euzet & Combes 1980). **Le filtre de rencontre** exclut les hôtes potentiels dont l'écosystème est différent de celui du parasite et dont le comportement permet d'éviter tout contact entre les deux protagonistes. **Le filtre de compatibilité** permet d'exclure les hôtes potentiels qui ne fournissent pas un environnement viable au parasite et qui ont des moyens de défense adaptés. Si l'un de ces deux filtres est activé, l'acquisition d'un nouvel hôte est impossible. Néanmoins, l'acquisition d'un nouvel hôte n'est pas un processus rare. Dans les faits, les parasites exploitent souvent plus d'une espèce hôte, individuellement (plusieurs cycles simples et indépendants, Figure 2a) ou séquentiellement (cycle complexe, Figure 2b, c). En outre, ces cycles peuvent soit se complexifier, soit se simplifier par l'ajout ou la suppression d'un ou plusieurs hôtes (Moran & Witham 1988, Morand et al 1995).

a Incorporation en aval



b Incorporation en amont

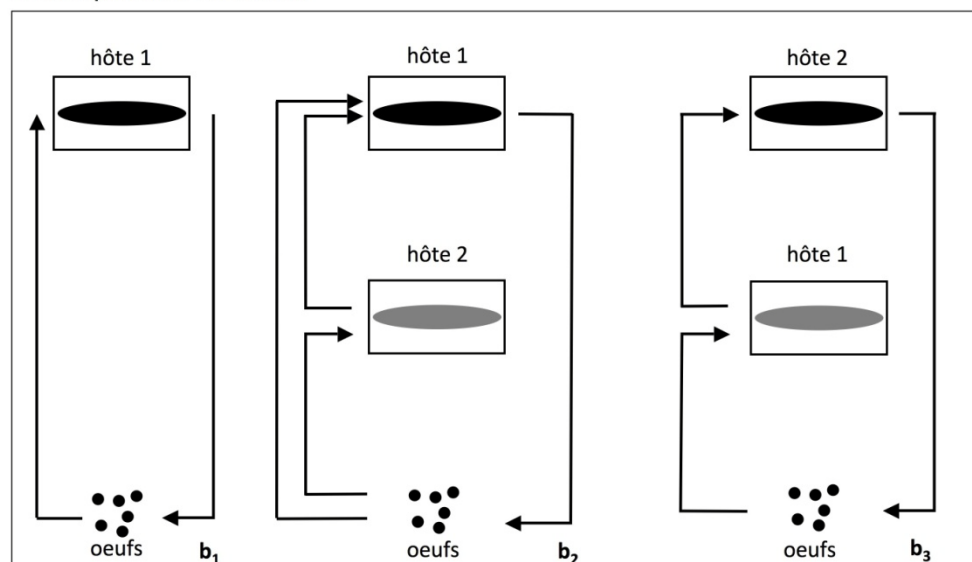


Figure 3. Evolution d'un cycle holoxène vers un cycle hétéroxène. (a) Par incorporation en aval de l'hôte définitif et (b) par incorporation en amont de l'hôte définitif. L'évolution se fait de la gauche vers la droite (d'après Parker et al 2003). L'hôte définitif est représenté en noir et l'hôte intermédiaire en gris

2. Changements d'hôtes dans les cycles parasitaires

Au cours de l'évolution du règne animal, le parasitisme est apparu indépendamment une soixantaine de fois chez les métazoaires. De nombreuses preuves soutiennent l'idée que la **spéciation sympatrique**³ est commune dans de nombreuses lignées. (Poulin & Morand 2000, Poulin 2007). Dès lors, les parasites deviennent des modèles particulièrement intéressants pour l'étude de la spécialisation écologique, des mécanismes de spéciation et de diversification (de Meeûs et al 1998).

Il est généralement admis qu'une espèce chez qui le parasitisme est une acquisition évolutive récente n'exploite qu'une seule espèce hôte (cycle **holoxène** ou **monoxène**). Cependant, au cours des processus évolutifs, un ou plusieurs hôtes peuvent s'ajouter à son cycle vital, le cycle devenant **hétéroxène** (Poulin 2007). Dans des cycles complexes à deux hôtes successifs, l'**hôte définitif** est l'hôte au sein duquel le parasite se reproduit sexuellement et l'**hôte intermédiaire** est celui qui abrite un stade du parasite qui ne peut se reproduire sexuellement ou qui se reproduit de manière asexuée (Combes 2001). Il existe un cas particulier, appelé hôte **paraténique**, qui est un hôte d'attente ou de transport non obligatoire à la finalisation du cycle parasitaire. Cet hôte facultatif peut, dans certains cas, s'intégrer pleinement au cycle du parasite et devenir un hôte à part entière au cours de l'évolution. Ce processus d'intégration sera favorisé si cet hôte améliore l'infestation, la durée de vie, la dispersion ou la maintenance du parasite, ainsi que la récupération des stades infestant normalement perdus (Hanelt et al 2005). Deux voies possibles de complexification d'un cycle simple par l'ajout d'un nouvel hôte sont possibles (Parker et al 2003). La première consiste en l'incorporation d'un nouvel hôte en aval de l'hôte existant (**incorporation en aval**, Figure 3a). Pour que le cycle simple puisse évoluer (Figure 3a₁), les formes adultes issues de l'hôte originel doivent être capables de coloniser, de vivre et de se reproduire sur le nouvel hôte (Figure 3a₂). Si le succès reproductif du parasite dans ou sur le nouvel hôte est plus important que sur l'hôte originel, ce dernier deviendra l'hôte intermédiaire et le nouvel hôte, l'hôte définitif (Figure 3a₃). Au final, la reproduction défavorisée sur l'hôte originel disparaîtra et ne s'effectuera plus que sur le nouvel hôte (Figure 3a₃). La deuxième voie consiste en l'ajout d'un hôte en amont de l'hôte existant (**incorporation en amont**, Figure 3b). Cela peut se dérouler si l'une des proies de l'hôte originel ingère les oeufs du parasite et que ce dernier

³**Spéciation sympatrique** : formation de nouvelles espèces en absence de toute barrière géographique ou physique qui isolent les populations de l'espèce ancestrale. Pour les parasites, la spéciation sympatrique se déroulant sur une même espèce hôte, est aussi appelée spéciation synxénique ou intra-hôte (Huyse et al 2005).

peut s'y développer (Figure 3b₂). Cette proie infestée deviendra l'hôte intermédiaire si le coût de survie dans cet hôte est plus faible que sur l'hôte originel et si la transmission à l'hôte définitif est favorisée (Figure 3b₃).

L'hôte est discontinu dans l'espace (l'ensemble des hôtes possibles correspond à un habitat fragmenté) et le temps (l'hôte est mortel). Dès lors, quel que soit le nombre d'hôtes (particulièrement aigu pour les cycles complexes), ces discontinués imposent au parasite une optimisation de ses modes de transmission. Ce sera l'établissement des juvéniles sur un nouvel hôte qui assurera le développement d'une nouvelle infra-population et la pérennité de la symbiose (Price 1980, Combes 2001, Poulin 2007). La transmission d'un parasite d'un hôte à l'autre peut être verticale (Figure 4a) ou horizontale (Figure 4b). Lors de la transmission verticale, le parasite est transmis d'un hôte parent directement à sa descendance. Les autres modes de transmission pour lesquels le parasite est transféré entre deux hôtes non parents sont qualifiés d'horizontaux (Combes 2001, Poulin 2007).

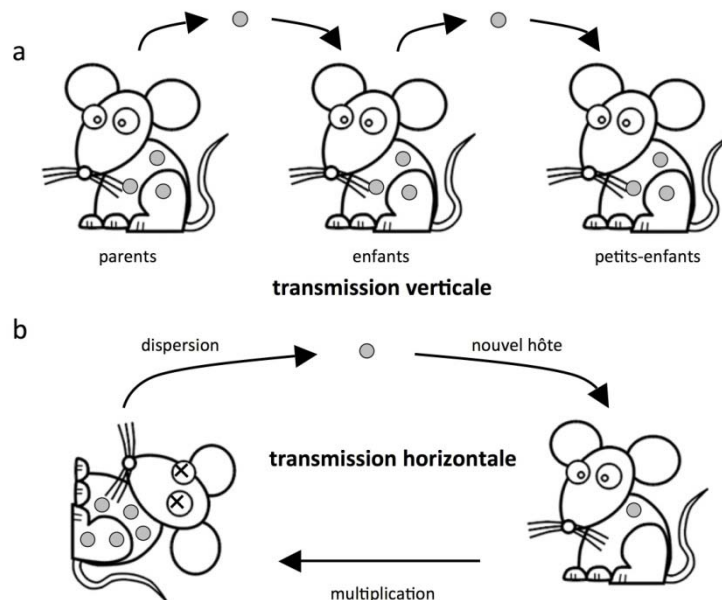


Figure 4. Modes de transmission du parasite d'un hôte à l'autre. (a) La reproductivité du parasite est directement liée à la fitness de l'hôte ce qui conduira le système à évoluer vers du commensalisme ou du mutualisme. (b) Le parasite affecte son hôte et peut dans certains cas le tuer si cela favorise sa reproductivité

Ces derniers sont divers et variés. Le transfert peut se faire par contact entre deux hôtes, par consommation du parasite ou de l'hôte intermédiaire, au moyen d'un vecteur ou encore par l'intermédiaire d'un stade infestant libre et actif qui est temporaire ou permanent (Combes 2001, Poulin 2007, Harbison et al 2009). Cependant, les mouvements entre les hôtes ne sont pas toujours limités aux juvéniles ou aux formes larvaires, certaines espèces gardant à l'état

adulte la capacité de se déplacer d'un hôte à l'autre ou d'une espèce hôte à l'autre (Bell 1984, Bush 2009, Harbison et al 2009). La transmission entre les hôtes à l'âge adulte peut jouer un rôle important dans la vie du parasite. En effet, lors de la mort éventuelle de l'hôte ou encore lors d'une surpopulation de l'hôte, cette aptitude permet au parasite d'en coloniser un nouveau et d'assurer la survie de sa lignée (Bell 1984, Baeza & Thiel 2007). Ce mode de transmission influence la dynamique de la population du parasite, sa virulence et la spécificité à l'hôte (Ewald 1994, Combes 2001, Poulin 2007). Un tel changement d'hôte (« host switching » en anglais) peut s'avérer particulièrement crucial chez certains parasites, lors de la recherche d'un partenaire sexuel. Bien que les parasites aient souvent des modes de reproduction asexués (e.g. hermaphrodisme chez de nombreux plathelminthes), les parasites gonochoriques (à sexe séparés) ne sont pas rares. En fait, les comportements reproductifs que l'on connaît chez les organismes libres se retrouvent chez les parasites gonochoriques (Tableau 2).

Tableau 2. Comportements reproductifs chez les organismes gonochoriques (d'après Shuster & Wade 2003)

Monogamie	Reproduction d'un mâle avec une femelle excluant tout autre partenaire sexuel
Polyandrie	Reproduction multiple des femelles
Polygynie	Reproduction multiple des mâles
Polygynandrie	Reproduction multiple des mâles et des femelles

Ces comportements peuvent même être utilisés comme modèles biologiques pour l'étude des stratégies d'appariement ou de sélection sexuelle (Shuster & Wade 2003, Beltran & Boissier 2008, Redman et al 2008, Steinauer 2009). Lorsqu'il s'agit d'endoparasites, les stratégies de recherche de partenaire ont lieu au sein de l'hôte (voir les cas de changement de partenaire chez les schistosomes, Beltran & Boissier 2009). Pour des ectoparasites, la présence de deux partenaire sexuels sur un même hôte peut être due au hasard de la colonisation, et donc beaucoup plus aléatoire. Divers patrons évolutifs ont mené à une favorisation de la rencontre entre sexes chez de tels parasites. Par exemple, chez plusieurs familles de copépodes parasites, le mâle s'accroche de manière permanente à la région génitale de la femelle lors de leur première rencontre (Raibaut & Trilles 1993). Dans ce cas, le déterminisme environnemental du sexe facilite la formation de couples : le sexe femelle se différencie lorsque la larve de parasite (sexuellement indifférenciée dans sa phase libre) atteint un hôte non infecté, alors que le phénotype mâle ne se différencie que lorsque la larve atteint un hôte déjà infecté (donc, infecté par une femelle !) (Becheikh et al 1998, Michaud et al 2004). Cependant, en l'absence de telles stratégies, une solution à la formation des couples reste la

recherche d'un partenaire du sexe opposé, impliquant une exploration du milieu à sa recherche, et donc l'exploration de différents hôtes (Baeza & Thiel 2007).

Quel que soit le stade parasitaire impliqué dans un changement d'hôte, l'une des grandes difficultés pour le stade infestant est de trouver un nouvel hôte adéquat (cf. filtre de rencontre). Comme indiqué précédemment, l'hôte est un environnement limité dans l'espace et le temps. Chez les espèces généralistes, la multiplication du nombre d'espèces hôtes augmente la probabilité de trouver un hôte compatible (cf. filtre de compatibilité). Quant aux espèces plus spécifiques, elles présentent toute une série d'adaptations, de comportements et d'aptitudes sensorielles permettant une détection et une localisation précises (Combes 2001, Poulin 2007, Boeger et al 2005, Bandilla et al 2008).

Afin de résoudre le problème temporel, le parasite peut avoir un cycle vital correspondant à celui de son hôte (Perez et al 2009), ou encore, la forme infestante est libérée dans l'environnement à un moment où la probabilité de présence de l'hôte est forte (Théron 1984). Quant au positionnement adéquat dans l'espace, le comportement sélectionné du parasite l'amènera à se trouver dans l'environnement de l'hôte afin d'augmenter la probabilité de rencontre (Combes 2001, Fingerut et al 2003, Zimmer et al 2009). Ces positionnements peuvent être régulés par différents paramètres comme la lumière, la température et la gravité (Combes 1991). Néanmoins, ces solutions n'impliquent pas obligatoirement une recherche spécifique de l'hôte et sont souvent soumises au hasard (passage aléatoire de l'hôte).

Comme les organismes « libres », les parasites peuvent présenter différents organes sensoriels leur permettant de s'orienter dans le milieu et de localiser l'hôte (Atema 1995, Zimmer & Butman 2000). Ils ont accès à divers stimulus leur signalant la présence et la position de l'hôte. Ces informations peuvent être visuelles, mécaniques, mais sont principalement chimiques (Bailey et al 2006, Mordue & Birkett 2009, Schurmann et al 2009, Bunk et al 2010). Les exemples les plus remarquables de ce type de localisation chimique se rencontrent chez les arthropodes. Ceux-ci possèdent des organes chimiorécepteurs complexes leur permettant de détecter leurs hôtes de façon ciblée (Vinson 1976, Combes 2001, Pasternak et al 2005).

Tableau 3. Quelques crustacés symbiotiques et leurs hôtes (d'après Thiel & Baeza 2001)

Crustacés symbiotiques	Groupes	Hôtes macroinvertébrés	Groupes
<i>Inachus phalangium</i>	crabe	<i>Anemona sulcata</i>	anthozoaire
<i>Polyonyx bella</i>	"crabe" porcelaine	<i>Chaetopterus variopedatus</i>	polychète
<i>Pinnaxodes floridensis</i>	crabe	<i>Theelothuria princeps</i>	holothurie
<i>Dissodactylus primitivus</i>	crabe	<i>Meoma ventricosa</i>	oursin
<i>Alpheus lottini</i>	crevette	<i>Pocillopora damicornis</i>	corail
<i>Alpheus roquensis</i>	crevette	<i>Heteractis lucida</i>	anthozoaire
<i>Synalpheus stimpsoni</i>	crevette	<i>Comaster spp.</i>	crinoïde
<i>Pontonia pinnophylax</i>	crevette	<i>Pinna nobilis</i>	bivalve
<i>Anamixis cavatura</i>	amphipode	<i>Ecteinascidia turbinata</i>	ascidie
<i>Edotea magellanica</i>	isopode	<i>Mulinia edulis</i>	bivalve
<i>Caecognathia robusta</i>	isopode	<i>Geodia mesotriaena</i>	éponge
<i>Maxillipius commensalis</i>	amphipode	<i>Echinogorgia sp.</i>	gorgone
<i>Notodelphys allmani</i>	copépode	<i>Ascidiella aspersa</i>	ascidie

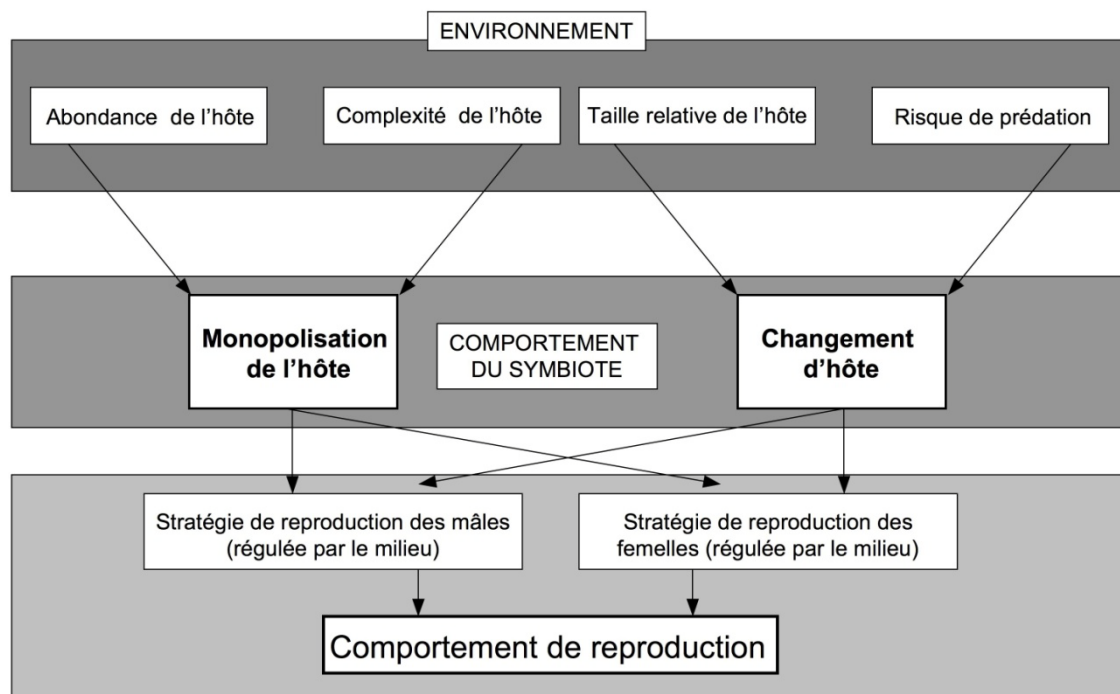


Figure 5. Modèle théorique des comportements sexuels chez les crustacés symbiotiques. Les caractéristiques de l'hôte et les risques de prédation promeuvent et/ou défavorisent la monopolisation de l'hôte et le changement d'hôte. La décision de garder l'hôte ou de voyager d'hôte en hôte est un facteur crucial dans la détermination de la stratégie de reproduction des mâles et des femelles et donc du comportement reproductif des crustacés symbiotiques (d'après Baeza & Thiel 2007)

3. Les ectosymbioses marines chez les crustacés comme modèle pour explorer les stratégies de changement d'hôte

Quelle que soit la nature de la relation symbiotique, l'ectosymbiose est communément observée dans les écosystèmes marins. Le degré de spécificité est très variable, certains symbiotes sont inféodés à une seule espèce hôte alors que d'autres sont généralistes (Wahl & Mark 1999, Hétériet et al 2008).

Au sein des crustacés marins, une grande variété d'espèces (crevettes, crabes, amphipodes, isopodes et copépodes) a été décrite comme des ectosymbiotes de macroinvertébrés. En effet, la vie en symbiose est une adaptation remarquable chez les crustacés marins (Ross 1983). Ces associations se retrouvent partout à travers le monde et incluent un très large éventail d'espèces hôtes (Tableau 3, Thiel & Baeza 2001). Ces derniers sont de natures variées et diffèrent au niveau de leur taille, de leur morphologie, de leur habitat, de leur biologie ainsi que de leur écologie. Certains crustacés symbiotiques ont la capacité de pouvoir changer d'hôte à l'âge adulte (Bell 1984, Baeza & Thiel 2007, Thiel et al 2003a). Ce comportement de changement d'hôte chez des parasites est aussi appelé « comportement phorétique » (Harbison et al 2009).

La mobilité continue des crustacés ectosymbiotes est une réponse à différentes pressions sélectives. Elle permet la recherche d'un partenaire sexuel, de désertir un hôte surpeuplé ou mort ou encore d'éviter le développement d'une résistance par l'hôte (Bell 1984, Boeger et al 2005, Bandilla et al 2008). Lors des changements d'hôte, la capacité du symbiote à reconnaître son hôte est de première importance. Bien qu'elle puisse être visuelle, cette reconnaissance est principalement chimique. Chez les crustacés symbiotiques, ce mode de détection est un élément essentiel dans la reconnaissance, la spécificité et la fidélité à l'hôte (e.g. Bell 1984, Patton et al 1985, Brooks 1991, Brooks & Rittschof 1995, Reeves & Brooks 2001, Thiel et al 2003b). Précisons que le degré de spécificité du symbiote agira sur sa détection chimique. Celle-ci est affectée par le nombre d'espèces hôtes pouvant être exploitées par le symbiote (Stevens 1990c, Poulin 2007).

La mobilité et la capacité à détecter spécifiquement ses hôtes font des crustacés symbiotiques des modèles particulièrement intéressants dans l'étude du système de reproduction au travers de la reconnaissance de leurs hôtes.

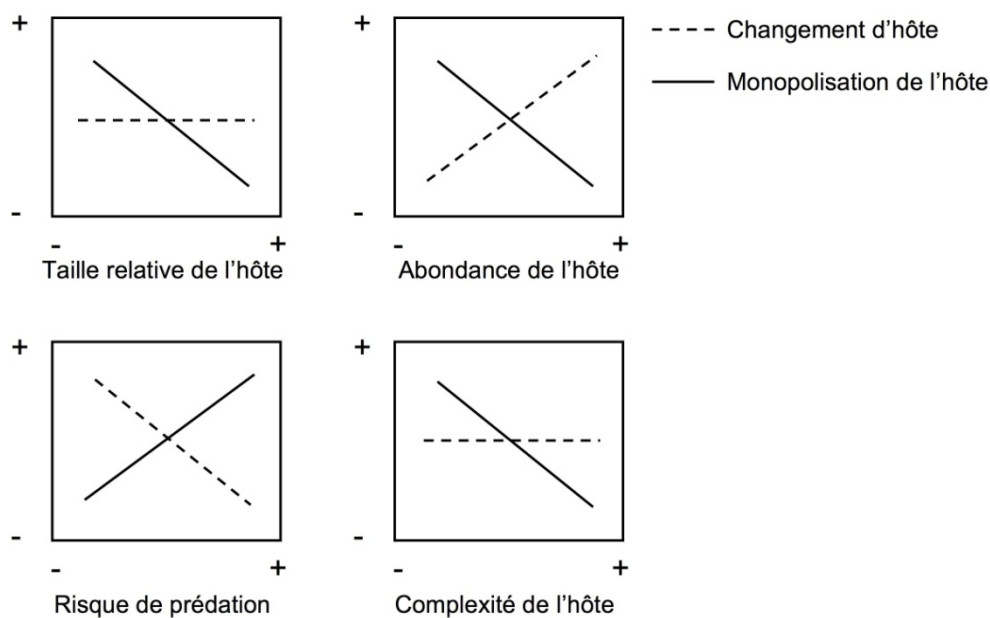


Figure 6. Modifications prédictives du comportement changement d'hôte et de monopolisation de l'hôte chez les crustacés symbiotiques dépendant des caractéristiques des l'hôte et des risques de prédateurs (d'après Baeza & Thiel 2007)

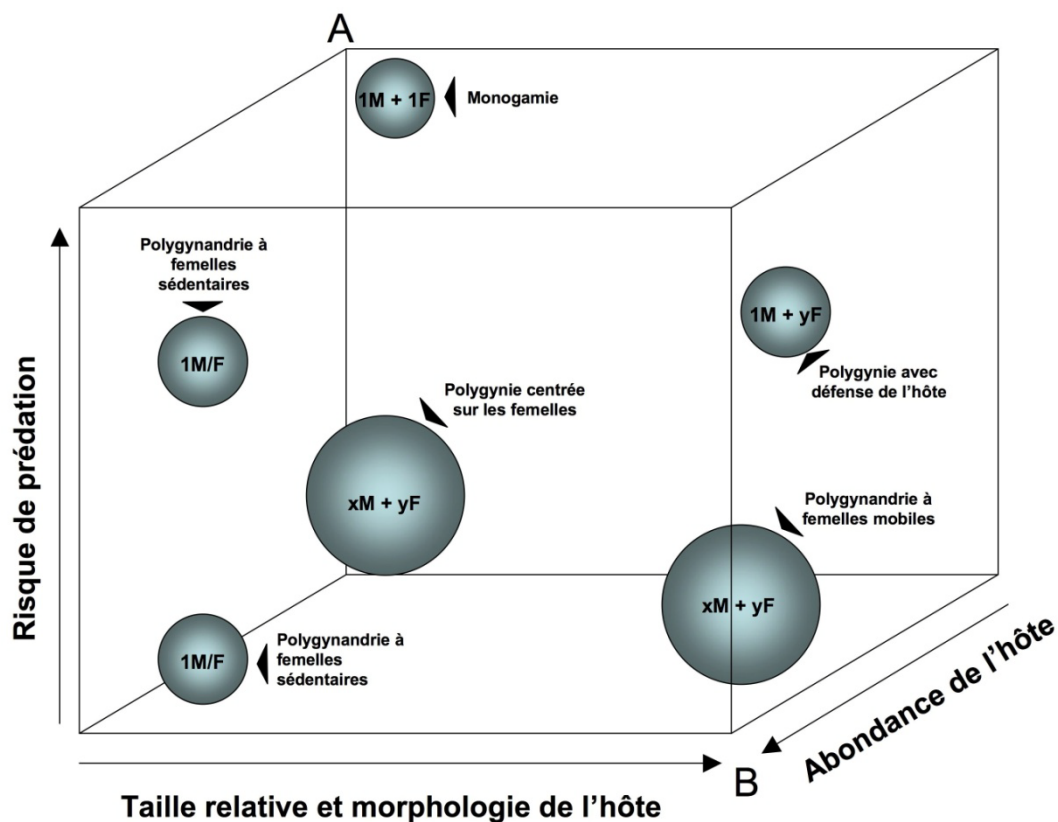


Figure 7. Comportements reproductifs prédits sur la base d'un ensemble de données environnementales. Les interactions entre l'abondance, la taille relative et la morphologie ainsi que les risques de prédateurs sont vues comme un espace tri-dimensionnel dans lequel se positionnent les différents comportements reproductifs. x et y sont, respectivement, les nombres de mâles (M) et de femelles (F) trouvés sur les hôtes pour chaque comportement reproductif. (A) monopolisation exclusive de l'hôte (B) changement d'hôte obligatoire (d'après Baeza & Thiel 2007)

Baeza et Thiel (2007) ont proposé un modèle théorique narratif qui explique le comportement sexuel ou de reproduction chez les crustacés symbiotiques (Figure 5). Ce modèle suppose que les mâles et les femelles ont des stratégies de reproduction propres qui les poussent soit à se cantonner sur un hôte (monopolisation), soit à en changer. En outre, l'abondance de l'hôte, sa taille relative, son comportement, ainsi que les risque de prédation influent sur la prédilection pour l'une ou l'autre de ces deux stratégies (Figure 6). Ce modèle reprend l'ensemble des comportements reproductifs rencontrés chez les organismes gonochoriques libres (Tableau 2) et y intègre la capacité du crustacé à monopoliser l'hôte ou à en changer. Dans ce cadre théorique, cinq comportements reproductifs ont été proposés (Figure 7):

1. **La monogamie :** l'hôte est morphologiquement simple, de petite taille et peu abondant. De plus, le risque de prédation est élevé. La monopolisation de l'hôte est favorisée chez les mâles et les femelles. On retrouve un mâle et une femelle ensemble sur un hôte.
2. **La polygynie avec défense de l'hôte :** l'hôte est morphologiquement simple et est suffisamment grand pour permettre l'installation d'un peu plus de deux symbiotes. Les hôtes sont relativement rares et le risque de prédation est fort ou modéré. Un mâle partage l'hôte avec plusieurs femelles et protège l'hôte de l'intrusion d'autres concurrents.
3. **La polygynie centrée sur les femelles :** l'hôte est morphologiquement complexe et présente une taille intermédiaire ce qui augmente le coût de sa monopolisation. De ce fait, l'hôte ne permet la présence simultanée que d'un nombre modéré d'individus. L'abondance de l'hôte et le risque prédation restent modérés. Sous ces conditions, les femelles devraient être distribuées aléatoirement et auraient une densité moyenne. Dans ce cas, la garde des femelles serait moins coûteuse que la monopolisation d'un hôte. Selon ce modèle, le mâle voyage d'hôte en hôte. Dès qu'il trouve une femelle, il la protège des autres mâles jusqu'à ce qu'elle soit réceptive à l'accouplement. Après la copulation, le mâle repart en quête d'autres femelles.
4. **La polygynandrie à femelles mobiles :** l'hôte est morphologiquement complexe, de grande taille, abondant et le risque de prédation est faible. Dans ce cas, tant les mâles que les femelles sont à la recherche de partenaires multiples.

5. **La polygynandrie à femelles sédentaires :** L'hôte est extrêmement petit et soit son abondance est faible (ou modérée) et le risque de prédation est important (ou modéré), soit le risque de prédation est faible et l'hôte est très (ou moyennement) abondant. Dans ce cas, les mâles recherchent activement des femelles réceptives avec qui ils s'accouplent et qu'ils abandonnent ensuite.

Notons que le synchronisme de la réceptivité des femelles favorisera uniquement le comportement monogame. En effet, un faible synchronisme des femelles peut pousser les mâles à rechercher des femelles réceptives quand la ou les siennes ne le sont pas. Par exemple, dans le cas **polygynie avec défense de l'hôte**, l'asynchronisme de réceptivité des femelles pousse le mâle à rester auprès d'elles, ce qui stabilise le comportement sexuel. Ainsi, dans les modèles à partenaires multiples, des femelles gravides et non-gravides ainsi que des individus à différents niveaux de maturité seront présents au même moment sur les hôtes (asynchronisme de la reproduction).

Cependant, le modèle de Baeza et Thiel présente plusieurs faiblesses. Premièrement, il n'est pas soutenu par un nombre suffisant d'études empiriques. Les cinq comportements sont illustrés par dix cas d'associations symbiotiques, toutes à cycle monoxène (Baeza & Thiel 2007). De plus, même si quelques unes de ces symbioses sont bien détaillées, la majorité est décrite de manière incomplète (ex : *Paracerceis sculpta*, Shuster & Wade 1991). Deuxièmement, seule l'association entre *Zaops ostreum* et *Crassostrea virginica* est bien définie comme du parasitisme (Christensen & McDermott 1958), les autres associations relevant plus vraisemblablement du commensalisme. Troisièmement, peu d'études génétiques ont été réalisées afin de décrire les paramètres de dispersion des crustacés symbiotiques (Stevens 1990a, 1991, Toonen 2004, Bilodeau et al 2005). La validation du modèle passe nécessairement par l'exploration détaillée d'autres associations parasitaires et mutualistes pour tenter de caractériser l'influence de la nature symbiotique sur le comportement sexuel du symbiote. Ce travail s'inscrit dans cette perspective, en proposant de décrypter le mode d'exploitation de deux oursins hôtes par un crustacé symbiotique.

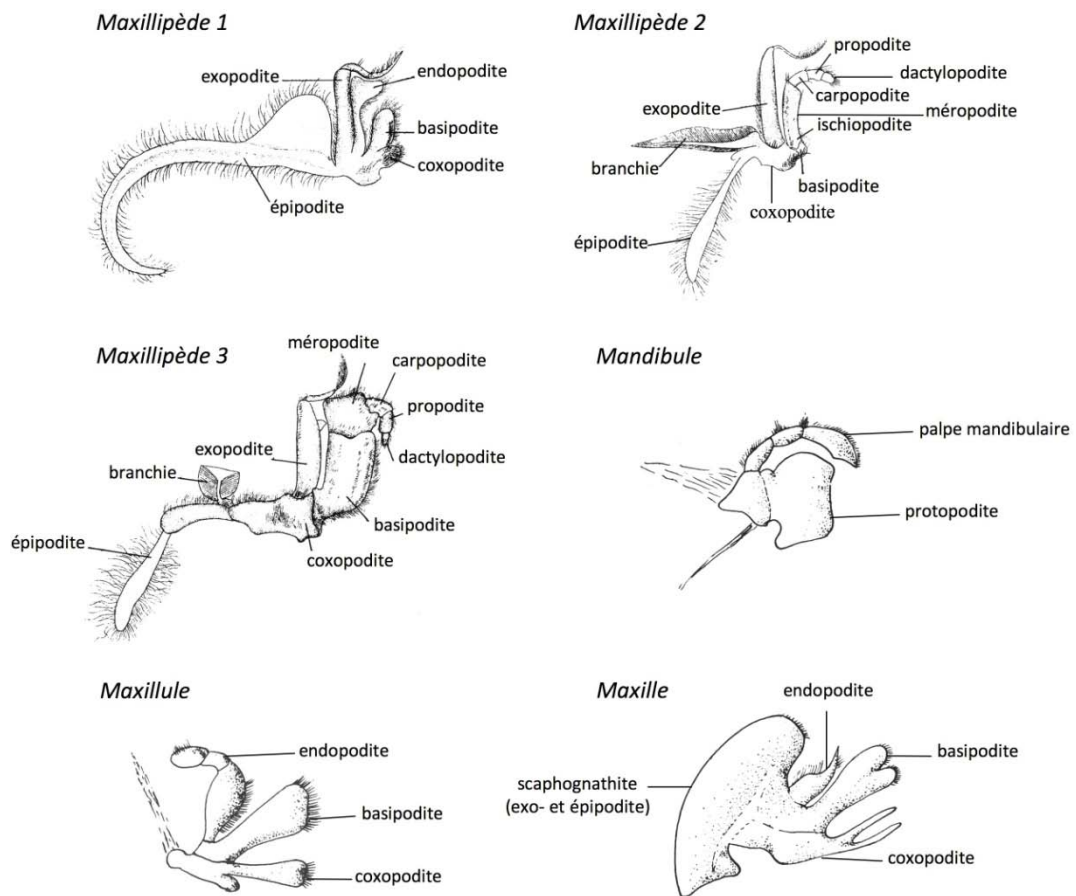


Figure 9. Pattes mâchoires ou maxillipèdes (*Cancer pagurus*) et pièces buccales (*Carcinus maenas*) chez deux espèces de Brachyours (d'après Grassé 1994, Tixier & Gaillard 1969)

4. Modèles biologiques

a. Le parasite : le crabe *Dissodactylus primitivus*

Le groupe des Brachyours ou « vrais crabes » compte plus de 4500 espèces et est considéré comme le plus spécialisé morphologiquement chez les crustacés décapodes. On le retrouve majoritairement en milieu benthique, mais aussi dulcicole et terrestre (Ruppert et al 2004). Le corps des Brachyours possède typiquement un céphalothorax de grande taille, déprimé et abritant l'ensemble des organes (Figure 8).

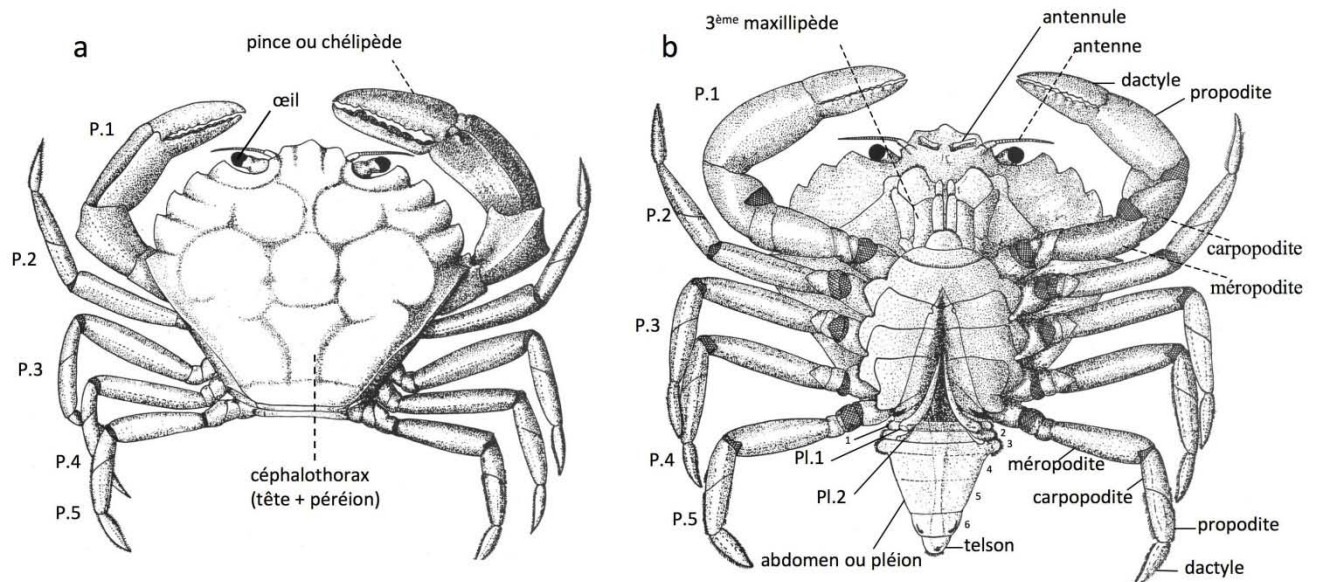


Figure 8. Le crabe *Carcinus maenas* (mâle): (a) face dorsale, P.1-5: pattes thoracique ou péréiopodes ; (b) face ventrale, P1-5: pattes thoracique ou péréiopodes, 1 à 6: segments abdominaux (3,4 et 5 soudés), Pl.1-2: pléopodes ou gonopodes (d'après Tixier & Gaillard 1969)

Le céphalothorax est formé de la tête (lobe préoral + quatre segments) et du péréion (huit segments thoraciques), l'ensemble étant enveloppé d'une carapace continue. Les trois premiers segments du péréion ont fusionné avec la tête. Leurs appendices sont les trois pattes-mâchoires, ou maxillipèdes, associées aux pièces buccales (les mandibules, les maxillules, les maxilles, Figure 9). Les appendices des cinq derniers segments du péréion sont les péréiopodes. La première paire de ces péréiopodes correspond aux chélicèdes (pinces). Les quatre autres péréiopodes sont locomoteurs. L'abdomen (ou pléion) des crabes présente un dimorphisme sexuel. Chez les femelles, le pléion est large et muni de tous les pléopodes ; ces derniers servent à maintenir les œufs entre le céphalothorax et le pléion. Chez les mâles, le pléion est étroit et comporte uniquement les deux premières paires de pléopodes (Figure 8b) ;



Figure 11. Développement larvaire du crabe *Dissodactylus primitivus* (d'après Pohle & Telford 1983)

ces derniers servent de gonopodes et assurent la manipulation et l'intromission ou non du spermatophore lors de l'accouplement (Ruppert et al 2004).

Chez de nombreuses espèces de Brachyours la fécondation interne n'est possible qu'après la mue de la femelle. Les œufs fécondés restent fixés sur les pléopodes de la femelle. L'abdomen est alors « décollé » du céphalothorax et fournit un espace de protection pour le développement des œufs (Figure 10).

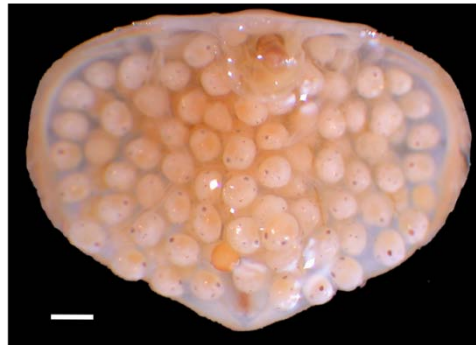


Figure 10. Abdomen d'un crabe femelle (*Dissodactylus primitivus*) abritant une ponte, barre d'échelle 1 mm

Les œufs sont couvés pendant un temps qui varie selon les espèces, puis éclosent au stade protozoé ou zoé (Figure 11). Le nombre de zoés successives varie selon les espèces. Après le dernier stade zoé, le crabe passe par un dernier stade larvaire, lui aussi pélagique, la mégaloque; sa morphologie est intermédiaire entre la forme zoé et la forme crabe. Après un laps de temps, variable selon les espèces, cette larve migre vers le substrat où elle effectue sa dernière mue larvaire qui la conduit au stade 1^{er} crabe (Figure 11). La durée de la vie larvaire est très variable ; elle peut être de 45 à 158 jours chez *Cancer magister* (Jamieson & Phillips 1988), ou beaucoup plus courte comme chez *Tunicotheres moseri* chez qui le développement ne dure que trois à sept jours (Bolaños et al 2004).

Les Brachyours présentent un large éventail de régimes et d'habitudes alimentaires combinant souvent la prédation à la nécrophagie. Cependant, de nombreuses espèces de crabes sont herbivores, omnivores ou détritivores. Chez l'ensemble de ces espèces, la nourriture est capturée et manipulée au moyen des chélicèdes (Figure 8). Chez les macrophages, la nourriture est prélevée à l'aide des chélicèdes qui la transfèrent à la 3^{ème} paire de maxillipèdes ; les maxillipèdes poussent la nourriture plus loin vers les mandibules et les maxilles qui la déchiquettent avant l'ingestion. Chez les microphages, le prélèvement alimentaire se fait par filtration. Elle est assurée par les peignes de soies situés au niveau de certains appendices comme, par exemple, au niveau des maxillipèdes dans le cas des

Tableau 4. Genres composant la famille des Pinnotheridae, De Haan 1833 (d'après De Grave et al 2009)

Genres	Auteurs	Genres	Auteurs
Pinnotherinae De Haan, 1833		<i>Pinnaxodes</i>	Heller, 1865
<i>Abyssotheres</i>	Manning & Galil, 2000	<i>Pinnotheres</i>	Bosc, 1801-1802
<i>Afropinnotheres</i>	Manning, 1993	<i>Raytheres</i>	Campos, 2004
<i>Alain</i>	Manning, 1998	<i>Sakaina</i>	Serène, 1964
<i>Alainotheres</i>	Manning, 1993	<i>Serenotheres</i>	Ahyong & Ng, 2005
<i>Arcotheres</i>	Manning, 1993	<i>Scleroplax</i>	Rathbun, 1893
<i>Austinotheres</i>	Campos, 2002	<i>Sindheres</i>	Kazmi & Manning, 2003
<i>Bonita</i>	Campos, 2009	<i>Tridacnotheres</i>	Ahyong & Ng, 2005
<i>Buergeres</i>	Ng & Manning, 2003	<i>Tumidootheres</i>	Campos, 1989
<i>Calyptraeotheres</i>	Campos, 1990	<i>Tunicotheres</i>	Campos, 1996
<i>Clypeasterophilus</i>	Campos & Griffith, 1990	<i>Viapinnixa</i>	Schweitzer & Feldmann, 2001
<i>Dissodactylus</i>	Smith, 1870	<i>Viridootheres</i>	Manning, 1996
<i>Durckheimia</i>	De Man, 1889	<i>Visayeres</i>	Ahyong & Ng, 2007
<i>Enigmatheres</i>	Campos, 2009	<i>Waldootheres</i>	Manning, 1993
<i>Epulootheres</i>	Manning, 1993	<i>Xanthasia</i>	White, 1846
<i>Ernestotheres</i>	Manning, 1993	<i>Zaops</i>	Rathbun, 1900
<i>Fabia</i>	Dana, 1851	Pinnothereliinae Alcock, 1900	
<i>Gemnotheres</i>	Campos, 1996	<i>Alarconia</i>	Glassell, 1938
<i>Holotheres</i>	Ng & Manning, 2003	<i>Austinixa</i>	Heard & Manning, 1997
<i>Holothuriophilus</i>	Nauck, 1880	<i>Glassella</i>	Campos & Wicksten, 1997
<i>Hospitootheres</i>	Manning, 1993	<i>Indopinnixa</i>	Manning & Horton, 1987
<i>Juxtafabia</i>	Campos, 1993	<i>Pinnixa</i>	White, 1846
<i>Limotheres</i>	Holthuis, 1975	<i>Pinnotherelia</i>	H. Milne Edwards & Lucas, 1843
<i>Nannootheres</i>	Manning & Felder 1996	<i>Pseudopinnixa</i>	Ortmann, 1894
<i>Nepinnotheres</i>	Manning, 1993	<i>Tetrias</i>	Rathbun, 1898
<i>Opisthopus</i>	Rathbun, 1893	Non classifiés	
<i>Orthotheres</i>	Glassell, 1936	<i>Aphanodactylus</i>	Tesch, 1918
<i>Ostracotheres</i>	H. Milne Edwards, 1853	<i>Gandoa</i>	Kammerer, 2006
<i>Parapinnixa</i>	Holmes, 1894	<i>Uruma</i>	Naruse, Fujita & Ng, 2009

Pinnotheridae. Les particules filtrées sont ensuite rabattues vers la bouche. La filtration est active, due aux battements des **scaphognathites**⁴ (Figure 9), ou passive, utilisant un courant d'eau naturel ou encore générée par l'hôte, si le crabe est symbiotique (Ruppert et al 2004).

a.1 Les Pinnotheridae ou crabes « petits pois » : une famille de crabes symbiotiques

Les crustacés sont parmi les invertébrés marins les plus diversifiés et nombre d'entre eux ont développé des relations symbiotiques complexes avec d'autres macroinvertébrés (Thiel & Baeza 2001). Ces hôtes appartiennent à différents groupes taxonomiques et varient fortement au niveau écologique et biologique. Ces macroinvertébrés servent principalement de refuge contre des prédateurs, de site d'alimentation et de reproduction. L'exploitation de l'hôte se fait principalement en couple hétérosexuel, mais parfois aussi en groupe polygame ou encore en solitaire (Baeza & Thiel 2003). Chez les crustacés, les associations symbiotiques impliquant des Brachyours comme symbiote sont assez communes. Ceux-ci sont regroupés au sein de six familles: Eumedonidae, Hapalocarcinidae, Majidae, Pinnotheridae, Portunidae et Xanthidae (Gray 1961, Patton 1967, Rinkevich et al 1991, Ng & Jeng 1999). Dans la majorité des cas, l'hôte n'est utilisé que comme refuge (inquilinisme) et les symbiotes sont qualifiés de commensaux (*sensu lato*). A l'inverse des cinq autres familles, celle des Pinnotheridae semble ne comprendre que des espèces symbiotiques (Schmitt et al 1973, Telford 1982, Narvarte & Saiz 2004).

La famille Pinnotheridae (De Haan, 1833) se divise en deux sous familles comprenant 287 espèces (Pinnotherinae, De Haan, 1833 et Pinnothereliinae, Alcock, 1900). Celles-ci sont réparties, en 53 (De Grave et al 2009) ou en 49 genres (Palacios-Theil et al 2009, Tableau 4). Les trois genres principaux sont *Pinnotheres* (71 spp.), *Pinnixa* (56 spp.) et *Arcotheres* (20 spp.). Les autres **taxons**⁵ ne comprennent pas plus de dix espèces et 23 sont qualifiés de **monotypiques**⁶. Cette famille est considérée comme **polyphylétique**⁷ et a subi de nombreux ré-arrangements importants depuis la synthèse proposée par Schmitt et al en 1973 (Griffith 1987a, b, Manning & Felder 1989, Campos 1996a, b, 2006, Ng et al 2008, Palacios-Theil et al 2009). A l'exception des régions polaires, ces crabes sont présents dans l'ensemble des mers du globe. Bien que l'existence de certaines de ces espèces soit bien connue, même au sein du

⁴ **Scaphognathite** : longue lame fine issue de la fusion de l'exo- et de l'épipodite des maxilles créant un courant d'eau respiratoire chez les décapodes (Grassé 1994).

⁵ **Taxon**: groupe d'organisme de n'importe quel rang (ex: phylum, famille ou espèce, Allaby 1985).

⁶ **Monotypique**: qualifie un taxon ne présentant qu'un seul sous taxon (Allaby 1985).

⁷ **Polyphylétique**: qualifie un taxon dont les membres sont issus de plusieurs ancêtres distincts (Allaby 1985).

grand public (*Pinnotheres pisum* dans la moule), le fonctionnement de leurs symbioses reste souvent spéculatif. De nombreuses espèces sont ainsi qualifiées de commensales par manque d'information.

Les hôtes sont variés : anémones (1 sp.), brachiopodes (1 sp.), annélides (28 spp.), échiuriens (5 spp.), siponculiens (?), arthropodes (6 spp.), mollusques (201 spp.), échinodermes (36 spp.), hémichordés (1 sp.), chordés (16 spp.). Selon les espèces, les Pinnotheridae sont « endo »- ou ectosymbiotiques et le nombre de symbiotes par hôte varie selon le type d'association et le rapport de taille hôte/parasite (Christensen & McDermott 1958, Schmitt et al 1973, Bell 1988, Asama & Yamaoka 2009).



Figure 12. Différents crabes Pinnotheridae. (a) *Alain* aff. *crosnieri*, (b) *Fabia obtusidentata*, (c) *Zaops ostreum*, (d) *Pinnaxodes major*, (e) *Tetrias fischerii*, (f) *Pinnixa tubicola*, (g) *Pinnixa* sp., (Ng et al 2008)

Les membres de cette famille sont toujours petits par rapport aux autres Brachyours avec une largeur de céphalothorax ne dépassant pas, chez les adultes, le centimètre (Ruppert et al 2004). Les Pinnotheridae sont souvent affublés du sobriquet « crabe petit pois » ou « pea crab » en anglais. Ceci est dû à leur petite taille et à la forme arrondie de leur carapace. Notons que la forme arrondie du céphalothorax qui leur a valu ce nom n'est pas une règle générale dans cette famille (Figure 12). En effet, le mode de vie d'un crabe influence considérablement sa morphologie. Les espèces « endosymbiotiques » peuvent, au stade adulte, présenter une cuticule molle (non-calcifiée) permanente (femelle) ou temporaire

(mâle), comme c'est le cas chez *Zaops ostreum*, *P. pisum* ou encore *Pinnixa chaetoptera* (Pearse 1913, Atkins 1926, Christensen & McDermott 1958, Huard & Demeusy 1968). Quant aux espèces ectoparasites, elles présentent une cuticule bien calcifiée et, dans certains cas, des dactyles bifides (*Dissodactylus mellitae*) améliorant l'accrochage à l'hôte (Bell 1984). La forme de la carapace dépend de la nature de l'hôte. Les espèces associées aux bivalves ont une forme globulaire (*Z. ostreum*, Figure 12.c) et les espèces associées aux polychètes, une carapace aplatie antéro-postérieurement (*Pinnixa* sp., Figure 12.f et 12.g, Pearce 1962).

En général, ces crabes sont microphages et se nourrissent du mucus produit par l'hôte comme c'est le cas chez de nombreuses espèces associées aux bivalves, aux polyplacophores et aux holothuries (Takeda et al 1997). Les espèces suspensivores peuvent utiliser le courant respiratoire entretenu par leur hôte et récupérer des particules alimentaires et des microorganismes (Ruppert et al 2004). Par contre, les espèces du complexe *Dissodactylus* (incluant le genre *Dissodactylus* et *Clypeasterophilus*) qui sont des ectosymbiotes d'oursins irréguliers, se nourrissent directement des tissus de leur hôte et pourraient être qualifiés de parasites plutôt que de commensaux (Telford 1982).

Tableau 5. Nombre maximal d'œufs produits lors d'une ponte chez différentes espèces de Brachyourses

Espèces	Nombre d'œufs	Références
<i>Callinectes sapidus</i>	4.500.000	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Portunus sanguinolentus</i>	2.250.000	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Callinectes danae</i>	2.190.000	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Portunus pelagicus</i>	1.312.238	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Portunus spinimanus</i>	682.992	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Ovalipes punctatus</i>	500.000	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Macropipus puber</i>	448.786	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Callinectes ornatus</i>	379.815	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Ovalipes ocellatus</i>	345.958	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Liocarcinus depurator</i>	240.000	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Portunus gibbesii</i>	206.644	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Scylla serrata</i>	200.000	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Portunus spinicarpus</i>	75.115	Mantelatto & Fransozo 1997
<i>Portunus ordwayi</i>	59.014	Mantelatto & Fransozo 1997
Pinnotheridae		
<i>Pinnotheres ostreum</i>	8000 à 9500	Christensen & McDermott 1958
<i>Pinnixa chaetoptera</i>	1191-8826	Grove & Woodin 1996
<i>Pinnotheres pisum</i>	5800	Christensen & McDermott 1958
<i>Dissodactylus primitivus</i>	274	Telford 1978a
<i>Dissodactylus crinitichelis</i>	259	Telford 1978a
<i>Dissodactylus mellitae</i>	206	Bell & Stancyk 1983

Tableau 6. Investissement dans la production d'œufs chez les Brachyours. Le pourcentage d'investissement est le rapport du poids sec des œufs sur celui des femelles (Hartnoll 2006)

Espèces	Investissement/ cuvée	Couvées/année	Investissement/ année
Espèces libres			
Canceridae			
<i>Cancer antennarius</i> Stimpson	12,8	1,5	19,2
<i>Cancer anthonyi</i> Rathbun	14,7	2	29,4
<i>Cancer borealis</i> Stimpson	11,1	1	11,1
<i>Cancer gracilis</i> Dana	16,1	1,5	24,2
<i>Cancer irroratus</i> Say	10,8	1	10,8
<i>Cancer magister</i> Dana	16,8	1	16,8
<i>Cancer oregonensis</i> (Dana)	17,5	1	17,5
<i>Cancer pagurus</i> L.	13,4	1	13,4
<i>Cancer productus</i> Randall	18,8	1	18,8
Portunidae			
<i>Callinectes sapidus</i> Rathbun	17,6	1,5	26,4
<i>Ovalipes ocellatus</i> (Herbst)	11,4	1,5	17,1
<i>Portunus spinicarpus</i> (Stimpson)	3,2	2	6,4
Xanthidae			
<i>Eurypanopeus depressus</i> (Smith)	4,4	2	8
<i>Lophopanopeus leucomanus</i> (Lockington)	9,9	2	19,8
<i>Menippe nodifrons</i> Stimpson	5,1	2	10,2
<i>Neopanope sayi</i> (Smith)	12,2	1,5	18,3
<i>Panopeus herbstii</i> H. Milne Edwards	6,1	1	6,1
<i>Rhithropanopeus harrisi</i> (Gould)	13,3	3	40
Geryonidae			
<i>Chaceon fenneri</i> (Manning & Holthuis)	16	1	16
<i>Chaceon quinquedens</i> (Smith)	21	1	21
Grapsidae			
<i>Hemigrapsus nudus</i> (Dana)	13	1	13
<i>Hemigrapsus oregonensis</i> (Dana)	12,5	2	25
<i>Metopograpsus messor</i> (Forska • l)	11,7	14	163,8
<i>Pachygrapsus crassipes</i> Randall	7,8	2	15,5
<i>Sesarma ortmanni</i> Crosnier	21	12	252
<i>Sesarma guttatum</i> A. Milne Edwards	7,6	10	76
<i>Sesarma reticulata</i> (Say)	7,5	2,5	19,8
Ocypodidae			
<i>Uca minax</i> (Le Conte)	7	2	14
<i>Uca pugnax</i> (Smith)	9,5	2	19
Majidae			
<i>Hyas coarctatus</i> Leach	9,6	1	9,6
<i>Inachus dorsettensis</i> (Pennant)	8,9	3,5	31,2
<i>Libinia emarginata</i> Leach	4,7	3,5	16,4
<i>Loxorhynchus crispatus</i> Stimpson	8,7	3,5	30,6
<i>Loxorhynchus grandis</i> Stimpson	5,2	3,5	15,5
<i>Mimulus foliatus</i> Stimpson	5,1	6	30,5
<i>Pugettia producta</i> (Randall)	8,1	7,5	60,7
<i>Pugettia richii</i> Dana	8,1	8	64,4
<i>Scyra acutifrons</i> Dana	5,6	7	39,3
Espèces symbiotiques			
Pinnotheridae			
<i>Fabia subquadrata</i> Dana	96,7	1,5	145,1
<i>Pinnotheres ostreum</i> Say	66,2	1,5	99,3
Cryptochiridae			
<i>Hapalocarcinus marsupialis</i> Stimpson	59	8	472

La distribution mondiale de cette famille rend impossible la généralisation des périodes de pontes et de reproduction. Les espèces de régions tempérées se reproduisent préférentiellement durant les périodes plus chaudes (Huard & Demeusy 1968, Bell 1988, Hsueh 2003, Asama & Yamaoka 2009), alors qu'en régions tropicales et subtropicales, elles présentent une reproduction permanente avec néanmoins des augmentations de la production de larves à certaines périodes de l'année (Koettker & Freire 2006). Chez les Pinnotheridae, le nombre d'œufs / ponte est considérablement réduit par rapport aux Brachyours « libres » (Tableau 5). Néanmoins, l'investissement par ponte et annuel serait plus important chez les espèces symbiotiques (Tableau 6). Cette différence s'expliquerait, en partie, par la taille des crabes qui appartiennent aux plus petites espèces de Brachyours (Tableau 7) et par l'espace limité de la chambre incubatrice chez les femelles (Bell & Stancyk 1983). Cependant, les espèces associées aux bivalves présentent une cuticule souple (non calcifiée) permettant à l'abdomen de se distendre et d'augmenter sa capacité incubatrice. Le nombre de stades zoés (trois à cinq), la durée moyenne de cette vie larvaire (incluant la mégaloïde) et la durée moyenne du développement larvaire (40 ± 6 jours) sont voisins de ce qui est observé chez les Brachyours « libres » (Tableau 6, Bolaños et al 2004).

Tableau 7. Aspect du développement et des stades larvaires de sept familles de crabes (Hines 1986). Les dimensions sont exprimées en mm et les durées en jours. * longueur de la carapace ; ** largeur de la carapace

	Pinnotheridae	Grapsidae	Majidae	Ocypodidae	Cancridae	Portunidae	Xanthidae
Taille des adultes	16 ± 3	27 ± 4	51 ± 7	27 ± 3	139 ± 21	85 ± 14	34 ± 7
Temps d'incubation	61 ± 7	51 ± 7	64 ± 21	20 ± 6	118 ± 27	19 ± 7	27 ± 11
Diamètre des œufs	0,34 ± 0,01	0,45 ± 0,08	0,55 ± 0,02	0,43 ± 0,14	0,40 ± 0,03	0,31 ± 0,01	0,36 ± 0,02
Taille zoé 1 *	0,53 ± 0,08	0,54 ± 0,05	0,90 ± 0,03	0,52 ± 0,09	0,55 ± 0,05	0,47 ± 0,02	0,55 ± 0,04
Taille de N zoés *	0,75 ± 0,05	1,25 ± 0,14	1,08 ± 0,04	1,11 ± 0,23	1,52 ± 0,19	1,25 ± 0,10	1,17 ± 0,13
Nombre moyen de zoés	3,5 ± 0,5	4,5 ± 0,1	2 ± 0	5 ± 0	5 ± 0	5,4 ± 0,3	4,2 ± 0,1
Taille mégaloïde **	0,79 ± 0,14	1,22 ± 0,12	1,06 ± 0,06	2,05 ± 0,50	1,67 ± 0,32	1,35 ± 0,11	1,07 ± 0,07
Taille premier crabe **	0,81 ± 0,12	1,73 ± 0,17	1,50 ± 0,17	1,33 ± 0,10	3,68 ± 0,91	2,89 ± 0,64	1,28 ± 0,08
Durée zoés	22 ± 1	31 ± 7	18 ± 3	17 ± 10	44 ± 10	27 ± 4	19 ± 2
Durée larvaire totale	40 ± 6	39 ± 8	30 ± 4	29 ± 16	65 ± 11	45 ± 7	31 ± 3

Tableau 8. Espèces formant le complexe *Dissodactylus* et leurs hôtes respectifs

Complexe <i>Dissodactylus</i>	Hôte(s)	Références
<i>Dissodactylus</i> Smith, 1870		
= <i>Echinophilus</i> Rathbun, 1900 ;		
= <i>Dissodactylozoa</i> Aikawa, 1933		
<i>Dissodactylus crinitichelis</i> Moreira, 1901 (= <i>Dissodactylus encopei</i> Rathbun, 1901)	<i>Clypeaster subdepressus</i> , <i>Encope michelini</i> , <i>E. emarginata</i> , <i>Leodia sexiesperforata</i>	Griffith 1987a
<i>Dissodactylus glasselli</i> Rioja, 1944	<i>Mellita longifissa</i> , <i>M. kanakoffi</i> , <i>M. granti</i> , <i>Encope wetmorei</i> , <i>E. micropora</i>	Griffith 1987a, Pohle & Marques 1995, Campos et al 2009
<i>Dissodactylus latus</i> Griffith, 1987	<i>Clypeaster subdepressus</i> , <i>Encope michelini</i> , <i>Leodia sexiesperforata</i>	Griffith 1987a
<i>Dissodactylus lockingtoni</i> Glassell, 1935 (= <i>Dissodactylus smithi</i> Rioja, 1944)	<i>Mellita longifissa</i> , <i>M. kanakoffi</i> , <i>M. granti</i> , <i>Encope grandis</i> , <i>E. micropora</i> , <i>E. californica</i>	Griffith 1987a, Campos et al 1992, Pohle 1994, Pohle & Marques 1995, Campos et al 2009
<i>Dissodactylus mellitae</i> (Rathbun, 1900)	<i>Clypeaster subdepressus</i> , <i>Encope michelini</i> , <i>Mellita quinquiesperforata</i> , <i>M. tenuis</i> , <i>M. isometra</i> , <i>Echinarachnius parma</i>	Griffith 1987a, Pohle & Marques 1995, George & Boone 2003
<i>Dissodactylus nitidus</i> Smith, 1870 (= <i>Dissodactylus meyerabichi</i> Bott, 1955)	<i>Encope micropora</i> , <i>E. grandis</i> , <i>E. stokesi</i> , <i>E. californica</i> , <i>Mellita longifissa</i>	Griffith 1987a, Dexter 1977, Campos et al 2009
<i>Dissodactylus primitivus</i> Bouvier, 1917 (= <i>Dissodactylus borradailei</i> Rathbun, 1918)	<i>Meoma ventricosa</i> , <i>Plagiobrissus grandis</i>	Griffith 1987a, Telford 1982
<i>Dissodactylus schmitti</i> Griffith, 1987	Inconnu (<i>Meoma</i> sp. ou autre spatangidé)	Griffith 1987a
<i>Dissodactylus xantusi</i> Glassell, 1936	<i>Mellita longifissa</i> , <i>Encope stokesi</i> , <i>E. grandis</i> , <i>E. micropora</i>	Griffith 1987a, Pohle 1994, Campos et al 2009
? <i>Dissodactylus pelagicus</i> (Aikawa, 1933) [<i>Dissodactylozoa</i>]	Inconnu	Schmitt et al 1973, Ng et al 2008
? <i>Dissodactylus pinna</i> (Aikawa, 1933) [<i>Dissodactylozoa</i>]	Inconnu	Schmitt et al 1973, Ng et al 2008
? <i>Dissodactylus singularis</i> (Aikawa, 1933) [<i>Dissodactylozoa</i>]	Inconnu	Schmitt et al 1973, Ng et al 2008
? <i>Dissodactylus speciosus</i> (Aikawa, 1933) [<i>Dissodactylozoa</i>]	Inconnu	Schmitt et al 1973, Ng et al 2008
? <i>Dissodactylus tokyoensis</i> (Aikawa, 1933) [<i>Dissodactylozoa</i>]	Inconnu	Schmitt et al 1973, Ng et al 2008
? <i>Dissodactylus unicornis</i> (Aikawa, 1933) [<i>Dissodactylozoa</i>]	Inconnu	Schmitt et al 1973, Ng et al 2008
<i>Clypeasterophilus</i> Campos & Griffith, 1990		
<i>Clypeasterophilus juvenilis</i> (Bouvier, 1917) (= <i>Dissodactylus alcocki</i> Rathbun, 1918)	<i>Clypeaster subdepressus</i>	Griffith 1987a
<i>Clypeasterophilus rugatus</i> (Bouvier, 1917) (= <i>Dissodactylus calmani</i> Rathbun, 1918)	<i>Clypeaster rosaceus</i>	Griffith 1987a
<i>Clypeasterophilus stebbingi</i> (Rathbun, 1918)	<i>Clypeaster subdepressus</i>	Griffith 1987a
<i>Clypeasterophilus ususfructus</i> (Griffith, 1987)	? <i>Clypeaster europacificus</i> , <i>C. speciosus</i>	Griffith 1987a, Hendrickx 1990

a.2 Le complexe *Dissodactylus* et l'espèce *Dissodactylus primitivus*

Le complexe *Dissodactylus* rassemble des crabes étroitement liés phylogénétiquement et partageant des caractéristiques comportementales et biogéographiques (Figure 13).

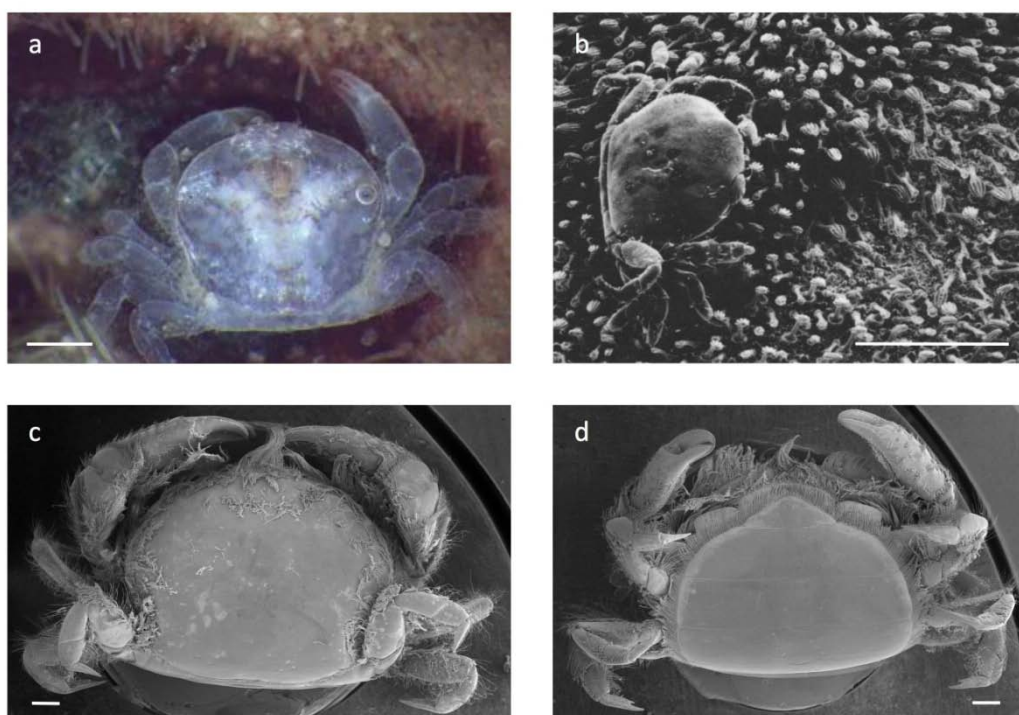


Figure 13. Crabes du complexe *Dissodactylus*. (a) *Dissodactylus lockingtoni* (Campos et al 2009), (b) *Dissodactylus crinitichelis* (Telford 1982), (c) et (d) *Dissodactylus primitivus*, barre d'échelle 1 mm

Actuellement, ce complexe comprend 13 espèces réparties en deux genres: *Dissodactylus* (neuf espèces) et *Clypeasterophilus* (quatre espèces) (Griffith 1987a, b ; Campos & Griffith 1990). En outre, six espèces de l'océan Pacifique (*Dissodactylozoa*) pourraient rejoindre le genre *Dissodactylus* (Tableau 8), mais cette hypothèse ne se base que sur la description de larves dont l'appartenance au taxon doit encore être vérifiée (Schmitt et al 1973, Ng et al 2008). Nous rassemblons ces deux genres en un complexe à cause du manque de cohérence des différentes études phylogénétiques actuelles (Figure 14 a et b morphologiques, c moléculaires) (Griffith 1987b, Marques & Pohle 1995, Palacios-Theil et al 2009).

Les espèces du complexe *Dissodactylus* sont réparties de part et d'autre de l'isthme de Panama. Six espèces sont localisées dans le Pacifique Est (depuis la Baie de Californie jusqu'au Nord du Pérou) ; les sept autres étant distribuées dans l'Atlantique Ouest, de l'état du Massachusetts jusqu'au Brésil (Pohle 1984). Les deux genres *Dissodactylus* et *Clypeasterophilus* comptent des espèces des deux côtés de l'isthme. Selon Griffith (1987b), la

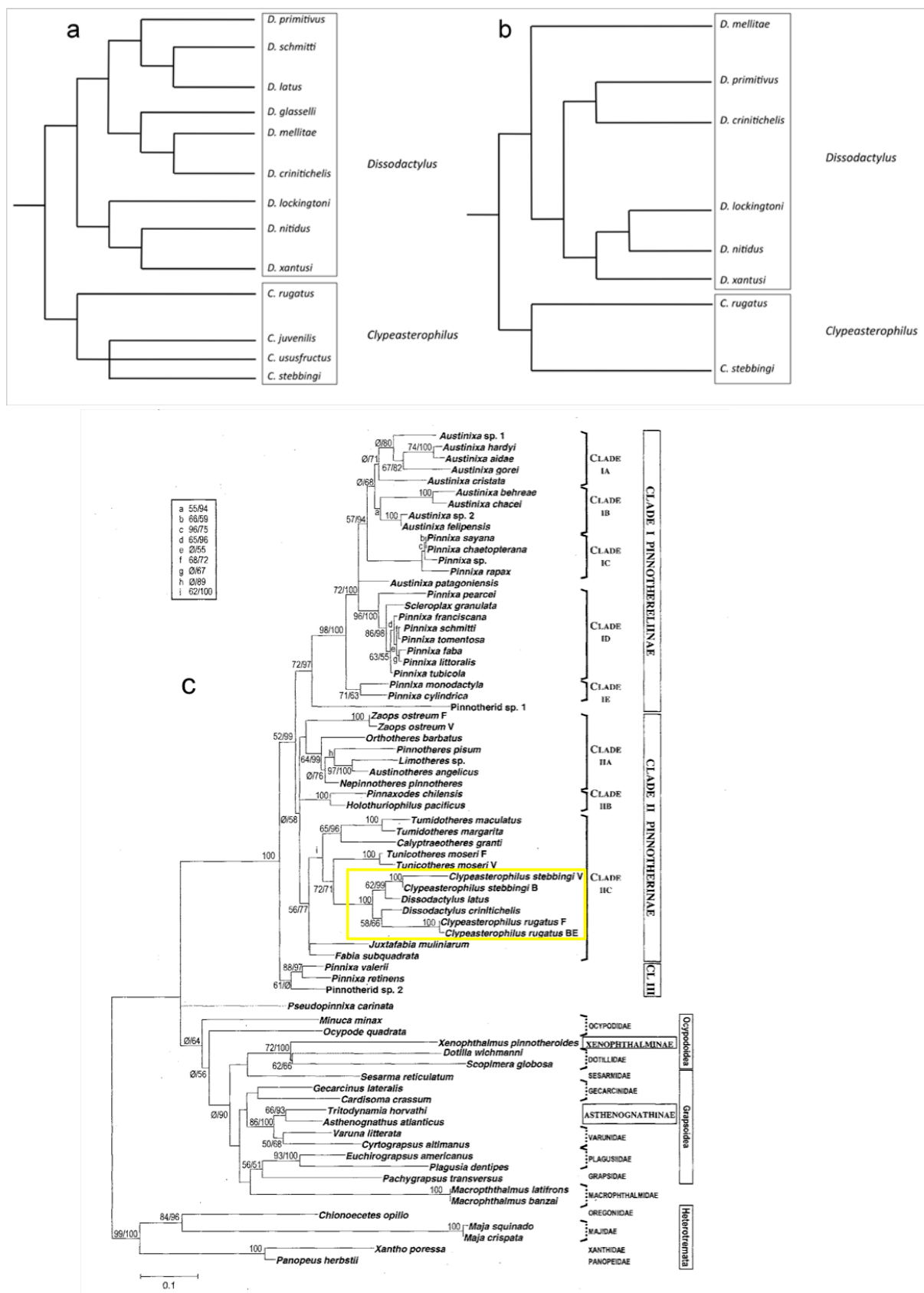


Figure 14. (a) Hypothèse phylogénétique proposée sur base de plusieurs caractères morphologiques de crabes adultes (d'après Griffith 1987b); (b) Cladogramme proposé sur base des caractères morphologiques combinés de crabes adultes et juvéniles (d'après Marques & Pohle 1995); (c) Phylogénie partielle de la famille des Pinnotheridae sur base d'ARN mitochondrial (Palacios-Theil et al 2009)

majorité des espèces seraient apparues avant le contact entre les deux Amériques. Il existe cependant des espèces soeurs situées l'une dans le Pacifique et l'autre, dans l'Atlantique dont l'évolution résulte d'un processus de **vicariance**⁸ lié à la mise en place de l'isthme de Panama : *Dissodactylus mellitae* (Atlantique) - *Dissodactylus glasselli* (Pacifique) et *Dissodactylus primitivus* (Atlantique) - *Dissodactylus schmitti* (Pacifique) (Griffith 1987b).

Le complexe *Dissodactylus* compte exclusivement des espèces symbiotiques d'échinides irréguliers. Ce sont en outre les seules espèces de Pinnotheridae symbiotiques d'échinides irréguliers. Les hôtes concernés sont en majorité des clypéastéroïdes appartenant à la famille des Mellitidae (cas de sept espèces de *Dissodactylus*) ou à celle des Clypeasteridae, et plus particulièrement au genre *Clypeaster* (cas des quatre espèces de *Clypeasterophilus*). Les crabes présentent des adaptations morphologiques (Figure 15) liées à leur mode de vie symbiotique et plus particulièrement à « l'habitat épineux » que constitue l'oursin. Ces adaptations concernent les dactyles (Figure 15b), les chélipèdes (Figure 15a) et le céphalothorax. Les dactyles sont bifides, ce qui facilite l'accrochage aux piquants (Bell 1984). Les chélipèdes sont à la fois coupants et broyeurs, capables de sectionner net et de broyer les piquants (Telford 1982). Le céphalothorax est convexe et lisse, ce qui facilite le déplacement entre les piquants de l'hôte (Telford 1978a). Il est en outre particulièrement solide, ce qui lui permet de résister à l'abrasion due au sédiment et aux piquants (Bell & Stancyk 1983).

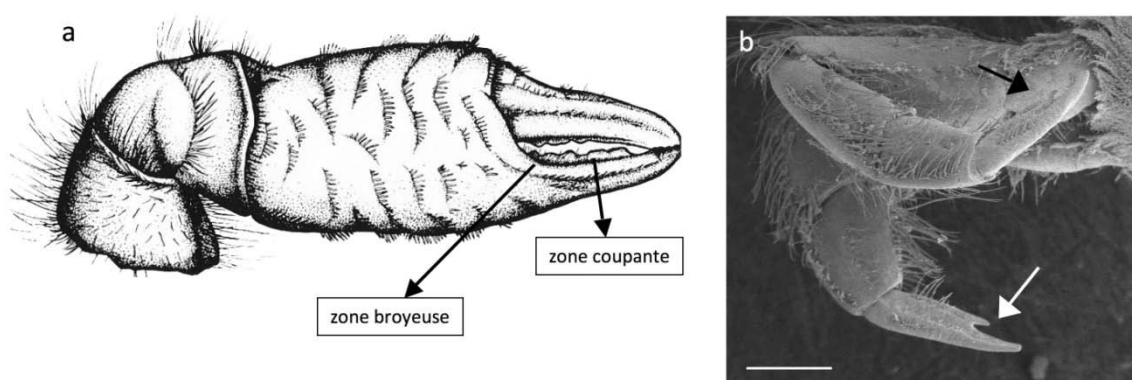


Figure 15. Exemples de deux adaptations morphologiques au sein du complexe *Dissodactylus*. (a) pince du crabe *Dissodactylus primitivus*, elle combine une zone broyeuse et coupante (d'après Telford 1982). (b) Dactyles bifides, barre d'échelle 1 mm

⁸ **Vicariance:** scission de l'aire de répartition d'un taxon (Ridley 1997).

La fécondité au sein du complexe *Dissodactylus* est nettement plus faible que chez les autres Pinnotheridae (Tableau 5). Le développement larvaire a été étudié chez 8 des 13 espèces du complexe *Dissodactylus* (Marques & Pohle 1996). Le nombre de stades zoés diffère selon l'espèce et la localisation géographique. Ainsi, les espèces du Pacifique passent par quatre stades zoés et celles de l'Atlantique par trois, à l'exception de *Clypeasterophilus stebbingi* qui présente quatre larves zoés (Marques & Pohle 1996). La métamorphose du stade mégalope en jeune crabe est induite par la présence de l'oursin. La colonisation de l'hôte se ferait donc à ce dernier stade larvaire. Seule l'espèce *D. primitivus* est capable, dans certaines conditions, de se métamorphoser en jeune crabe et de continuer son développement en absence d'hôte (Marques & Pohle 1995).

Le détail des mécanismes alimentaires n'est pas bien connu pour les membres de ce complexe (Telford 1982). Comme d'autres espèces Pinnotheridae, ces crabes pourraient combiner la suspensivorie à d'autres mécanismes adaptés à la nature de l'hôte (Takeda et al 1997). Certaines espèces sont coprophages, comme *Dissodactylus lockingtoni* qui se nourrit des fèces de son hôte (Telford 1982). D'autres prélèvent les tissus ou les appendices de l'hôte au moyen de leurs chélicères; ils se nourrissent des podions, des pédicellaires, des piquants et du tégument (*Dissodactylus calmani*, *D. crinitichelis*, *D. mellitae*, *D. primitivus* et *D. nitidus*), et pourraient donc s'apparenter plus à des parasites qu'à des commensaux (Telford 1982). Parmi les *Dissodactylus*, l'espèce *D. primitivus* est la seule à être associée à des spatangoïdes et plus particulièrement à deux espèces, *Meoma ventricosa* et *Plagiobrissus grandis* (Telford 1978b, Telford 1982).

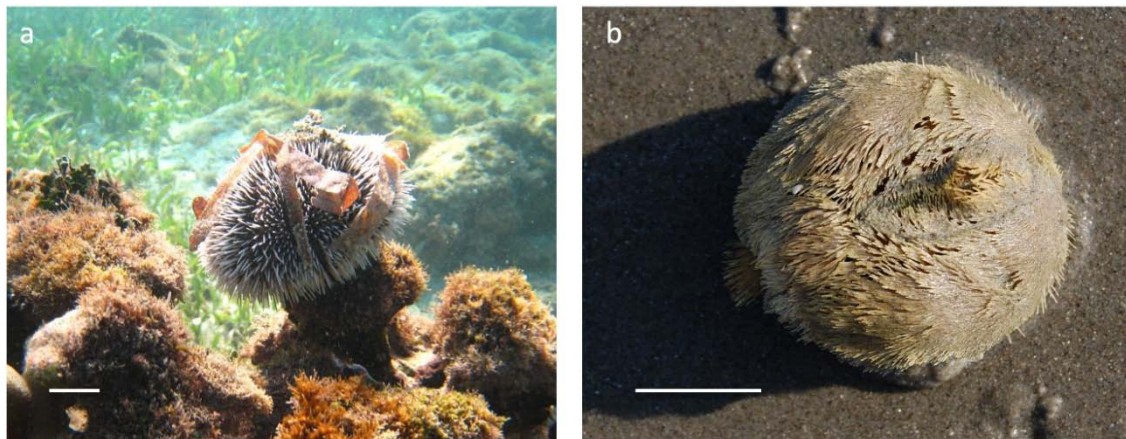


Figure 16. (a) Oursin régulier *Tripneustes ventricosus* (De Ridder C), (b) oursin irrégulier *Echinocardium cordatum*, barre d'échelle 30 mm

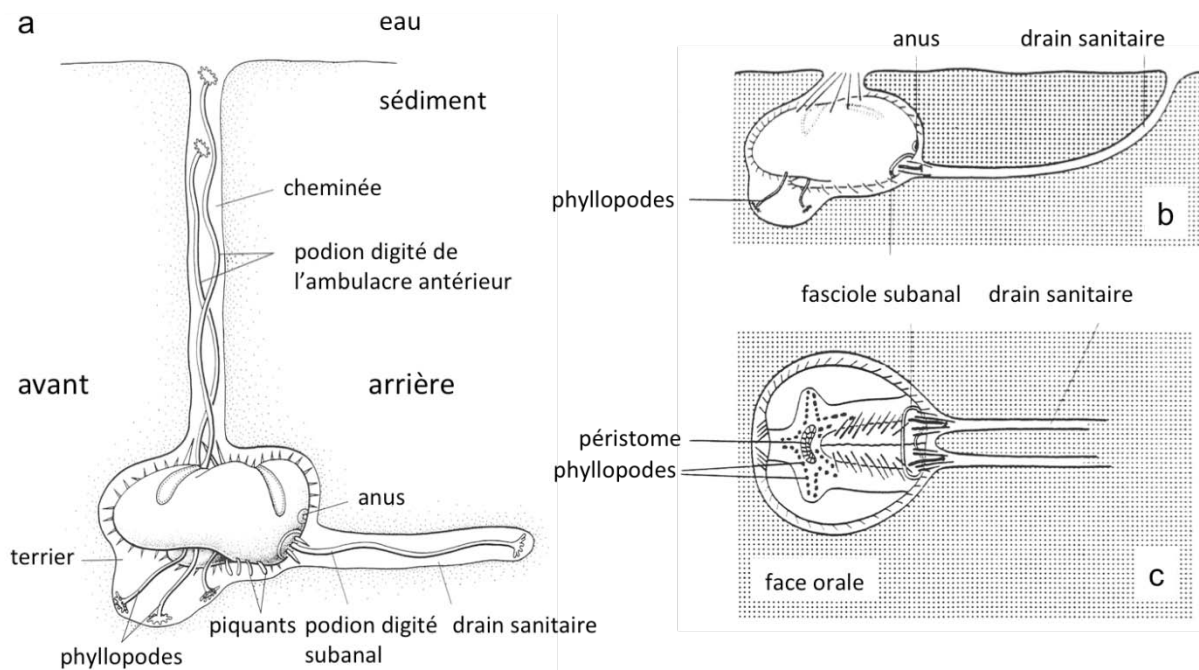


Figure 18. Modes d'enfouissement chez les spatangoïdes. (a) terrier permanent, *Moira atropos* (d'après Ruppert et al 2004); (b) et (c) terrier temporaire, *Spatangus purpureus* (d'après Nichols 1959)

b. Les hôtes : les spatangues *Meoma ventricosa* et *Plagiobrissus grandis*

Les échinides irréguliers diffèrent des échinides réguliers par leur morphologie et leur mode de vie (Figures 16, 17, 18). Ils ont acquis au cours de l'évolution une symétrie bilatérale (surimposée à la symétrie radiaire caractéristique des échinodermes) suite à la migration du périprocte hors de l'appareil apical, puis le long de l'interambulacre 5 (Figure 17).

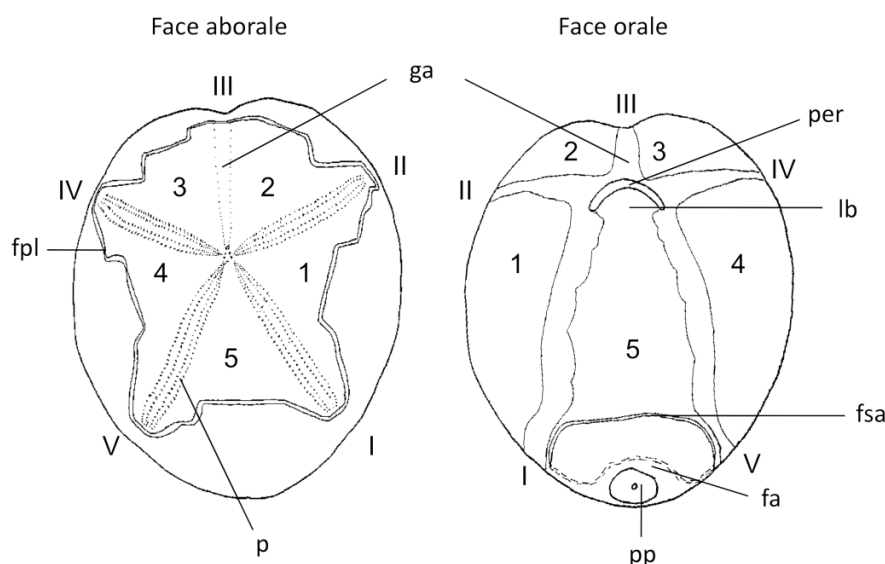


Figure 17. Oursin irrégulier spatangue *Meoma ventricosa* en vue aborale et orale (d'après Chesher 1969). Les chiffres romains correspondent aux ambulacres et les chiffres arabes aux inter-ambulacres. **Fpl**: fasciole péripétale; **p**: pétaloïde; **ga**: gouttière ambulacraire antérieure; **per**: péristome; **lb**: labre; **fsa**: fasciole subanal; **fa**: fasciole anal; **pp**: périprocte

L'anus des échinides irréguliers occupe le plus souvent une position ambitale (latérale) ou est localisé sur la face orale. Cette migration détermine une extrémité antérieure (l'ambulacre III) et une extrémité postérieure (l'interambulacre 5), ainsi qu'un sens préférentiel de déplacement, l'ambulacre III vers l'avant. Par contre, les échinides réguliers se déplacent en présentant n'importe lequel de leurs ambulacres ou interambulacres en première position. Une des caractéristiques remarquables des échinides irréguliers est la spécialisation morphofonctionnelle de leurs appendices (piquants et podions) en fonction de leur localisation sur le corps. Certains participent à la locomotion, d'autres à l'enfouissement, d'autres encore à la nutrition ou à la respiration. Les échinides irréguliers sont tous inféodés aux substrats meubles et sont des fouisseurs ou des laboureurs, membres de l'endofaune ou de l'épifaune des habitats sableux à vaseux (De Ridder 1986).

Les spatangoïdes ont un corps de forme ovoïde (Figures 16, 17); leur face aborale est convexe et leur face orale, plane. Les piquants sont souvent longs et de morphologie très variée en

fonction de leur localisation sur le corps (Smith 1980). Ils vivent enfouis dans les sédiments et certains construisent un terrier (Figure 18a). Notons que la profondeur d'enfouissement varient selon les espèces (Figure 18, Nichols 1959, Smith 1980). Ces échinides font partie des Atelostomata, c'est-à-dire des échinides dépourvus de lanterne d'Aristote. Ils s'alimentent en ingérant massivement des sédiments dont ils exploitent la fraction organique (De Ridder et al 1985). Des podions péribuccaux digités (les phyllopoques) prélèvent les sédiments situés face à la bouche. L'animal génère un courant d'eau à la surface de son corps, courant dont le rôle majeur est respiratoire (Figure 19). Le courant est créé par la ciliature des clavules (piquants à la fois glandulaires et ciliés), groupés en bandes étroites (les fascioles), et dont les tracés occupent des régions apicales, ambiales ou postérieures du corps de l'oursin. L'eau circule de la surface des sédiments vers l'oursin en empruntant la cheminée respiratoire, chez les échinides formant un terrier, ou en percolant entre les grains de sable, chez les autres (Figure 18). Les courants sont centrifuges sur la face aborale ; là ils circulent plus particulièrement le long des ambulacres latéraux (antérieurs et postérieurs) qui abritent les podions respiratoires. Sur la face orale, les courants sont pour partie centripètes et pour l'autre dirigés postérieurement (Figure 19). Nichols (1959) et Chesher (1963) suggèrent que ces courants ont un rôle alimentaire, en convoyant des particules alimentaires vers la bouche.

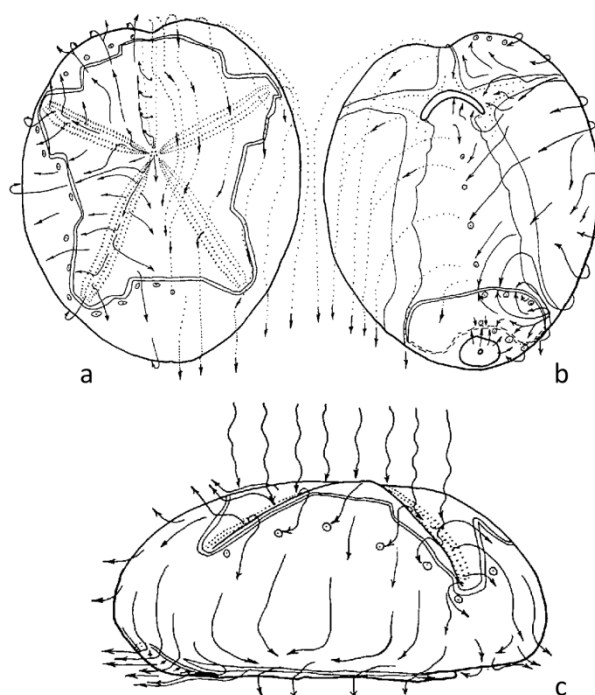


Figure 19. Mouvements de l'eau (flèches pleines) et des particules (flèches pointillées) dans le sédiment et à la surface du corps de *Meoma ventricosa*. Les cercles avec un point indiquent les zones où les courants d'eau quittent la surface de l'oursin. (a) face aborale, (b) face orale et (c) vue latérale (Chesher 1969)

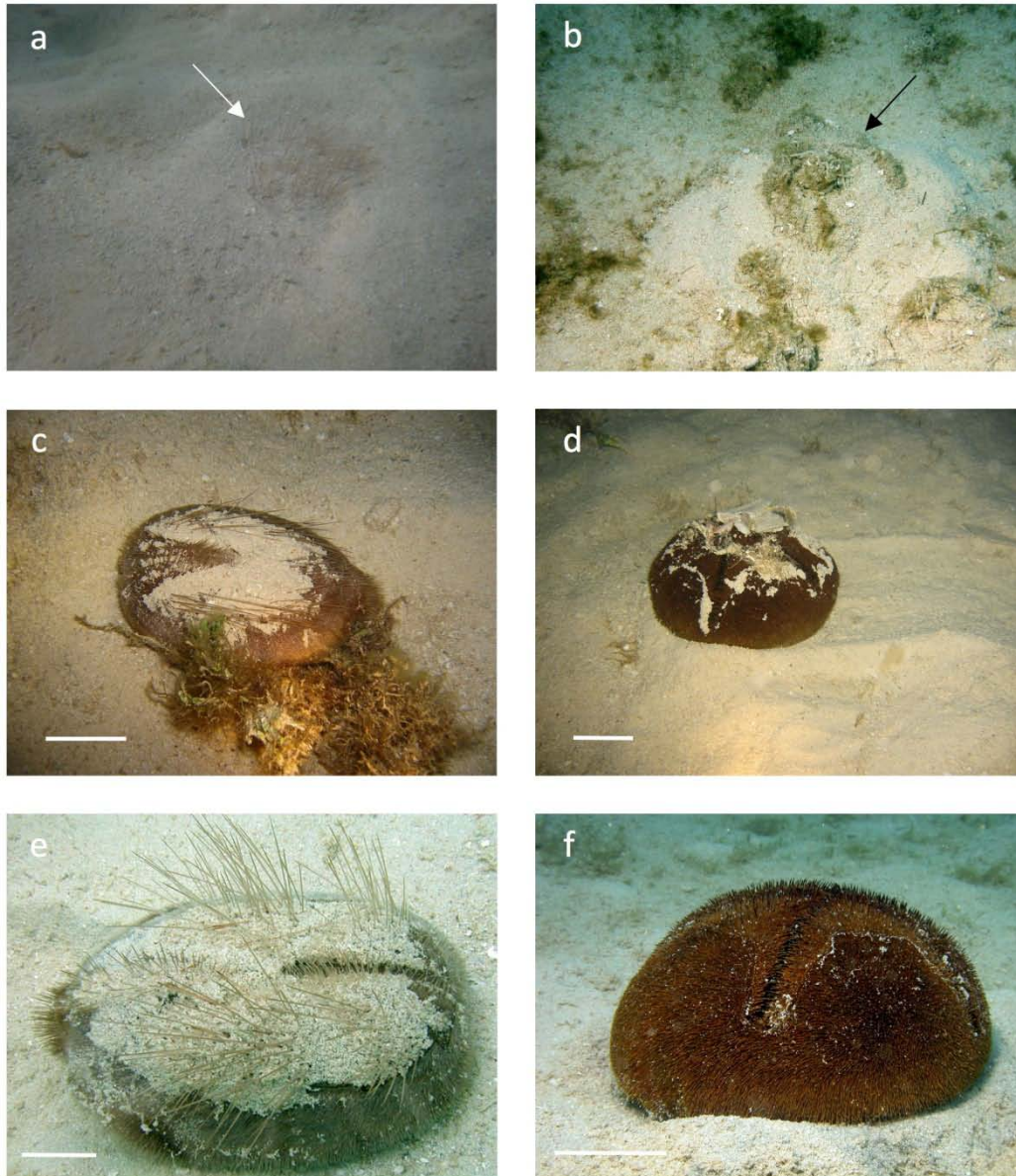


Figure 20. (a) *Plagiobrissus grandis* (ses piquants sont hérissés quand il est dérangé) et (b) *Meoma ventricosa* enfouis dans le sédiment la journée. (c) *P. grandis* et (d) *M. ventricosa* se déplaçant la nuit à la surface du sédiment. (e) *P. grandis* et (f) *M. ventricosa* (De Ridder C, Motreuil S, Willenz Ph), barre d'échelle 50 mm

c. La symbiose *Dissodactylus primitivus*-*Meoma ventricosa*-*Plagiobrissus grandis*

Le crabe *Dissodactylus primitivus* vit en association symbiotique avec deux espèces sympatriques d'oursins de la famille des Brissidae, *Meoma ventricosa* et *Plagiobrissus grandis* (Griffith 1987a, Telford 1982, Figure 20). Ces deux oursins sont de grande taille et peuvent atteindre une vingtaine de centimètres de long. Contrairement à *M. ventricosa*, *P. grandis* est rare et mal connu (Kier & Grant 1965, Chesher 1969). Ces deux espèces vivent enfouies sous un à deux centimètres de sédiment durant la journée (Figure 20a, b) et sont épibenthiques la nuit (Figure 20c, d). *Meoma ventricosa* sort du sédiment à la tombée de la nuit et se déplace en surface jusqu'au petit matin alors que *P. grandis* n'émerge que durant de brèves périodes de l'ordre de la dizaine de minutes. *Meoma ventricosa* se déplace lentement alors que *P. grandis* est beaucoup plus actif, mais sur de plus courtes périodes (Kier & Grant 1965). Les aires de distribution des hôtes et de leur symbiote coïncident : il s'agit d'espèces tropicales limitées à l'Arc antillais et aux côtes américaines (du Golfe de Floride au Honduras) (Bouvier 1917, Kier & Grant 1965, Pohle & Telford 1983). Ces deux espèces d'oursins vivent dans des zones de sable corallien fin à grossier bordées d'herbiers du genre *Thalassia* et de récifs coralliens (Figure 21, Kier & Grant 1965).



Figure 21. Environnement composé de zones sableuses bordées d'herbiers où vivent *Meoma ventricosa* et *Plagiobrissus grandis* dans le lagon de Discovery Bay à la Jamaïque (De Ridder C)

La symbiose est présentée comme une parasitose depuis les observations de Telford (1982), qui a relevé que le crabe s'attaquait aux piquants et aux appendices de l'hôte (pédicellaires et podions) au moyen de ses chélicèdes (Figure 22). Ce comportement alimentaire occasionne des lésions visibles à la surface des hôtes et pourrait affecter la fitness de l'oursin. Cet auteur note cependant qu'une partie (40-50 %) de la nourriture de *D. primitivus* est composée de diatomées et de foraminifères. Ceci indique que le crabe pourrait aussi pratiquer la suspensivorie.

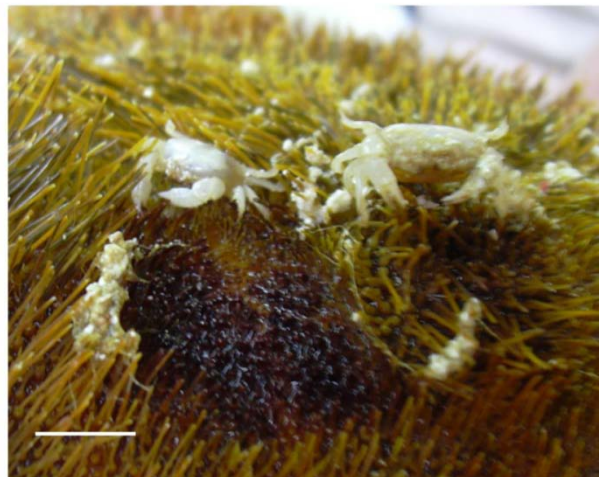


Figure 22. Crabes (*Dissodactylus primitivus*) en train de s'alimenter sur *Meoma ventricosa*

BUTS DU TRAVAIL

Buts du travail

Au début de ce travail, seuls quelques traits du régime alimentaire de *Dissodactylus primitivus* étaient connus. Dès lors, le fonctionnement et la biologie de sa symbiose restaient à décrire, notamment pour comprendre les stratégies d'exploitation de cet ectosymbiote à hôtes multiples, connaître ses modalités de monopolisation ou de changement d'hôte et ainsi contribuer à valider ou contredire le modèle de Baeza et Thiel (2007). Plusieurs points requéraient des éclairages supplémentaires.

Au sein du complexe *Dissodactylus*, il apparaît que certaines espèces sont capables de changer d'hôte au stade adulte (Telford 1978b, Bell 1984, Reeves & Brooks 2001). Ce comportement est connu chez certains parasites, mais reste mal connu chez les crustacés parasites (Harbison et al 2009, Johnson et al 2009) alors qu'il influence considérablement les relations du parasite avec son hôte et des parasites entre eux. La mobilité chez *D. primitivus* a été suggérée, mais non démontrée.

Dissodactylus primitivus parasite deux espèces hôtes sympatriques, qui présentent des morphologies et des comportements assez différents. La position et le rôle joué par chacun des hôtes dans le cycle du crabe restent inconnus.

C'est dans ce contexte que s'inscrivent les cinq objectifs principaux de ce travail:

Le premier est de mieux connaître la biologie de l'association, en particulier la distribution du crabe au sein de la population de l'hôte *Meoma ventricosa*, l'impact du crabe sur la fitness de l'hôte afin de déterminer sa nature parasitaire, et enfin savoir si *D. primitivus* pratique le changement d'hôte. (Chapitre 1).

Le crabe colonise deux espèces d'hôtes sympatriques. Le rôle joué par chacune d'entre elles dans le cycle du crabe a été estimé au moyen de la comparaison des distributions du symbiote et de sa fitness entre les espèces hôtes. Des expériences de choix en aquarium ont également été menées afin de savoir si *D. primitivus* était attiré de manière équivalente par ses deux hôtes. (Chapitre 2).

Les expériences menées en (b) ont montré que le crabe exploite asymétriquement ses deux hôtes. Plusieurs séries d'expériences de chimiotactisme du crabe vis-à-vis de ses hôtes ont été effectuées dans le but de vérifier : (i) si le crabe peut discriminer ses hôtes chimiquement du reste de l'environnement, (ii) si l'exploitation asymétrique peut s'expliquer par une différence

d'attraction et s'il existe un phénomène d'imprégnation, (iii) si la différence de fécondité des crabes femelles entre les deux espèces hôtes conduit à une différence dépendante du sexe dans le choix de l'hôte. (Chapitre 3).

Les suivis populationnels réalisés en (a) ayant montré la capacité des crabes à changer d'hôte fréquemment, une série d'expérience *in situ* et en aquarium a été menée afin de comprendre la cause de ces déplacements. Plus spécifiquement l'effet de la charge parasitaire et la recherche de partenaire sexuel ont été testés. (Chapitre 4).

Les populations de parasites peuvent se subdiviser à différents niveaux hiérarchiques: entre individus hôtes (infra-populations), entre espèces hôtes sympatriques et entre différentes localités géographiques. Au moyen de marqueurs moléculaires microsatellites, développés à l'occasion de ce travail, nous avons déterminé la proximité génétique des crabes vivant sur un même hôte, sur différents hôtes de la même espèce et d'espèces différentes, ceci au sein d'une même population. Les buts de cette étude étaient d'estimer (i) si les crabes trouvés sur un individu hôte présentent une plus forte proximité génétique qu'avec les individus d'autres hôtes (ii) si les crabes vivant sur *M. ventricosa* et sur *Plagiobrissus grandis* constituent la même population. Les marqueurs microsatellites développés au cours de ce travail permettront une étude ultérieure à plus grande échelle. (Chapitre 5).

Les quatre premiers chapitres sont rédigés en anglais et sont précédés d'un résumé exhaustif. Quant au cinquième, il est entièrement écrit en français.

DISCOVERY BAY

La zone géographique étudiée : Discovery Bay

L'ensemble des récoltes, des suivis de terrain et des expériences se sont déroulées à la station marine de Discovery Bay. Cette baie se situe le long du récif frangeant bordant la côte du nord de la Jamaïque (Figure 23). A l'exception du chenal artificiel, la majeure partie de la baie est en zone protégée de la haute mer, ce qui limite les courants et augmente la température de l'eau (Gayle & Woodley 1998). Cela permet l'établissement de larges zones sableuses bordées d'herbiers de *Thalassia testudinum* ou d'*Halimeda* spp. (Figure 21) et d'une zone de mangrove aux abords de la station. Ces herbiers servent d'habitat à de nombreuses espèces de poissons et d'invertébrés benthiques. *Meoma ventricosa* et *Plagiobrissus grandis* vivent de manière sympatrique au sein de cette baie. On les retrouve dans du sable corallien fin à grossier globalement homogène et riche en matière organique (Hammond 1982a, b).

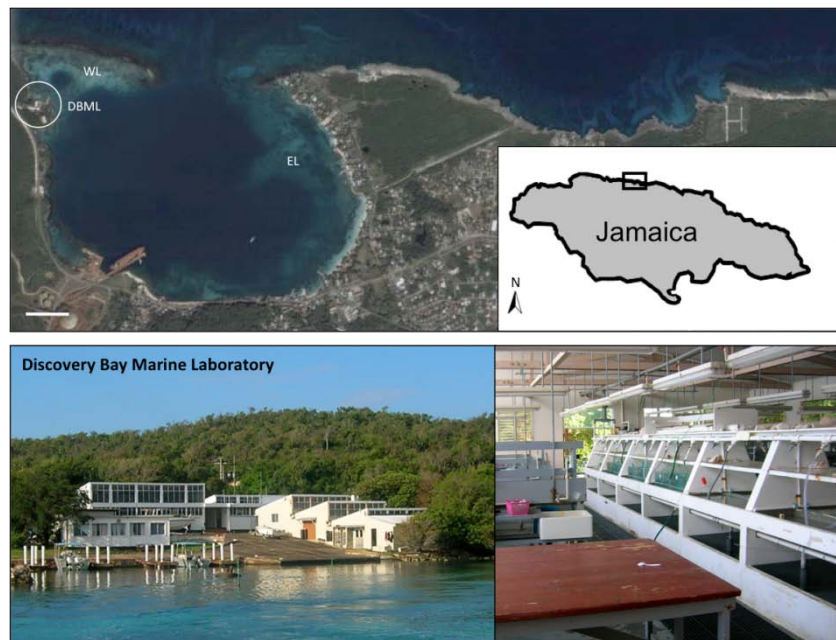


Figure 23. Laboratoire marin de Discovery Bay (DBML) à la Jamaïque, Western lagoon (WL) et Eastern lagoon (EL), barre d'échelle 200 m

RÉSULTATS

Résultats

Chapitre 1. Symbiose entre le crabe *Dissodactylus primitivus* et son hôte échinide *Meoma ventricosa* : conséquences possibles sur le comportement reproductif du crabe

a. Résumé

Bien que les symbioses impliquant des crustacés marins soient connues depuis longtemps, la nature de ces relations et la biologie des symbiotes restent encore dans de nombreux cas mal comprises. Toutefois, la diversité des modes de vie symbiotiques et la diversité écologique et morphologique de leurs hôtes font de ces associations des modèles particulièrement intéressants dans l'étude de l'évolution des comportements sociaux et reproductifs chez les invertébrés marins (Duffy & Thiel 2007). Baeza et Thiel (2007) ont proposé un modèle évolutif pour les crustacés symbiotiques mettant en relation le mode d'exploitation de l'hôte, le comportement reproductif (monogamie, polygynie, polyandrie) et la structure sociale du symbiote. Le comportement reproductif dépendrait principalement de la taille de l'hôte et/ou de sa disponibilité et de la capacité du symbiote à se déplacer entre les hôtes (coût de la prédation). Le crabe *Dissodactylus primitivus* est le seul membre du complexe *Dissodactylus* (*Dissodactylus* et *Clypeasterophilus*) à parasiter des oursins spatangoïdes. Peu de choses sont connues concernant son association avec *Meoma ventricosa*, à l'exception du fait que le crabe semble parasiter cet hôte. Car à l'inverse de nombreuses autres espèces de décapodes symbiotiques (commensales), ce crabe se nourrit directement des téguments de son hôte (Telford 1982).

Le but de cette étude est d'accroître les connaissances concernant la symbiose entre *D. primitivus* et *M. ventricosa* (démographie et nature de la symbiose) et de tester le modèle de Baeza et Thiel (2007) à la lumière des résultats obtenus (cf. les ectosymbioses marines).

L'ensemble des échantillonnages et des expériences comportementales a été effectué à la station marine de Discovery Bay en mars 2005 et 2007. Trois sites ont été échantillonnés, deux au sein de la baie (Western lagoon et Eastern lagoon) et un troisième en dehors du lagon, le long du récif (Dairy Bull, Figure 24). Les crabes et leurs hôtes ont été récoltés ensemble dans des sacs en plastique afin ne perdre aucun spécimen. La prévalence, la charge parasitaire et la composition en parasites ont été relevées pour chacun des hôtes, dans les trois sites.

L'ensemble des lésions présentes sur les hôtes a été relevé et décrit, afin de catégoriser ces blessures selon leur état de dégradation et de régénération. En outre, le volume gonadique des oursins a été relevé afin d'estimer l'impact de ces lésions sur la fitness de l'hôte. Une série d'expériences de recolonisation a été effectuée *in situ*. Ces expériences consistaient à replacer des hôtes dans l'environnement en les ayant préalablement débarrassés de leurs parasites et marqués d'un flotteur. La présence de crabes sur les oursins a été relevée après quatre et huit jours.

La prévalence et la charge parasitaire sont importantes et variables entre les années et les sites de récolte (Tableau 9). L'ensemble des stades post-larvaires a été trouvé sur les hôtes et aucun effet d'exclusion des jeunes par les adultes n'a été relevé. Bien qu'un sex ratio de 1:1 soit observé au sein de la population, il n'existe aucune preuve de comportement de monogamie. Les mâles se retrouvent plus souvent en compagnie de femelles non-gravides, ce qui suggère qu'ils sont à la recherche de femelles aptes à la reproduction. Ceci est conforté par l'expérience de recolonisation qui a démontré que les mâles se déplacent entre les hôtes. Cependant, les jeunes et les femelles sont eux aussi capables de se déplacer, indiquant que ce comportement n'est pas le fait des seuls mâles et/ou n'aurait pas pour seul but la recherche d'un partenaire sexuel (Tableau 13). *Dissodactylus primitivus* inflige des lésions au tégument de son hôte *M. ventricosa*. Celles-ci sont classées en quatre catégories. Les trois premières définissent des états croissants de détérioration du test et du tégument et le quatrième, un état de régénération (Figure 29). Les plaies les plus sévères (3^{ème} et 4^{ème} stades) sont associées à des volumes gonadiques les plus faibles chez l'hôte, suggérant une réduction de la fitness de l'hôte (Figure 30). Ceci confirme bien les observations de l'étude antérieure sur le régime alimentaire du crabe, qui définissait cette symbiose comme une parasitose (Telford 1982). Les résultats démographiques et de recolonisation indiquent que le comportement reproductif du crabe correspondrait ainsi à l'un des cinq modèles proposés par Baeza et Thiel (2007) : « The pure-search polygynandry of mobiles females ». D'après ce modèle, tant les mâles que les femelles sont à la recherche de multiples partenaires sexuels, ce qui aboutirait à une fréquence de déplacement importante. Notons que ce modèle n'a été conçu que pour des crustacés commensaux, qui exploitent l'hôte uniquement comme refuge. La nature parasitaire de *D. primitivus* ne justifierait pas que l'on écarte cette espèce du modèle, mais d'éventuelles différences sont discutées.

b. Symbiosis between the pea crab *Dissodactylus primitivus* and its echinoid host *Meoma ventricosa*: potential consequences for the crab mating system

Colin De Bruyn^{1, 2}, Thierry Rigaud², Bruno David², Chantal De Ridder¹

1Laboratoire de Biologie Marine (CP 160/15), Université Libre de Bruxelles, 50 avenue F. Roosevelt, 1050 Bruxelles, Belgium

2Université de Bourgogne, Laboratoire Biogéosciences, UMR CNRS 5561, 6 boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France

Marine Ecology Progress Series, 375: 173–183 (2009) doi: 10.3354/meps07733

ABSTRACT

In many symbioses involving marine crustaceans the nature of the relationships and the population biology remain overlooked, obscuring the understanding of their ecology and evolution. The association between the pea crab *Dissodactylus primitivus* and the irregular sea urchin *Meoma ventricosa* was investigated in the Caribbean Sea. The work tested the predictions provided by an evolutionary model, in which host-switching behaviour and polygynandry are expected for the mating system of *D. primitivus*. The crab prevalence (infected sea urchins) and mean burden were high and variable between sites and/or years. All post-metamorphic stages of crabs were found on the host, and no exclusion effect was observed between juvenile and adult crabs. In adults, although a general 1:1 sex ratio was stable over the years, there was no evidence for social monogamy. Adult males occurred more often on host-harboring non-ovigerous females, suggesting that they search for females available for mating. This assumption was supported by a recolonization experiment showing that the males move between hosts. However, both juveniles and females also moved between hosts, indicating that this behaviour could occur due to causes other than mate searching. *D. primitivus* inflicts external lesions on *M. ventricosa* teguments. The most severe lesions were associated with a lower gonad volume during spawning, suggesting a reduction in fitness of the host. The demography of *D. primitivus* and the recolonization experiments indicate that the mating system of this crab is the ‘pure-search polygynandry of mobile females’, but the parasitic nature of the relationship could confound this assumption.

Key words: Parasitism, Mating system, Life cycle, Brachyuran crustaceans, Spatangoids

INTRODUCTION

The Crustacea constitute a highly diversified group displaying various morphologies and behaviours and occupying a wide variety of habitats in the marine realm. Several groups of crustaceans have independently evolved symbiotic relationships with other macro-invertebrates (Thiel & Baeza 2001). Here, we consider the term symbiosis in its etymological sense, including parasitism and mutualism (see Douglas 1994). The wide diversity of symbiont lifestyles and the various ecologies and morphologies of the hosts make symbiotic crustaceans particularly relevant for studying the evolution of social and mating behaviour in marine invertebrates (Duffy & Thiel 2007). Baeza & Thiel (2007) proposed a general framework for an evolutionary model highlighting the relationships between patterns of host usage, mating systems (e.g. monogamy, polygyny, or polyandry) and social structure of symbiotic crustaceans. Mating system, for instance, would depend on host size and/or host availability (reflecting the relative costs of defending a host for ‘territorial’ symbionts) and on the ability of symbionts to move between hosts (reflecting a potential cost of predation outside the shelter provided by the host). Baeza & Thiel (2007) and Baeza (2008) have provided empirical support for the model, but they claimed that more case studies are needed to strengthen their model.

In crustaceans, as pointed out by Thiel (2000), while many different host-symbiont associations have been described, little is known of the population biology and the nature of the relationship (e.g. mutualism vs. parasitism). Host exploitation will not only depend on mating or social systems of the symbionts, but also on the nature of the symbiotic relationship. For example, a commensal using its host mainly as a shelter or chemical refuge will not exploit it in the same way as a parasite using its host as a food resource. In turn, the nature of host exploitation could influence the social system of the symbiont. For example, in the case of parasitism, host resistance could modulate the number of infecting symbionts, whatever their mating system, and therefore drive their social structure. Thus, knowledge on the nature of the relationship is a prerequisite for understanding symbiosis evolution and ecology.

Within the Crustacea, symbiotic relationships involving brachyuran crabs are quite common. Decapod symbionts belong to 7 families: Porcellanidae, Eumedonidae, Portunidae, Xanthidae, Haplocarcinidae, Majidae and Pinnotheridae (Gray 1961, Patton 1967, Rinkevich et al 1991, Ng & Jeng 1999). In many cases, they use their host as a

refuge and are considered commensal. One family, the Pinnotheridae (pea crabs), seems to exclusively comprise symbiotic species (Telford 1982, Narvarte & Saiz 2004). Pinnotherids have developed a variety of associations. Some species inhabit burrows of polychaetes (Gray 1961) or echiurans (Anker et al 2005). Others live inside the cloacae of holothuroids (Takeda et al 1997), in the pharynx of urochordates (Goodbody 1960), in the mantle cavity of molluscs (Christensen & McDermott 1958, Narvarte & Saiz 2004), or on the integument of echinoids (Johnson 1952, Gray et al 1968, Telford 1982, Bell & Stancyk 1983, Reeves & Brooks 2001). Among pinnotherids, the species belonging to the *Dissodactylus* complex live ectosymbiotically with irregular echinoids (Spatangoida and Clypeasteroida) (Griffith 1987a, b).

Among the pea crab symbioses, that involving the crab *Dissodactylus primitivus* and the host *Meoma ventricosa* deserves attention because of its supposed peculiar nature. *D. primitivus* is the only species of the *Dissodactylus* complex to live on spatangoids (Chesher 1969, Telford 1978a, b, 1982, Pohle & Telford 1983). The crab has been considered to be an ectoparasite since it browses on echinoid spines and integument, resulting in conspicuous scars (Telford 1982). Therefore, this association contrasts with those involving other Pinnotheridae or Porcellanidae crabs, where symbionts are considered commensal: it seems that those latter crabs use their hosts only as refuge and mating places (Baeza & Thiel 2000). Most of the life history of the *D. primitivus*-*M. ventricosa* association is unknown, and the question remains open as to the degree to which this association shares characteristics with closely related systems. This state of knowledge differs from that of another group of decapods living on sea urchins, the Porcellanidae, whose life cycles and life histories are better known (Haig 1960, Werding 1983, Baeza & Thiel 2000, 2003, 2007, Toonen 2004).

The goal of the present study was to increase knowledge of the life history of *D. primitivus* and to test the model of Baeza & Thiel (2007) in the light of these results. According to this model, we predicted that monogamy is not the mating system for *D. primitivus*, due to the large size of the host compared to the symbiont size. First, we investigated the population structure of the crabs to check if the whole *D. primitivus* life cycle is spent on its host and to provide insight on its mating system. This was done by analysis of samples collected during the juvenile recruitment period. Second, we investigated the consequences of the feeding behaviour of the crabs on host integument and spines to answer the question whether there is a cost to the host associated with this feeding behaviour. Injuries were

described and quantified, and host fitness (fecundity) was compared according to wound status. Third, we investigated crab movement between hosts to test another prediction of the model of Baeza & Thiel (2007): if not monogamous, *D. primitivus* males should move between hosts with a high frequency in search of females. This was tested by a recolonization experiment.

MATERIALS AND METHODS

Collections

Samples were collected along the reef on the north coast of Jamaica (Figure 24), during the recruitment period of the crab life cycle (i.e. March). Two sampling sites, Western Lagoon (WL) and Eastern Lagoon (EL) were located in Discovery Bay (18° 28' N, 77° 24' W), a sheltered area. The third sampling site, Dairy Bull (DB), was outside the bay along the fringing reef (18° 28' N, 77° 23' W) (Figure 24).

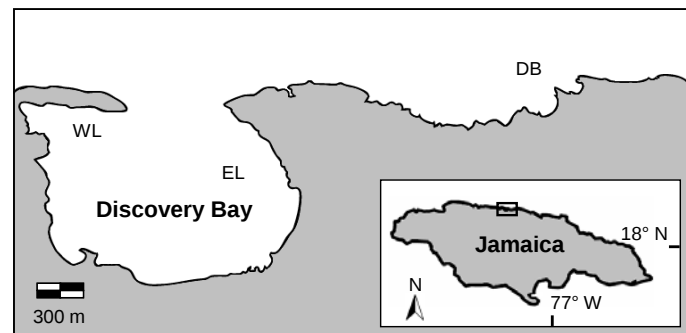


Figure 24. Sampling sites on the north coast of Jamaica. WL: Western Lagoon; EL: Eastern Lagoon; DB: Dairy Bull

At the 3 sampling sites, the habitat was relatively homogeneous, consisting of large sandy areas adjacent to patches of coral heads (dead or alive) and patches of the seagrass *Thalassia testudinum*. Further details on the habitats are given in Hammond (1982a) and Gayle & Woodley (1998).

Meoma ventricosa were haphazardly collected in fine muddy sediment to coarse coral sand at depths ranging from 2 to 4 m at WL, 5 to 6 m at EL and 14 to 23 m at DB. Collections were made by SCUBA diving in March 2005 and 2007 during the early morning. At this time of the day, the echinoids were only lightly burrowed (under 1 to 3 cm of sand) and easy to detect. Hosts and symbionts were collected together. Each echinoid

was carefully placed into a plastic bag that was closed under water by an elastic band. On board, the bags were immersed in basins kept in the shade and were opened upon arrival at the laboratory (no more than 30 min later). Each sea urchin was measured (maximum length and width) with dial callipers. Since these 2 measurements were highly correlated ($r = 0.95$, $p < 0.00001$), only the maximum width was used for analysis. All associated crabs *Dissodactylus primitivus* were preserved for demographic observations. In total, 211 crabs on 94 sea urchins and 422 crabs on 131 sea urchins were collected in March 2005 and 2007, respectively.

The demography of the crabs, prevalence and burden, were recorded for each site and for each sampling. Prevalence is the percentage of infested hosts at each site, and the mean burden is the mean number of crabs per infected host (Bell 1988). All crabs harvested on each host were counted and measured (maximum cephalothorax width; following Pohle & Telford 1982), and the gender of each individual was noted. Measurements were taken to the nearest 0.05 mm using a calibrated ocular micrometer under a stereomicroscope. Males, females and juveniles were counted. Identification was based on morphology: males have a narrow abdomen with the first pair of gonopods highly developed and the second pair reduced; females have a wide abdomen and no gonopods (ovigerous females hold bright orange or pale yellow eggs under their abdomen); and juveniles have undeveloped sexual characters and are generally < 5 mm in width (Guinot 1979).

Impact on the host

The crabs browse the echinoid integument and appendages, causing injuries (Telford 1982). The relationship between the area of injuries and the mean crab burden was checked in 48 individuals of *Meoma ventricosa*. In total, 115 injuries were measured (area), described (position on the test) and ranked in 4 categories according to the visible damage to the host. Observations were made under a stereomicroscope. The gonad index was used to investigate a potential negative effect of the injuries on the fitness of *M. ventricosa*. This index corresponds to the ratio between the gonad and the body volume of the sea urchin and is indicative of the fecundity rate (Pearse & Cameron 1991). For each echinoid, the body and gonad volumes were measured by water displacement in a graduated cylinder (McPherson 1968, Chesher 1969). The gender and the maturity stage of the sea urchins were determined by histological observations of the gonads. The gonads were dehydrated in 100% ethanol, embedded in paraffin and sectioned into 7 μ m thick sections by a rotatory

microtome. The sections were rehydrated and mounted with Entellan. Staining was not necessary because of the natural colour of the gonads. Maturity stages were determined according to the descriptions of Chesher (1969) and Nunes & Jangoux (2004).

Recolonization experiments

To test whether crabs spend some time on the sea floor (outside their sea urchin host), we collected 13 samples of sediment. Each sample consisted of a sediment layer 2 cm thick taken in a 1000 cm² quadrat (a rough estimate of the total surface area of a *Meoma ventricosa*). For comparison, the prevalence of *Dissodactylus primitivus* was measured on 13 *M. ventricosa* collected in close proximity to each quadrat. The mobility of the crabs was tested at EL at 5 m water depth and at WL at 2 m water depth through recolonization experiments following the method described by Thiel et al (2003a). Sixteen *M. ventricosa* were collected at the 2 sites and brought on board. For each individual echinoid, the crabs were removed, counted and their gender (males, females and juveniles) determined. Following this, the echinoids were individually tagged by using an elastic band bearing a nylon thread ending with a labelled float. The elastic band was placed around each individual host. The echinoids devoid of their symbionts were returned to exactly the same place. The time needed to mark each sea urchin did not exceed 10 min. Four days later (D + 4), the presence of crabs on the echinoids was checked *in situ* by SCUBA diving without removing them from the host. Sex of the crabs was not noted. Eight days later (D + 8), the echinoids were collected and placed into plastic bags as described above. The newly installed crabs were identified and counted in the laboratory to determine age and sex.

All statistical tests were done using the program JMP 5.0.1.2 (SAS Institute). For continuous data, the normality and the homogeneity of the variances were tested prior to ANOVA or ANCOVA analyses, and were Box-Cox transformed if necessary. When normality was impossible to meet, non-parametric tests were made. For categorical data comparisons, logistic regression, Chi-squared tests, or Fisher exact tests were made.

Table 9. *Dissodactylus primitivus*, *Meoma ventricosa*. Prevalence (%), with number of investigated hosts in parentheses, and mean burden (95% confidence interval) of *D. primitivus* crabs living on *M. ventricosa* at the 3 studied sites in 2005 and 2007. p-values for comparisons between years are Fisher's exact test for prevalence and Wilcoxon's test for mean burden. WL: Western Lagoon; EL: Eastern Lagoon; DB: Dairy Bull

Sites	Characteristics	Years		p
		2005	2007	
WL	n	46	49	
	Prevalence	83%	90%	0.38
	Mean burden	2.6 (1.9 – 3.2)	2.4 (1.9 – 2.8)	0.49
EL	n	34	63	
	Prevalence	74%	87%	0.10
	Mean burden	1.0 (0.7 – 1.2)	2.7 (2.1 – 3.2)	0.0001
DB	n	14	19	
	Prevalence	93%	100%	0.42
	Mean burden	4.1 (2.0 – 6.3)	7.6 (5.2 – 10.0)	0.03

RESULTS

Crab populations between sites and years

Crab *Dissodactylus primitivus* prevalence was high at all sites (> 74% of *Meoma ventricosa* were infected), with similar values in 2005 and 2007 (Table 9). In contrast, the mean burden (mean number of crabs per infected host) was variable between the 3 sites (Wilcoxon's tests; 2005: $p < 0.0001$; 2007: $p < 0.001$) (Table 9). The maximum burden was 18 crabs per host. The mean burden was also variable between years for DB and EL populations (Table 9).

All crab post-larval stages were found on the host. The youngest stage observed was the 'first crab' (carapace width: ca. 0.7 mm) (Figure 25). This stage directly follows the metamorphosis of the last larval stage, i.e. the 'megalopa' (see Pohle & Telford 1983). No megalopa stage was found. Juveniles were present at the sites, but their proportion differed between sites and years (Table 10a, Figure 25).

Table 10. *Dissodactylus primitivus*. Logistic regression, testing the effects of sampling year and sampling site on the proportion of juvenile crabs (global model: $L - R\chi^2 = 67.97$, $df = 5$, $p < 0.0001$) and the proportion of gravid female crabs (global model: $L - R\chi^2 = 22.34$, $df = 5$, $p = 0.0005$) living on *Meoma ventricosa*

Source of variation	df	L-R χ^2	p
Proportion of juveniles crabs			
Year	1	6.90	0.009
Site	2	43.86	<0.0001
Year*Site	2	16.81	0.0002
Proportion of adult crabs			
Year	1	1.45	0.23
Site	2	18.16	0.0001
Year*Site	2	3.46	0.18

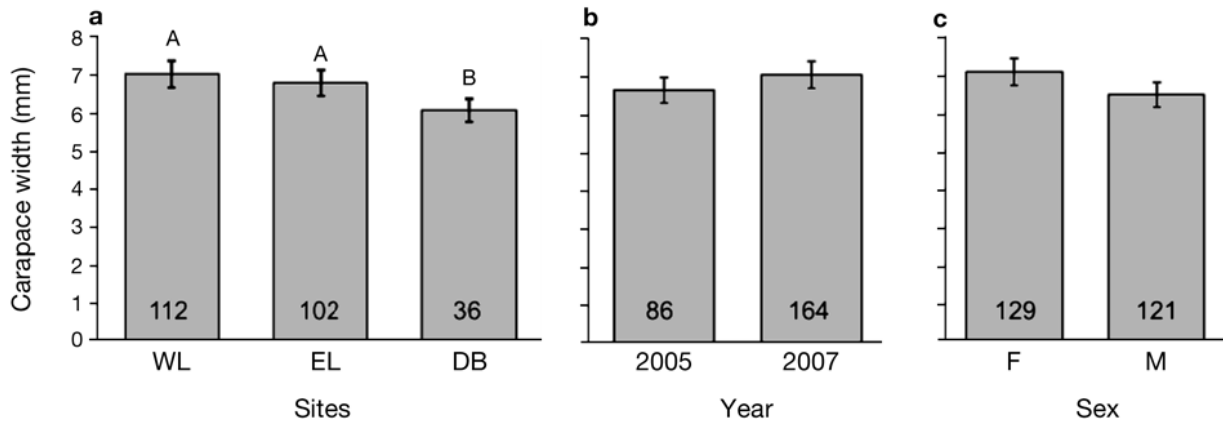


Figure 26. *Dissodactylus primitivus*. Size of adult crabs (carapace width, mean $\pm$ SEM) settled on *Meoma ventricosa* by: (a) sampling site, (b) year of sampling and (c) sex (F: female; M: male). Levels designated by different letters differ significantly according to Tukey honestly significant difference post hoc tests ($\alpha = 0.05$). Numbers in the bars are sample sizes (no. of crabs). Site abbreviations as in Figure 24

Table 11. *Dissodactylus primitivus*. ANOVA testing the effects of the year of sampling, sampling site and sex on the size of crabs infecting *Meoma ventricosa*: juvenile crabs (global model: $F_{5, 390} = 20.61$, $p < 0.0001$) and adult crabs (global model: $F_{4, 245} = 21.10$, $p < 0.0001$). To homogenize the variances, Box-Cox transformations of the data were made prior to analyses. The models used minimize the Akaike information criterion

Source of variation	df	Sum of Squares	F	p
Juvenile crabs				
Year	1	20.88	24.31	< 0.0001
Site	2	21.18	12.32	< 0.0001
Year * Site	2	13.63	7.94	0.0004
Error	390	335.05		
Adult crabs				
Year	1	7.86	11.10	0.001
Site	2	23.89	16.87	< 0.0001
Sex	1	28.82	40.69	< 0.0001
Error	245	173.53		

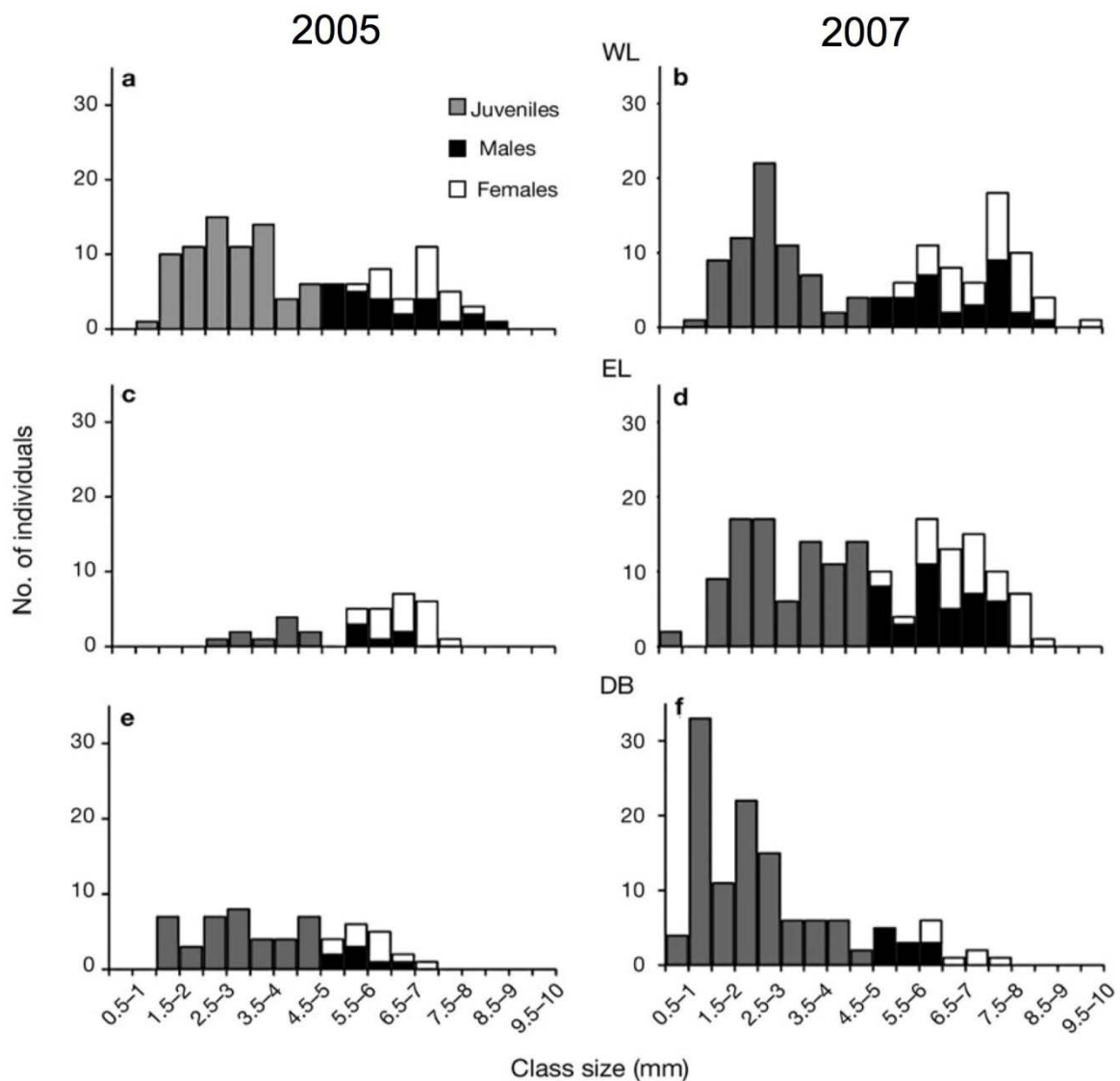


Figure 25. *Dissodactylus primitivus*. Demography of the crabs in the 3 local populations (WL: Western Lagoon; EL: Eastern Lagoon; DB: Dairy Bull) in March 2005 (a,c,e) and 2007 (b,d,f)

In both years combined, the proportion of juveniles was higher at the outer station (DB) compared to the lagoon stations (WL and EL). The proportion of ovigerous females to total females differed between the 3 sites, but was similar between years (Table 10b). Overall, ovigerous females were more abundant at WL (53%, $n = 19$ in 2005 and 64%, $n = 36$ in 2007) and EL (61%, $n = 18$ in 2005 and 37%, $n = 38$ in 2007) compared to DB (9%, $n = 11$ in 2005 and 0%, $n = 7$ in 2007). This observation is consistent with the higher proportion of juveniles at DB. Adults were smaller at DB compared to WL and EL (Figure 26a), and were smaller in 2005 than in 2007 (Figure 26b). Juvenile sizes significantly differed between sites and, for DB, between years (Table 11a, Figure 25). At DB, juveniles were smaller in 2007 than in 2005 (Figures 25 & 27).

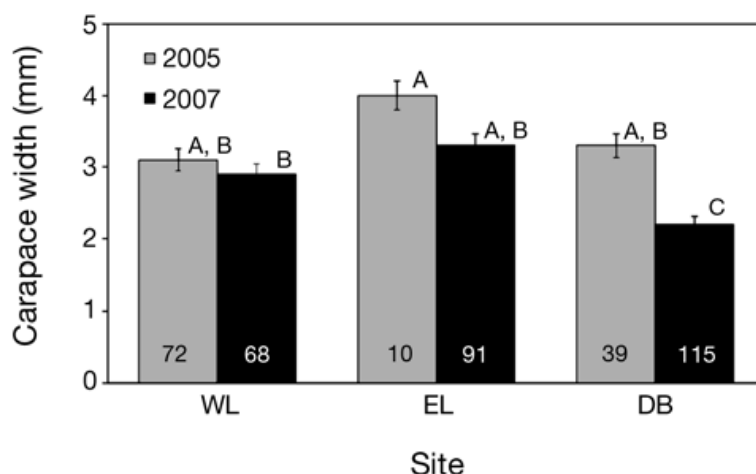


Figure 27. *Dissodactylus primitivus*. Size of juvenile crabs (carapace width, mean $\pm$ SEM) settled on *Meoma ventricosa* by sampling site and year of sampling. Levels designated by different letters differ significantly according to Tukey honestly significant difference post hoc tests ($\alpha = 0.05$). Numbers in the bars are sample sizes (numbers of juveniles). Site abbreviations as in Figure 24

Host size effects

The size of *Meoma ventricosa* (maximum width) was found to be between 67 mm (minimum size, measured at DB) and 155 mm (maximum size, measured at WL). It differed according to year ($F_{1,218} = 17.53$, $p < 0.0001$) and site ($F_{1,218} = 28.44$, $p < 0.0001$) without interaction ($F_{1,218} = 0.62$, $p < 0.53$) (global model: $F_{5,218} = 16.61$, $p < 0.0001$). Sea urchins were larger in 2005 (ANOVA: $F_{1,260} = 15.54$, $p = 0.0001$) and at WL (ANOVA: $F_{2,91} = 12.46$, $p = 0.0001$). Prevalence was not related to host size, either for juveniles (logistic regression: $df = 1, 112$; $\chi^2 < 0.0001$, $p = 0.99$) or for adult crabs (logistic regression: $df = 1, 112$; $\chi^2 < 1.42$, $p = 0.23$). In contrast, the burden of adult crabs was positively correlated with host size (Spearman's correlation: $Rho = 0.414$, $p = 0.003$), but not that of juveniles (Spearman's correlation: $Rho = 0.25$, $p = 0.09$).

Interactions between crabs

Males and females occurred in the 3 local populations with a constant sex ratio of 1:1, independent of the year (logistic regression including these 2 factors and their interaction, global model: $L - R\chi^2 = 8.92$, $df = 5$, $p = 0.11$). Size of adult crabs differed significantly between males and females (males were always smaller than females; Figure 26c), but also between local populations and years (Table 11b, Figure 26). About half of the hosts harboured a single adult crab (51%, total $n = 156$). Heterosexual couples (1 male and 1

female) were found on 27% of the hosts, whereas other combinations (homosexual couples or > 2 adults) occurred in 22% of the hosts. The proportions of these combinations did not differ significantly between the 3 locations (Pearson's χ^2 test: df = 4, 150; p = 0.19). Considering only the heterosexual couples, males were more often found with non-ovigerous females than with ovigerous females (Table 12).

Table 12. *Dissodactylus primitivus*. Presence/absence of male crabs (at least 1 male) on *Meoma ventricosa*, according to the reproductive status of female crabs present on the same host. The few cases (n = 2) where 1 gravid female was accompanied by 1 non-gravid female were counted as 'non-gravid'. Fisher's exact test, 2-tail: p = 0.04

	Male(s)	No male
Non-gravid female(s)	26	17
Gravid female(s)	12	22

There was no correlation between the number of adult and juvenile crabs (Spearman's test: Rho = 0.08, p = 0.58). The presence of adults on the host did not impact the presence of juveniles, i.e. there was no inter-generation exclusion effect (Fisher's exact test; 2005: df = 1, 78, p = 0.33; 2007: df = 1, 110, p = 0.10) (Figure 28). The presence of heterosexual couples did not affect the number of juveniles either (Wilcoxon's test: p = 0.17).

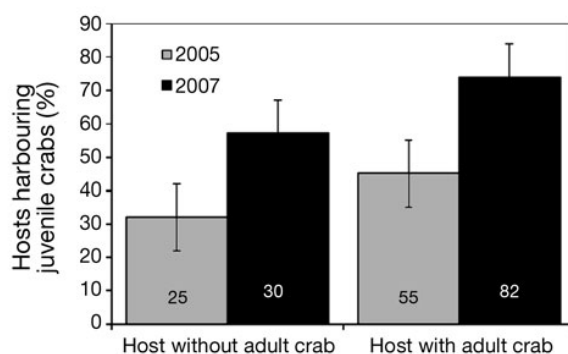


Figure 28. *Meoma ventricosa*. Percentage of hosts harbouring juvenile *Dissodactylus primitivus* crabs (means $\pm$ SEM) according to the presence or absence of adult(s) for 2005 and 2007. Numbers in the bars are sample sizes (numbers of hosts)

Injuries and host fitness

The injuries were categorized into 4 stages according to the degree of visible damage on the appendages and tegument of the sea urchins. Stage 1 injuries corresponded to zones where the spines were cut in their distal or middle part (Figure 29a). Stage 2 injuries were characterized by more severely attacked spines that were cut at their muscular basis (Figure 29b). The broken spines were prostrate on the surface of the test or were completely removed. Other appendages (pedicellariae, podia) were also absent from wounds most of the time. At this stage, the epidermis was often naked and had a reddish coloration, as if an inflammatory response had occurred. In Stage 3 (Figure 29c), the epidermis was completely removed and the test was visible and clean. Stage 4 (Figure 29d, e) corresponded to injuries in the process of regeneration. Epidermis and appendages regenerate underneath the damaged layer of test. When the dead superficial layer of test is gently removed, a depressed test area covered by a new epidermis with spines in regeneration is seen (Figure 29e). The loss of this superficial part of the test was observed in the field.

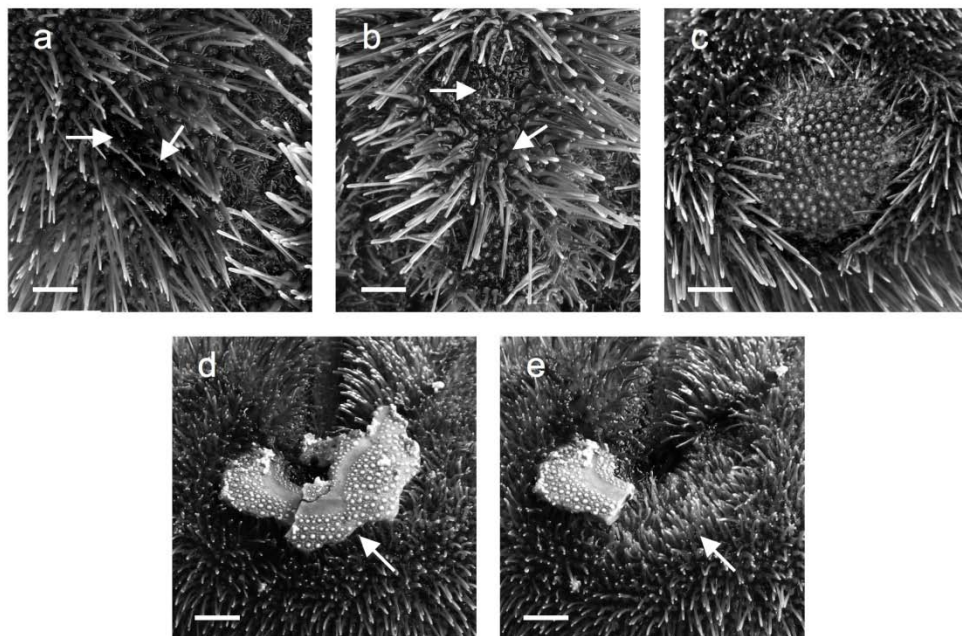


Figure 29. *Meoma ventricosa*. Injuries by *Dissodactylus primitivus* crabs: (a) Stage 1, arrows indicate cut spines; (b) Stage 2, arrows indicate denuded tubercles; (c) Stage 3; (d,e) Stage 4, arrows indicate the loose denuded test (d) and the regenerating tegument and spines underneath after removal of the piece of test (e). Scale bars = 3 mm (a), 4 mm (b, c) and 8 mm (d, e)

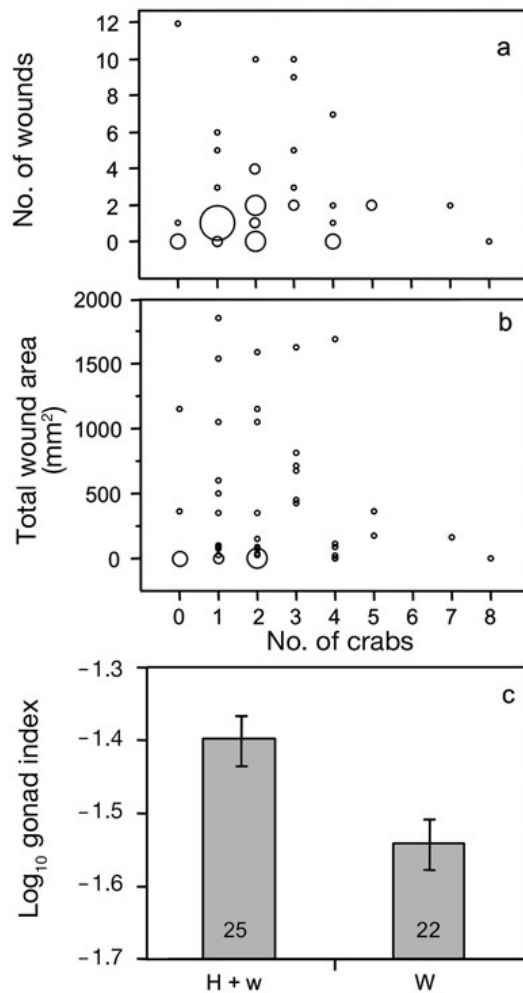


Figure 30. *Meoma ventricosa*. Wounds inflicted by different numbers of crabs *Dissodactylus primitivus* and their effects on the fecundity of *M. ventricosa*. (a) Number of wounds and (b) total wound area by number of crabs (surface of the dots is proportional to the number of data of the same value, the smallest dot representing 1 data point). (c) Gonad index of *M. ventricosa* according to their wound status. H + w: healthy sea urchins or with superficial injuries of Stage 1 and/or 2; W: hosts with injuries of Stage 3 and/or 4 (ANOVA: $F_{1,46} = 7.32$, $p = 0.01$, statistical model reduced from a model including echinoid sex and wound status as factors, echinoid size as covariates, and their interactions)

Table 13. *Dissodactylus primitivus*, *Meoma ventricosa*. Results of the recolonization experiments at Eastern Lagoon (EL) and Western Lagoon (WL); 15 echinoids per site were recaptured at each location. n HC: number of *M. ventricosa* colonized and n C: total number of crabs found on colonized hosts on D + 4 and D + 8, i.e. 4 and 8 d after the start of the experiments. The last column gives the age and sex of crabs found at D + 8. M: male, F: female, J: juvenile

Sites	D+ 4		D + 8		Details for crabs
	n HC	n C	n HC	n C	
EL	9	10	8	12	5M + 3F + 4J
WL	2	3	4	5	0 M + 1F + 4J

The injuries occurred on both the oral and aboral sides of the sea urchins (ANOVA: $F_{1,86} = 2.16$, $p = 0.15$). The mean number of injuries was 2.25 ± 0.4 (mean $\pm$ SEM) per sea urchin ($n = 47$). The average ($\pm$ SEM) surface area of injuries was $60 \pm 17 \text{ mm}^2$ for Stage 1, $42 \pm 22 \text{ mm}^2$ for Stage 2, $262 \pm 72 \text{ mm}^2$ for Stage 3, and $201 \pm 29 \text{ mm}^2$ for Stage 4. Neither the number nor the surface of the injuries was correlated with crab burden (Spearman's non-parametric correlation: $\text{Rho} = 0.01$, $p = 0.94$ [Figure 30a] and $\text{Rho} = 0.11$, $p = 0.45$ [Figure 30b]).

The gonad index of the sea urchins was measured in 20 males and 27 females in 2007 (gender determined on the basis of histological observations). Histological observations also revealed 2 dominant stages of maturity: the 'spent stage' ($n = 17$) and the 'partly spawned stage' ($n = 26$) (Nunes & Jangoux 2004). Four gonads corresponded to other stages and were discarded from this analysis. The maturity stages indicate that the samplings (March 2007) were done during the spawning period, corroborating Chesher's (1969) observations. The gonad index did not differ between genders (ANOVA: $F_{1,46} = 3.00$, $p = 0.09$) or between maturity stages (ANOVA: $F_{1,41} = 1.57$, $p = 0.22$). Considering only echinoids affected by wounds of Stages 3 and/or 4 (indicative of the heaviest potential cost for the host), the wounded echinoids had a lower gonad index compared to the healthy ones (Figure 30c). The final model, including only wound status, minimizes the Akaikeinformation criterion, a parameter that assesses the fit of the model (residual variance) relative to its complexity (number of factors in the model) (Quinn & Keough 2002).

Crab mobility

The 13 sediment samples contained no crabs, whereas 12 of the 13 *Meoma ventricosa* located near these samples carried crabs (Fisher's exact test: $\text{df} = 1$, 24; $p < 0.0001$). The recolonization experiments at the 2 experimental sites (WL and EL) revealed that crabs colonized the cleaned sea urchins. In each replicate, the number of crabs re-colonizing the host was similar between sites, both 4 and 8 d after cleaning (Fisher's exact test: $p = 0.06$ and $p = 0.26$, respectively) (Table 13).

The colonizing crabs were both juveniles and adults. No ovigerous female crabs were found during these experiments, while 24% ($n = 63$) and 14% ($n = 49$) of hosts harboured ovigerous females at EL and WL, respectively (hosts sampled in 2007). The difference in the proportion of ovigerous females between the recolonization experiment and the census

were significantly different, independent of the site (logistic regression: global model: $\chi^2 = 13.13$, $df = 3$, $p = 0.004$; effect 'Experiment': $\chi^2 = 12.27$, $df = 1$, $p = 0.0005$; effect 'Site' $\chi^2 = 1.19 \times 10^{-6}$, $df = 1$, $p = 0.99$; interaction: $\chi^2 = 1.19 \times 10^{-6}$, $df = 1$, $p = 0.99$).

DISCUSSION

Characteristics of the host-parasite relationship

The symbiosis associating the pinnotherid crab *Dissodactylus primitivus* with its spatangoid host *Meoma ventricosa* displayed a high prevalence ranging from 74 to 100%. The prevalence was similar in our 2005 and 2007 collections and also comparable to that observed 30 yr ago by Telford (1978a). The probability of infection was not influenced by host size, but host size influenced the number of colonizing crabs: the larger the host, the more numerous were the adult crabs, probably reflecting a carrying capacity of the host (Baeza & Thiel 2000, Baeza et al 2001). For all 3 investigated sites, the crab sex ratio was balanced and stable over both years. Demographic differences between sites were restricted to juveniles and ovigerous females, reflecting slight asynchrony in reproduction. Reproduction appears to occur earlier at the DB site, outside of the bay.

The crab causes injuries by attacking the integument and appendages of its host (Telford 1982). *In vitro* confirmation of this behaviour was attested by the observation of Stage 1 injuries on 2 healthy echinoids kept for 8 d in an aquarium in the presence of 5 adult crabs (C. De Bruyn pers. obs.). Nevertheless, the number and area of these injuries were not related to the crab burden. This lack of a relationship could be explained by considering crab movements between hosts and therefore the high instability in time of parasite burden per host. The 2 most advanced stages of injuries corresponded to scars showing the naked test devoid of appendages and epidermis and to regenerating scars, respectively. These stages can potentially induce a cost to the host, because tissue regeneration implies energetic expenditure. Indeed, the gonad size corrected for size (i.e. the gonad index, a proxy for fecundity) was significantly lower in wounded echinoids compared to non-wounded echinoids. Therefore, the crab may have an impact on host fitness as the fecundity of the sea urchin is depressed during the spawning period. These observations should be verified through a long-term study taking into account the different reproduction stages of the echinoid. Because of this cost, *D. primitivus* should be considered a parasite in an

ecological and evolutionary sense (Combes 2001). This contrasts with most other known symbioses involving crabs and echinoids, which are often considered commensalism. In fact, former studies have shown that symbiotic crabs can acquire food from their hosts in different ways, e.g. in the form of tissue, mucus and faeces (Pearse 1913, Orton 1920, Stauber 1945, Telford 1982, Williams 1984, Valdivia & Stotz 2006), but very few investigations have addressed the impact of feeding behaviour of the crab on the host. One exception for the *Dissodactylus* complex is *D. mellitae*, which induces a putative fecundity cost to its host, the sand dollar *Mellita isometra* (George & Boone 2003).

All post-metamorphic stages of *D. primitivus* were present on *M. ventricosa*, juveniles being generally more abundant than adults during the season under investigation (March). In contrast to other symbiotic crabs (Pohle & Telford 1981, Baeza & Thiel 2000), the last larval stage of *D. primitivus* (megalopa) was never found on the sea urchins. The presence of the 'first crab' stage on the host indicates that recruitment occurs just after metamorphosis, supporting the hypothesis of Pohle & Telford (1983). The juvenile crab distribution among hosts was not affected by the presence of adults. This would suggest that there is neither attraction, nor competition for settlement between adults and juveniles of *D. primitivus*. In other associations, competition and exclusion effects are known to occur on overcrowded hosts. For example, in the *D. mellitae*-*Mellita quinquiesperforata* system, crab growth limits the space available on the host and seems to induce some juveniles to abandon their host for another (Bell 1988). Competition and exclusion effects were also reported for *Pinnotheres* and *Fabia* species living in the mantle cavity of molluscs where space is limited (Christensen & McDermott 1958). In *D. primitivus*, the small size of the juveniles (10 to 14 times smaller than adults) could facilitate the co-habitation with adults, a phenomenon also made easier by the relatively large size of the host (see 'Results'). Taken together, these findings suggest that *D. primitivus* in the first post-metamorphic stage haphazardly infect *M. ventricosa*.

However, the adult crab distribution was not strictly random, since males were more often found on hosts harbouring non-ovigerous females. This highlights 2 possibilities: (1) the sea urchin could be a mating site for the crabs (males searching females receptive to mating, see below), similar to most symbiotic crabs studied so far (Baeza & Thiel 2007), or (2) resources (food or space) are limited on the host, as described for other symbioses (e.g. Baeza et al 2002), and ovigerous (large) females are not keen to share the host. However, the large size of *M. ventricosa* relative to *D. primitivus* does not support the latter

possibility.

The recolonization experiment revealed that 'new' crabs rapidly colonize uninfected echinoids and are therefore able to move between hosts. However, no crabs were found in the sediment, suggesting that the movements between hosts are restricted in time and space and that *D. primitivus* does not live outside its host. Movements may occur at night, when the host becomes epifaunal and mobile, and not during the day, when it is infaunal and has reduced mobility (Chesher 1969, Hammond 1982a). Host-switching may be due to an intrinsic high mobility of the crabs. Baeza & Thiel (2000) mentioned that, in the association between the porcellanid crab *Liopetrolisthes mitra* and the echinoid *Tetrapygus niger*, the host-switching behaviour is comparable to the mobility of non-symbiotic species living in patchy microhabitats. Inter-host mobility behaviour has been demonstrated *in vitro* for some species of crabs of the *Dissodactylus* complex, in which the mobile crabs were adults (Johnson 1952, Telford 1978b). The travelling crabs observed in our recolonization experiment were both male and female adults, but also large juveniles. This suggests that the youngest crabs are unable to move between hosts. Ovigerous females were not found among travelling crabs, as observed for the symbiotic crab *Zebrida adamsii* living on several species of sea urchin (Yanagisawa & Hamaishi 1986). Despite the relatively small sample size for the short-duration experiment, this observation suggests that ovigerous females are likely to stay on their host, i.e. in a protected habitat.

Implications for the mating system of Dissodactylus primitivus

Recently, a conceptual model has been proposed to predict the mating systems of symbiotic crustaceans (Baeza & Thiel 2007). Five mating systems could have evolved from strict monogamy to diverse forms of polyandry or polygyny, depending on diverse conditions such as size, complexity and abundance of the hosts and the risk of predation during movements between hosts. For example, host rarity and high predation risk associated with a small host size would lead to monogamy, the host being easy to defend against competitors and an intense search for additional mating being risky for symbionts.

Our study indicates that adult crabs are not found exclusively in heterosexual pairs. Single crabs, homosexual pairs and > 2 adults can infect an individual host. This contrasts with porcellanid symbiotic crabs and other symbiotic crustaceans for which heterosexual couples are the rule (Hsueh & Huang 1998, Baeza 2008). This observation rules out social monogamy and mate-guarding as mating systems in *Dissodactylus primitivus*. In addition,

both crab genders are mobile, and hosts are abundant and relatively large compared with the crab. Taken together, these observations fit the 'pure-search polygynandry of mobile females' model proposed by Baeza & Thiel (2007), where both adult males and females move between hosts to find a mate, presumably practicing multiple mating behaviour via active search. However, since the model of Baeza & Thiel (2007) was designed for commensal relationships, slight modifications may occur due to the parasitic nature of the *D. primitivus*-*Meoma ventricosa* relationship. Our observation of the co-occurrence of ovigerous and non-ovigerous adult females in populations fits another prediction of this mating system, because breeding asynchrony should reinforce its evolution (Baeza & Thiel 2007). Due to the presence of embryos hiding genital apertures, ovigerous females are not immediately available for reproduction, while non-ovigerous females are a potential resource for mating. This implies that males searching for a mate are able to distinguish the female status, as proposed by Diesel (1988) for the spider crab *Inachus phalangium*. In the case of our study, this hypothesis remains to be verified.

However, because of the apparent complexity of the symbiosis, the *D. primitivus* mating system still requires further investigation. Our observations suggest that ovigerous female crabs might be more sedentary and territorial than other individuals. In addition, and more importantly, the parasitic nature of *D. primitivus* may confound some predictions of the model of Baeza & Thiel (2007). Here, the host is not only a shelter or a mating place, but also a food resource, which could have consequences for the nature of the relationship. For example, host-change behaviour, in addition to mate searching, could also constitute a 'damage avoidance tactic' (Combes 2001), indirectly allowing the host to recover (by tissue regeneration). Such behaviour could stabilize the host population and, subsequently, ensure availability of food and shelter for the parasite. Another hypothesis is that, owing to the cost induced by the parasite, the host could react to the infection (a kind of 'immune' response), forcing the parasites to move and change their host. *Meoma ventricosa* is known to produce a dense yellow liquid, which is highly iodine and is supposed to be a toxic repulsive against fish predation (Chesher 1969). Even though we have never observed this liquid *in natura* around the sea urchins despite very high crab prevalence, we cannot rule out the possibility that this liquid may be produced as a protection against excessive infection. To sum up our findings, crab movement between hosts could be due to mate searching, as proposed by Baeza & Thiel (2007), but could also be due to characteristics of host-parasite relationships. These hypotheses should be tested experimentally. In addition,

and beyond the scope of the present study, *D. primitivus* is known to settle on another spatangoid, *Plagiobrissus grandis*, sympatric to *M. ventricosa* but rarer (Telford 1982). It would be important, in order to fully establish the relationship between *D. primitivus* and echinoids, to understand the role played by this second host in the population dynamics and structure of the parasitic crab.

Acknowledgements. We are grateful to the staff of the Discovery Bay Marine Laboratory for providing accommodations and laboratory facilities; a special thanks to Anthony for help during dives. The work was supported by a FRIA grant (to C.D.B.) and FNRS grants (to C.D.B. and C.D.R.). It is a contribution of the Centre Inter-universitaire de Biologie Marine (CBIM and of the groups 'Ecologie Evolutive' and 'Forme, Evolution, Diversité' of the laboratory Biogéosciences. We also thank M. Hendrickx for helpful information on Pinnotheridae and J. Lawrence for a final check of the manuscript.

Chapitre 2. Exploitation asymétrique de deux hôtes échinides par un crabe parasite et ses conséquences sur le cycle parasitaire

a. Résumé

Les différences observées dans l'exploitation des hôtes par des parasites illustrent bien le phénomène général d'adaptation biologique (Poulin 2007). L'exploitation de plus d'une espèce hôte peut augmenter la fitness du parasite, mais aussi modifier la configuration de son cycle vital. Plusieurs modèles suggèrent que l'adaptation d'un parasite à plusieurs hôtes peut conduire à la sélection d'un cycle complexe dans lequel les hôtes sont exploités séquentiellement (Brown et al 2001, Choisy et al 2003, Parker et al 2003). Le principe de ces modèles est la complexification d'un cycle simple par l'ajout en amont ou en aval d'un hôte complémentaire. Ce nouvel hôte sera favorisé et ensuite fixé dans le cycle du parasite s'il augmente la probabilité de rencontre des partenaires sexuels, s'il facilite la transmission ou encore s'il accroît la fitness du parasite. Durant sa vie post-métamorphique, le crabe *Dissodactylus primitivus* exploite deux échinides, *Meoma ventricosa* et *Plagiobrissus grandis*. Bien que sympatriques, ces deux hôtes présentent des différences au niveau biologique et écologique qui pourraient influencer la stratégie d'exploitation du crabe.

Le but de cette étude est de caractériser l'exploitation des deux hôtes par *D. primitivus*, au travers de deux questions principales: (i) Les deux hôtes sont-ils équivalents pour le crabe en tant qu'habitat? (ii) Les crabes montrent-ils une attraction pour chacun des deux hôtes, par rapport à d'autres refuges potentiels?

L'ensemble des échantillonnages et des expériences comportementales a été effectué à la station de biologie marine de Discovery Bay en mars 2007. La densité des deux hôtes a été estimée au moyen de transects. Chacune des espèces hôtes a été récoltée individuellement avec ses symbiotes. La **prévalence**⁹, la **charge parasitaire**¹⁰ et la composition en stades vitaux (mâles, femelles et juvéniles) du parasite ont été relevées pour les deux échinides dans le site de Western lagoon. La proportion en femelles gravides ainsi que le nombre d'œufs portés a été estimé chez les deux espèces hôtes. La préférence du crabe pour ses hôtes a été testée au moyen d'expériences de choix binaire. Six crabes étaient placés au centre d'un aquarium divisé en deux parties, contenant chacune un oursin pouvant servir de refuge. Ceux-ci étaient soit l'une des deux espèces hôtes, soit un oursin sympatrique non-hôte (*Clypeaster rosaceus*). Différentes combinaisons ont été testées sur des crabes adultes et juvéniles.

⁹ **Prévalence** : proportion d'individus hôtes infestés au sein d'une population (Combes 2001).

¹⁰ **Charge parasitaire** : nombre moyen de parasites par hôte (Combes 2001).

La densité moyenne de l'hôte *M. ventricosa* est de 2 individus / 10 m² alors qu'elle n'est que de 0,2 individu / 10 m² pour *P. grandis*. Durant sa vie post-larvaire, le crabe *D. primitivus* se retrouve bien sur ses deux hôtes avec une prévalence et une charge parasitaire élevées (Tableau 14). Néanmoins, *P. grandis* n'est infesté que par des crabes adultes, alors que *M. ventricosa* est infesté par toutes les classes d'âge des parasites, ce qui atteste d'une exploitation asymétrique des hôtes en fonction de l'âge des parasites (Figure 31). Les caractéristiques des crabes adultes ne diffèrent pas selon l'espèce hôte, mais les femelles trouvées sur *P. grandis* présentent une fécondité plus importante que celles de *M. ventricosa* (Figure 33). Les expériences de choix révèlent qu'aussi bien les adultes que les juvéniles sont attirés, chimiquement ou visuellement, par les deux espèces hôtes. Ces résultats contrastent bien avec ceux obtenus avec un oursin sympatrique non-hôte (*C. rosaceus*). Dès lors, *D. primitivus* est capable de détecter ses hôtes, mais n'est pas attiré par d'autres oursin pouvant servir de refuge alternatif (Figure 34). *Plagiobrissus grandis* pourrait être un hôte acquis secondairement et son ajout au cycle vital du crabe pourrait être adaptatif. Ce type de cycle asymétrique, dans lequel les parasites adultes présentent des fitness différentes selon l'espèce hôte considérée, ressemble à un stade transitoire d'un cycle simple vers un cycle complexe (Parker et al 2003). Selon ce modèle, le crabe vivait à l'origine exclusivement sur *M. ventricosa* (Figure 35a). Il aurait ensuite colonisé un oursin sympatrique dont les caractéristiques biologiques et écologiques auraient permis son exploitation. Dans l'état actuel des choses, la reproduction se déroule sur les deux hôtes, mais le recrutement a uniquement lieu sur *M. ventricosa* (Figure 35b). Toujours selon ce modèle, une hypothétique évolution du cycle de *D. primitivus* pourrait être la suivante : la fitness plus élevée des crabes vivant sur *P. grandis* pourrait amener les crabes à ne plus utiliser que cet oursin comme site de reproduction et *M. ventricosa* comme site de recrutement et de croissance des jeunes (Figures 35c). Une évolution d'un cycle complexe à partir d'un cycle simple pourrait donc être envisagée, l'exploitation asymétrique observée étant alors un stade transitoire. Cependant, une autre éventualité est que cette exploitation asymétrique soit stable et ce pour trois raisons. Premièrement, la fitness plus importante chez les crabes de *P. grandis* (17% d'oeufs en plus) ne serait pas suffisante pour faire de cet hôte le seul site de reproduction. Deuxièmement, la rareté des spécimens de *P. grandis* limiterait le taux d'infestation par les femelles, empêchant que cet hôte soit le seul site de reproduction. Pour finir, l'absence de préférence pour *P. grandis* suggère l'absence d'une spécialisation pour la reproduction sur cet hôte. Au vu de ces remarques, le cycle serait une exploitation asymétrique de deux hôtes sympatriques, stabilisée par deux force antagonistes: la qualité et la rareté de *P. grandis*.

b. Asymmetric exploitation of two echinoid host species by a parasitic pea crab and its consequences for the parasitic life cycle

Colin De Bruyn^{1,2}, Bruno David², Chantal De Ridder¹, Thierry Rigaud²

1Laboratoire de Biologie Marine (CP 160/15), Université Libre de Bruxelles, 50 avenue F. Roosevelt, 1050 Bruxelles, Belgium

2Université de Bourgogne, Laboratoire Biogéosciences, UMR CNRS 5561, 6 boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France

Marine Ecology Progress Series, 398: 183-191 (2010) doi: 10.3354/meps08315

ABSTRACT

Exploitation of more than one host species may increase fitness of parasites, but it also shapes their life cycle and evolution. During its post-metamorphic stages, the pea crab *Dissodactylus primitivus* parasitizes the echinoids *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis* with high prevalence. However, the present study provides evidence that *P. grandis* is infected by adult crabs only, attesting to an unusual asymmetry in host exploitation. Because of its low population densities, *P. grandis* could be a secondarily acquired host, and its addition to the crab life cycle could be adaptive. The latter hypothesis is tested in this study. Choice experiments revealed that adult and juvenile crabs were equally attracted to and able to settle on the 2 hosts. Most adult crab characteristics were not significantly different between the host species, but females living on *P. grandis* had higher fecundity. This asymmetric life cycle, where adult parasites infecting the 2 hosts show different relative fitnesses, looks like a transitory stage as predicted in models which predict the evolution of parasitic complex life cycles. However, this parasite asymmetric exploitation may also be a stable state, which occurs due to insufficient differences in crab fitness between the 2 hosts and the absence of host preference.

Key words: Ecto-parasitism, Multiple hosts, Fecundity, *Meoma ventricosa*, *Plagiobrissus grandis*

INTRODUCTION

Variation in the ability of parasites to exploit different hosts is illustrative of biological adaptation, and many parasites exploit different host species (Poulin 2007). This may have consequences for the evolution of parasite life history traits (Gandon 2004). Patterns are not simple, however, and parasite fitness may be increased by the exploitation of 2 or more host species (Morand et al 1995, Choisy et al 2003) but also by the specialisation toward a given host species (Joshi & Thompson 1995, Pedersen et al 2005). The exploitation of different host species may also have consequences for the parasite life cycle. Several models suggest that the adaptation of a parasite to several hosts may lead to the selection of a complex cycle in which the parasite will exploit the hosts sequentially (Brown et al 2001, Choisy et al 2003, Parker et al 2003). In all these models, the evolution toward complex cycles begins with the incorporation of a new host in the parasite cycle, either by upward incorporation (i.e. addition of a new host at the end of the parasite cycle, when parasites reach the adult stage and reproduce) or by downward incorporation (i.e. the incorporated host houses larval stages only) (Parker et al 2003). The addition of a new host in a parasite cycle can be selected if it increases the probability of the parasite finding a mating partner (Brown et al 2001, Rauch et al 2005), enhances parasite transmission (Choisy et al 2003, Parker et al 2003), or allows higher parasite fecundity (Parker et al 2003). These models are all constructed for trophically transmitted parasites, where the successive hosts are prey and predators, but Parker et al (2003) noted that they could be expanded to other transmission modes. While the evolution toward complex parasitic cycles has been investigated at the theoretical level (Brown et al 2001, Choisy et al 2003, Parker et al 2003, Gandon 2004), only few empirical or experimental case studies are available to support the models (Rauch et al 2005, Loot et al 2006).

There are ecological similarities between simultaneous and sequential multiple host exploitations. In both cases, there should be an overlap between the spatial distributions of the hosts. In addition, the cost-benefit ratio of exploiting several hosts instead of one should be to the advantage of the parasite. There is, however, one major difference: in the simultaneous design, the whole parasite cycle can be completed on either of the 2 (or more) hosts, while in the sequential design there is an asymmetric exploitation of the 2 hosts: immature parasites infect one host while adults infect the other (Parker et al 2003, Poulin 2007). All models directly or indirectly suppose transitory stages between simultaneous and sequential cycles. For example, during the process of upward incorporation, the first host

should harbour the complete parasite cycle and the second host only adult parasites, while during the downward incorporation the second host should be exploited by immature parasites only (Parker et al 2003). To our knowledge, this kind of asymmetrical exploitation of 2 hosts, a prerequisite for the evolution of a complex cycle, remains overlooked. Two examples could be the parasitic copepod *Lernaeocera lusci*, where adults occasionally co-occur with larvae in the intermediate host (Combes 2001), and the marine symbiotic crab *Allopetrolisthes spinifrons*, where juveniles live both on the final host and a number of other host species (Baeza & Stotz 2001).

The Pinnotheridae pea crabs have developed a variety of associations with various invertebrates. In this family, the species of the *Dissodactylus* complex (comprising *Dissodactylus* and *Clypeasterophilus* genera) exclusively colonize echinoid hosts on which they live as ectoparasites. In about 70% of studied cases, at least 2 sympatric host species are exploited, a phenomenon probably favoured by the host-switching behaviour of the crabs (Telford 1978b, 1982, Griffith 1987a, b, Pohle 1989, Pohle & Marques 1995, George & Boone 2003). *Dissodactylus primitivus* lives on 2 sympatric burrowing spatangoids, *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis* (Telford 1982, Griffith 1987a). Although they have been found exclusively in association with echinoids, recolonization experiments have shown that large juvenile and adult crabs are able to move toward another sea urchin (De Bruyn et al 2009). Unlike *M. ventricosa*, *P. grandis* is considered relatively rare, and, as such, its behaviour has been poorly studied (Kier & Grant 1965). Both species stay burrowed under 1 to 2 cm of sediment during the daytime and become epibenthic at night. *M. ventricosa* is a slow-moving echinoid, while *P. grandis* is much more active but during shorter periods (M. Telford, C. De Bruyn et al pers. obs.). *Dissodactylus primitivus* is a parasite of its host species: it imposes a fitness cost by feeding on the host tegument and spines (demonstrated for *M. ventricosa*), inducing wounds (Telford 1982, De Bruyn et al 2009). After a short series of free larval stages, the whole post-metamorphic crab cycle is fulfilled on *M. ventricosa* (De Bruyn et al 2009). Contrary to observations on *M. ventricosa*, reports of *D. primitivus* on *P. grandis* only mentioned adult crabs (Telford 1982). This led to the idea that *M. ventricosa* is the common host for *D. primitivus*, and *P. grandis* an alternative host. Therefore, this crab is a good example of a parasite exploiting 2 host species asymmetrically.

The aim of the present study was to investigate the hypothesis of an asymmetric parasitism by addressing 3 main questions rooted in the ecological differences separating the 2 hosts: (1) Are the 2 hosts equally suitable habitats for immature crabs? This question was explored by comparing the population density of the 2 hosts, the proportion of juvenile vs. adult crabs living on the 2 hosts, and using a choice experiment. (2) Are the 2 hosts equally successful locations for the adult crabs to meet a mating partner? This was investigated by comparing the sex ratios and the probability of finding couples on the 2 hosts. (3) Are fitness traits of female crabs similar on the 2 hosts? This question was addressed by comparing the female crab sizes and reproductive parameters between the 2 hosts.

MATERIALS AND METHODS

Sampling site and general sampling method

Meoma ventricosa, *Plagiobrissus grandis* and their parasite *Dissodactylus primitivus* were collected by SCUBA diving in March 2007 in the western part of Discovery Bay lagoon, on the north coast of Jamaica (De Bruyn et al 2009). The echinoids were collected at depths of 1.5 to 3 m, in patches of coral sand surrounded by areas of the sea grass *Thalassia testudinum*. The 2 host species are found by digging at the end of the trails created by their movement (Kier & Grant 1965). Moreover, specimens of a non-host sympatric sea urchin *Clypeaster rosaceus* were also collected to determine whether they harbored *D. primitivus* and to use them in choice experiments (see 'Host choice').

The estimation of density of the 2 host species was made simultaneously by searching the sea urchins under the sediment in 12 transects of 10 m long x 2 m wide (20 m^2), randomly distributed in the study area. These investigations were made prior to crab collections.

The crab census was made as described in De Bruyn et al (2009). The echinoids were collected and immediately slipped into separate bags or baskets to avoid any crab loss or transfer between hosts. Transfer to the laboratory was made within 30 min of capture. Each echinoid was measured to the nearest mm with a calliper rule. All crabs were removed with thin entomological forceps, counted, measured under a stereomicroscope (maximum cephalothorax width, nearest 0.5 mm) and sorted according to gender. The gender and the maturity stage (juveniles vs. adults) were differentiated as described in De Bruyn et al (2009). Several criteria were compared between host species: parasite prevalence

(proportion of echinoid infected), parasite mean burden (mean number of crabs per host), proportion of ovigerous female crabs, proportion of recently fertilized females (proportion of females with embryos at early developmental stage, i.e. before segmentation), and finally the fecundity of females corrected for their size. To test whether 1 of the 2 hosts might be a better mating site than the other, we classified the groups of adult crabs from each echinoid individual into 2 categories (De Bruyn et al 2009): 'mating possible' (when both sexes were present with at least a heterosexual couple per host) or 'no mating possible' (only one sex was present, e.g. single crabs, couples or groups of adults of the same gender).

For continuous data, normality and homogeneity of the variances were tested prior to analyses. Non-parametric tests were used when these conditions were not met (Wilcoxon rank scores and Kruskal-Wallis tests for comparisons of 2 or more independent groups, respectively, and Spearman's rank correlation for testing links between 2 variables). In other cases, general linear models (ANOVA or ANCOVA) or *t*-tests were used (e.g. comparisons of crab fecundities or sizes). Categorical data were analyzed with Fisher's exact tests or with logistic regressions. Models including several factors or covariables and their interactions were reduced by backward elimination of non-significant terms. The models presented are those that minimize Akaike's information criterion (AIC) (Quinn & Keough 2002).

Host choice

To test crab preference between host species, a binary choice design was used. Observations were made in 60 x 30 x 30 cm aquaria filled with oxygenated seawater. Each aquarium was divided into 2 equal compartments by a perforated translucent partition allowing water circulation. The partition left a narrow free space (2 cm) above the floor of the aquarium, allowing crab, but not echinoid, passage. The aquaria were filled, and the echinoids were set in place (1 sea urchin in each compartment) with running seawater and oxygen supply 15 min before starting each run. The air pump and the flow of water were stopped 5 min before each run to avoid hydrodynamic disturbances. For each run, 6 crabs (without sex distinction) were centrally placed under the partition. The position of the crabs (i.e. on echinoid 1, on echinoid 2 or free in the aquarium) was observed 1 h later. Seven to 30 runs were made for each experiment, with new crabs and echinoids being used for each run. The position of the different echinoid species was permuted every run. Crabs used in these experiments were collected on *Meoma ventricosa* or *Plagiobrissus grandis*, but used

separately. The gender of the crabs being tested was not considered since we found no difference in sex repartition between the 2 hosts (see 'Results'). Echinoids of similar sizes were used for all runs.

Six experiments were conducted. The first examined the behaviour of crabs when 2 *M. ventricosa* were offered, to check whether the crabs tend to show a preference for 1 of the compartments. The next 3 experiments tested preference for *M. ventricosa* vs. *P. grandis*. Adult and juvenile crabs from *M. ventricosa* were tested separately to estimate potential differences of host choice based on maturity stage. Juveniles used in the experiments were of the same size classes as those found during the census. Only 7 runs were made with adult crabs from *P. grandis* due to the scarcity of this sea urchin in the lagoon. This rarity also prevented us from testing further preference combinations for crabs infecting *P. grandis*. The fifth experiment tested host attractiveness by offering a non-host echinoid *Clypeaster rosaceus* to adult crabs collected on *M. ventricosa*. *C. rosaceus*, sympatric with *M. ventricosa* and *P. grandis*, was never found to harbor *Dissodactylus primitivus* (Griffith 1987a). This was confirmed by our sampling, as no *D. primitivus* were found on the 57 *C. rosaceus* collected. Finally, design neutrality was checked by offering 2 *C. rosaceus* to the crabs.

Crab choice was quantified for each run by calculating the proportion of crabs found on echinoid 1 and on echinoid 2, excluding crabs that remained free in the aquarium (i.e. those that made no choice at all). The proportion of these latter crabs was also recorded for analyses. Since data did not satisfy homoscedasticity and normality conditions, non-parametric tests were used to compare these proportions according to experimental series. Within groups, Wilcoxon signed rank tests were used to test if the distribution of the crabs between the 2 hosts departed from random distribution (i.e. 50% on each host). Wilcoxon rank score tests were used for comparisons between groups. All statistical tests were made using the program SAS JMP 5.0.1.2 (SAS Institute).

Table 14. *Dissodactylus primitivus* infecting *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis*. Prevalence and mean burden of *D. primitivus* parasitizing its 2 hosts *M. ventricosa* and *P. grandis*. Comparisons are made counting all crabs (juveniles plus adults) and the adult crabs only. n: number of crabs; N: number of echinoids. ^aFisher exact test, ^b95% confidence interval, ^cWilcoxon test

	<i>M. ventricosa</i>	<i>P. grandis</i>	p
All crabs			
n	116	47	
Prevalence	0.90	0.68	0.02 ^a
Mean burden	2.4 (1.9 - 2.8) ^b	1.2 (0.9 - 1.6) ^b	0.0006 ^c
Adult crabs			
n	66	43	
Prevalence	0.76	0.68	0.50 ^a
Mean burden	1.3 (1.0 - 1.7) ^b	1.2 (0.9 - 1.6) ^b	0.60 ^c
N	49	38	

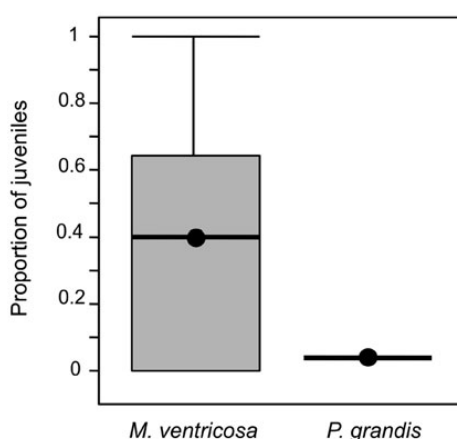


Figure 31. *Dissodactylus primitivus* infecting *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis*. Proportion of juvenile crabs per individual host based on host species. Boxes and whiskers show interquartile and interdecile ranges, respectively; bold horizontal lines show the median and means (●)

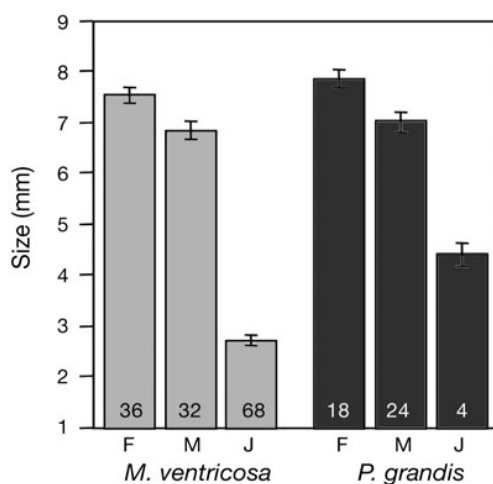


Figure 32. *Dissodactylus primitivus* infecting *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis*. Average size of crabs (mean $\pm$ SEM) based on gender and host species infected. The number of crabs is given at the bottom of each bar. F: females; M: males; J: unsexed juveniles

RESULTS

Relative abundance of hosts

The average density of *Meoma ventricosa* species was 2.0 ind. 10 m⁻² (minimum = 0, maximum = 10 in the 12 transects) and that of *Plagiobrissus grandis* species was 0.2 ind. 10 m⁻² (minimum = 0, maximum = 2). These 2 density estimates were significantly different (Wilcoxon rank score test: $Z = -2.5$; $p = 0.01$).

Prevalence and distribution of Dissodactylus primitivus on their hosts

A total of 116 and 47 crabs were collected on 49 *Meoma ventricosa* and on 38 *Plagiobrissus grandis*, respectively (to increase sample size, we actively searched for *P. grandis* hosts; therefore the relative proportion of hosts did not reflect their actual abundance, see 'Materials and methods: Sampling site and general sampling method'). When juvenile crabs were included in the analysis, both prevalence and mean burden were significantly higher on *M. ventricosa* than on *P. grandis*, but these parameters became similar when only adult crabs were considered (Table 14). Very few juveniles were found on *P. grandis* (4 crabs), and correspondingly, the proportion of juveniles was much lower on *P. grandis* than on *M. ventricosa* (Figure 31; Wilcoxon rank score test: $Z = -4.61$, $p < 0.0001$). In addition, these juveniles were larger than those found on *M. ventricosa* (Figure 32; $F_{1,70} = 9.1$, $p < 0.004$). Average cephalothorax width was more than 4 mm, close to the limit between juveniles and adults (De Bruyn et al 2009), while all sizes of juveniles were found on *M. ventricosa* (between 1.4 and 4.9 mm). The size of adult parasites was the same between the 2 hosts (Figure 32; $F_{1,54} = 0.36$, $p = 0.55$ for males; $F_{1,52} = 1.63$, $p = 0.21$ for females). The 2 hosts were much larger than their parasites (average width $\pm$ SE: 121 ± 13 and 114 ± 18 mm for *M. ventricosa* and *P. grandis*, respectively). In *M. ventricosa*, there was a positive correlation between mean crab burden, juveniles included, and host size (Spearman's rank correlation: $\rho = 0.41$, $p = 0.003$), but not between prevalence and host size (logistic regression: Maximum Likelihood Chi-Squared analysis, $\chi^2_{1,112} = 1.42$, $p = 0.23$). In *P. grandis* neither the mean burden nor the prevalence were related to host size ($\rho = 0.28$, $p = 0.23$ and $\chi^2_{1,38} = 2.78$, $p = 0.10$, respectively).

Table 15. *Dissodactylus primitivus* infecting *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis*. Number of echinoids harboring the 2 categories of adult crab groups based on mating possibility. (a) Mating possible: group of crabs consisted of at least 1 male and 1 female; no mating possible: single crabs, couples or groups of the same gender. (b) Mating possible: same as (a), but couples with ovigerous females were excluded; no mating possible: same as (a), but couples with ovigerous females were added (see ‘Prevalence and distribution of *Dissodactylus primitivus* on their hosts’)

	Host	Mating possible	No mating possible
(a)	<i>M. ventricosa</i>	17	20
	<i>P. grandis</i>	14	10
(b)	<i>M. ventricosa</i>	13	24
	<i>P. grandis</i>	14	10

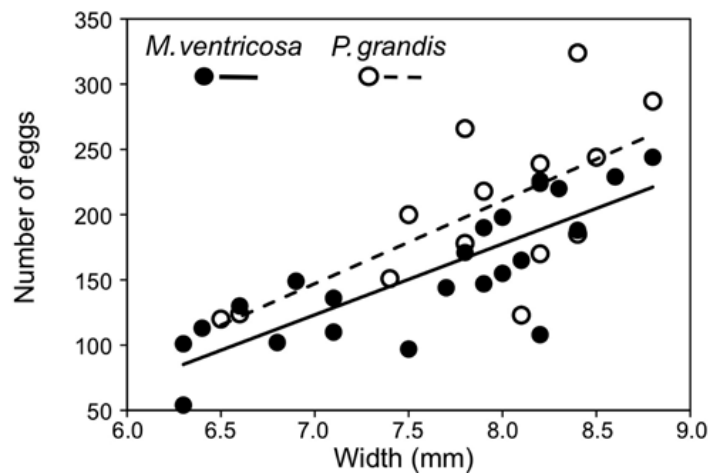


Figure 33. *Dissodactylus primitivus* infecting *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis*. Number of eggs carried by ovigerous female crabs based on crab size and host species

Crab sex ratios were not different between the 2 host species (Fisher's exact test: $p = 0.69$), and close to 1:1 (59.1% males on *M. ventricosa*, $n = 66$, and 53.5% males on *P. grandis*, $n = 43$). The proportion of hosts harboring parasites for which mating was potentially possible did not differ between *M. ventricosa* and *P. grandis* (Table 15a; Fisher's exact test: $N = 61$, $p = 0.43$). The result remains the same using a more conservative approach in which ovigerous female parasites which had already mated were considered not available for immediate mating (Table 15b, Fisher's exact test: $N = 61$, $p = 0.11$).

The proportion of adult females that were ovigerous did not differ significantly between host species (Fisher's exact test: $N = 54$, $p = 0.37$). Neither the sizes of ovigerous females (female width = 7.61 ± 0.16 mm SEM on *M. ventricosa* and 7.86 ± 0.18 mm SEM on *P. grandis*) nor the proportion of females carrying developed vs. young embryos differed significantly between host species ($t_{35} = 1.02$, $p = 0.32$; Fisher's exact test: $N = 37$, $p = 0.20$, respectively). However, the average number of eggs carried by ovigerous female crabs found on *P. grandis* was larger than on *M. ventricosa* (Figure 33, ANCOVA global model: $F_{3,33} = 17.9$, $p < 0.001$; effect of female size: $F_{3,33} = 37.9$, $p < 0.001$; effect of host species: $F_{3,33} = 5.2$, $p < 0.03$; model reduced from an original model including female size as covariate, host species and egg maturation stage as fixed factors, and all interactions).

Choice experiments

When 2 *Meoma ventricosa* were offered, the crabs distributed themselves equally between the 2 sides of the aquaria (Figure 34a). Neither adult nor juvenile crabs collected on *M. ventricosa* showed a significant preference for one or the other echinoid host, *M. ventricosa* and *Plagiobrissus grandis*; there was nevertheless a slight trend for adult crabs to be more attracted by their host of origin ($p = 0.054$, Figure 34a). No significant trend was observed for the crabs taken on *P. grandis*. In contrast, their original host was markedly attractive for crabs when the choice was offered between *M. ventricosa* and the non-host echinoid *Clypeaster rosaceus* (Figure 34a). There was no bias in the experimental design, since *Dissodactylus primitivus* showed no preference for one side or the other of the aquarium when 2 *C. rosaceus* were provided. When at least one natural host was provided, almost no crab was found free in the aquarium after 1 h (they were found between the spines of one or the other echinoid) (Figure 34b). When only a non-host echinoid species of *D. primitivus*

was provided in both compartments (C-C_M group, Figure 34), most crabs did not make any choice and remained free in the aquarium (Figure 34b) (Wilcoxon rank score tests comparing C-C_M group with others: all $p < 0.0002$), showing that the crabs excluded this non-host sea urchin as potential shelters.

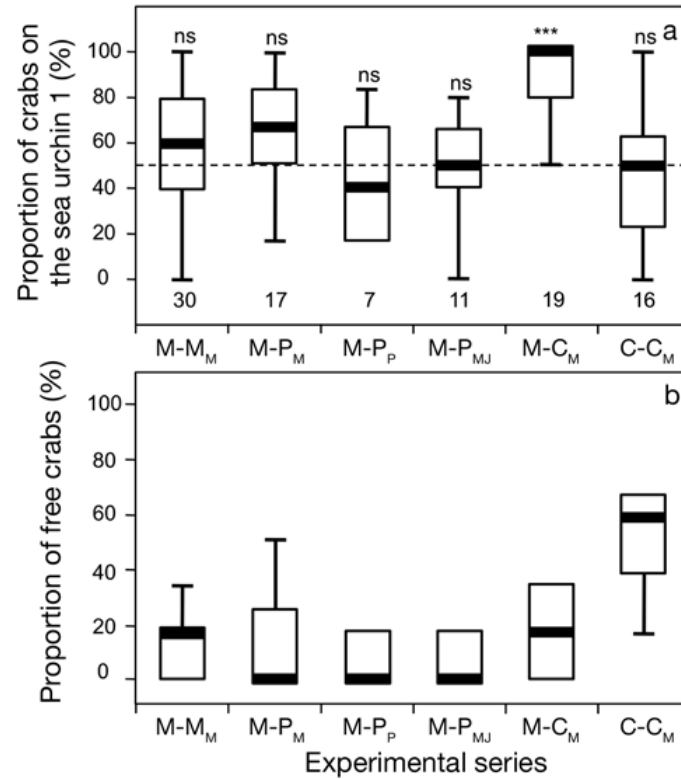


Figure 34. Average distribution of crabs 1 h after the beginning of the choice experiments, based on the experimental series. (a) Differential choice: proportion of crabs found on echinoid species 1, among crabs settled on echinoids (see below for echinoid species order in the test). (b) Proportion of crabs (out of a total of 6) not settled on echinoids (i.e. remaining on the aquarium floor) Experimental series are as follows: the first letter is for species 1, the second for species 2 and subscript letters are for the host species from which the crabs being tested were collected. M: *Meoma ventricosa*; P: *Plagiobrissus grandis*; C: *Clypeaster rosaceus*. All subscripts refer to host species from which the adult crabs were collected, with the exception of M-P_{MJ} where subscript J refers to juvenile crabs. Shaded bars are the medians, boxes and whiskers depict the interquartile and interdecile ranges, respectively. Significance levels after Wilcoxon signed rank tests for the deviation from balanced distribution (dotted line) are given above the bars: ns: $p > 0.05$; *** $p < 0.0001$. Number of runs per experiment are given in (a)

DISCUSSION

The 2 sympatric spatangoids *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis* are both hosts of the crab *Dissodactylus primitivus*. Mean burden and prevalence were lower on *P. grandis* than on *M. ventricosa*. The 2 hosts nevertheless harbored the same number of adult parasites, but juveniles were much more abundant on *M. ventricosa*. The rare juveniles found on *P. grandis* were all close to sexual maturity, and we can consider that only the adult stages infect *P. grandis*, while all post-metamorphic stages occur on *M. ventricosa* (see De Bruyn et al 2009). Therefore, *P. grandis* should be considered as a specific type of host harbouring only adult parasites. Owing to this characteristic, and to the scarcity of *P. grandis*, this echinoid may be considered as a facultative host for *D. primitivus*; however, parasites reproduce on the species as well as, or even better (see below) than, on *M. ventricosa*.

Although most (70%) species of the *Dissodactylus* complex exploit 2 or more host species, *D. primitivus* is the first reported to display an asymmetric exploitation of its hosts (Telford 1978b, 1982, Griffith 1987a, b, Pohle 1989, Pohle & Marques 1995). However, since the life cycles of this complex of crabs remain largely unstudied, further research is needed to assess whether or not the case of *D. primitivus* is unique. *Dissodactylus primitivus*, like many symbiotic marine crabs (Baeza & Thiel 2007), displays frequent host-switching behavior. A previous field experiment showed that both juvenile and adult crabs rapidly colonize uninfected *M. ventricosa* host within a few days (De Bruyn et al 2009). A first hypothesis explaining asymmetry in host exploitation was that juveniles are not attracted by *P. grandis* during host switching and therefore do not settle on this host. Our experimental choice test did not support this hypothesis. The 2 host species were equally attractive to both adult and juvenile crabs. This contrasts sharply with the choice between host and non-host echinoids: *D. primitivus* is able to detect its usual hosts *M. ventricosa* and is not attracted by other potential refuges. Therefore, their 2 hosts equally attract *D. primitivus* crabs of all stages, either visually or chemically. This differs from other *Dissodactylus* species that generally display different attractiveness according to the host species (Gray et al 1968, Reeves & Brooks 2001). Our choice experiment nevertheless suggests that there could be a slight imprinting for adult crabs living on *M. ventricosa*, since they showed a slight trend towards the host species where they were captured (Figure 34). This suggests that crabs spend more time on *M. ventricosa* than on *P. grandis*.

An alternative hypothesis explaining the discrepancy between field and experimental data could be that the free pre-metamorphic larvae are unable to settle on *P. grandis*. This hypothesis can, in turn, be related to 4 non-exclusive explanations that remain to be explored: (1) Since our choice experiments only tested short-term preference, *P. grandis* might not be a suitable host for long-term settlement and survival of earliest juveniles. (2) As *P. grandis* is the host where female crabs show better fitness (see below), adults may actively remove young juveniles from this host to avoid overexploitation of this resource. This would be different from *Allopetrolisthes spinifrons* where adults tolerate small recruits on their hosts (see Baeza et al 2002). (3) A difference in host behaviour could explain a differential accessibility. Both echinoids spend the daytime burrowed in the sediment, but *M. ventricosa* moves slowly over the sediment surface throughout the night, whereas *P. grandis* makes short fast runs and spends little time unburrowed (with previous authors even suggesting it remains burrowed always; Chesher 1969, Hammond 1982). The burrowing behavior of *P. grandis* could prevent larval recruitment and consequently limit the occurrence of juvenile crabs. This last explanation supposes that the small juveniles do not move between hosts once installed on *M. ventricosa*. This is supported by the observations of De Bruyn et al (2009), who showed that only large juveniles and adults were able to colonize new hosts. (4) Another possibility is that recruits use chemical cues, and that *P. grandis* does not release chemical cues that would allow small recruits to find this host. Chemodetection is not an exception within the *Dissodactylus* complex (Johnson 1952, Gray et al 1968), but its use during recruitment has never been demonstrated. Asymmetrical exploitation of hosts has already been shown in another marine symbiotic crab, the porcellanid *A. spinifrons*. In this case, adults live only on a sea anemone, but the larvae and the small juveniles are also found on several intermediate hosts (Baeza & Stotz 2001). In contrast to *D. primitivus*, additional hosts have been observed for the juvenile stages of *A. spinifrons* are for the juvenile stages. Here, the juveniles are attracted to, and try to settle on the sea anemone, but adults can remove them (if they are too large) to preserve this scarce resource, leading juveniles to colonize other hosts.

Why does a facultative host occur in the *D. primitivus* cycle? Generally, the introduction of an additional host into the life cycle provides adaptive advantage to the parasite (Poulin 2007). A first hypothesis is that the additional host could increase the probability for the adult parasites to find a mating partner (Brown et al 2001). However, we found no

significant difference between the 2 hosts for several reproductive parameters (proportion of heterosexual couples, proportion of ovigerous females, reproduction synchrony). A supplementary argument against an 'ideal mating site' hypothesis comes from the fact that pinnotherid females possess 2 spermathecae, allowing sperm storage (Guinot 1979, Bell & Stancyk 1983). This trait has not been studied in *D. primitivus*, but comparison with closely related species suggests that *D. primitivus* also has this characteristic. Owing to the host-switching behavior, fertilization and incubation locations can therefore be different. A second hypothesis explaining the addition of a supplementary host is the increase of the parasite reproductive success (Parker et al 2003). This is supported by our data, since the ovigerous female crabs found on *P. grandis* produce more eggs than those living on *M. ventricosa*, while no significant difference in size was found between the 2 hosts. *P. grandis* could be a host providing better resources. However, according to Telford (1982), feeding behavior and gut contents of adult crabs are similar on both hosts. This difference in fecundity could be linked to other factors. Owing to its burrowing behavior, *P. grandis* may provide a habitat less exposed to predators, and therefore a less stressful one, allowing better resource allocation to reproduction. Alternatively, the 'best quality' females could win the competition, and the observed pattern of fittest females on *P. grandis* could result from a competition process.

The asymmetrical host usage during the life cycle of *D. primitivus* displays some similarities with the transitional stage predicted by the 'upward incorporation' model of evolution of complex parasite life cycles (Parker et al 2003). This model proposes that a single host life cycle can evolve toward a 2-host life cycle if adult parasites are able to infect a new host after the original host, the latter becoming subsequently an intermediate host. This evolution would be possible if, during a transitional stage, adult parasites increased their lifetime reproductive success on the second host relative to the first one. Finally, achievement of the 2-host life cycle would be possible after the selection of a delayed maturity on the first host. *D. primitivus* presents a life cycle in which only the first host is used for larval recruitment and growth, while the 2 hosts harbor the reproduction of the adult crabs, and in which females have a higher fecundity on the facultative host (Figure 35b). This situation could have evolved from a single-host life cycle (Figure 35a), because *M. ventricosa* is the more accessible host, where the whole crab life cycle can be achieved. Because fecundity of females living on *P. grandis* is higher relative to those living on *M. ventricosa*, the present situation could evolve toward a 2-host life cycle, where *M.*

ventricosa would be the intermediate host and *P. grandis* the final host (Figure 35c) (Parker et al 2003). However, the present situation may also be quite stable for at least 3 reasons. First, the relative fitness benefits have to be quite high to allow selection of reproductive suppression on the first host (Parker et al 2003), and the observed fecundity benefits for female crabs living on *P. grandis* are not that important (around 17% more eggs). Second, the scarcity of *P. grandis*, and thus the limited opportunities females have to infect it, could counterbalance its intrinsic quality as resource. The higher fecundity would therefore concern too few females to lead to a fixation of reproduction on *P. grandis* (Loot et al 2006). Third, the absence of crab preference for one or the other host suggests an absence of specialization for reproduction on *P. grandis*, and therefore no ongoing selection toward a 2-host life cycle. In conclusion, we suggest that the observed present situation could be illustrative of an equilibrium resulting from antagonistic driving forces: better resources on the one hand, promoting a sequential life cycle on 2 hosts, and scarcity of the best host on the other hand, preventing the system from evolving further. However, more information (e.g. on temporal variation in host biology, or about the causes of crab mobility) would be necessary to improve our understanding of this life cycle and its evolution.

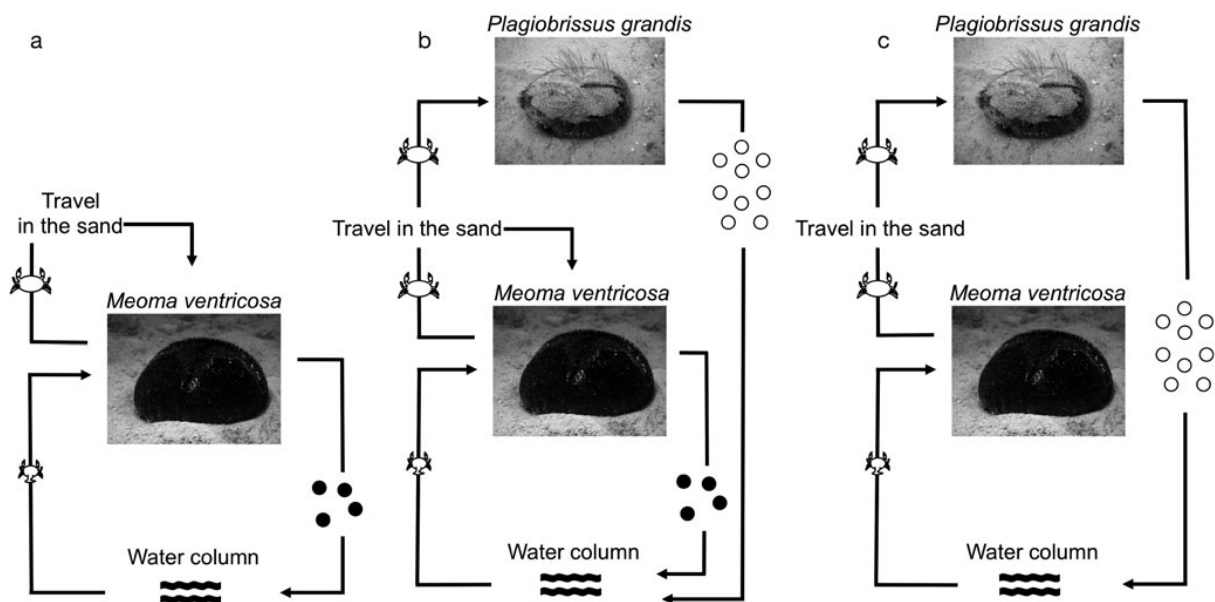


Figure 35. *Dissodactylus primitivus*. Suggested evolution of the life cycle of *D. primitivus*. (a) Hypothetical ancestral 1-host cycle: recruitment, reproduction and brooding occur on *Meoma ventricosa*. (b) Present life cycle with 2 hosts: recruitment and juvenile growth occur only on *M. ventricosa*, while reproduction and brooding take place on both *M. ventricosa* and *Plagiobrissus grandis*. (c) Hypothetical future evolution with 2 successive hosts: recruitment and juvenile growth take place on *M. ventricosa*, but reproduction occurs only on *P. grandis*. Circles are planktonic larvae (●: larvae from *M. ventricosa* crabs; ○: larvae from *P. grandis* crabs); crabs depicted as small represent first juvenile stage (infective stage), larger crabs represent adults

Acknowledgements. We are grateful to the staff of the Discovery Bay Marine Laboratory for providing accommodation and laboratory facilities. The work was supported by a doctoral grant from the Belgian National Science Association (FRIA) (to C.D.B.) and by research grants from the Fonds de la Recherche Scientifique (FNRS) (to C.D.B. and C.D.R.) and Région Bourgogne (to B.D. and T.R.). It is a contribution of the Centre Interuniversitaire de Biologie Marine (CIBIM) and of the groups 'Ecologie Evolutive' and 'Forme, Evolution et Diversité' of the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) laboratory Biogéosciences. Finally, we thank G. A. Parker, M. Thiel, and an anonymous reviewer for their helpful comments on the manuscript.

Chapitre 3. Détection chimique et attraction différentielle chez un crabe parasite infectant deux espèces d'échinides

a. Résumé

Les mécanismes de détection et du choix des hôtes sont importants chez les parasites mobiles. Chez de nombreux parasites, la transmission d'hôte à hôte est un événement ponctuel et irréversible. Par exemple, le stade larvaire peut infecter un hôte où le stade adulte s'installera de façon permanente (Combes 2001, Poulin 2007). Cependant, certains parasites peuvent infecter de nouveaux hôtes tout au long de leur vie (Boeger et al 2005, Bandilla et al 2008). La transmission continue permet, notamment, la recherche de partenaires sexuels, la désertion d'un hôte moribond ou encore l'évitement de la résistance de l'hôte. Chez les crustacés symbiotiques, la transmission continue ou le changement d'hôte sont courants. Nombre d'entre eux ont développé une détection spécifique des stimuli émis par l'hôte (Combes 2001). Cette détection est fondamentale dans la reconnaissance, la spécificité et la fidélité à ce dernier (Bell 1984, Thiel et al 2003a, b). Cependant, plusieurs paramètres, dont le nombre d'hôtes exploités, peuvent affecter la spécificité de la reconnaissance chimique. Au sein des Pinnotheridae, le complexe *Dissodactylus* constitue un bon modèle d'étude de la détection de l'hôte et de sa spécificité, car il regroupe à la fois des espèces spécifiques et généralistes. Le crabe *Dissodactylus primitivus* se situerait à mi-chemin entre ces deux états en exploitant deux hôtes (De Bruyn et al 2010).

Le but de cette étude est d'analyser la capacité de *D. primitivus* à discriminer chimiquement ses hôtes au moyen d'un dispositif de tube en Y. Trois questions ont orienté ce travail : (1) Le crabe détecte-t-il et distingue-t-il chimiquement *M. ventricosa* des autres oursins irréguliers sympatriques ? (2) *D. primitivus* est-il capable de distinguer chimiquement *Meoma ventricosa* de *Plagiobrissus grandis*? (3) Le dernier hôte sur lequel a vécu un crabe (c'est à dire l'hôte sur lequel il a été récolté) influence-t-il son choix vis-à-vis de ces deux hôtes ?

Le dispositif expérimental est un système de tube en Y (Figure 36, Johnson 1952). Cinq séries expérimentales ont été effectuées avec des crabes issus de *M. ventricosa* pour l'étude de la détection de cet hôte (Tableau 16). A chaque série d'expériences a été associé un temps de réaction du crabe (le temps entre le début de l'expérience et la mise en mouvement du crabe) et un temps de choix (le temps que le crabe met à choisir une des deux branches du tube en Y une fois arrivé à la bifurcation). Ces deux mesures ont permis d'estimer de la motivation du crabe à rejoindre un hôte. Pour finir, deux séries expérimentales ont été réalisées avec des

crabes issus de *P. grandis* et de *M. ventricosa* afin de tester la préférence du crabe pour ses hôtes (Tableau 17).

Dissodactylus primitivus est attiré significativement par son hôte *M. ventricosa*, si une source alternative comme de l'eau de mer ou un oursin non hôte (*Clypeaster rosaceus*) lui est proposée en parallèle (Tableau 16b-c). De plus, le crabe ne détecte pas chimiquement *C. rosaceus* (Tableau 16d). Le temps de réaction est généralement plus long dans les séries où *M. ventricosa* est présent que dans celles où il est absent et le temps de choix ne diffère pas entre les cinq séries (Tableau 16). Les crabes provenant de *M. ventricosa* ont une préférence marquée pour celui-ci (Tableau 17a). À l'inverse, ceux qui sont issus de *P. grandis* ne présentent pas de préférence pour l'un des deux hôtes (Tableau 17b). Pour finir, il n'existe pas d'effet du sexe sur le choix des hôtes.

Les crabes *D. primitivus* vivant sur *M. ventricosa* détectent donc chimiquement cet hôte et le préfèrent à d'autres sources potentielles, incluant *P. grandis*. En revanche, les crabes qui sont issus de *P. grandis* ne font aucune distinction entre les deux espèces hôtes. Ainsi, le chimiotactisme pourrait aider le crabe lors de ses changements d'hôte fréquents. À l'inverse de nos prédictions, le signal chimique de l'hôte augmente le temps de réactivité du crabe. Pour le brachyoure, un signal fort pourrait signifier qu'il se trouve sur ou à proximité immédiate de l'hôte. En absence de signal chimique, le crabe serait plus prompt à se déplacer à la recherche d'un nouvel hôte. En effet, dans une telle situation, la meilleure stratégie serait de se déplacer et de rechercher l'hôte le plus rapidement possible (Roitberg et al 2010).

Le crabe présente une attirance chimique asymétrique pour ses hôtes. Trois hypothèses pourraient expliquer ce phénomène. Premièrement, le symbiote serait attiré par l'hôte le plus fréquent dans la zone, qui est *M. ventricosa*. Deuxièmement, le signal chimique de *P. grandis* serait mal détecté par le crabe. Troisièmement, les crabes adultes trouvés sur *M. ventricosa* pourraient être plus attirés par cet oursin à cause d'une imprégnation innée ou acquise pour cet hôte. En effet, les juvéniles ne sont recrutés que sur ce dernier. Quelle qu'en soit la cause, l'attraction chimique asymétrique suggère que ce mécanisme est plastique et que *D. primitivus* aurait bien un état intermédiaire entre symbiote généraliste et spécialiste au sein du complexe *Dissodactylus*.

b. Chemical host detection and differential attraction in a parasitic pea crab infecting two echinoids

Colin De Bruyn^{1, 2}, Chantal De Ridder¹, Thierry Rigaud² and Bruno David²

¹Laboratoire de Biologie Marine (CP 160/15), Université Libre de Bruxelles, 50 avenue F. D. Roosevelt, 1050 Brussels, Belgium

²Biogéosciences, UMR CNRS 5561, Université de Bourgogne, 6 boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France

Manuscrit accepté pour publication par *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*

ABSTRACT

Mechanisms of host detection and host choice are important for mobile parasites or symbionts that frequently move among host individuals. The parasitic pea crab *Dissodactylus primitivus* is an ectoparasite exploiting asymmetrically two spatangoid echinoid hosts, *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis*. The entire life cycle takes place on *M. ventricosa*, while only adults colonize *P. grandis*, the host where female's fitness is the greatest. *Dissodactylus primitivus* frequently exhibit host-switching, a behaviour that raises the question of host detection. To test if adult crabs are able to detect potential hosts and are attracted to the host where their fitness is greater, crab olfactory responses were investigated using a Y-tube. We first showed that *D. primitivus* are attracted by olfactory cues of *M. ventricosa*, versus those of a non-host echinoid species, *Clypeaster rosaceus* sharing the same habitat. This attractiveness was not due to a yellowish water-soluble substance secreted by the host. We then showed that the chemical attraction to the two hosts was different according to the origin of the crabs. Crabs coming from *M. ventricosa* were more attracted to this host than to *P. grandis*, a pattern compatible with an imprinting phenomenon. However, crabs collected from *P. grandis* were equally attracted to both host species, as if imprinting was lost after host change. We propose that the pattern of *D. primitivus* host detection could be intermediate between the behaviour of specialist and generalist symbionts.

Key words : Parasite, Host-switching, Chemical detection, Imprinting, Echinoid, Pea crab

INTRODUCTION

Most symbionts or parasites possess at least one free-living stage, which has to locate and colonize a host individual to fulfill the parasitic life cycle. Therefore, many parasites have evolved specific host detection, relying on various types of stimuli usually emitted by the host and detected by the parasites (Combes 1991, 2001). In numerous cases, host cues are chemical (Haas et al 1995; Combes 2001). Detection of chemical cues emitted by the host is fundamental in host recognition, host specificity and host fidelity (e.g. Bell 1984; Patton et al 1985; Brooks 1991; Brooks & Rittschof 1995; Reeves & Brooks 2001; Thiel et al 2003a, b). Optimizing the time of recognition of the host is also important for the symbiont, because it allows a quick choice of its host and reduces the risk of mortality when changing host (e.g. by predation) (Vinson 1976, VandenSpiegel et al 1998). Several parameters can influence the process of chemical host recognition. In particular, the number of host species can affect the specificity of the attraction. The host recognition specificity decreases with an increase in number of host species (Stevens 1990b; Poulin 2007). However, symbionts infecting several hosts can be individually sensitive to olfactory imprinting: they prefer the host species on which they have already lived (Immelmann 1975). Usually, the transmission between hosts is a punctual and irreversible event. For example, a larval stage infects a host where the adult phase will take place permanently (Combes 2001; Poulin 2007). However, several groups of mobile parasites are able to infect new hosts throughout their life cycle (Boeger et al 2005; Bandilla et al 2008; De Bruyn et al 2010). This continuous transmission is a response to different selective pressures. It allows the search for a mate, the desertion of an overcrowded or dead host, or the avoidance of host resistance (Bell 1984; Boeger et al 2005; Bandilla et al 2008). Detection of hosts is maintained throughout the parasite life, a characteristics essential in the continuous transmission. This characteristic can even be more pivotal in the sequential or simultaneous exploitation of several hosts.

Marine crustacean parasites are good biological models for studying the ecology and evolution of host switching: adult stages are often motile and host switching is common. Particularly, members of the decapod family Pinnotheridae (pea crabs) have developed symbiotic associations with a wide set of macro-invertebrate hosts (e.g. mollusks, echinoderms). Most pea crabs usually infect their host during early stages (larval or first crab stage), then metamorphose and spend their adult life on the same host individual (Christensen & McDermott 1958; Wells & Wells 1961). Nevertheless, in some species, the crabs do not occupy the same individual host for their entire lifetime, but may exhibit a host switching

behaviour and therefore infect many different hosts (Gray et al 1968; Bell 1984; Griffith 1987a; Stevens 1990b; Grove & Woodin 1996, Baeza & Thiel 2007; De Bruyn et al 2009). These switches may be motivated by conspecific factors (aggression, competition, mating), the death and/or disease of the host, or by predation pressure (Bell 1984, Baeza & Thiel 2007). Once a crab has started the switching process, host recognition plays a critical role in the completion of the life cycle, allowing the selection of an appropriate new host (Gray et al 1968; Derby & Atema 1980; Stevens 1990b). Species of the *Dissodactylus* complex (including the genera *Dissodactylus* and *Clypeasterophilus*) exclusively colonize irregular echinoid hosts. These group, in particular, provide excellent opportunities to study host detection and host specificity as they contain highly host-specific species (e.g. *Clypeasterophilus rugatus* on the sea biscuit *Clypeaster rosaceus*) as well as generalist species, (e.g. *Dissodactylus mellitae* and *Dissodactylus crinitichelis*) that infect between five to seven echinoid hosts. Host chemodetection has been described for the three species cited above (Gray et al 1968; Griffith 1987a; Reeves & Brooks 2001). *Clypeasterophilus rugatus* detects and recognizes specifically its host species, and its natural preference is not changed after artificial conditioning on a non-host species; the imprinting is stable (Reeves & Brooks 2001). In contrast, for the generalists *D. mellitae* and *D. crinitichelis* imprinting can be temporary and modified by artificial conditioning (Gray et al 1968; Reeves & Brooks 2001). Therefore being at the limit of the imprinting definition given by Immelman (1975). In generalist species, this behavioural plasticity may be important if one host species becomes less suitable than others (Reeves & Brooks 2001).

The pea crab *Dissodactylus primitivus* is at an intermediate state between specific and generalist symbionts. It is associated with two sympatric spatangoids, *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis* (Telford 1982; Griffith 1987a), and asymmetrically exploits these hosts (De Bruyn et al 2010). This species is a parasite that feeds on its hosts, obtaining its food by clipping healthy spines and appendices of the echinoid, and causing extensive damage (Telford 1982, De Bruyn et al 2009). Recruitment of juveniles and their development occurs only on *M. ventricosa*. The crabs subsequently display host switching behaviour, allowing frequent colonization of new host individuals. Adult crabs colonize both host species, where reproduction and spawning occur (De Bruyn et al 2010). The fact that females infecting *P. grandis* have a slightly higher fecundity than those infecting *M. ventricosa* stresses the importance of host recognition by *D. primitivus* (De Bruyn et al 2010). Indeed, recognizing and specifically seeking *P. grandis* could be advantageous for female crabs. In aquaria, the

pea crabs *D. primitivus* detect and distinguish their two host species from a non-host echinoid species, but they do not markedly prefer one of their two hosts (De Bruyn et al 2010). However, the mechanisms regulating detection in *D. primitivus* remain unknown, mainly because previous experimental designs did not separate olfactory cues from visual or tactile cues.

The aim of this study is to analyze the ability of *D. primitivus* to chemically recognize its two host species at distance. We conducted choice experiments using a Y-tube design to address the following questions: (1) Are the crabs able to chemically detect *M. ventricosa* and to distinguish it from another irregular echinoid sharing the same habitat? In that context, we hypothesize that mucus secretions produced by the echinoid integument could be a chemical cue for the crabs. Knowing that *M. ventricosa* secretes a yellowish water-soluble substance when it is disturbed, we tested if this secretion could attract *D. primitivus* or repel it, therefore helping to limit the parasitic burden. (2) Are the crabs able to chemically distinguish between their two host species, is there an imprinting, and is host choice dependent on crab sex? In complement to the nature of the choice made by each crab, we analyzed if in the absence of host detection crabs refrain from making searching movements (therefore optimizing their movements) or, conversely, if the absence of host detection refrain from movements. We therefore analyzed the reaction time (between the beginning of the experiment and the first movement), the choosing time (between first movement and choice) and finally the proportion of crabs making a choice.

MATERIALS AND METHOD

Sampling

Meoma ventricosa, *Plagiobrissus grandis* and their ectoparasites *Dissodactylus primitivus* were collected in the western area of Discovery Bay (north coast of Jamaica) in March 2005, 2007 and 2009 (see details in De Bruyn et al 2009) at depths from 2 to 8 meters by scuba diving. The echinoids were carefully placed into separate bags or baskets to avoid any loss or exchange of crabs between individual hosts. The echinoids were transferred to the laboratory within 30 minutes after capture and the parasites were immediately separated from the hosts. For transfer, the echinoids were placed into a seawater tank. The sex and the maturity stage of the crabs (juveniles versus adults) were differentiated as described in De Bruyn et al (2009).

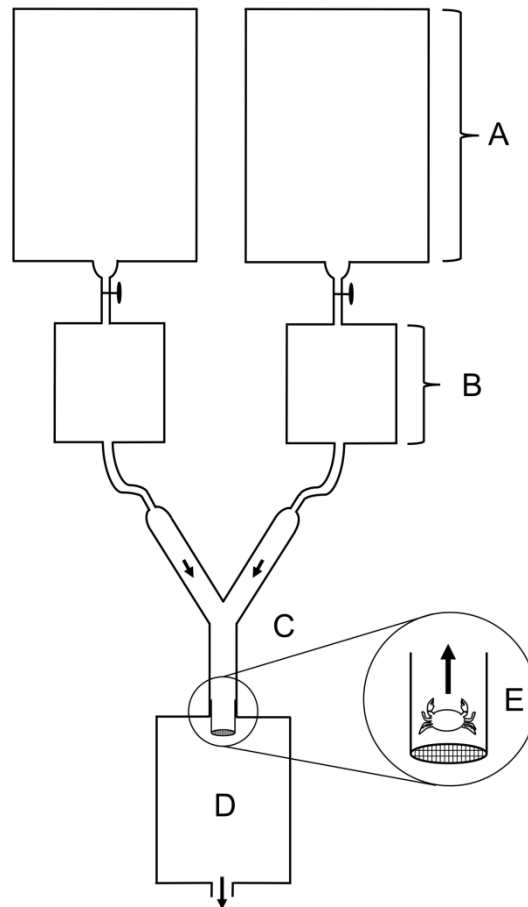


Figure 36. Experimental device. A: first module corresponding to the sources, B: smaller tanks acting as flow regulators, C: glass Y glass, D: aquarium to evacuate seawater, E: movable blind tube terminated by a grid in which a crab is placed. Gravity and taps regulate the water flow (Module A is higher than B and B is higher than C)

The hosts and their adult parasites were kept alive separately in open circulating marine aquaria. Chemodetection experiments were conducted during the next 48 hours. All echinoids were returned to the lagoon after each experimental series. The yellowish substance was obtained by placing five *M. ventricosa* upside down in a 40 liter tank filled with seawater, a disturbance inducing production of the pigmented substance. The water-pigment mixture was used for chemodetection experiments. It was replaced every two hours with a fresh preparation produced by new individuals to avoid oxydation.

Experimental device

A Y- tube, based on the device described by Johnson (1952), was used to study the chemical detection of echinoid species by adult crabs (Figure 36). The device has four modules interconnected by plastic pipes, 4 mm in diameter, and regulated by taps. The first module (Figure 36, A) corresponds to the sources. It consists of two five litres aquaria filled with seawater into which the echinoids were eventually placed. Their outflows go separately by gravity to the second module (Figure 36, B) that consists of two smaller one litre tanks that act as flow regulators. The third module (Figure 36, C) is the glass Y tube itself placed in a perfectly horizontal position. Its diameter (15 mm) allowed the crabs to move freely. The Left/Right (L/R) distal branches (14 cm in length) of the Y join the proximal branch (11 cm in length). The downstream end of the proximal branch has a small removable blind tube terminated by a grid into which a crab was placed at the beginning of each experiment (Figure 36, E). The system abuts in another aquarium connected to a sink (Figure 36, D). Water flow in the joint branch, 300 ml / min, was regularly checked, fluorescein dye being used to ensure laminar flow. Lighting was non-directional. The crab was unable to see the olfactive source along the entire length of the system. In order to reinforce the chemical cue when echinoids were placed in the first module, the aquaria containing the echinoids were filled with water coming from a 45 litres tank containing three echinoids of the same species (“marked seawater”). This also prevented the cue to come from a single individual. During each run, water from the same tank was gently added to the aquarium to replace the lost volume and maintain the outflows by gravity constant. The echinoids used as sources were not the original hosts of the tested crabs in order to avoid potential individual recognition. Different crabs were used for each run. When reacting, the crab moved from the blind tube into the proximal branch of the Y-tube up to the intersection of the distal branches where it faced the flow coming from the provided stimuli. A run was considered invalid if the crab did not choose one of the paired branches after ten minutes. After each run, the Y tube and connecting tubes

were rinsed using fresh seawater. Within each series, the source aquaria were randomly swapped.

Chemodetection of Meoma ventricosa

Five experimental series were conducted using crabs from *M. ventricosa*. In a control series, we first tested the lateral neutrality of the design by providing fresh seawater in both the L and R distal branches (30 runs). The second series tested the attractiveness of *M. ventricosa* versus seawater (65 runs). The third series compared the attractiveness of *M. ventricosa* with that of a non-host echinoid, *Clypeaster rosaceus* (40 runs). A control series also tested the chemical attraction of *C. rosaceus* versus seawater in a fourth set of experiments (30 runs). Finally, we tested the attractiveness of the yellowish substance versus seawater (49 runs).

Chemical discrimination between Meoma ventricosa and Plagiobrissus grandis

Two experimental series tested the preference between *M. ventricosa* and *P. grandis*. The first series involved crabs from *M. ventricosa* (40 runs). The second involved crabs from *P. grandis* (37 runs). In these series, the crab sex was recorded in order to verify if males and females differed in host recognition.

Measured parameters and analyses

In each run, we first recorded the proportion of crabs making a choice and those making no choice (an estimate of crab motivation). We then checked the choice made by each crab (left or right distal branch of the tube). Comparisons of binary choices between different experimental series and between sexes were analysed using Fisher's exact tests. Binary choice results within each experimental series were analysed using Pearson's Chi-Square tests. The reaction time (the lag between the beginning of the experiment and the instant the crab moved out of the blind tube) was also measured, to know if the perception of a host motivates the crabs begin searching movements. Finally, the choosing time (the lag between the arrival of the crab at the L/R junction and the moment it entered one of the distal branches) was measured as another estimate of crab motivation. These data were analyzed using an ANOVA, after logarithmic transformation to homogenize variances. Statistical analyses were made using the JMP 5.0.1.2 program (SAS Institute).

Table 16. Chemical attraction of the crab *Dissodactylus primitivus* captured on *Meoma ventricosa* in Y-tube experiments

Experimental series		Crab choice (n) ¹						Reaction time (s) ² (Mean ± SD)	Choosing time (s) (Mean ± SD)			
A	B	0	A	B	χ^2	p ₁			A	B	F ratio	p ₂
a	Seawater	Seawater	9	10	11	0.05	0.8	89 ± 30 _{AB}	81 ± 25	56 ± 26	$F_{1,19} = 0.05$	0.82
b	<i>M. ventricosa</i>	Seawater	12	42	11	18.13	<0.0001	96 ± 18 _{AB}	46 ± 90	44 ± 24	$F_{1,51} = 0.05$	0.82
c	<i>M. ventricosa</i>	<i>C. rosaceus</i>	11	24	5	12.44	0.0004	104 ± 28 _A	42 ± 8	96 ± 31	$F_{1,27} = 3.31$	0.08
d	<i>C. rosaceus</i>	Seawater	3	11	16	1.00	0.3	34 ± 10 _B	23 ± 11	36 ± 8	$F_{1,25} = 4.74$	0.05
e	Pigment	Seawater	3	19	27	1.40	0.2	34 ± 7 _B	11 ± 3	23 ± 5	$F_{1,44} = 1.49$	0.22

A and B are the two proposed signals. Reaction time and choosing time are defined in the text (Material and Methods). The probabilities values are: P_1 = does crab prefer a source? (H0: among choosing crabs, the proportion of crabs choosing A and B is 1:1) (Pearson's Chi-Square); P_2 = do the choosing times differ between A and B? (H0: the choosing times are identical) (ANOVA)

¹ 0 is the number of crabs making no choice (staying in the proximal branch of the Y-tube); A and B indicate the number of crabs having chosen the distal branch scented by item A or B, respectively (0+A+B give the number of runs per experiment)

² Values followed by the same letter were non significantly different after a post-hoc Tukey HSD following the ANOVA (see text)

RESULTS

In all seven series, most crabs (80 %, $n = 291$) entered one of the Y tube distal branches (Tables 16 and 17). This proportion was not significantly different between series where a host was present in the device (Table 16b-c, and Table 17a-b) and series where no host was proposed (Table 16a, d-e) (Fisher exact test, two-tailed, $p = 0.07$).

Chemodetection of Meoma ventricosa

The first control series (water *versus* water) showed there was no asymmetry of crab choice due to the experimental design (Table 16a). In the next two series, the crabs were significantly attracted by *M. ventricosa*, whether the alternative olfactory source was seawater or the non-host *Clypeaster rosaceus* (Table 16b-c). In the fourth series, the crabs did not significantly prefer *C. rosaceus* from seawater (Table 16d). This is confirmed by comparing series b and c, where crabs had choice between *M. ventricosa* and seawater or *C. rosaceus*, and where the choice ratios of the crabs were the same, whichever the control (Fisher's exact test two tailed: $p = 0.8$). In the last series, the yellowish substance secreted by *M. ventricosa* had no effect (Table 16e). The results of the water *versus* water, and water *versus* yellowish pigment experiments did not differ (Fisher's exact test two tailed: $p = 0.6$). The reaction time was different between the five experimental series ($F_{4,171} = 4.06$, $p = 0.004$). Post-hoc comparisons revealed that reaction time was generally longer in series where *M. ventricosa* was present than in series where it was absent (Table 16). This is confirmed by the analysis after an *a posteriori* grouping of these two types of series ($F_{1,174} = 12.80$, $p = 0.0004$). Crabs that did not perceive the host were therefore more rapid to move upstream. Choosing times were not significantly different according to the crab choice (Table 16). Particularly, this time was not shorter when crabs chose their host vs. another cue (Table 16b, c).

Discrimination between Meoma ventricosa and Plagiobrissus grandis

The two experiments showed contrasting results. The crabs coming from *M. ventricosa* had a marked preference for the host on which they were captured (Table 17a). Conversely, the crabs coming from *P. grandis* had no preference for either host species (Table 17b). Whatever the origin of the crabs, the reaction and the choosing times were not significantly different ($F_{1,56} = 0.88$, $p = 0.35$ and $F_{1,56} = 1.06$, $p = 0.31$, respectively) (Table 17a-b). Among the crabs that made a choice, 17 males and 15 females were coming from *M. ventricosa* and 11 males and 15 females from *P. grandis*. Two-tailed Fisher's exact tests failed to find

significant

Table 17. Chemical attraction of the crab *Dissodactylus primitivus* to its two host species in Y-tube experiments

Crab origin	Experimental series		Crab Choice (n)						Reaction time (s)	Choosing time (s)			
									(Mean $\pm$ SD)	(Mean $\pm$ SD)			
	A	B	0	A	B	χ^2	p ₁			A	B	F ratio	p ₂
a <i>M. ventricosa</i>	<i>M. ventricosa</i>	<i>P. grandis</i>	8	23	9	6.13	0.01	53 $\pm$ 10		21 $\pm$ 6	35 $\pm$ 13	$F_{1,30} = 1.29$	0.26
b <i>P. grandis</i>	<i>M. ventricosa</i>	<i>P. grandis</i>	11	13	13	0.00	1.0	94 $\pm$ 23		31 $\pm$ 11	34 $\pm$ 8	$F_{1,24} = 0.36$	0.55

The origin of crabs is indicated in the second column. A and B are the two proposed signals. Caption as in Table 16

differences among sex for their host choice: males and females from *M. ventricosa* chose this host at 73.33 and 70.59 %, respectively ($p = 1.0$), while males and females from *P. grandis* chose *M. ventricosa* at 63.64 and 40.00 %, respectively ($p = 0.43$). One-tailed Fisher exact tests testing the specific hypothesis that females could prefer *P. grandis*, were not significant either ($p = 0.71$ and $p = 0.21$ for crabs coming from *M. ventricosa* and *P. grandis*, respectively). Therefore, our relatively small sample size was unable of detect a significant difference in host discrimination between sexes.

DISCUSSION

Dissodactylus primitivus living on *Meoma ventricosa* are able to detect chemically and prefer their main host species from other sources, including their second host species, *Plagiobrissus grandis*. In contrast, the crabs coming from *P. grandis* do not distinguish between their two potential hosts. These findings have several implications, first for a better understanding of the biology of this particular association, and to a larger extent, for understanding of the evolution of chemical attraction in link with specificity of associations.

Implications for Dissodactylus primitivus biology

For the *D. primitivus* – spatangoids association, we first showed that, in all experiments including the neutral water-water series, *D. primitivus* preferred to move upstream in the proximal branch rather than to stay downstream. This is likely to correspond to rheotaxy where the animals move upstream. In brachyurans, this behaviour is generally complementary of chemotaxis (Zhou & Rebach 1999, Grasso & Basil 2002). Indeed, our experiments showed that *D. primitivus* is able to chemically detect its main host *Meoma ventricosa* from other sources, but this detection is not related to the yellowish water-soluble substance produced by this echinoid. This, at least partly, challenges the suggestion made by Chesher (1969) who assigned to the yellowish secretion of *M. ventricosa* a repellent action for small fishes or crustaceans. It has been previously attested that *D. primitivus* shows frequent host switching (De Bruyn et al 2010). The causes of the host switching are still unknown. They are probably diverse (e.g. leaving an overexploited host, searching for a mate, etc., see Baeza & Thiel 2007) but are beyond the scope of the present study. However, we can reasonably infer that a chemical detection helps the crab to find new host, once the host switching process has started. When crabs perceived the host, their reaction time (i.e. the time before they begin to move upstream) was longer than when the experimental device was free of hosts. In opposition to our initial expectations, this does not suggest that host detection prompts crabs to move more rapidly. Instead, in the absence of chemical cues from potential hosts, crabs might actively seek out hosts by shortening the time to begin searching movements. Such an answer could make sense as, in the field, the absence of cues means the absence of hosts, and would lead to a hazardous situation where the crab has to stay on the sea floor without shelter nor food. In such a situation, the best strategy is to move and to begin a seeking activity. This result fits the models and observations that exploration and foraging are dynamic, state dependant processes in case of threat (Roitberg et al 2010). A corollary to this observation is

that when a crab is on an host, the olfactive cue is maximum and the crab is prompted to stay, and not to move. Therefore, the motivation to start a host switching must be very high to overpass this proximal attraction. *D. primitivus* is attracted asymmetrically to its two hosts. The crabs captured on *M. ventricosa* prefer this host to *Plagiobrissus grandis* while the crabs captured on *P. grandis* are equally attracted to both host species. This contrasts with previous aquaria experiments, where *D. primitivus* captured on *M. ventricosa* did not significantly prefer one of the two host species (De Bruyn et al 2010). This difference is presumably related to the experimental design used in these previous trials allowing crabs to detect hosts chemically, but also visually and by direct contact. The underlying cause for this asymmetry in host attraction according to their origin is unknown for *D. primitivus*. For another symbiotic association involving a pea crab, Derby & Atema (1980) proposed that variation in chemotaxy could be influenced by host population density, the symbionts being primarily attracted by the most abundant host species. At Discovery Bay, the density of *M. ventricosa* is about 10 times higher than that of *P. grandis* (De Bruyn et al 2010). Therefore, a higher sensitivity to *M. ventricosa* could have been selected in *D. primitivus*. This hypothesis should be tested in a place where *P. grandis* is more abundant than *M. ventricosa* (such a place is unknown to date, however). Two alternative hypotheses could also explain the differences observed for the *D. primitivus* chemodetection. First, the chemical signal of *P. grandis* could be incomplete for the crabs, leading to an apparent preference for *M. ventricosa* (VandenSpiegel et al 1998). Second, a difference in olfactive imprinting (or enhancement of the attractiveness) could be a possible explanation. Both larval and adult stages of *D. primitivus* colonize *M. ventricosa*, while only adults colonize *P. grandis* (De Bruyn et al 2009, 2010). Therefore, the adult crabs found on *M. ventricosa* could be more attracted by this host because of the early olfactive imprinting. In case of colonization of *P. grandis*, the early olfactive imprinting from *M. ventricosa* could disappear and individual crabs would become equally attracted by the two hosts. Alternatively, juveniles of *D. primitivus* could display an innate ability to recognize *M. ventricosa*, reinforced by the olfactive imprinting at later stages of development as observed for other symbiotic associations (Immelmann 1975; Arvedlund et al 1999). After a host change to *P. grandis*, there could be a conflict between innate attraction to *M. ventricosa* and new olfactive imprinting on *P. grandis*, leading to an absence of preference. Whatever the underlying cause, the fact that the two hosts equally attract the crabs living on *P. grandis* suggests that the chemical attractiveness of *D. primitivus* is plastic.

No difference was found in host choice between male and female crabs. However, since females display a slightly higher fecundity on *P. grandis* (De Bruyn et al 2010), active selection for greater attraction to *P. grandis* could have been expected. Because this is not the case, we assume that host switching from *M. ventricosa* to *P. grandis* is not currently under selection. In this context, we can imagine two scenarios explaining the slightly higher fecundity of female crabs on *P. grandis*: first when trying to infect this host, the fittest females win the competition and settle; alternatively, the females living on *P. grandis* are less disturbed by conspecifics than on *M. ventricosa* and could allocate more energy in reproduction. This is supported by higher prevalence and mean burden on *M. ventricosa* than on *P. grandis* (De Bruyn et al 2009, 2010). De Bruyn et al (2010) hypothesized that the asymmetric exploitation of the two hosts by *D. primitivus* could be an evolutionary transition in the parasitic cycle toward a complex life-cycle (see Parker et al 2003, for conditions allowing the evolution of complex parasite life-cycles). This hypothesis supposed a selection of an adult preference for the host where female crabs are the fittest (*P. grandis*). The present results exclude this hypothesis. Rather, they suggest *P. grandis* could be regarded as an alternative host for *D. primitivus*.

Implications for understanding host specificity

The results described here also have implications for the understanding of host specificity in marine symbioses. This study is the first report of chemoattraction in a spatangoid – pinnotherid symbiosis. However, chemotactic behaviour is known in other symbioses involving crabs of the *Dissodactylus* complex, and the patterns differ according to the degree of host specificity. On one side, *Dissodactylus crinitichelis* and *Dissodactylus mellitae* are generalist symbionts living on various host species. They have a slight chemical preference for the hosts on which they were found in the field, but they can switch their chemical responses from one host species to another after acclimatisation (Gray et al 1968, Reeves & Brooks 2001). On the other side, *Clypeasterophilus rugatus* is a crab living on a single host species, *Clypeaster rosaceus*, and its chemical preference is specifically restricted to its host species (Reeves & Brooks 2001). With two hosts, *Dissodactylus primitivus* is an intermediate state between generalists and specialists. Its chemical attractiveness, with asymmetry between the two hosts, is more plastic than that of specialist species. However, it is not at the level of the generalist ones: *C. rosaceus* is as chemically non-attractive as seawater for *D. primitivus*, and is not a host (De Bruyn et al 2010) despite its sympatry with *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis* at Discovery Bay (at micro-geographic scale, i.e. within few

centimetres). Therefore, despite close phylogenetic proximity (Marques and Pohle 1995), all these crabs exhibit differences in their olfactive attractiveness and host selection, which seems to be correlated to their pattern of specificity. However, only supplementary studies involving more pinnotherid species with contrasted levels of host specificity could firmly test the role of olfactive plasticity in the evolution of host specificity. More broadly, comparative studies involving other symbiotic crustaceans clades may help to test this hypothesis (Sastry & Menzel 1962, Derby & Atema 1980, Guo et al 1996, Grove & Woodin 1996, VandenSpiegel et al 1998).

Acknowledgements. We are grateful to the staff of the DiscoveryBay Marine Laboratory for providing accommodation and laboratory facilities. The work was supported by a doctoral grant from the Belgian National Science Association (FRIA) (to C.D.B.) and by research grants from the FNRS (to C.D.B. and C.D.R.) and Région Bourgogne (to B.D. and T.R.). It is a contribution of the Centre Interuniversitaire de Biologie Marine (CIBIM) and of the laboratory Biogéosciences of the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS).

Chapitre 4. La charge symbiotique et la compétition intra-sexuelle comme inducteurs du changement d'hôte chez un crabe parasite

a. Résumé

Une population de parasites est subdivisée en sous-groupes (infra-populations) portés par un hôte. Ces infra-populations sont éphémères, car liées à la durée de vie de l'hôte. Dès lors, la colonisation de nouveaux hôtes permet la perpétuation de la parasitose (Poulin 2007). Le mouvement entre les hôtes n'est pas toujours limité aux stades juvéniles et peut être effectif tout au long de la vie du parasite (Harbison et al 2009). Les causes du changement d'hôte à l'âge adulte peuvent être multiples : antagonisme entre les symbiotes, mauvais état de santé de l'hôte, hôte surpeuplé ou encore recherche d'un partenaire sexuel. Le modèle proposé par Baeza et Thiel en 2007 (cf. les ectosymbioses marines) lie la stratégie de reproduction du parasite au mode d'exploitation de l'hôte (monopolisation de l'hôte ou changement d'hôte). Selon ce modèle, la mobilité du symbiote détermine les relations entre les partenaires sexuels ce qui a un effet important sur leur succès reproductif. Le changement d'hôte à l'âge adulte a été observé plusieurs fois au sein du complexe *Dissodactylus* (De Bruyn et al 2009). Le crabe *Dissodactylus primitivus* exploite asymétriquement deux espèces hôtes, *Meoma ventricosa* et *Plagiobrissus grandis* (De Bruyn et al 2010). Le comportement reproductif proposé pour ce crabe est de la polygynandrie à femelles mobiles, où les crabes mâles et femelles sont mobiles et recherchent des partenaires pour l'accouplement (Baeza & Thiel 2007).

Le but de cette étude est de mettre en lumière les origines des déplacements de *D. primitivus* vivant sur *M. ventricosa* et de tester l'hypothèse selon laquelle la compétition intra-sexuelle favorise ce comportement.

L'ensemble des expériences et des échantillonnages s'est déroulé à la station marine de Discovery Bay en mars et avril 2009. Le mouvement des crabes a été étudié en milieu naturel au moyen d'expériences de capture, marquage et recapture. Des oursins, ainsi que les crabes qu'ils portaient, ont été marqués et placés en binômes dans une zone sableuse préalablement « nettoyée » de tout oursin. Les binômes (huit par expérience) étaient suffisamment distants les uns des autres afin d'éviter tout échange de crabe entre eux. La composition en crabes fût relevée après 24 et 48h. L'origine de la mobilité liée à la recherche d'un partenaire sexuel a été étudiée au moyen de trois séries d'expériences en aquarium cloisonné (De Bruyn et al 2009). D'un côté de l'aquarium se trouvait un oursin sur lequel quatre crabes marqués étaient placés (3 combinaisons, Figure 39) et de l'autre, un oursin non parasité. Le fond de

l'aquarium était recouvert de 2 cm de sédiment. La position des crabes a été relevée après 24 h.

Deux facteurs peuvent induire le comportement de changement d'hôte chez *D. primitivus*, la surpopulation et la recherche d'un partenaire sexuel. En effet, le nombre d'abandon de l'hôte est plus important *in natura* lorsqu'il y a plus de deux crabes sur l'hôte que lorsque les crabes sont en couple hétérosexuel (Figure 38). Cependant, le comportement de changement d'hôte lors des expériences est faible (2 sur 39 expériences). Ce faible taux de transfert pourrait s'expliquer par une forte prédation ou par un nombre trop faible d'hôtes présents. Les expériences en aquarium ont révélé que, à charge parasitaire égale, la composition en crabes sur l'hôte a un effet sur son abandon, qui est plus fréquent pour les combinaisons homosexuelles. Ce phénomène est légèrement plus important, mais non significatif, chez les mâles que chez les femelles (Figure 39a).

Lors des expériences de recolonisation *in situ*, des crabes étrangers (non marqués) ont colonisé des oursins expérimentaux. Ce résultat suggère que le crabe *D. primitivus* est capable de vivre libre dans le sédiment. Cependant, aucun crabe n'a été trouvé dans le sable lors d'une recherche ciblée au moyen d'une suçeuse à sédiment (75 échantillons). Une prospection insuffisante pourrait expliquer ces résultats contradictoires. Si l'on considère un échantillon comme un hôte potentiel, il est possible de calculer une fréquence maximale de présence si aucun crabe n'a été trouvé pour un effort d'échantillonnage donné. Dans notre cas, la fréquence maximale calculée reste de 3,91% ce qui est trop important pour considérer le crabe comme absent du sédiment. Afin de réduire cette fréquence à 0,1% et considérer que les crabes sont véritablement rares dans le sédiment, nous aurions dû pratiquer 3000 échantillonnages infructueux.

b. Symbiotic burden and intra-sexual competition as inducers of host-switching behaviour in a parasitic crab

Colin De Bruyn^{1, 2}, Bruno David², Sébastien Motreuil², Thierry Rigaud², Chantal De Ridder¹

¹Laboratoire de Biologie Marine (CP 160/15), Université Libre de Bruxelles, 50 avenue F. Roosevelt, 1050 Bruxelles, Belgium

²Université de Bourgogne, Laboratoire Biogéosciences, UMR CNRS 5561, 6 boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France

Manuscrit à soumettre

ABSTRACT

Host-switching behaviour of symbiotic decapods can be related to mating strategies that in turn are linked to host features and predation pressures. The work studies this behaviour for the crab *Dissodactylus primitivus* living as an ectoparasite of the echinoid host *Meoma ventricosa* and investigates more particularly the causes enhancing host desertion. We specifically tested if the number of crabs (i.e. the burden) and if, for a controlled burden, the sexual composition of the parasite infra-population both can induce the crabs to leave their host. The results indicate that these factors are both inducers of host-switching, stressing the importance of competition and intra-sex competition. Heterosexual couples appeared to stabilize the settled individuals on the host compared to triads or homosexual combinations. Field and laboratory experiments show that most of the crabs leaving their host seem to spend time in the sediment while only a few crabs were observed to settle on another host. Finally, despite *D. primitivus* crabs display a host-switching behaviour, no individual has been found in the sediment. Consequently, three potential explanations are proposed and discussed: an insufficient sampling, the cryptic behaviour of the crabs or unknown host exploitation.

Key words: Parasite, Mobility, Host-switching, Mating System, Pea crab, Echinoid

INTRODUCTION

Parasite populations are subdivided into as many subgroups (infra-populations) as there are infected individual hosts, and the populations are thus invariably fragmented (Poulin 2007). An infra-population is however ephemeral as the host lifespan is limited, but the infection of new individual hosts by parasite offspring ensures the development of new infra-populations and the perpetuation of the symbiosis (Price 1980, Combes 2001, Poulin 2007, Harbison et al 2009). In some parasite species, movements between hosts are not limited to offspring, since adult parasites can move from one individual host to another. This host-switching behaviour has been well explored in ectosymbiotic crustaceans (Bell 1984, Baeza & Thiel 2003, Baeza & Thiel 2007, Thiel & Baeza 2001, Thiel et al 2003a). A conceptual model (Baeza 2007, Baeza & Thiel 2007), proposes that males and females display distinct mating strategies realized by defending (“host-guarding”) or changing (“host-switching”) hosts, and that these behaviours are limited by environmental pressure. In that context, host-switching affects the number of interactions between potential mates, and has a determinant effect on individual reproductive success (Baeza & Thiel 2007). The environment *s. lat.* modulates these behavioural options, host-switching can be constrained or promoted by the host size and morphology (the smaller the host the easier it is to guard against competitors, which promote monogamy), by host population density and aggregative behaviour (high densities promotes host switching and therefore promotes polygamy or polyandry by increasing mate search), and by predation pressure (high predation risks would diminish host-switching). Foraging can also motivate host-switching if food resources are decoupled from the hosts, or if food depletion occurs on the host (due to symbiont overcrowding or host death).

Among decapods, Pinnotheridae family (pea crabs) includes exclusively symbiotic species (Schmitt et al 1973). The symbionts infra-population structure varies with species, consisting of single individual, heterosexual couple or groups of more than two individuals (Hsueh & Huang 1998, Thiel & Baeza 2001, De Bruyn et al 2009). According to the species, the free life stages are larvae and first crabs, or adults displaying host-switching behaviour (Pearce 1962, Huard & Demeusy 1968, Bolaños et al 2004). Host-switching is known for the symbiotic crabs of the *Dissodactylus* complex associated with irregular echinoids (Telford 1978b, Bell 1984, Reeves & Brooks 2001, De Bruyn et al 2009). Within this complex, host-switching behaviour varies considerably according to the species. For instance, in *Dissodactylus mellitae* host-switching is frequent and induced by competition between crabs,

while in *Dissodactylus crinitichelis*, host-switching is rather rare, while several crabs are sharing the same host (Telford 1978b, Bell 1984, 1988, Reeves & Brooks 2001).

The crab *Dissodactylus primitivus* lives on two host species, the spatangoid echinoids, *Meoma ventricosa* and *Plagiobrissus grandis* (Telford 1978b, 1982) and displays host-switching, being chemically attracted by their hosts (De Bruyn et al 2009, 2010, 2011). According to the model of Baeza and Thiel (2007), the mating system of *D. primitivus* would fit the “pure-search polygynandry of mobile females” (De Bruyn et al 2009). In this dynamic system, both females and males practice host-switching with high frequency while searching for mates. However, host-switching inducers and frequency are unknown for *D. primitivus*. The “pure search” mating system supposes that the main cause for host-switching is mate search (Baeza & Thiel 2007). This study aims to test this hypothesis in *D. primitivus* by studying the mobility of adult crabs in natural conditions through mark-recapture experiments and sediment samplings, and by looking at the effect of the infra-population structure on this mobility through experiments done in aquaria.

MATERIALS AND METHODS

Sampling and experiments were realized in March and April 2009, in Discovery Bay lagoon, on the north coast of Jamaica. The environment general features are given in De Bruyn et al (2009).

Adult mobility - Mark-recapture experiments

Echinoid hosts (*Meoma ventricosa*) harboring at least two adult crabs were collected (scuba diving) in the western part of the lagoon at depths of 1.5 to 10 meters. Each host, with its parasites, was carefully put into a plastic bag that was closed under water by a rubber band. In the laboratory, the echinoids were measured to the nearest millimeter with a caliper rule. The structure of the crab infra-population was recorded. The adult crabs were removed and kept for the experiments. Hosts and their parasites were marked. The echinoids were individually tagged with a labeled colored float attached to a rubber band placed around the echinoid body (see De Bruyn et al 2009). The crab tag consisted in a colored plastic disk (1 mm diameter) fixed with Super Glue Original Loctite® on the cephalothorax. The crabs from the same host were attributed the same color, a black spot on the plastic disc distinguishing the females from the males. Five series of eight experiments were made in the east part of the lagoon. At a

depth of 6 meters, a sandy area of 20 x 20 meters was cleared out of all echinoids. The chosen area was completely surrounded by seagrass beds that acted as a natural barrier avoiding the arrival of non-experimental echinoids. For each series, sixteen tagged echinoids with their original load of symbiotic crabs were placed in the experimental area. Sea urchins of similar sizes were placed two by two in the area, at 30 cm from each other, the eight dyads being regularly distributed in the area. The crab composition of each sea urchin was recorded after 24 h and 48 h, along with the distance between hosts for each dyad. During each recording, the echinoid was turned over to check the presence of crabs and quickly put back in place. The crabs found in the sediment right under the host were considered as on the echinoid. Host desertion was considered when at least one crab was missing after 24 and 48 h of experiment. The effect of crab infra-population (crab abundance and occurring genders), and the distance between individual hosts were tested on host desertion using a logistic regression.

Adult mobility - Occurrence of crabs in the surrounding sediment

Sediments were collected using an air pipe submarine sampler of 100 mm of diameter. Three filters of decreasing mesh size were fixed at the end of the tube, allowing collection of items of different size. The one-centimeter mesh stopped large coral fragments and coarse sediments, the five millimeters mesh is adequate to sample adult crabs and the one-millimeter mesh, juvenile crabs. To allow a direct comparison of these samples with the occurrence of crab on echinoids (*Meoma ventricosa*), the volume of each sample of sediment was similar to that of an echinoid. The sediments (75 replicates) were taken over 10 cm depth using a ballasted quadrat of 50 x 25 cm. In the western part of the lagoon, the samples were taken in the sand at the immediate neighborhood of *M. ventricosa* individuals, but also in the seagrass beds (*Thalassia testudinum*), which can be used as nursery by many species of the lagoon (Gayle & Woodley 1998). The border between *Thalassia* bed and sand was also investigated. Fifteen replicates were made within each of these habitats (therefore 45 samples). In the western part of the lagoon, only the sand at the neighborhood of the echinoids was sampled (30 replicates). The proportion of crabs found in these samples is compared to the prevalence observed on *M. ventricosa* in 2007, in the same location (De Bruyn et al 2009) using a Fisher's exact test. Each replicate sample is considered as an "individual host" therefore allowing the comparison of crab infecting echinoid individuals.

Is host-switching motivated by intra-sexual competition? Laboratory experiments

The experiments were made in 60 x 30 x 30 cm aquaria filled with oxygenated seawater. Each aquarium was divided in two equal compartments by a perforated translucent partition allowing both water circulation and crab movements between the compartments, but not the passage of sea urchins (experimental device described in De Bruyn et al. 2009). A 2 cm thick layer of sand originating from the sampling site in the lagoon was poured over the bottom of the aquaria. Prior to each run, the water was oxygenated during 10 minutes by providing running seawater and oxygen supply. During the runs, the air pump and the flow of water were stopped. A *Meoma ventricosa* individual was then installed in each compartment, individuals from the same dyad having similar size, and being acclimated for 5 minutes before each run. Tagged adult crabs were placed on one echinoid. A constant burden of 4 crabs was chosen because field study revealed that host-switching was more frequent when the burden exceeded two, and because a pair digit allowed maintaining a balanced sex ratio. Three series of infra-population structure were tested: four males (4M, 14 replicates), four females (4F, 15 replicates) and two males/two females (2M2F, 13 replicates). New crabs and host individuals were used for each replicate. After 24 hours experiment, the crab position was recorded, it could stay on its original echinoid (echinoid A), move to the other echinoid (echinoid B) or remain outside an echinoid, in the sand. The average crab numbers found on the echinoid A, B and in the sand were compared between the three series. Since data did not satisfy homocedasticity, even after transformation attempts, non-parametric tests (Kruskal-Wallis or Wilcoxon) were used to analyze differences between groups.

Statistical tests are made using the programs JMP 5.0.1.2 (SAS Institute).

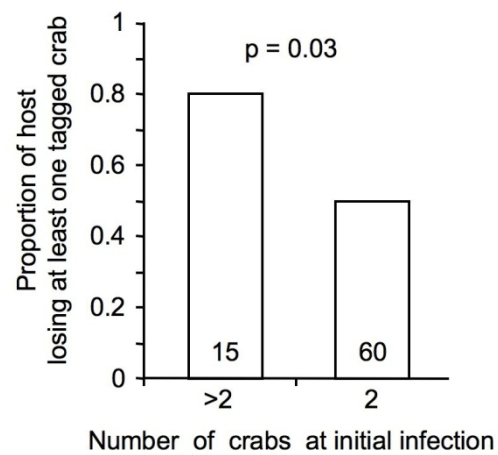


Figure 37. Proportion of host losing at least one crab according to the initial number of crabs (logistic regression). The group « >2 » includes the combinations: 1M+2F, 2M+1F and 1M+3F; and the group « 2 »: 1M+1F. The numbers in the bars are sample sizes (number of crabs)

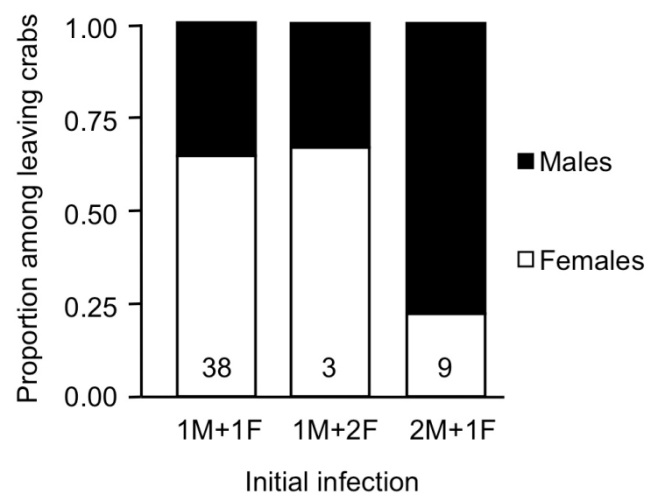


Figure 38. Proportion of genders and sexual composition of leaving crabs according to the initial infection (logistic regression). The numbers in the bars are sample sizes (number of crabs)

RESULTS

Adult mobility - Mark-recapture experiments

The echinoids harboring 1 male and 1 female crabs were predominant (76%, $n = 80$). The other infra-population structures were: 2M + 1F (13%), 1M + 2F (5%), 2M (4%), 3M (1%) or 1M + 3F (1%). Only echinoids with heterosexual combinations of crabs were used for the mobility experiments. The distances between the dyads of echinoids did not significantly differ during the experiment between the two recording ($F_{1,37} = 1.7$, $p = 0.2$, 24 h: 53 ± 7 cm; 48 h: 61 ± 7 cm), and only the distance observed at 48 h was considered for analysis. The logistic regression revealed that the distance between hosts did not influence the crab departure (Likelihood-Ratio $\chi^2 = 0.15$, $df = 3$, $p = 0.7$). The crabs left their host less often when they were in heterosexual couple, compared to the crabs from a triad (L-R $\chi^2 = 4.70$, $df = 1$, $p = 0.03$, Figure 37).

It was not possible to test accurately which sex was more frequently leaving the host when crabs were in triads, because of the small sample size. However, when there were initially 2 males and 1 female, males were leaving more frequently their host than when only a couple was present (L-R $\chi^2 = 5.07$, $df = 1$, $p = 0.02$, Figure 38). Exchanges of crabs between hosts from a dyad only occur twice (for 39 experiments), but a relatively important number of untagged crabs ($n = 12$ crabs after 48 h) were found on the experimented sea urchins. The hosts which had previously lost tagged crabs were not significantly more colonized by untagged crabs (L-R $\chi^2 = 3.12$, $df = 1$, $p = 0.08$).

Adult mobility - Occurrence of crabs in the surrounding sediment

Seventy five samples of sediment (corresponding globally to a total of 0.94 m^3) were collected, filtered and checked. *Dissodactylus primitivus* crabs were never found in the sediment samples, although other crustacean species of similar or lower sizes were present. This null prevalence for the sediment samples significantly differs (Fisher's exact test: $df = 1$, 185; $p < 0.0001$) from the prevalence of 87 - 90% for *Meoma ventricosa* ($n = 95$) (measured in De Bruyn et al 2009).

Is host-switching induced by intra-sexual competition? Laboratory experiments

The social structure of infra-population significantly influences the number of crabs that leave their host (Kruskal-Wallis's test: $p = 0.002$, Figure 39a). The proportion of crabs leaving the

echinoid A was less important for infra-populations including two sexes compared to those with only males or only females. The number of crabs leaving the host did not significantly differ for the two mono-gender infra-populations (Figure 39a).

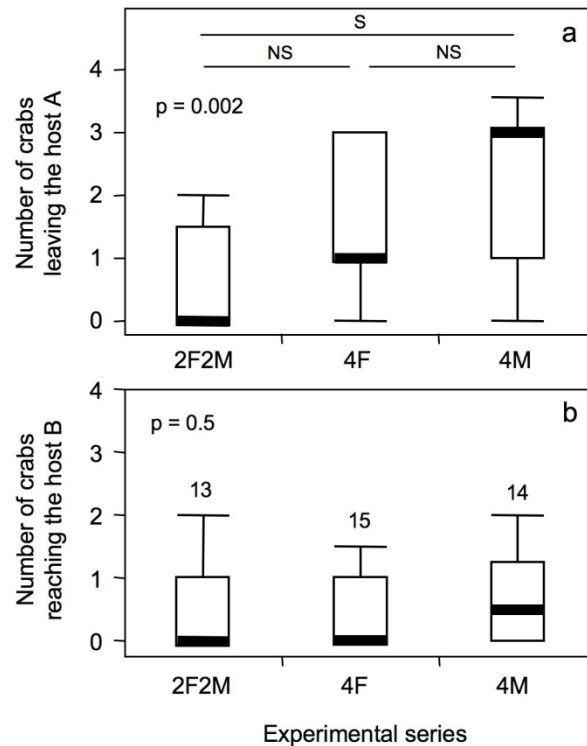


Figure 39. Number of crabs found on the original host (host A, a) and on the initially “empty” host (host B, b) 24 h after the beginning of the experiments. The sexual compositions were two females and two males (2F 2M), four females (4F), four males (4M). Shaded bars are the medians, boxes and whiskers depict the interquartile and interdecile ranges, respectively. Kruskal-Wallis tests and post hoc Dunn’s test: $p < 0.05$, S: Significantly different and NS: No significantly different. Number of runs per experiment is given in (b)

Most crabs leaving their hosts do not settled in the second host and consequently stay in the sand. The proportion of crabs found in the sediment was significantly different between the series (Kruskal-Wallis’s test: $p = 0.001$), and proportional to the initial infra-population structure: few crabs occurred in the sediment for hetero-gender infra-population, more crabs occurred in the sediment for mono-gender infra-population. The rate of transfer between the echinoids A and B was low and identical for the three series of experiment (Kruskal-Wallis’s test: $p = 0.50$, Figure 39b).

DISCUSSION

Two factors induce host-switching in *Dissodactylus primitivus* when living on *Meoma ventricosa*, namely its infra-population density and structure. Parasite density can induce host-switching as a result of competition for resources. Infra-population structure can induce host-switching through intra-gender competition prior to mate or through the search for a sexual partner (Bell 1984, Baeza & Thiel 2000, 2003, Bandilla et al 2004, 2008). The effect of burden is supported by field experiments, while the effect of intrasexual competition is supported both by the field and the laboratory experiments. In all experiments, heterosexual couples appear to have a “stabilizing” effect. This is particularly well demonstrated in laboratory experiments: in series with an equilibrated sex ratio, only a few crabs were quitting their host, and this, although the infra-population density (four adults) was above that observed in the wild (De Bruyn et al 2009, this study). In parallel, for mono-gender series, the number of crabs quitting their host was higher, a phenomenon slightly (albeit non-significantly) more intense in males than in females. Females are displaying host-switching even in the presence of males (cf. series with 1M+1F or 1M+ 2F in field experiments). For the males, competition (cf. series with 2M +1F) seems to induce host-switching.

The mobility linked to the mate searching and overcrowding host is well-known in others symbiotic crustaceans groups (Castro 1978b, Bell 1984, Patton et al 1985, Thiel et al 2003a, Baeza & Thiel 2007). However, other parameters can affect the crustaceans mobility. For example, among monogamous crab *Trapezia ferruginea* living on the colonies of coral *Pocillopora damicornis*, the foraging for food could also explain the nocturnal migration despite the high predation rate. Moreover, predation on the heterosexual couples living on the host could favour the movement of the survivor crab (Castro 1978b). Aggressive behaviour also plays an important role in the mobility. Among *Dissodactylus mellitae*, males are aggressive toward all neighbours and seem able to force females to leave the host with them (Bell 1984).

In the aquaria experiments, most crabs were staying in the sediments after leaving the first host without settling on the other available host, and thus did not realize a complete host-switching. The field results are consistent with these observations. Indeed, a number of untagged crabs were found on the tagged hosts. The most parsimonious explanation is that these untagged crabs must originate from the sediment, since all echinoids were removed from the experimental zone prior to the experiment. However, there is a sharp contrast

between these observations and the absence of crabs in the sediments collected with the air pipe sampler. This discrepancy can be explained by several causes. First, *D. primitivus* could use a still unknown host, although this hypothesis is not supported by records made so far (Telford 1978b, 1982, Hendler et al 1995). A second explanation could be that *D. primitivus* has kept a cautious ancestral behaviour (shared with the sister monophyletic group including the genera *Parapinnixa* and *Sakaina*) taking up residence beneath any protective object when being in the sediment (Griffith 1987b), and being thus out of reach of the sampling device used here. This last hypothesis is not really convincing, since we showed experimentally that *D. primitivus* does not use frequently abiotic shelters (e.g. stones) as refuge in aquaria (De Bruyn et al 2010). Finally, our sampling procedure could not have been intensive enough to detect the presence of crabs. Indeed, if the 75 sediment replicates are assimilated to 75 potential “hosts” for the crabs, and because the absence of crabs in these samples does not necessarily means that crabs absent from sediments (they can be very rare), one can calculate the maximal frequency of the crab presence. In our case, this maximal frequency is 3.91% at $\alpha = 0.05$ (Post & Millest 1991). Therefore our samples were not numerous enough to ensure that no crabs can live in the sediment (one would need 3000 replicates to reduce this maximal frequency below 0.1%). Consequently, we can hypothesize that the crabs spend some time in the sediments, although they are obligate symbionts, relying on their host for food (Telford 1982, De Bruyn et al 2009). The crab homochromy on coral sands supports this hypothesis. In that context, the symbiosis appears as obligatory but not permanent.

Chapitre 5. Structure génétique d'une population de parasites exploitant deux hôtes sympatriques

Les microsatellites sont des marqueurs moléculaires (neutres), abondants dans le génome de la plupart des organismes et hautement polymorphes. Ils se composent de courtes séquences répétées de nucléotides (1 à 6 paires de bases) dont le polymorphisme est lié à leur nombre de répétition. Ils sont devenus des outils de choix dans l'étude de la structure génétique des populations chez les organismes libres, mais aussi chez les parasites (Monis et al 2002, Selkoe & Toonen 2006).

Ce dernier chapitre est surtout une mise au point de l'étude du polymorphisme de marqueurs microsatellites sur une petite population de *D. primitivus*. Il se compose de deux parties. La première constitue la mise au point des marqueurs moléculaires (article publié) et la seconde leur utilisation dans le but de tester une différenciation génétique entre les deux espèces d'hôtes (résultats non publiés).

a. Isolation et caractérisation de 15 loci microsatellites chez le crabe Pinnotheridae *Dissodactylus primitivus*

Colin De Bruyn^{1,2}, Maria Gaillard², Christine Dubreuil², Chantal De Ridder¹, Bruno David², Thierry Rigaud², Rémi A Wattier²

1Laboratoire de Biologie Marine (CP 160/15), Université Libre de Bruxelles, 50 avenue F. D. Roosevelt, 1050 Brussels, Belgium

2Biogéosciences, UMR CNRS 5561, Université de Bourgogne, 6 boulevard Gabriel, 21000 Dijon, France

Permanent Genetic Resources added to Molecular Ecology. Resources Database 1 December 2009–31 January 2010, 10 : 576-579 doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02851.x

Dissodactylus primitivus est un ectoparasite exploitant asymétriquement ses deux espèces hôtes, *Meoma ventricosa* et *Plagiobrissus grandis* (De Bruyn et al 2010). Des marqueurs génétiques sont nécessaires pour mettre en lumière trois points importants concernant cette espèce. Premièrement, le degré de diversité génétique chez *D. primitivus* est inconnu, ainsi que sa répartition spatiale. Deuxièmement, le crabe présenterait un comportement polygynandre où les deux sexes participeraient à la recherche des partenaires sexuels (Baeza & Thiel 2007, De Bruyn et al 2009). Précisons que chez les Pinnotheridae les femelles

Tableau 18. Caractérisation de 15 microsatellites polymorphes d'un crabe Pinnotheridae (*Dissodactylus primitivus*) génotypés à l'aide de 20 individus issus de la Jamaïque. N_A = nombre d'allèles par locus. H_o and H_e = hétérozygoties observée et attendue, respectivement. PE-1 et PE-2 sont les **probabilités d'exclusions**¹¹ connaissant le génotype d'un ou des deux parents, respectivement. Aucune déviation significative à l'équilibre de Hardy-Weinberg n'a été observée après correction de Bonferroni correction pour les tests multiples ($p < 0,0033$)

Locus	Motif répété	Séquence du primer (5'-3')	Genbank Accession	Gamme de taille (pb)	N_A	H_o	H_e^*	PE-1	PE-2
DpA5	(AC) ₁₇	F: TTGTACTGCTGCTATTGTAG R: CCTGACTCAGAAAGCTAAATTC	GF102046	241-257	8	0,647	0,834	0,454	0,630
DpA101	(CA) ₁₉	F: CTCTCCGTCACCTTTGTGTAGGT R: GTGTTCTTGTGTGCGTGTATTC	GF102047	253-275	8	0,900	0,827	0,447	0,624
DpA113	(AC) ₁₂	F: GCGTAGTTCTCCTCCCGTAG R: GCGCTACCCATCAGTCTTG	GF102048	136-152	8	0,700	0,768	0,362	0,540
DpA115	(CA) ₁₆	F: CAGGTTTACCGTCTTACTGTG R: GGTGTTGTGTGCTTATGTAG	GF102049	185-205	7	0,588	0,811	0,412	0,590
DpB1	(GGAT) ₇	F: GGCCTAACGATCTAATCCTTAG R: CCACCTCGCTTTACAATAATTC	GF102059	178-182	2	0,412	0,451	0,096	0,171
DpB102	(TGGA) ₇	F: AGCAGCAAGGAGTCAAGAAG R: CTCAGCCTCGCTTTACAGTC	GF102050	115-131	6	0,750	0,647	0,219	0,365
DpB104	(TCCA) ₁₀	F: CAAACGAAGGGATGAAGG R: AACAGGCTGGATGGACTG	GF102051	143-171	7	0,950	0,851	0,486	0,659
DpC4	(CATA) ₆ CATG CATA (CATG) ₂ (CATA) ₆	F: GTGGCACTCTGAAATGCTT R: CGCTCACTATGTATGCTCTACC	GF102060	178-210	9	0,800	0,809	0,429	0,609
DpC9	(TACA) ₇	F: AACCCGATAGATTGGGA R: GGGATTCTTCTGTCTTTCTTG	GF102052	216-240	6	0,471	0,690	0,258	0,421
DpC110	(GTAT) ₁₄	F: AGTGGTGGTATGTCTGTATGGA R: GTGGCTGCCTAAATATACGAGT	GF102053	170-186	5	0,500	0,549	0,157	0,321
DpC115	(TGTA) ₇	F: GCAAGGGTCTGTGTGGTG R: CAAGGTTCTGTCGCAGATG	GF102054	186-198	3	0,600	0,465	0,103	0,226
DpC118	(GTATC) ₇ (GTAG) ₅	F: GAGGCATACCACTACTACTGC R: GCTCGAACTCATGTTATGGTGT	GF102055	294-310	8	0,789	0,863	0,512	0,681
DpD110	(TAGA) ₁₁	F: GAAGGGTTGCTTATAGACGTG R: CCTCCTTGTTTACCGTGAGT	GF102056	261-297	8	0,700	0,803	0,407	0,585
DpD111	(CTAC) ₄	F: CTTGACCTGACCTGTCTATCA R: CGGTGGACTACATAAGTAAAGG	GF102057	284-320	9	0,611	0,816	0,436	0,614
DpDB115	(GA) ₂₇	F: TGCCATACATTTGCAGTTC R: GATGGATGGATAGATGGAGTC	GF102058	197-247	17	0,850	0,915	0,652	0,789

¹³**Probabilité d'exclusion:** la chance qu'a un individu d'être rejeté comme un parent possible à cause d'un mauvais assortiment génétique; qui dépend de la fréquence allélique et augmente avec le nombre de loci et le nombre d'allèles par locus utilisé dans l'analyse parentale (Hamilton 2009).

présentent une spermathèque permettant la paternité multiple (Guinot 1979), ce qui pourrait en faire un modèle intéressant pour étudier les phénomènes de sélection sexuelle. Il existe cependant de nombreux mécanismes qui réduisent ou augmentent les phénomènes de paternité multiple (Price et al 1999, Brockeroff & McLay 2005) et la multitude des paramètres impliqués dans la régulation du comportement sexuel rendent l'estimation des systèmes de reproduction par observation directe souvent impossible. Troisièmement, malgré la vie en sympatrie des deux hôtes, le cycle de vie du crabe est différent selon l'hôte considéré et les femelles semblent plus productives sur *P. grandis* (De Bruyn et al 2010). La formation de races hôtes est connue chez de nombreux parasites (ex : McCoy et al 2003) ce qui pourrait être le cas chez *D. primitivus*. Seul le développement de marqueurs génétiques polymorphes comme les microsatellites peut permettre de répondre, avec un minimum de moyens mis en œuvre, à ces trois types de questions.

L'ADN ayant servi au développement des marqueurs microsatellites provenait de 20 individus issus de la même localité (Western Lagoon, Discovery Bay Jamaïque, De Bruyn et al 2009). Cet ADN a été extrait au moyen de la méthode standard au phénol-chloroforme. La mise au point de la banque d'ADN et la définition des amorces des loci microsatellites a été sous-traitée par la société « Genetic Identification Service » basée au Etats-Unis.

Quinze microsatellites polymorphes ont ensuite été décrits pour le crabe Pinnotheridae *D. primitivus* (Tableau 18). Ces loci présentaient une moyenne de 7,4 allèles par locus (2-17), et l'hétérozygotie moyenne observée et l'hétérozygotie moyenne attendue étaient, respectivement, de 0,684 (0,41-0,90) et 0,740 (0,50-0,91). Aucun déséquilibre de liaison ni aucun écart à la loi de Hardy-Weinberg n'ont été détectés. Les pouvoirs d'exclusions combinés des 15 microsatellites calculés sont de 0,9992 et 0,9999 connaissant le génotype de l'un ou des deux parents, respectivement.

Dès lors, ce jeu de loci représente un outil efficace pour l'étude de la diversité génétique, la paternité multiple et la différenciation génétique associées à la spécialisation à l'hôte pour le crabe *D. primitivus*.

b. Structure génétique au sein d'une population du crabe *Dissodactylus primitivus*

INTRODUCTION

Les populations de parasites peuvent se subdiviser à différents niveaux: entre individus hôtes au sein d'une même localité géographique (infra-populations), entre localités et entre espèces hôtes (Combes 2001, McCoy et al 2003, Poulin 2007). La structuration d'une population est liée au **flux génique**¹². Celui-ci peut avoir deux effets importants sur la différenciation de populations locales. Il peut homogénéiser les populations ou apporter de nouveaux gènes dans une population, ce qui permet la réapparition d'allèles perdus par **dérive génique**¹³ ou l'évolution par importation de nouveaux caractères (Delmotte et al 1999). Price (1980) reconnaît que la structure génétique des populations a un rôle central dans l'écologie et l'évolution de la relation entre les parasites et leurs hôtes. Dans les populations de parasites où le flux génique est quasiment nul, les populations vont s'isoler progressivement les unes des autres et vont constituer des entités hautement structurées et isolées génétiquement. Néanmoins, cette structuration n'est pas toujours effective. En effet, il existe différents mécanismes qui peuvent réduire la structure génétique d'une population, comme par exemple, des hôtes très mobiles, de nombreux hôtes réservoirs, un fort pouvoir de dispersion et une longue durée de vie du parasite (Nadler 1995).

En outre, une différenciation génétique peut apparaître pour des parasites colonisant des espèces hôtes différentes, mais sympatriques. Si une préférence pour une espèce hôte donnée apparaît au sein d'une population de parasite et si la reproduction des parasites est liée à ce choix, cela peut conduire à la formation de races-hôtes (c'est-à-dire à une spécialisation de certains génotypes de la population de parasites sur un hôte, et d'autres génotypes sur un autre hôte). De plus, si la sélection sur le flux génique est forte, cela peut aboutir à un processus de spéciation sympatrique (McCoy et al 2003). Comme pour la différenciation inter-hôtes, le degré d'isolement dépend des capacités et des possibilités de dispersion du parasite.

Sur base de l'étude démographique et de la mobilité du crabe vivant sur *Meoma ventricosa* nous avons suggéré que le comportement de reproduction de *Dissodactylus primitivus*

¹² **Flux génique**: la représentation du mouvement des gamètes ou des individus au sein d'une population (Hamilton 2009).

¹³ **Dérive génique**: changement aléatoire de la fréquence allélique d'une génération à la suivante (Hamilton 2009).

correspondait à de la polygynandrie à femelles mobiles (Baeza & Thiel 2007, De Bruyn et al 2009, chapitre 4). Selon ce modèle, les deux sexes changent fréquemment d'hôte à la recherche de partenaires sexuels. Cela pourrait conduire à une homogénéisation de la population dans le cas où ces changements seraient importants et fréquents. Cependant, *D. primitivus* exploite ses deux espèces hôtes *M. ventricosa* et *Plagiobrissus grandis* de façon asymétrique (De Bruyn et al 2010). En effet, la reproduction se déroule sur les deux oursins avec une fitness plus élevée pour les crabes issus de *P. grandis* et le recrutement (c-à-d l'infection des hôtes par des juvéniles) ne s'effectuant que sur *M. ventricosa*. Deux hypothèses expliqueraient la situation d'asymétrie. Premièrement, ce cycle serait une exploitation asymétrique de deux hôtes sympatriques stabilisée par deux force antagonistes: la qualité et la rareté de *P. grandis* (De Bruyn et al 2010). Deuxièmement, une fraction de la population de *D. primitivus* serait spécialisée dans l'exploitation de *P. grandis* au stade adulte et constituerait une race-hôte. Dans ce cas, il existerait trois hypothèses expliquant l'absence de juvéniles sur *P. grandis*: (i) ces juvéniles seraient recrutés aussi sur *M. ventricosa* (ii) il existerait un hôte intermédiaire inconnu comme site de recrutement pour ces crabes (iii) le recrutement des larves s'effectuerait directement dans le sédiment.

Le but de ce travail est donc de mettre en lumière la structure génétique du crabe *D. primitivus* vivant sur *M. ventricosa* et *P. grandis* en situation de sympatrie.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Récoltes

L'ensemble des échantillonnages s'est déroulé à la station marine de Discovery Bay à la Jamaïque en mars et avril 2009 (De Bruyn et al 2009). Les récoltes ont eu lieu dans l'ouest de baie (Western Lagoon) où les deux hôtes vivent en situation de sympatrie. Elles ont été réalisées à des profondeurs de 2 à 10 mètres au moyen de scaphandres autonomes. Afin de récolter l'ensemble des parasites présents sur les hôtes, *Meoma ventricosa* et *Plagiobrissus grandis* ont été récoltés individuellement et placés isolément dans des sacs et des paniers en plastique (De Bruyn et al 2010). Le recensement des crabes a été pratiqué de la même manière que dans De Bruyn et al (2009).

Analyses génétiques

Les analyses génétiques ont porté sur 171 crabes : 25 mâles, 23 femelles et 41 juvéniles issus de *Meoma ventricosa* (26 individus), et 37 mâles et 41 femelles issus de *Plagiobrissus grandis* (33 individus). Nous avons utilisé 11 des 15 amorces des marqueurs microsatellites isolés pour *Dissodactylus primitivus* (Anderson et al 2010).

L'ADN a été extrait des muscles à la base des péréopodes pour les adultes et à partir du corps entier pour les juvéniles (< 5mm). Avant extraction, les tissus ont été séchés sous hotte pendant une heure, congelés pendant 10h à -20°C et broyés pendant 30 secondes à l'aide d'un broyeur à bille (Retsch MM301). Chaque broyat a été mélangé à une solution de 100 µl de Chelex 5% (Bio-Rad, Hercules, CA, U.S.A), rebroyé pendant 30 secondes et incubé à 95°C pendant 90 minutes. Ensuite, les échantillons ont été centrifugés pendant 3 minutes à 12000 rotations par minute et 60 µl du surnageant de chaque échantillon, récupérés. L'amplification des marqueurs microsatellites s'est faite au moyen d'un kit PCR permettant le multiplexage (Quiagen® Multiplex PCR). Dès lors, quatre mix PCR ont été utilisés pour amplifier les 11 marqueurs microsatellites. Mix A : DpC115, DpC118 ; Mix B : DpA5, DpA113, DpC4 ; Mix C : DpA101, DpA115, DpD110, DpD111 ; Mix D : DpC9, DpC110 (voir Anderson et al 2010). L'amplification s'est effectuée au moyen d'un thermocycleur Eppendorf Mastercycler avec le programme d'amplification suivant : dénaturation de l'ADN pendant 15' à 95°C, amplification sur 40 cycles (30'' à 94°C, 90'' à 50°C et 30'' à 72°C), finalisation de l'extension pendant 10' à 72°C. Les marqueurs moléculaires fluorescents amplifiés ont été visualisés au moyen d'un séquenceur Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer. La taille des marqueurs a été estimée au moyen du standard de taille geneScan™ 500 LIZ® et du programme Peak Scanner™ Software v1.0 .

L'ensemble des descripteurs génétiques a été estimé au moyen du logiciel Fstat v2.9.3.2 (Goudet 1995) pour trois groupes considérés (aM : adultes issus de *M. ventricosa*, jM : juvéniles issus de *M. ventricosa* et aP : adultes issus de *P. grandis*).

Tableau 19. Nombre d'allèles observés, richesse allélique, allèles privés et F_{is} (ou coefficient de consanguinité) pour chacun des 10 loci pour les différents groupes considérés : aP (adultes de *P. grandis*), aM (adultes de *M. ventricosa*) et jM (juvéniles de *M. ventricosa*), Total (ensemble des groupes). μ correspond à la valeur moyenne de l'ensemble des loci pour chacun des groupes et T correspond à la somme totale pour l'ensemble des loci pour chacun des groupes

Loci	Nombre d'allèles				Richesse allélique				Allèles privés				F_{is}		
	aP	aM	jM	Total	aP	aM	jM	Total	aP	aM	jM	Total	aP	aM	jM
DpC115	6	5	6	6	5,57	4,85	5,98	5,35	0	0	0	0	-0,051	0,067	0,056
DpC118	11	9	10	11	9,85	8,94	10	9,41	1	0	0	1	0,047	0,005	-0,025
DpC4	6	7	7	8	5,5	6,7	6,95	6,21	0	1	1	2	-0,082	-0,019	0,111
DpA5	12	11	10	13	10,61	10,87	9,9	10,46	1	1	0	2	-0,027	-0,075	0,004
DpA115	9	6	7	9	8,22	6	7	7,5	2	0	0	2	0,035	0,034	0,064
DpA101	19	20	16	22	16,86	19,65	15,8	17,99	2	2	0	4	0,12	0,035	-0,02
DpD111	15	15	13	16	13,43	14,57	12,85	13,55	1	0	0	0	0,038	0,059	0,037
DpD110	11	12	14	14	10,21	11,39	13,75	11,43	0	1	0	1	0,084	0,048	0,078
DpC110	7	8	8	8	6,49	7,67	7,85	7	0	0	0	0	-0,112	-0,056	-0,13
DpC9	9	7	8	11	7,71	6,54	7,9	7,79	0	1	1	2	0,056	-0,016	0,247
	$\mu=10,5$	$\mu=10$	$\mu=9,9$	$\mu=11,8$	$\mu=9,5$	$\mu=9,7$	$\mu=9,8$	$\mu=9,7$	T=7	T=6	T=2	T=14	T=0,017	T=0,010	T=0,041

Tableau 20. Valeurs de F_{st} entre les trois groupes de crabes et leurs probabilités associées (en gras), test de différenciation par paire

Groupes	aP	aM	jM
aP		0,2	0,1667
aM	-0,0006		0,2833
jM	0,0007	0,0011	

RÉSULTATS

Déséquilibre de liaison

Contrairement aux résultats obtenus dans Anderson et al (2010), il existe un déséquilibre de liaison pour deux des 11 loci. Des tests de permutations (1100 fois, n aM : 48, n jM : 21, n aP : 78) ont mis en évidence que le locus DpA113 était lié au DpA5 ($p_{\text{ajustée selon Bonferroni}} = 0,000909$; $p = 0,00091$). Le locus DpA113 a été exclu des analyses, car c'était le moins polymorphe (DpA113 : 10 allèles, DpA5 : 14 allèles).

Comparaisons des crabes en fonction de leur origine

Le nombre d'allèles observés et la fréquence allélique obtenus selon le principe de raréfaction (El Mousadik & Petit 1996) ont des valeurs moyennes proches entre les trois groupes analysés (Tableau 19). Le nombre d'allèles privés (allèles présents exclusivement dans un groupe donné) était presque équivalent entre les adultes issus de *Meoma ventricosa* et de *Plagiobrissus grandis*, mais il semble que ce nombre soit plus faible chez les juvéniles (Tableau 19). L'hétérozygotie varie de 0,579 à 0,872 avec comme valeur moyenne de 0,758 pour les 10 loci. Pour l'ensemble des groupes, les valeurs de F_{is} (ou coefficient de consanguinité) sont proches de zéro. Des tests de permutations (600 fois, n aM : 48, n jM : 21, n aP : 78) ont démontré qu'aucun des loci ne présente de F_{is} significativement différent de zéro.

Les F_{st} (ou indices de différenciation) calculés entre les 3 groupes sont, eux aussi, proches de zéro (Tableau 20). Les tests de différenciations par paire (60 fois, n aM : 48, n jM : 21, n aP : 78, $p_{\text{ajustée selon Bonferroni}} = 0,0167$) ont conforté les valeurs de F_{st} , car aucune différence significative n'a été observée (Tableau 20). Quant au F_{st} global selon Weir & Cockerham (1984), sa valeur est égale à zéro.

Estimation d'une différenciation des infra-populations de crabes infectant *Meoma ventricosa*

Seul *Meoma ventricosa* présentait un nombre suffisant d'individus abritant au moins quatre crabes pour permettre une telle approche. Cette analyse a été effectuée sur un échantillon de 57 crabes (12 mâles, 16 femelles et 29 juvéniles) issus de 11 hôtes. Les F_{st} calculés entre les 11 hôtes étaient tous proches de zéro. Les tests de différenciation par paire (1100 fois, $p_{ajustée}$ selon Bonferroni = 0,000909) ont confirmé ces valeurs de F_{st} , car aucune différence significative n'a été observée (Tableau 21).

Tableau 21. Valeurs de F_{st} pour les crabes issus des 11 individus hôtes (*Meoma ventricosa*) et leur probabilités associées (en gras), test de différenciation par paire

Code oursin	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11
H1		0,8327	0,4609	1	0,7518	0,9309	0,7446	0,9709	0,8109	1	0,4927
H2	-0,0138		0,5827	0,6772	0,6255	0,2127	0,2982	0,1882	0,8627	0,8018	0,1564
H3	-0,007	-0,0016		0,33	0,1418	0,2455	0,4091	0,1255	0,1527	0,6773	0,09
H4	-0,0746	-0,0084	-0,0036		0,3418	0,4109	0,7155	0,2609	0,7382	0,9518	0,5682
H5	-0,0234	-0,0159	0,0225	-0,006		0,1854	0,1582	0,3127	0,3546	0,5555	0,0082
H6	-0,0354	0,0047	0,0068	-0,0137	0,0086		0,07	0,3391	0,0673	0,4409	0,0027
H7	-0,0261	0,0184	-0,0068	-0,0314	0,008	0,0128		0,0627	0,46	0,5646	0,0391
H8	-0,0232	0,016	0,0564	0,0112	0,0067	-0,0006	0,0421		0,2146	0,6355	0,0091
H9	-0,0348	-0,0122	0,0188	-0,024	-0,0016	0,0084	-0,0116	0,0243		0,95	0,27
H10	-0,0607	-0,0013	-0,0104	-0,0403	-0,0187	-0,009	-0,0098	-0,0038	-0,03		0,86364
H11	0,0178	0,048	0,0589	-0,0218	0,0639	0,0567	0,0511	0,0708	0,0207	-0,0088	

DISCUSSION

Les crabes vivant dans l'ouest de Discovery Bay constituent une seule et même population. En effet, ils ne se structurent pas en infra-populations sur *M. ventricosa* et/ou en races-hôtes. Pour les crabes vivant sur *Meoma ventricosa*, deux facteurs seraient susceptibles d'homogénéiser la population : le recrutement des juvéniles (ou des mégaloopes) et la mobilité des formes crabes (Pohle & Telford 1983, De Bruyn et al 2009, chapitre 4). Premièrement, un recrutement des juvéniles qui se ferait de façon aléatoire pourrait réduire les variabilités génétiques. En effet, à cette échelle géographique, la durée de vie larvaire de *Dissodactylus primitivus* (maximum 15 jours) devrait pouvoir leur permettre d'infecter des hôtes éloignés de leur lieu de naissance avec la même probabilité d'infecter l'hôte sur lequel elles sont nées (Pohle & Telford 1983). De plus, la reproduction asynchrone et continue du crabe pourrait être un facteur supplémentaire d'homogénéisation (De Bruyn et al 2009). Deuxièmement, un fort taux de mobilité des crabes, lié à la reproduction et à la surpopulation de l'hôte, serait le second facteur d'homogénéisation (chapitre 4). A priori, cet effet pourrait être considéré comme négligeable par rapport à celui du recrutement aléatoire. Cependant, la présence de crabes non différenciés génétiquement sur *M. ventricosa* et *Plagiobrissus grandis* est un signe clair que la mobilité des formes adultes de crabe est suffisamment importante pour compenser l'absence de recrutement sur *P. grandis*.

Les deux espèces hôtes présentent de nombreuses différences morphologiques et comportementales. Toutefois, cela n'affecte pas leur exploitation par l'ensemble de la population des crabes. Dès lors, en situation de sympatrie des hôtes, la mobilité de *D. primitivus* semble suffisamment importante pour éviter tout isolement d'une frange de la population et la formation de race-hôte. Notons que la mobilité des hôtes et leurs comportements grégaires sont des éléments qui devraient faciliter le comportement de changement d'hôte comme c'est le cas chez *Dissodactylus mellitae* (Kier & Grant 1965, Chesher 1969, Bell 1984).

Cette partie est le résultat de la collaboration avec Quentin Jossart (2010) lors de son travail de mémoire de Master 2 que j'ai co-encadré.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Discussion générale

Les études antérieures à cette thèse concernant le complexe des 13 espèces regroupées dans le genre *Dissodactylus* ont porté principalement sur les caractères morphologiques des différents stades de développement (Griffith 1987a, b ; voir synthèse dans Marques & Pohle 1996) et sur le mode de nutrition des crabes sur leurs hôtes (Telford 1982). Néanmoins, nous savions que l'ensemble de ces espèces est exclusivement symbiotique d'oursins irréguliers. Cette exclusivité est une caractéristique peu commune chez les brachyours associés aux échinides, qui sont le plus souvent aussi associés à des hôtes appartenant à d'autres taxa (bivalves, par exemple, Schmitt et al 1973, Stevcic et al 1988). On retrouve une telle exclusivité d'hôtes au sein du genre *Echinoecus*, mais qui ne regroupe que trois espèces (Chia et al 1999). De plus, comme c'est le cas pour de nombreuses espèces de décapodes symbiotiques, la majorité des associations (70%) mettant en jeu les membres du complexe *Dissodactylus* impliquent au moins deux espèces hôtes sympatriques (Castro 1978a, Yanagisawa & Hamaishi 1986, Baeza & Thiel 2000, Tableau 8). Ce phénomène est probablement favorisé par le comportement de changement d'hôte (« host-switching ») courant chez les crustacés symbiotiques (Baeza & Thiel 2007). En effet, au sein du complexe *Dissodactylus*, il a été démontré chez deux des 13 espèces la capacité des crabes à se déplacer entre leurs hôtes et à les détecter chimiquement (Gray et al 1968, Telford 1978b, Bell & Stancyk 1983, Reeves & Brooks 2001). Cependant, l'exploitation des hôtes au cours du cycle vital et le comportement reproductif des crabes restent mal connus au sein des *Dissodactylus*, mais aussi chez la majorité des décapodes symbiotiques (Baeza & Thiel 2007).

Le crabe *Dissodactylus primitivus* fut décrit pour la première fois par Bouvier en 1917, sur base d'échantillons obtenus lors des campagnes américaines du « Hassler » et du « Blake ». Cette espèce doit son nom au caractère « primitif » de ses maxillipèdes que lui attribuait le taxonomiste. Chesher (1969) releva la présence de *D. primitivus* sur *Meoma ventricosa*, mais de façon anecdotique. Il faut attendre 1978 et 1982 pour que Telford s'intéresse à la relation symbiotique du crabe avec ses hôtes. *Dissodactylus primitivus* est alors reconnu comme ectoparasite de deux espèces d'oursins irréguliers, *M. ventricosa* et *Plagiobrissus grandis* (Telford 1978a, b, 1982). Telford (1982) détermina que 50 à 60% du bol alimentaire du crabe se composait des tissus tégumentaires et des appendices (piquants, pédicellaires) de ses hôtes, un comportement infligeant des lésions tégumentaires chez les deux espèces d'oursins, suggérant donc le caractère parasitaire de cette relation (Telford 1982). Toutefois, la

démonstration du coût pour l'hôte de cette exploitation, comme les caractéristiques régissant le fonctionnement de la symbiose restaient à démontrer.

Les différentes études menées au cours de cette thèse ont d'abord permis d'approfondir nos connaissances sur le caractère parasitaire de cette symbiose, en démontrant que le crabe affecte la fitness de son hôte (De Bruyn et al 2009, 2010). Des lésions ont été observées sur *M. ventricosa* et leur caractérisation morphologique a permis de les classer selon quatre catégories. Les trois premières traduisent l'attaque progressive du tégument par le parasite où les appendices (piquants, pédicellaires et podions) sont sectionnés et le test progressivement mis à nu. La quatrième catégorie correspond à un stade de guérison, où les téguments et les appendices de l'oursin sont en cours de régénération. Les plaies sévères (catégories trois et quatre) affectent l'hôte de manière tangible puisque le volume gonadique est réduit par rapport à celui des oursins sains, une observation qui démontre le caractère parasitaire de la relation et l'atteinte à la fitness de l'hôte. Le parasitisme est cependant rare chez les Pinnotheridae et les autres brachyourses symbiotiques, qui sont généralement considérés comme des commensaux (Schmitt et al 1973, Kruczynski 1975, Morton 1989). Il y a malheureusement peu de travaux portant sur la nature des symbioses auxquelles participent ces crabes et le caractère commensal mériterait d'être vérifié. Par exemple, au sein du complexe *Dissodactylus*, *Dissodactylus mellitae*, *Dissodactylus crinitichelis*, *Dissodactylus lockingtoni*, *Dissodactylus nitidus* et *Dissodactylus xantusi* occasionnent des lésions tégumentaires semblables à celles qui sont observées ici et pourraient donc être des parasites au même titre que *D. primitivus* ; ces observations n'ont toutefois pas fait l'objet d'études plus ciblées (Dexter 1977, Telford 1982, Campos et al 2009). D'autres décapodes ectosymbiotiques d'oursins sont connus pour s'attaquer aux téguments de leurs hôtes, mais des lésions similaires à celles qui sont occasionnées par les crabes *Dissodactylus* n'ont encore jamais été décrites. Par exemple, la crevette *Gnathophylloides mineri* se nourrit en partie du tégument de son oursin hôte, *Tripneustes ventricosus*, mais elle s'attaque exclusivement à ses piquants qu'elle racle au moyen de ses chélicères (Patton et al 1985). Quant au crabe *Echinoecus pentagonus* associé à l'oursin *Echinothrix calamaris*, il se nourrit du tégument et des pelotes fécales de son hôte comme cela s'observe chez *D. lockingtoni* (Castro 1978a, Telford 1982). Dans ces deux cas, cependant, des lésions similaires à celles qui sont occasionnées par les crabes *Dissodactylus* n'ont encore jamais été décrites. Au sein des Pinnotheridae, il existe également un parasite d'oursin n'appartenant pas au complexe *Dissodactylus*. Il s'agit de *Pinnaxodes chilensis* qui est un « endoparasite » du rectum de

l'oursin régulier *Loxechinus albus*. Cependant, sa morphologie et son comportement alimentaire (il récupère les pelotes fécales de l'hôte à l'aide de ses pinces) se rapprochent des Pinnotheridae associés aux bivalves (Pearce 1962). Par sa présence et son comportement alimentaire le crabe déforme et irrite le rectum de l'oursin ce qui l'affaiblit et dans certains cas peut le tuer (Rathbun 1918, Takeda & Masahito 2000).

La prise en compte des deux hôtes dans l'étude du cycle vital du crabe *D. primitivus* nous a permis de mettre en évidence des éléments originaux inattendus. Ainsi, bien que la reproduction se déroule sur les deux hôtes, seul *M. ventricosa* accueille les formes juvéniles. Ceci atteste d'une exploitation asymétrique des hôtes en fonction du stade de développement du parasite. Cependant, malgré cette exploitation asymétrique des hôtes, les crabes trouvés sur *P. grandis* et *M. ventricosa* semblent constituer la même population génétique, comme nous avons pu le mettre en évidence grâce à l'emploi de marqueurs génétiques (microsatellites). La présence de crabes adultes sur *P. grandis* en l'absence de recrutement suggère donc que les adultes passent d'une espèce d'hôte à l'autre, ce qui est confirmé par les observations que nous avons faites préalablement lors d'expériences *in situ*. Bien que la majorité des espèces de crabes au sein du complexe *Dissodactylus* présente au moins deux espèces hôtes, c'est la première fois qu'un cycle asymétrique est mis en évidence. Cependant, étant donné que les cycles de vie de la plupart des espèces de ce complexe n'ont pas été étudiés en détail, il sera nécessaire d'effectuer des études complémentaires chez les autres membres du complexe afin d'estimer si le cas de *D. primitivus* est réellement unique. En effet, d'autres cas sont connus dans d'autres groupes de crabes symbiotiques : le recrutement asymétrique avait déjà été observé chez le crabe anomoure *Allopetrolisthes spinifrons* (Porcellanidae). Chez ce crabe, les adultes sont associés exclusivement à une anémone alors que les larves et les juvéniles se retrouvent sur plusieurs espèces d'hôtes dont l'hôte définitif (Baeza & Stotz 2001).

Au vu de nos premiers résultats, basés sur l'analyse d'une cohorte de *D. primitivus in situ* (De Bruyn et al 2009, 2010), nous avons proposé plusieurs hypothèses concernant le cycle parasitaire du crabe. La première était que la forme actuelle du cycle vital est un état transitoire entre un cycle à un hôte principal (avec un hôte secondaire) vers un cycle à deux hôtes utilisés « en série » (Parker et al 2003, voir la discussion dans De Bruyn et al (2010) pour des arguments complets). Cependant, nous avons considéré que la différence de fitness des crabes femelles entre les deux hôtes, trop faible, et l'absence de préférence des crabes adultes pour *P. grandis* permettent d'exclure l'idée de cette évolution. En effet, selon le

modèle de Parker et al (2003), une différence de fitness suffisamment importante aurait pu favoriser la sélection de la reproduction des crabes uniquement sur *P. grandis*. Ceci aurait pu conduire à l'utilisation de cet hôte comme site unique de reproduction, faisant de lui l'hôte final, *M. ventricosa* devenant l'hôte intermédiaire où seule la croissance des stades larvaires aurait eu lieu. Dans notre cas, cependant, le nombre d'œufs portés par les femelles trouvées sur *P. grandis* n'était que de 17% supérieur à celui porté par les femelles trouvées sur *M. ventricosa*. De plus, les crabes (et en particulier les femelles) n'ont présenté aucune préférence significative pour *P. grandis* lors des expériences de choix, voire même une préférence pour *M. ventricosa* lorsqu'ils étaient prélevés sur cette espèce. Ceci suggère une absence de spécialisation pour la reproduction de *D. primitivus* sur *P. grandis*. Par conséquent, l'évolution vers un cycle complexe semble peu probable. La seconde hypothèse suggérait la formation de race-hôte. Les races-hôtes sont des groupes de population d'une même espèce qui sont distribués sur des espèces hôtes différentes (Stevens 1990a, McCoy et al 2003, Drès & Mallet 2002, Magalhães et al 2007). Elles se composent d'individus qui présentent une fidélité forte à leur espèce hôte respective. De plus, ces races-hôtes coexistent, au moins, dans une partie de l'aire de répartition de l'espèce, mais sont génétiquement différenciées sur plus d'un locus. En effet, une race-hôte A est génétiquement plus différenciée d'une race-hôte B qui lui est sympatrique que d'une autre population géographiquement distante de la même race-hôte A. Pour maintenir la différenciation génétique entre les races-hôtes il existe une corrélation entre le choix du partenaire et le choix de l'hôte. Toutefois, il existe toujours un flux génique appréciable entre ces groupes qui permet l'hybridation et le **backcrossing**¹⁴. Pour finir, les symbiotes doivent présenter une meilleure fitness sur leur hôte d'origine et les formes hybrides doivent être moins compétitives (Drès & Mallet 2002). Dans mon travail, aucune différenciation génétique n'a été observée entre les crabes trouvés sur *P. grandis* et ceux provenant de *M. ventricosa*. L'absence de préférence lors des expériences de choix et la forte mobilité des crabes adultes pourraient expliquer l'homogénéité des groupes de crabes vivant sur les deux hôtes. En outre, l'existence de races-hôtes aurait pu aussi se manifester par des différences morphologiques comme c'est le cas chez la crevette *Periclimenes soror*, symbiotique de plusieurs espèces d'étoiles de mer (Antokhina & Sorokin 2010). Cependant, des travaux préliminaires sur la morphologie de la carapace du crabe *D. primitivus* ne relèvent aucune différence de forme en fonction de l'espèce hôte d'origine (Jossart 2010). Toutes ces données convergent vers la

¹⁴ **Backcrossing** : croisement entre un individu hybride et un individu parent ou génétiquement similaire (Drès & Mallet 2002)

réfutation de la formation de races-hôtes chez *D. primitivus*. Cependant, il conviendra de vérifier si l'abondance relative des hôtes est identique à celle observée à Discovery Bay en tout point de l'aire de répartition géographique de *D. primitivus*. En effet, des spécialisations locales de certaines populations de ces crabes sur l'un des deux hôtes n'est pas à exclure, car les distributions géographiques de *M. ventricosa* et de *P. grandis* ne sont pas similaires (Mortensen 1951, Kier & Grant 1965, Hendler et al 1995). Dans certains habitats, si *M. ventricosa* devient rare et qu'il n'existe pour le crabe aucune autre alternative, on peut imaginer les larves s'adaptant à la colonisation de *P. grandis*, ce qui assurerait la continuité du cycle parasitaire. Dans ce cas, une différenciation génétique pourrait survenir avec d'autres populations, adaptées à se reproduire sur *M. ventricosa*. Notons, que la formation de race-hôte reste peu étudiée chez les Pinnotheridae et les autres crustacés symbiotiques (Stevens 1990a, 1991, Duffy 1996a, b, Sotka 2005, Antokhina & Sorokin 2010). En effet, ce type de différenciation génétique n'a été étudié que chez une espèce de Pinnotheridae associée à des mollusques bivalves, *Pinnotheres novaezelandiae* (Stevens 1990a, c). Cet « endosymbiote » est adapté à la vie à l'intérieur de l'hôte et présente des stades de développement dont la morphologie exclut toute sortie. En effet, certains stades adultes possèdent un céphalothorax non calcifié très arrondi ainsi que des pattes trop courtes et fragiles ce qui les rend vulnérables dans l'environnement extérieur (Christensen & McDermott 1958, Huard & Demeusy 1968). Bien que la mobilité au stade adulte entre les hôtes ne soit pas nulle, elle est considérablement réduite ce qui pourrait favoriser une différenciation en fonction de la distance et de l'espèce hôte exploitée. *Pinnotheres novaezelandiae* est une espèce généraliste à hôtes sympatriques chez laquelle existent au moins trois races-hôtes. Dès lors, chez ce Pinnotheridae, le mode de vie « interne » a pu favoriser la différenciation génétique et la formation de races-hôtes malgré une durée de vie larvaire pouvant atteindre plusieurs semaines (Stevens 1990b, Sotka 2005). L'équilibre des forces agissant sur la formation de ces races-hôtes (mode de vie interne et faible degré de spécificité) est subtil et peut basculer pour peu que l'un des deux paramètres change. Pour conclure, dans l'état actuel de nos connaissances, on peut considérer que les crabes *D. primitivus* vivant sur *M. ventricosa* et *P. grandis* constituent la même population et que ce cycle parasitaire « déséquilibré » est stabilisé par deux forces antagonistes: la qualité et la rareté de *P. grandis*, combinées avec la forte mobilité des crabes adultes. En effet, la rareté de *P. grandis* réduirait les possibilités de colonisation par les femelles, ce qui contrebalancerait l'effet de la qualité de cet hôte sur leur fitness.

Comme beaucoup d'autres crustacés symbiotiques, *D. primitivus* est capable de localiser chimiquement ses hôtes. Le chimiotactisme a été mis en évidence chez trois espèces du complexe *Dissodactylus* (*D. crinitichelis*, *D. mellitae* et *Clypeasterophilus rugatus*, voir chapitre 3). Néanmoins, nos travaux sont les premiers à mettre en évidence une détection d'un oursin Spatangidae par un crabe Pinnotheridae. *Dissodactylus crinitichelis* et *D. mellitae* sont deux espèces généralistes vivant sur plusieurs espèces hôtes. Elles présentent une légère préférence chimique pour l'hôte dont elles sont issues, mais cette attraction peut changer par acclimatation du symbiote sur une autre espèce hôte (Gray et al 1968, Reeves & Brooks 2001). Quant à la troisième espèce, *C. rugatus*, elle ne vit que sur une espèce hôte et son attraction chimique est strictement limitée à cet hôte (Reeves & Brooks 2001). Chez *D. primitivus*, l'asymétrie de l'attraction chimique mise en évidence suggère que ce mécanisme est plastique. Effectivement, les crabes trouvés sur *M. ventricosa* le préfèrent à d'autres sources potentielles, incluant *P. grandis*. Alors que ceux récoltés sur *P. grandis* ne présentent aucune préférence pour l'une des deux espèces hôtes. De plus, cette asymétrie pourrait refléter celle du cycle vital du crabe. Au vu de ce qui se passe chez les autres membres du complexe, le niveau de spécificité de *D. primitivus* serait intermédiaire entre généraliste et spécialiste. Son attraction chimique asymétrique serait plus plastique que celle des espèces spécifiques, mais moins que celle des espèces généralistes. Cette plasticité serait évidemment à confirmer par des études complémentaires, notamment en tentant d'inverser la préférence des crabes, par exemple en mettant en contact pendant des périodes plus ou moins longues des crabes issus de *M. ventricosa* avec des *P. grandis*, et en testant l'attractivité de ces hôtes tout au long de ces expériences d'imprégnation. A plus large échelle, des études complémentaires impliquant des Pinnotheridae et d'autres crustacés symbiotiques avec des niveaux de spécificité contrastés permettraient de tester le rôle de la plasticité olfactive dans l'évolution de la spécificité à l'hôte chez les crabes symbiotiques.

L'ensemble de nos résultats a également conduit à émettre des hypothèses quant au système de reproduction et au comportement reproductif de *D. primitivus*. Baeza et Thiel (2007) ont proposé un modèle théorique décrivant le comportement reproductif des crustacés symbiotiques. Cinq comportements pourraient avoir évolué, de la monogamie stricte vers diverses formes de polyandries ou de polygynies. Selon ce modèle, la trajectoire évolutive de ces comportements reproductifs serait dépendante de plusieurs facteurs environnementaux comme l'abondance de l'hôte, sa taille relative, son comportement, ainsi que les risques de prédation encourus par le symbiote. Les deux auteurs se basent sur la capacité des symbiotes à

monopoliser leur hôte (c'est à dire à le défendre contre toute intrusion d'un conspécifique à l'exception d'un partenaire sexuel) ou à en changer au cours de leur vie. En effet, de nombreuses espèces de crustacés peuvent changer plusieurs fois d'hôte au cours de leur vie, ce qui n'est pas un comportement courant chez les organismes symbiotiques. Chez *D. primitivus*, les crabes adultes ne sont pas exclusivement présents sur les hôtes en couples hétérosexuels (la distribution en couple est un indicateur de la monopolisation des hôtes). Cette observation est très différente de celles faites chez les crabes symbiotiques porcelaines ou d'autres crustacés symbiotiques où la présence de couples hétérosexuels sur l'hôte est la règle, phénomène interprété comme des comportements monogames (Huber 1987, Hsueh & Huang 1998, Chia et al 1998, Baeza 2008). Ceci exclut la monogamie et le comportement de monopolisation de l'hôte chez *D. primitivus*. De plus, la mobilité de *D. primitivus* est effectuée par les deux sexes, et non par les mâles seuls. Ces différents éléments correspondent aux critères de la polygynandrie à femelles mobiles proposé par le modèle théorique narratif de Baeza et Thiel (2007). Dans ce modèle, les mâles et les femelles se déplacent entre les hôtes à la recherche de partenaires reproducteurs, qui peuvent être multiples. Chez *D. primitivus*, la présence simultanée sur un même individu hôte de femelles gravides, non-gravides et de juvéniles d'âges différents souligne l'asynchronisme de la reproduction au sein de la population, ce qui favoriserait ce comportement reproductif polygame et polygynandre. En outre, la mobilité des hôtes et leur comportement grégaire pourraient faciliter les changements d'hôtes réalisés par les crabes comme cela a été mis en évidence chez *D. mellitae* (Bell 1984).

Néanmoins, d'après nos expériences, il semble que les mâles de *D. primitivus* ont une tendance à se déplacer plus fréquemment que les femelles. Cela pourrait s'expliquer par le fait que certaines femelles se préparent à une nouvelle ponte et restent sur l'hôte. En effet, les Pinnotheridae possèdent une spermathèque qui permettrait des couvées multiples sur base d'un seul accouplement (Guinot 1979). Si l'on suit le modèle proposé par Baeza et Thiel (2007), seul le crabe *Liopetrolisthes mitra* commensal de l'oursin régulier *Tetrapyrgus niger* présenterait un comportement reproductif similaire à *D. primitivus*. Toutefois, si l'on se base sur les travaux de Bell (1984, 1988), il apparaît que le crabe *D. mellitae* parasite de l'oursin irrégulier *Mellita quinquiesperforata* pourrait aussi présenter un comportement de polygynandrie à femelles mobiles. La taille relative de l'hôte est importante et permet des valeurs de charge parasitaire équivalente à celles qui sont observées pour *D. primitivus* (*D. primitivus* : 1 à 2,7 crabes / hôte; *D. mellitae* : 0,4 à 2,7 crabes / hôte). De plus, les deux sexes

sont actifs dans la recherche de partenaires et, comme chez *D. primitivus*, les mâles ont tendance à quitter l'hôte plus fréquemment que les femelles (Bell 1984). Comme *M. ventricosa*, *M. quinquiesperforata* présente une distribution agrégée où la densité des hôtes peut être très importante (37 à 108 individus / m², Moore 1956, Weihe & Gray 1968). Par conséquent, il serait intéressant de vérifier si ce comportement reproductif (polygynandrie à femelles mobiles) est partagé par l'ensemble des Pinnotheridae et d'autres Brachyourses symbiotiques d'oursins (Rathbun 1918, Schmitt et al 1973, Castro 1978a, Stevcic et al 1988, Weber & Galleguillos 1991, Chia et al 1999, Baeza & Thiel 2000).

La mobilité n'est pas un fait rare chez les crustacés symbiotiques (Baeza & Thiel 2001, Baeza & Thiel 2007, Bell 1984). Cependant, la cause de ces changements d'hôtes n'est pas toujours bien définie et peut être complexe (antagonisme entre les symbiotes, mauvais état de santé de l'hôte, ...). Chez *D. primitivus*, nous avons mis en évidence que la surpopulation sur *M. ventricosa* et la compétition intra-sexuelle stimulent ce comportement. Chez les autres crustacés symbiotiques, la compétition intra-hôte peut aussi pousser les symbiotes au changement d'hôte comme c'est le cas chez *D. mellitae* et le crabe *Trapezia ferruginea* associé au corail *Pocillopora* spp. (Castro 1978b, Bell 1984). Cependant, l'abandon de l'hôte n'est pas toujours possible, par exemple, quand la population d'hôtes est trop fragmentée et/ou lorsque que les risques de prédation sont trop importants (cf. Baeza & Thiel 2007). Par exemple, chez les crabes *Trapezia intermedia* et *T. digitalis* le manque de place ou l'arrivée d'un congénère sur l'hôte peut conduire à des combats violents entre individus du même sexe. Ces crabes sont des symbiotes obligatoires de coraux Pocilloporidae et sont exclusivement monogames (Huber 1987). Selon l'auteur, la dépendance totale du symbiote vis-à-vis de l'hôte et son incapacité à en changer, liées au risque de prédation, seraient à l'origine de cette territorialité agressive.

Chez *D. primitivus*, l'abandon d'un hôte ne correspond pas toujours à un changement d'hôte. Beaucoup de crabes quittent leur hôte, mais semblent rester dans le sédiment. Des observations personnelles, non quantifiées, suggèrent que les crabes restent à proximité de leur hôte et le rejoignent après un certain temps, comme cela a été observé par Bell (1988) pour le crabe *D. mellitae*. Il est intéressant de relever que *D. primitivus* est mimétique de son environnement abiotique, tout du moins sur la zone d'étude du nord de la Jamaïque. Sa couleur blanchâtre est en effet homochrome avec le sable corallien. Par contre, la couleur claire des crabes tranche très nettement avec la couleur brune des hôtes principaux *M. ventricosa*. Par cette caractéristique, *D. primitivus* se démarque des autres membres du

complexe *Dissodactylus*, car le mimétisme sur l'hôte semble être la règle au sein de ce groupe, mais aussi chez les autres des crustacés symbiotiques (Macià & Robinson 2009). Effectivement, les crabes du complexe *Dissodactylus* présentent sur le corps et les péréiopodes des marbrures de couleur similaire à celle de l'hôte, ce qui les rend presque indétectables quand ils sont entre ses piquants (Bouvier 1917, Rathbun 1918, Campos et al 2009). On peut interpréter cette homochromie avec le milieu comme un facteur limitant les risques de prédation lors des déplacements des crabes d'un hôte à l'autre, à l'instar de ce qui se passe chez la crevette symbiotique *G. mineri* parasite de deux espèces d'oursins sympatriques *Tripneustes ventricosus* et *Lytechinus variegatus* (Patton et al 1985, Macià & Robinson 2009). Cette crevette présente un camouflage parfaitement adapté à *T. ventricosus* et peu à *L. variegatus*. Ce dernier est moins abondant que *T. ventricosus* et c'est pourtant lui que concernent les prévalences et les charges parasitaires les plus élevées. Cela s'expliquerait par le comportement de *L. variegatus* qui se couvre d'un grand nombre de débris, comportement que *T. ventricosus* n'adopte pas. Dès lors, malgré son faible mimétisme, la crevette peut vivre sur *L. variegatus* avec un risque de prédation moindre que sur *T. ventricosus*. Selon les auteurs, cette situation explique que la coloration adoptée par la crevette la rend mimétique dans l'environnement qu'elle exploite le moins, mais où les risques de prédation sont les plus élevés. Ce cas pourrait être transposé à celui de l'homochromie de *D. primitivus* avec le sable corallien. On peut raisonnablement considérer que malgré la coloration blanchâtre du crabe, son risque de prédation sur *M. ventricosa* et sur *P. grandis* est plus faible que dans le sable environnant. Ajoutons que le crabe peut difficilement être mimétique sur deux espèces hôtes aussi différentes (Figure 20). Il est mimétique sur *P. grandis* et sur le sable et ne l'est pas sur *M. ventricosa*. Cependant, sur *P. grandis* le risque de prédation ne serait pas plus important que sur *M. ventricosa* (pour rappel, *P. grandis* passe plus de temps enfoui et est plus dissuasif que *M. ventricosa*). Par conséquent, comme chez *G. mineri*, la coloration du crabe serait adaptée à l'environnement où les risques de prédation sont les plus élevés. Le mimétisme sur le sable serait co-substantiel du comportement de changement d'hôte et de la polygynandrie à femelles mobiles : il permettrait au crabe de se déplacer dans l'environnement avec un risque limité. Remarquons qu'en réduisant la pression de prédation et donc le stress, le mimétisme pourrait améliorer la fitness des crabes vivant sur *P. grandis*, notamment la fitness des femelles. Ce mimétisme favoriserait aussi l'accès à *P. grandis*, les crabes colonisant *P. grandis* étant des individus post-métamorphiques se déplaçant dans le sable et non des stades larvaires issus de la colonne d'eau.

En conclusion générale, ce travail de thèse a mis en évidence plusieurs originalités dans le cycle de vie du crabe *D. primitivus* : l'exploitation asymétrique de deux échinides et un comportement sexuel où tant les mâles que les femelles sont en quête de partenaires sexuels et se déplacent activement d'un hôte à l'autre. Ce comportement reproductif peu connu chez les crustacés symbiotiques offre des perspectives de recherches intéressantes s'inscrivant dans le domaine encore méconnu de la compétition spermatique. En effet, le comportement sexuel de *D. primitivus* permet aux femelles d'être fécondées par plusieurs mâles, le sperme étant « stocké » dans une spermathèque (Guinot 1979). Cette situation permet à son tour la mise en jeu d'une compétition spermatique qui modulerait les traits génétiques de la descendance et constituerait alors une pression sélective. Dès lors, l'une des voies de recherches à envisager est de vérifier s'il y a bien multipaternité au sein des pontes (analyses génétiques des œufs incubés par les femelles). Par ailleurs, si la recherche d'un partenaire sexuel et la surpopulation de l'hôte forcent les crabes à quitter leur hôte, les signaux qui induisent le choix des crabes pour un hôte plutôt qu'un autre ne sont pas connus. Par exemple, la présence de crabes conspécifiques sur l'oursin pourrait attirer un nouvel arrivant (attraction chimique et/ou visuelle).

Une deuxième perspective de recherche, découlant également des modalités du cycle vital concerne l'étude des patrons de dispersion (à l'échelle locale et régionale) et de la structuration des populations de *D. primitivus*. Stevens (1990a) suggère que les Pinnotheridae présentent des caractéristiques réduisant leurs capacités de dispersion des stades larvaires. Selon lui, l'activité importante des larves, la nature symbiotique et le développement larvaire abrégé ainsi que les populations fragmentées des hôtes pourraient favoriser une différenciation génétique entre les populations. Le développement de marqueurs microsatellites réalisé au cours de cette thèse devrait permettre de tester cette hypothèse.

BIBLIOGRAPHIE

Références bibliographiques

- Allaby M (1985) *The Oxford dictionary of natural history*, Oxford University Press, Oxford and New York, 702 pp
- Anderson CM, Aparicio GJ, Atangana AR, Beaulieu J, Bruford MW, Cain F, Campos T, Cariani A, Carvalho MA, Chen N, Chen PP, Clamens A-L, Clark AM, Coeur D'acier A, Connolly P, Cordero-Rivera A, Coughlan JP, Cross TS, David B, De Bruyn C, De Meyer M, De Ridder C, Delatte H, Dettor, MT, Downer SJ, Dubreuil C, Evans KJ, Fan B, Ferrara G, Gagne A, Gaillard M, Gigliarelli L, Giovinazzi J, Goetz DR, Grunwald NJ, Hansson B, Huotari T, Jank L, Joussetin E, Jungmann L, Kaczmarek, ME, Khasa DP, Kneebone J, Korpelainen H, Kostamo K, Lanfaloni L, Lin H, Liu X, Lucentini L, Maes GE, Mahaffee WF, Meng Z, Micali S, Milano I, Mok HF, Morin L, Neill TM, Newton CH, Gigi Ostrow D, Palomba A, Panara F, Puletti ME, Quarta R, Quilici S, Ramos AKB, Rigaud T, Risterucci AM, Salomon MP, Sánchez-Guillén, RA, Sarver SK, Sequeira AS, Sforça DA, Simiand C, Smith B, Sousa ACB, Souza AP, Stepien CC, Stuckert AJ, Sulikowski J, Tayeh A, Tinti F, Tsang PCW, van Houdt JKJ, Vendramin E, Verde I, Virgilio M, Wang HL, Wang LE, Wattier RA, Wellenreuther M, Xie CX, Zane L, Zhang XJ, Zhang Y, Zhuang Z and Zucchi MI (2010) Permanent Genetic Resources added to Molecular Ecology Resources Database 1 December 2009-31 January 2010. *Mol Ecol Notes* 10(3): 576-579
- Anker A, Murina G-V, Lira C, Caripe JAV, Palmer R, Jeng M-S (2005) Macrofauna associated with echiuran burrows: A review with new observations of the innkeeper worm, *Ochetostoma erythrogrammon* Leuckart and Rüppel, in Venezuela. *Zool Stud* 44: 157-190
- Antokhina TI, Sorokin PA (2010) Molecular Genetic Analysis of the Two Morphs of Sea Star Shrimp *Periclimenes soror* Nobili, 1904, the Symbionts of Tropic Sea Stars. *Russ J Genet* 46 : 855-860
- Araújo A, Jansen AM, Bouchet F, Reinhard K, Ferreira LF (2003) Parasitism, the diversity of life, and paleoparasitology. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 5-11
- Arvedlund M, McCormick MI, Fautin DG, Bildsøe M (1999) Host recognition and possible imprinting in the anemone fish *Amphiprion melanopus* (Pisces: Pomacentridae). *Mar Ecol Prog Ser* 188 : 207-218

- Asama H, Yamaoka K (2009) Life history of the pea crab, *Pinnotheres sinensis*, in term of infestation in the bivalve mollusk, *Septifer virgatus*. MBA2 : e77 Published on-line, <http://www.mba.ac.uk/>
- Atema J (1995) Chemical signals in the marine environment: Dispersal, detection and temporal signal analysis. *Proc Natl Acad Sci* 92 : 62-66
- Atkins D (1926) The moulting stages of the pea-crab (*Pinnotheres pisum*). *J Mar Biol Assoc UK* 14 (2): 475-493
- Baeza JA (2007) The origins of symbiosis as a lifestyle in marine crabs (genus *Petrolisthes*) from the eastern pacific: Does interspecific competition play a role? *Rev Biol Mar Oceanogr* 42(1): 7-21
- Baeza JA (2008) Social monogamy in the shrimp *Pontonia margarita*, a symbiont of *Pinctada mazatlantica*, off the Pacific coast of Panama. *Mar Biol* 153: 387-395
- Baeza JA, Stotz W, Thiel M (2001) Life history of *Allopetrolisthes spinifrons*, a crab associate of the sea anemone *Phymactis clematis*. *J Mar Biol Assoc UK* 81: 69-76
- Baeza JA, Stotz WB (2001) Host-use pattern and host-selection during ontogeny of the commensal crab *Allopetrolisthes spinifrons* (H. Milne Edwards, 1837) (Decapoda: Anomura: Porcellanidae). *J Nat Hist* 35: 341-355
- Baeza JA, Stotz W, Thiel M (2002) Agonistic Behaviour and Development of Territoriality During Ontogeny of the Sea Anemone Dwelling Crab *Allopetrolisthes Spinifrons* (H. Milne Edwards, 1837) (Decapoda: Anomura: Porcellanidae). *Mar Freshw Behav Physiol* 35 : 189-202
- Baeza JA, Thiel M (2000) Host use pattern and life history of *Liopetrolisthes mitra*, a crab associate of the black sea urchin *Tetrapygus niger*. *J Mar Biol Assoc UK* 80: 639-645
- Baeza JA, Thiel M (2003) Predicting territorial behavior in symbiotic crabs using host characteristics: a comparative study and proposal of a model. *Mar Biol* 142: 93–100
- Baeza JA, Thiel M (2007) The mating system of symbiotic crustaceans: a conceptual model based on optimality and ecological constraints. In: Duffy JE, Thiel M (eds) *Evolutionary ecology of social and sexual systems. Crustaceans as model organisms*. Oxford University Press, Oxford, 249-267 pp

- Bailey RJE, Birkett MA, Ingvarsdóttir A, Mordue AJ (Luntz), Mordue W, O'Shea B, Pickett JA, Wadham LJ (2006) The role of semiochemicals in host location and non-host avoidance by salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) copepodids. Can J Fish Aquat Sci 63: 448-456
- Bandilla M, Hakalahti T, Hudson PJ, Valtonen ET (2004) Aggregation of *Argulus coregoni* (Crustacea: Branchiura) on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a consequence of host susceptibility or exposure? Parasitology 13 : 1–8
- Bandilla M, Hakalahti-Sirén T, Tellervo Valtonen ET (2008) Patterns of host switching in the fish ectoparasite *Argulus coregoni*. Behav Ecol Sociobiol 62: 975-982
- Becheikh S, Michaud M, Thomas F, Raibaut A, Renaud F (1998) Roles of resource and Partner availability in Sex determination in a parasitic copepod. Proc R Soc Lond B 265: 1153-1156
- Bell JL (1984) Changing residence: dynamics of the symbiotic relationship between *Dissodactylus mellitae* (Rathbun) (Pinnotheridae) and *Mellita quinquiesperforata* (Leske) (Echinodermata). J Exp Mar Biol Ecol 82: 101-115
- Bell JL (1988) Distribution and abundance of *Dissodactylus mellitae* (Rathbun, Pinnotheridae) on *Mellita quinquiesperforata* (Leske) (Echinodermata). J Exp Mar Biol Ecol 117: 93-114
- Bell JL, Stancyk SE (1983) Population dynamics and reproduction of *Dissodactylus mellitae* (Brachyura: Pinnotheridae) on its sand dollar host *Mellita quinquiesperforata* (Echinodermata). Mar Ecol Prog Ser 13: 141-149
- Beltran S, Boissier J (2008) Schistosome monogamy: who, how, and why? Trends Parasitol 24: 386–391
- Beltran S, Boissier J (2009) Are the schistosomes socially and genetically monogamous ? Parasitol Res 104 : 481-483
- Bilodeau AL, Felder DL, Neigel JE (2005) Multiple paternity in the thalassinidean ghost shrimp, *Callinectes islagrande* (Crustacea: Decapoda: Callinassidae). Mar Biol 146: 381-385
- Boeger WA, Kritsky DC, Pie MR, Engers KB (2005) Mode of transmission, host switching, and escape from the Red Queen by viviparous Gyrodactylids (Monogeneoidea). J Parasitol 91: 1000-1007

- Bolaños J, Cuesta JA, Hernández G, Hernández J, Felder DL (2004) Abbreviated larval development of *Tunicotheres moseri* (Rathbun, 1918) (Decapoda: Pinnotheridae), a rare case of parental care among brachyuran crabs. *Sci Mar* 68 (3): 373-384
- Bouvier ME-L (1917) Gonoplacidés et Pinnothéridés nouveaux recueillis au cours des campagnes américaines du « Hassler » et du « Blake ». *Bull Mus Natl Hist* 23: 391-398
- Brooks WR (1991) Chemical recognition by hermit crabs of their symbiotic sea anemones and a predatory octopus. *Hydrobiologia* 216-17 : 291-295
- Brooks WR, Rittschof D (1995) Chemical detection and host selection by the symbiotic crab *Porcellana sayana*. *Invertebr Biol* 114 : 180-185
- Brockerhoff AM, McLay CL (2005) Mating behaviour, female receptivity and male-male competition in the intertidal crab *Hemigrapsus sexdentatus* (Brachyura : Grapsidae). *Mar Ecol Prog Ser* 290 : 179-191
- Brown SP, Renaud F, Guégan J-F, Thomas F (2001) Evolution of trophic transmission in parasites: the need to reach a mating place? *J Evolution Biol* 14 (5) : 815-820
- Bunk E, Sramkova A, Ayasse M (2010) The role of trail pheromones in host nest recognition of the social parasitic bumblebees *Bombus bohemicus* and *Bombus rupestris* (Hymenoptera: Apidae). *Chemoecology* 20 : 189-198
- Bush SE (2009) Does behavioural flexibility facilitate host switching by parasites? *Funct Ecol* 23(3): 578-586
- Campos E (1996a) Partial revision of the genus *Fabia* Dana, 1851 (Crustacea: Brachyura: Pinnotheridae). *J Nat Hist* 30: 1157-1178
- Campos E (1996b) Partial revision of pinnotherid crab genera with a two-segmented palp on the third maxilliped (Decapoda: Brachyura). *J Crustac Biol* 16: 556-563
- Campos E (2006) Systematics of the genus *Scleroplax* Rathbun, 1893 (Crustacea: Brachyura: Pinnotheridae). *Zootaxa* 1344: 33-41
- Campos E, Griffith H (1990) *Clypeasterophilus*, a new genus to receive the small-palped species of the *Dissodactylus* complex (Brachyura: Pinnotheridae). *J Crustac Biol* 10: 550-553
- Campos E, de Campos AR, de León-González JA (2009) Diversity and ecological remarks of ectocommensals and ectoparasites (Annelida, Crustacea, Mollusca) of echinoids (Echinoidea: Mellitidae) in the Sea of Cortez, Mexico. *Parasitol Res* 105: 479-487
- Campos E, de Campos AR, Ramírez J (1992) Remarks on distribution and hosts for symbiotic crustaceans of the Mexican Pacific (Decapoda and Isopoda). *Proc Biol Soc Wash* 105 : 753–759
- Castro P (1978a) Settlement and habitat selection in the larvae of *Echinoecus pentagonus*, a brachyuran crab symbiotic with sea urchins. *J Exp Mar Biol Ecol* 34 : 259-270

- Castro P (1978b) Movements between coral colonies in *Trapezia ferruginea* (Crustacea: Brachyura), an obligate symbiont of Scleractinian corals. *Mar Biol* 46 : 237-245
- Chesher RH (1963) The morphology and function of the frontal ambulacrum of *Moira atropos* (Echinoidea: Spatangoida). *Bull Mar Sci* 13: 549-573
- Chesher RH (1969) Contributions to the biology of *Meoma ventricosa* (Echinoidea: Spatangoida). *Bull Mar Sci* 19: 72-110
- Chia DGB, Castro P, Ng PKL (1999) Revision of the Genus *Echinoecus* (Decapoda: Brachyura: Eumedonidae), Crabs Symbiotic with Sea Urchins. *J Crustac Biol* 19 : 809-824
- Choisy M, Brown SP, Lafferty KD, Thomas F (2003) Evolution of trophic transmission in parasites: why add intermediate hosts? *Am Nat* 162:172-181
- Christensen AM, McDermott JJ (1958) Life-history and biology of the oyster crab *Pinnotheres ostreum* Say. *Biol Bull* 114: 146-79
- Combes C (1991) Ethological aspects of parasite transmission. *Am Nat* 138 : 866-880
- Combes C (2001) *The ecology and evolution of intimate interactions*, The University of Chicago Press, Chicago and London, 728 pp
- De Bruyn C, Rigaud T, David B, De Ridder C (2009) Nature and consequences of the symbiotic relationship between the crab *Dissodactylus primitivus* and its echinoid host *Meoma ventricosa*. *Mar Ecol Prog Ser* 375:173–183
- De Bruyn C, David B, De Ridder C, Rigaud T (2010) Asymmetric exploitation of two echinoid hosts by the parasitic pea crab *Dissodactylus primitivus*: an incipient two-host life cycle? *Mar Ecol Prog Ser* 398: 183-191
- De Bruyn C, De Ridder C, Rigaud T, David B (2011) Chemical host detection and differential attraction in a parasitic pea crab infecting two echinoids. *In submission*
- De Grave S, Dean Pentcheff N, Ah Yong ST, Chan T-Y, Crandall KA, Peter C. Dworschak PC, Darryl L. Felder DL, Rodney M. Feldmann RM, Franssen CHJM, Goulding LYD, Lemaitre R, Low MEY, Martin JW, Ng PKL, Carrie E. Schweitzer CE, S. H. Tan SH, Dale Tshudy D, Wetzer R (2009) A Classification of living and fossil genera of decapod crustaceans. *Raffles B Zool* 21: 1-109
- Delmotte F, Bucheli E, Shykoff JA (1999) Host and parasite population structure in a natural plant-pathogen system. *Heredity* 82 : 300-308
- de Meeûs T, Michalakis Y, Renaud F (1998) Santa Rosalia revisited : or why are there so many kinds of parasites in ‘The Garden of Earthly Delights’ ? *Parasitol Today* 14 :10-13
- Derby CD, Atema J (1980) Induced host odor attraction in the pea crab *Pinnotheres maculatus*. *Biol Bull* 158 : 26-33
- De Ridder C (1986) La nutrition chez les échinodermes psammivores. Etude particulière du spatangide fouisseur, *Echinocardium cordatum* (Pennant) (Echinodermata, Echinoidea).

Thèse de doctorat. Laboratoire de Biologie marine, Faculté des Sciences, Université Libre de Bruxelles.

- De Ridder C, Jangoux M, Van Impe E (1985) Food selection and absorption efficiency in the spatangoid echinoid, *Echinocardium cordatum* (Echinodermata). Proc 5th Int Echinoderm Conf Galway, B. Keegan & B. O' Connor editions, Rotterdam, 245-251 pp
- Dexter DM (1977) A natural history of the sand dollar *Encope stokesi* L. Agassiz in Panama. Bull Mar Sci 27: 544-551
- Diesel R (1988) Male-female association in the spider crab *Inachus phalangium*: the influence of female reproductive stage and size. J Crustac Biol 8(1) : 63-69
- Dobson AP, Hudson PJ (1992) Regulation and stability of a free-living host-parasite system, *Trichostrongylus tenuis* in red grouse. II. Population models. J Anim Ecol 61: 487-500
- Douglas AE (1994) *Symbiotic interactions*. Oxford University Press, New York, 148 pp
- Drès M & Mallet J (2002) Host races in plant-feeding insects and their importance in sympatric speciation. Phil Trans R Soc Lond B 357 : 471-492
- Duffy JE (1996a) Ressource associated population subdivision in a symbiotic coral-reef shrimp. Evolution 50 : 360-373
- Duffy JE (1996b) Species boundaries, specialization, and the radiation of sponge-dwelling alpheid shrimp. Biol J Linn Soc 58: 307-324
- Duffy JE, Thiel M (2007) *Evolutionary ecology of social and sexual systems. Crustaceans as model organisms*. Oxford University Press, Oxford, 502 pp
- E1 Mousadik A, Petit RJ (1996) High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic to Morocco. Theor Appl Genet 92 : 832-839
- Euzet L, Combes C (1980) Les problèmes de l'espèce chez les animaux parasites. Bull Soc Zool Fr 40: 239-285
- Ewald PW (1994) *Evolution of Infectious Disease*. Oxford University Press, 320 pp
- Fingerut JT, Zimmer CA, Zimmer RK (2003) Patterns and Processes of larval emergence in an estuarine parasite system. Biol Bull 205: 110-120
- Gandon S (2004) Evolution of multihost parasites. Evolution 58: 455-469
- Gayle PMH, Woodley JD (1998) *Discovery Bay, Jamaica*. In: UNESCO (Kjerfve B ed) CARICOMP - *Caribbean coral reef seagrass and mangrove sites. Coastal region and small islands papers 3*, UNESCO, Paris, 17-33 pp
- George SB, Boone S (2003) The ectosymbiont crab *Dissodactylus mellitae*-sand dollar *Mellita isometra* relationship. J Exp Mar Biol Ecol 294: 235-255
- Goodbody I., 1960. Abbreviated development in a pinnotherid crab. *Nature* 185: 704-705

- Goudet J (1995) FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *J Hered* 86: 485-486. FSTAT version 2.9.3.2. A computer software to calculate F-statistics
- Grassé P-P (1994) *Traité de zoologie, anatomie, systématique, biologie*. Crustacés. Masson, Paris. 917 p
- Grasso FW, Basil JA (2002) How lobster, crayfishes, and crabs locate sources of odor: current perspectives and future directions. *Curr Opin Neurobiol* 6 : 721-727
- Gray IE (1961) Changes in abundance of the commensal crabs of *Chaetopterus*. *Biol Bull* 120:353-359
- Gray IE, McCloskey LR, Weihe SC (1968) The commensal crab *Dissodactylus mellitae* and its reaction to sand dollar host factor. *J Elisha Mitchell Sci Soc* 84: 472-481
- Griffith H (1987a) Taxonomy of the genus *Dissodactylus* (Crustacea: Brachyura: Pinnotheridae) with descriptions of three new species. *Bull Mar Sci* 40: 397-422
- Griffith H (1987b) Phylogenetic relationships and evolution in the genus *Dissodactylus* Smith, 1870 (Crustacea: Brachyura: Pinnotheridae). *Can J Zool* 65: 2292-2310
- Grove MW, Woodin SA (1996) Conspecific Recognition and Host Choice in a Pea Crab, *Pinnixa chaetoptera* (Brachyura: Pinnotheridae). *Biol Bull* 190: 359-366
- Guinot D (1979) Morphologie et phylogénèse des Brachyours. *Mem Mus Nat Hist Ser A* 112: 171-250
- Guo C-C, Hwang J-S, Fautin DG (1996) Host selection by shrimps symbiotic with sea anemone: a field survey and experimental laboratory analysis. *J Exp Mar Biol Ecol* 202 : 165-176
- Haas W, Haberl B, Kalbe M, Korner M (1995) Snail host-finding by miracidia and cercariae: chemical host cues. *Parasitol Today* 11 : 468-47
- Haig J (1960) The Porcellanidae (Crustacea, Anomura) of the eastern Pacific. *Allan Hancock Pac Exped* 24: 1-440
- Hamilton MB (2009) *Population genetics*. Wiley-Blackwell, 407 pp
- Hammond LD (1982a) Patterns of feeding and activity in deposit-feeding holothurians and echinoids (Echinodermata) from a shallow back-reef lagoon, Discovery Bay, Jamaica. *Bull Mar Sci* 32 (2): 549-571
- Hammond LD (1982b) Analysis of grain-size selection by deposit feeding holothurians and echinoids (Echinodermata) from a shallow back-reef lagoon, Discovery Bay, Jamaica. *Mar Ecol Prog Ser* 8: 25-36
- Hanelt B, Thomas F, Schmidt-Rhaesa A (2005) Biology of the phylum Nematomorpha. *Adv Parasit* 59: 243-305
- Harbison CW, Jacobsen MV, Clayton DH (2009) A hitchhiker's guide to parasite transmission : The phoretic behaviour of the feather lice. *Int J Parasitol* 39: 569-575
- Hartnoll RG (2006) Reproductive investment in Brachyura. *Hydrobiologia* 557: 31-40

- Hendler G, Miller JE, Pawson DL, Kier PM (1995) *Sea stars, sea urchins, and allies: echinoderms of Florida and the Caribbean*. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, 390 pp
- Hendrickx ME (1990) Range extension and host record for *Dissodactylus ususfructus* (Griffith, 1987) (Crustacean: Brachyura: Pinnotheridae). *Proc Biol Soc Wash* 103 (1): 106-107
- Hétériér V, David B, De Ridder C, Rigaud T (2008) Ectosymbiosis is a critical factor in the local benthic biodiversity of the Antarctic deep sea. *Mar Ecol Prog Ser* 364: 67–76
- Hines HA (1986) Larval patterns in the life histories of brachyuran crabs (Crustacea, Decapoda, Brachyura). *Bull Mar Sci* 39: 444-466
- Hsueh P-W (2003) Responses of the pea crab *Pinnotheres taichungae* to the life history patterns of its primary bivalve host *Laternula marilina*. *J Nat Hist* 37: 1453-1462
- Hsueh P-W, Huang J-F (1998) *Polyonyx bella*, new species (Decapoda: Anomura: Porcellanidae), from Taiwan, with notes on its reproduction and swimming behavior. *J Crustac Biol* 18: 332-336
- Huard A, Demeusy N (1968) Contribution à l'étude de la biologie de *Pinnotheres pisum* (Pennant). *Arch Zool Exp Gen* 109: 403-444
- Huber ME (1987) Aggressive Behavior of *Trapezia intermedia* Miers and *T. digitalis* Latreille (Brachyura: Xanthidae). *J Crustac Biol* 7 : 238-248
- Huyse T, Poulin R, Théron A (2005) Speciation in parasites : a population genetic approach. *Trends Parasitol* 21(10) : 469-475
- Immelmann K (1975) Ecological significance of imprinting and early learning. *Ann Rev Ecol Syst* 6 : 15-37
- Jamieson GS, Phillips AC (1988) Occurrence of *Cancer* crab (*C. magister* and *C. oregonensis*) megalopae off the west coast of Vancouver island, british Columbia. *Fish Bull* 86 (3): 525-542
- Johnson I (1952) The demonstration of a “host factor” in commensal crabs. *Trans Kansas Acad Sci* 55: 458-464
- Johnson KP, Malenke JR, Clayton DH (2009) Competition promotes the evolution of host generalists in obligate parasites. *Proc R Soc B* 276 : 3921-3926
- Joshi A, Thompson JN (1995) Trade-offs and the evolution of host specialization. *Evol Ecol* 9: 82-92
- Jossart Q (2010) Différenciation génétique et morphologique de *Dissodactylus primitivus*, crabe ectoparasite de deux échinides sympatriques, *Meoma ventricosa* et *Plagiobrissus grandis*. Mémoire ULB (Master en biologie des organismes et écologie), 50 pp
- Kier PM, Grant RE (1965) Echinoid distribution and habits, Key Largo coral reef preserve, Florida. *Smithson Misc Collect* 149: 1–68
- Koettker AG, Freire AS (2006) Spatial and temporal distribution of decapod larvae in the subtropical waters of the Arvoredo archipelago, SC, Brazil. *Sér Zool* 96 (1): 31-39

- Kruczynski WL (1975) A radioactive tracer study of food uptake by *Pinnotheres maculatus* in Molluscan hosts. Biol Bull 148:60-67
- Loot G, Park YS, Lek S, Brosse S (2006) Encounter rate between local populations shapes host selection in complex parasite life cycle. Biol J Linn Soc 89: 99-106
- Maciá S, Robinson MP (2009) Why be cryptic? Choice of host urchin is not based on camouflage in the caridean shrimp *Gnathophylloides mineri*. Acta Ethol 12 : 105-113
- Magalhães S, Forbes MR, Skoracka A, Osakabe M, Karen CC, McCoy D (2007) Host race formation in the Acari. Exp Appl Acarol 42:225-238
- Manning RB, Felder DL (1989) The *Pinnixa cristata* complex in the Western Atlantic, with a description of two new species (Crustacea: Decapoda: Pinnotheridae). Smith Contr Zool 473: 1-26
- Mantelatto FLM, Fransozo A (1997) Fecundity of the crab *Callinectes ornatus* Ordway, 1863 (Decapoda, Brachyura, Portunidae) from the Ubatuba region, São Paulo, Brazil. Crustaceana 70 (2): 214-226
- Marques F, Pohle G (1995) Phylogenetic analysis of the Pinnotheridae (Crustacea, Brachyura) based on larval morphology, with emphasis on the *Dissodactylus* species complex. Zool Scripta 24 (4): 347-364
- Marques F, Pohle G (1996) Laboratory-reared larval stages of *Dissodactylus mellitae* (Decapoda : Brachyura : Pinnotheridae) and developmental patterns within the *Dissodactylus* species complex. Can J Zool 74 : 47-62
- McCoy KD, Boulinier T, Tirard C, Michalakakis Y (2003) Host-dependent genetic structure of parasite populations: differential dispersal of seabird tick host races. Evolution 57: 288-296
- McPherson BF (1968) Feeding and oxygen uptake of the tropical sea urchin *Eucidaris tribuloides* (Lamarck). Biol Bull 135: 308-321
- Michaud M, de Meeûs T, Renaud F (2004) Environmental sex determination in a parasitic copepod: checking heterogeneity and unpredictability of the environment. Mar Ecol Prog Ser 269: 163-171
- Monis PT, Andrews RH, Saint CP (2002) Molecular biology techniques in parasite ecology. Int J Parasitol 32 : 551-562
- Moore DR (1956) Observations on predation of echinoderms by three species of Cassididae. Nautilus 69 : 73-76
- Moran NA, Witham TG (1988) Evolutionary reduction of complex life cycles: loss of host-alternation in *Pemphigus* (Homoptera: Aphididae). Evolution 42(4) : 717-728
- Morand S, Robert F, Connors VA (1995) Complexity in Parasite Life Cycles: Population Biology of Cestodes in Fish. J Anim Ecol 64(2): 256-264
- Mordue AJ (Luntz), Birkett MA (2009) A review of host finding behaviour in the parasitic sea louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Caligidae: Copepoda). J Fish Dis 32 : 3-13

- Mortensen T (1951) *A monograph of the echinoidea. V. 2. Spatangoida. II. Amphisternata. II. Spatangidae, Loveniidae, Pericossidae, Schizasteridae, Brissidae.* C.A. Reitzel publisher, Copenhagen, 593 pp
- Morton B (1989) *Partnerships in the sea: Hong Kong's Marine Symbioses.* Hong Kong University Press, China, 124 pp
- Nadler SA (1995) Microevolution and the genetic structure of parasite populations. *J parasitol* 81(3) : 395-403
- Narvarte MA, Saiz MN (2004) Effects of the pinnotherid crab *Tumidotheres maculatus* on the Tehuelche scallop *Aequipecten tehuelchus* in the San Matias Gulf, Argentina. *Fish Res* 67:207–214
- Nichols D (1959) Changes in the chalk heart-urchin *Micraster* interpreted in relation to living forms. *Philos T Roy Soc B* 242: 347-387
- Ng PKL, Guinot D, Davie PJF (2008) Systema Brachyurorum: Part I. An annotated checklist of extant brachyuran crabs of the world. *Raff Bull Zool* 17: 1-286
- Ng PKL, Jeng MS (1999) The brachyuran crabs (Crustacea: Decapoda: Eumedonidae and Portunidae) symbiotic with echinoderms in Taiwan. *Zool Stud* 38: 268–274
- Nunes DAC, Jangoux M (2004) Reproductive cycle of the spatangoid echinoid *Echinocardium cordatum* (Echinodermata) in the southwestern North Sea. *Invertebr Reprod Dev* 45: 41-57
- Orton JH (1920) Mode of feeding and sex-phenomena in the pea crab (*Pinnotheres pisum*). *Nature* 106 : 533-534
- Palacios-Thiel E, Cuesta JA, Campos E, Felder D (2009) Molecular genetic re-examination of subfamilies and polyphyly in the family Pinnotheridae (Crustacea : Decapoda). In Martin JW, Crandall KA and Felder D. *Decapod Crustacean Phylogenetics* Crustacean Issues CRC Press, 457-474 pp
- Parker GA, Chubb JC, Ball MA, Roberts GN (2003) Evolution of complex life cycles in helminth parasites. *Nature* 425: 480-484
- Pasternak Z, Garm A, Høeg JT (2005). The morphology of the chemosensory aesthetasc-like setae used during settlement of cypris larvae in the parasitic barnacle *Sacculina carcini* (Cirripedia: Rhizocephala) *Mar Biol* 146: 1005-1013
- Patton WK (1967) Commensal Crustacea. *J Mar Biol Ass India Symposium on Crustacea* 3:1228–1243
- Patton WK, Patton PR, Barnes A (1985) On the biology of *Gnathophylloides mineri*, a shrimp inhabiting the sea urchin *Tripneustes ventricosus*. *J Crustac Biol* 5 : 616-626
- Pearce JB (1962) Adaptation in symbiotic crabs of the family Pinnotheridae. *Biologist* 45 : 11-15
- Pearse AS (1913) On the habits of the crustaceans found in *Chaetopterus* tubes at woods hole, Massachusetts. *Biol Bull* 24 (2): 102-114

- Pearse JS, Cameron RA (1991) Echinodermata: Echinoidea. In: Giese AC, Pearse JS, Pearse VB (Eds) Reproduction of marine invertebrates, Vol. VI, *Echinoderms and Lophophorates*. Boxwood Press, Pacific Grove, 211 pp
- Pedersen AB, Altizer S, Poss M, Cunningham AA, Nunn CL (2005) Patterns of host specificity and transmission among parasites of wild primates. *Int J Parasitol* 35: 647-657
- Perez GR, Roumillat WA, Levesque EM, Connors VA, de Buron I (2009). Synchronization of occurrence of the ovarian philometrid, *Philometra carolinensis*, with the spawning season of its fish host, the spotted seatrout, *Cynoscion nebulosus*. *Parasitol Res* 104: 1079-1085
- Pohle G (1984) Larval development of *Dissodactylus rugatus* Bouvier 1917 (= *D. calmani* Rathbun, 1918) (Brachyura: Pinnotheridae) reared under laboratory conditions. *J Crustac Biol* 4 (4): 572-588
- Pohle G (1989) Development and morphology of laboratory-reared larvae of *Dissodactylus nitidus* (smith 1840) (Decapoda : Brachyura), with a discussion of phylogenetic aspects in the Pinnotheridae. *J Crustac Biol* 9: 278-296
- Pohle G (1994) *Dissodactylus xanthusi* and *Dissodactylus lockingtoni* (Decapoda: Brachyura: Pinnotheridae) larval development of two sympatric Pacific species. *Can J Zool* 72:575–590
- Pohle G, Marques F (1995) First zoea of *Dissodactylus glasselli* Rioja and new range and host records for species of *Dissodactylus* (Brachyura : Pinnotheridae), with a discussion of host-symbiont biogeography. *Proc Biol Soc Wash* 108(2): 247-253
- Pohle G, Telford M (1981) The larval development of *Dissodactylus crinitichelis* Moreira, 1901 (Brachyura: Pinnotheridae) in laboratory culture. *Biol Bull* 31: 753-773
- Pohle G, Telford M (1982) Post-larval growth of *Dissodactylus primitivus* Bouvier, 1917 (Brachyura: Pinnotheridae) under laboratory conditions. *Biol Bull* 163: 211-224
- Pohle G, Telford M (1983) The larval development of *Dissodactylus primitivus* Bouvier 1917 (Brachyura: Pinnotheridae) reared in the laboratory. *Bull Mar Sci* 33 (2): 257-273
- Poulin R (1996) The evolution of life history strategies in parasitic animals. *Adv Parasitol* 37 : 107-134
- Poulin R (2007) *Evolutionary ecology of parasites*. 2nd Edn. USA: Princeton University Press, Princeton, 332 pp
- Poulin R, Morand S (2000) The diversity of parasites. *Q Rev Biol* 75: 277-293
- Post RJ, Millest AL (1991) Sample-size in parasitological and vector surveys. *Parasitol Today* 7: 141-141
- Price PW (1980) *Evolutionary biology of parasites*. Princeton University Press, 256 pp
- Price CSC, Dyer KA, Coyne JA (1999) Sperm competition between *Drosophila* males involves both displacement and incapacitation. *Nature* 400: 449-452

- Quinn GP, Keough MJ (2002) *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press, Cambridge UK, 520 pp
- Raibaut A, Trilles J-P (1993) The sexuality of parasitic Crustaceans. *Adv Parasitol* 32 : 367-455
- Rathbun MJ (1918) The grapsoid crabs of America. *Bull U.S. Nat Mus* 97: 1-461
- Rauch G, Kalbe M, Reusch TBH (2005) How a complex life cycle can improve a parasite's sex life. *J Evol Biol* 18: 1069-1075
- Redman E, Grillo V, Saunders G, Packard E, Jackson F, Berriman M, Gilleard JS (2008) Genetics of mating and sex determination in the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. *Genetics* 180: 1877-1887
- Reeves MN, Brooks WR (2001) Host selection, chemical detection, and protection of the symbiotic pinnotherid crabs *Dissodactylus crinitichelis* and *Clypeasterophilus rugatus* associated with echinoderms. *Symbiosis* 30 : 239-256
- Ridley M (1997) *Evolution biologique*, seconde édition. De Boeck Université, 719 pp
- Rinkevich B, Wolodarsky Z, Loya Y (1991) Coral-crab association: a compact domain of a multilevel trophic system. *Hydrobiologia* 216/217:279-284
- Rohde K (2002) Ecology and biogeography of marine parasites. *Adv Mar Biol* 43: 1-86
- Roitberg BD, Zimmermann K, Hoffmeister TS (2010) Dynamic response to danger in a parasitoid wasp. *Behav Ecol Sociobiol* 64 : 627-637
- Ross DM (1983) Symbiotic relations. In: Abele LG, ed, *The Biology of Crustacea*. 7:163-212. Academic Press, New York
- Ruppert EE, Fox RS, Barnes RD (2004) *Invertebrate Zoology*, seventh edition. Thomson, Brooks/Cole, Belmont, 963 pp
- Sapp J (1994) *Evolution by Association: A History of Symbiosis*. Oxford University Press, New York, 272 pp
- Sastry AN, Menzel RW (1962) Influence of hosts on the behavior of the commensal crab *Pinnotheres maculatus* Say. *Biol Bull* 123: 388-395
- Schmitt WL, McCain JC, Davidson EC (1973) Decapoda I, Brachyura I, Family Pinnotheridae. In : *Crustaceorum catalogus Part 3*. Gruner HE, Holthuis LB (eds). Den Haag, The Netherlands, 160 pp
- Schurmann D, Collatz J, Hagenbucher S, Ruther J, Steidle JLM (2009) Olfactory host finding, intermediate memory and its potential ecological adaptation in *Nasonia vitripennis*. *Naturwissenschaften* 96: 383-391
- Selkoe KA, Toonen RJ (2006) Microsatellites for ecologists : a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecol Lett* 9: 615-629
- Shuster SM, Wade MJ (1991) Equal mating success among male reproductive strategies in a marine isopod. *Nature* 350: 606-610

- Shuster SM, Wade MJ (2003) *Mating systems and strategies*. Princeton University Press, Princeton, 520 pp
- Smith AB (1980) The structure and arrangement of echinoid tubercles. *Philos T Roy Soc* 289: 1-54
- Smith DC, Douglas AE (1987) *The Biology of symbiosis*, Edward Arnold, London, 302 pp
- Stauber LA (1945) *Pinnotheres ostreum*, parasitic on the American oyster, *Ostrea* (Gryphaea) *virginica*. *Biol Bull* 88 : 269-291
- Steinauer ML (2009) The sex lives of parasites: Investigating the mating system and mechanisms of sexual selection of the human pathogen *Schistosoma mansoni*. *Int J Parasitol* 39: 1157-1163
- Stevcic Z, Castro P, Gore RH (1988) Re-establishment of the Family Eumedonidae Dana, 1853 (Crustacea: Brachyura) *J Nat Hist* 22: 1301-1324
- Stevens PM (1990a) A genetic analysis of the pea crabs (Decapoda: Pinnotheridae) of New Zealand. I. Patterns of spatial and host-associated genetic structuring in *Pinnotheres novaezelandiae* Filhol. *J Exp Mar Biol Ecol* 141: 195-212
- Stevens PM (1990b) Specificity of host recognition of individuals from different host races of symbiotic pea crabs (Decapoda: Pinnotheridae). *J Exp Mar Biol Ecol* 143 : 193-207
- Stevens PM (1990c) Hosts races and cryptic species in marine. Thèse de doctorat, Université d'Auckland, Nouvelle-Zélande, 178 pp
- Stevens PM (1991) A genetic analysis of the pea crabs (decapoda pinnotheridae) of New England. II, Patterns and intensity of spatial population structure in *Pinnotheres atrinicola*. *Mar Biol* 108 : 403-410
- Sotka EE (2005) Local adaptation in host use among marine invertebrates. *Ecol Lett* 8: 448-459
- Takeda S, Tamura S, Washio M (1997) Relationship between the pea crab *Pinnixa tumida* and its endobenthic holothurian host *Paracaudina chilensis*. *Mar Ecol Prog Ser* 149: 143-154
- Takeda M, Masahito P (2000) Systematic notes on the pinnotherid crabs of the genus *Pinnaxodes* (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Bull Natn Sci Mus Tokyo Ser A* 26 (3): 99-112
- Telford M (1978a) Post-larval growth in two species of *Dissodactylus* (Brachyura: Pinnotheridae). *Bull Mar Sci* 28: 645-650
- Telford M (1978b) Distribution of two species of *Dissodactylus* (Brachyura: Pinnotheridae) among their echinoid host populations in Barbados. *Bull Mar Sci* 28: 651-658
- Telford M (1982) Echinoderm spine structure, feeding and host relationship of four species of *Dissodactylus* (Brachyura: Pinnotheridae). *Bull Mar Sci* 32: 584-594
- Théron A (1984) Early and late shedding patterns of *Schistosoma mansoni* cercariae : ecological significance in transmission to human and murine hosts. *J Parasitol* 70 (5): 652-655

- Thiel M (2000) Population and reproductive biology of two sibling amphipod species from ascidians and sponges. *Mar Biol* 137: 661-674
- Thiel M, Baeza JA (2001) Factors affecting the social behaviour of crustaceans living symbiotically with other marine invertebrates : a modelling approach. *Symbiosis* 30 : 163-190
- Thiel M, Zander A, Baeza JA (2003a) Movements of the symbiotic crab *Liopetrolisthes mitra* between its host sea urchin *Tetrapygus niger*. *Bull Mar Sci* 72 : 89-101
- Thiel M, Zander A, Valdivia N, Baeza J, Rueffler C (2003b) Host fidelity of a symbiotic porcellanid crab: the importance of host characteristics. *J Zool* 261 : 353-362
- Thomas F, Poulin R, Guégan J- F, Michalakakis Y, Renaud F (2000) Are there Pros as well as Cons to being Parasitized. *Parasitol Today* 16 (12): 533-536
- Thorson G (1950) Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biol Rev* 25 : 1-45
- Tixier A, Gaillard JM (1969) *Anatomie animale et dissection*. Editions Vigot Frères, Paris, 375 pp
- Toonen RJ (2004) Genetic evidence of multiple paternity of broods in the intertidal crab *Petrolisthes cinctipes*. *Mar Ecol Prog Ser* 270: 259-263
- Valdivia N, Stotz W (2006) Feeding behavior of the porcellanid crab *Allopetrolisthes spinifrons* symbiont of the sea anemone *Phymactis papillosa*. *J Crustac Biol* 26(3) : 308-315
- VandenSpiegel D, Eeckhaut I, Jangoux M (1998) Host selection by *Synalpheus stimpsoni* (De Man), an ectosymbiotic shrimp of comatulid crinoids, inferred by a field survey and laboratory experiments. *J Exp Mar Biol Ecol* 225 : 185-196
- Van Valen L (1973) A new evolutionary law. *Evol Theory* 1: 1-30
- Vinson SB (1976) Host selection by insect parasitoids. *Annu Rev Entomol* 21: 109-133
- Wahl M, Mark O (1999) The predominantly facultative nature of epibiosis: experimental and observational evidence. *Mar Ecol Prog Ser* 187: 59-66
- Wells HW, Wells MJ (1961) Observations on *Pinnaxodes floridensis*, a new species of pinnotherid crustacean commensal in holothurians. *Bull Mar Sci* 11 : 267-279
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370
- Weber LI, Galelguillos R (1991) Morphometric and electrophoretic evidences for two species of the genus *Liopetrolisthes* (crustacea: decapoda: porcellanidae) and some aspects of their variability. *Comp Biochem Physiol* 100 : 201-207
- Werding B (1983) Kommensalische Porzellaniden aus der Karibik (Decapoda, Anomura). *Crustac Int J Crustac Res* 45: 1-14
- Wheihle SC, Gray IE (1968) Observations on the biology of the sand dollar *Mellita quinquiesperforata* Leske. *J Elisha Mitchell Sci S* 84 : 315-327

- Williams AB (1984) Shrimps, lobsters, and crabs of the Atlantic coast of the eastern United States, Maine to Florida. Smithsonian Institution Press, 752 pp
- Yanagisawa Y, Hamaishi (1986) Mate acquisition by a solitary crab *Zebrida adamsii*, a symbiont of the sea urchin. J Ethol 4: 153-162
- Zimmer RK, Butman CA (2000) Chemical signaling processes in the marine environment. Biol Bull 198: 168-187
- Zimmer RK, Fingerut JT, Zimmer CA (2009) Dispersal pathways, seed rains, and the dynamics of larval behavior. Ecology 90 : 1933–1947
- Zhou T, Rebach S (1999) Chemosensory orientation of the rock crab *Cancer irroratus*. J Chem Ecol 25 : 315-329