



HAL
open science

Déterminants de l'hétérogénéité spatio-temporelle des agents pathogènes dans des populations d'ongulés sauvages - Exemple du Chevreuil et de ses parasites

Léa Bariod

► **To cite this version:**

Léa Bariod. Déterminants de l'hétérogénéité spatio-temporelle des agents pathogènes dans des populations d'ongulés sauvages - Exemple du Chevreuil et de ses parasites. Biodiversité et Ecologie. UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1, 2023. Français. NNT : 2023LYO10317 . tel-04785347

HAL Id: tel-04785347

<https://hal.science/tel-04785347v1>

Submitted on 15 Nov 2024

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

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



THÈSE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1

École Doctorale N° 341
Évolution, Écosystèmes, Microbiologie, Modélisation

Discipline : Écologie, Parasitologie

Soutenue publiquement le 04/12/2023, par :

Léa Bariod

Déterminants de l'hétérogénéité spatio-temporelle des agents pathogènes dans des populations d'ongulés sauvages

Exemple du Chevreuil et de ses parasites

Devant le jury composé de :

Say, Ludovic, Professeur, LBBE Université de Lyon
St Laurent, Martin-Hugues, Professeur, Université du Québec à Rimouski
Serrano-Ferron, Emmanuel, Professeur Associé, Université autonome de Barcelone
Charbonnel, Nathalie, Directrice de Recherche, INRAE

Président, Examineur
Rapporteur
Rapporteur
Examinatrice

Bourgoin, Gilles, Maître de Conférence, LBBE-VetAgro-Sup Université de Lyon
Saïd, Sonia, Chargée de Recherche, OFB

Directeur de thèse
Co-directrice de thèse

Gilot-Fromont, Emmanuelle, Professeure, LBBE-VetAgro-Sup Université de Lyon
Ruette, Sandrine, Cheffe de Service, OFB

Invitée
Invitée

AVANT-PROPOS

Cette thèse a été réalisée dans le cadre d'une collaboration de recherche entre l'École Nationale Vétérinaire VetAgro-Sup et l'Office Français de la Biodiversité (OFB), qui ont cofinancé la bourse de thèse à hauteur de 50% chacun. Elle s'est déroulée principalement au sein de deux laboratoires : l'Office Français de la Biodiversité (OFB) à Birieux dans l'Ain et le Laboratoire de Biométrie et de Biologie Évolutive (LBBE) à Villeurbanne (UCB Lyon 1) dans le Rhône.

Ce travail s'appuie sur des données issues de suivis scientifiques de plusieurs populations d'ongulés sauvages, menés par l'Office Français de la Biodiversité, en collaboration avec d'autres organismes comme le CNRS (LBBE), l'École Vétérinaire VetAgro Sup, et les Fédérations des chasseurs de l'Ain et du Jura. Dans le cadre de mes travaux, j'ai contribué à l'acquisition de ces données car il est essentiel pour moi de comprendre comment les informations sont récoltées en milieu naturel, et d'aider les techniciens et bénévoles impliqués qui font un travail remarquable. J'ai participé à plusieurs journées sur le terrain (environ 25 journées de captures de chevreuils, 10 journées de recherches de faons, 10 journées de suivi du succès reproducteur des chevrettes) mais aussi en laboratoire pour mieux comprendre les techniques d'analyses (coproscopie, dosage d'éléments minéraux). Au cours de ma thèse, j'ai également eu l'occasion de co-encadrer une stagiaire de Master 1^{ère} année et un stagiaire de Master 2^{ème} année, dont les sujets s'inscrivaient dans ma thématique de recherche. Enfin, ce travail a pu être valorisé lors de communications scientifiques diverses :

- Communications orales :
 - *Présentations orales* lors des conférences DECRYP'THESE (Mai 2023, Lyon 1) et EMPSEB28 (Juin 2023, Écosse)
 - *Présentation orale* lors d'un séminaire externe (Janvier 2022, CEBC de Chizé)
- Communications écrites :
 - 4 *articles de recherche* rédigés dont deux publiés en 2022 et 2024, un en révision et un en relecture auprès des co-auteurs ; ces articles sont visibles dans ce mémoire de doctorat.
 - 2 *Posters* réalisés lors des conférences « International virtual conference of European Wildlife Disease Association (EWDA) » (Août 2021, en distanciel) et « EvoLyon » (Novembre 2021, Lyon)

Ce mémoire de doctorat est rédigé sous forme de thèse sur articles. Il s'articule en cinq chapitres dont deux s'appuient sur les 4 articles précités, rédigés en anglais. Le reste de la rédaction est en français. Avant de lire l'introduction, vous pourrez parcourir les remerciements, le résumé de la thèse (en français et en anglais), la table des matières ainsi que la table des figures et tableaux. Si vous lisez cette thèse électroniquement, vous pourrez également constater que les références aux sections, figures, ou tableaux, sont interactives. Je vous souhaite une bonne lecture !

Léa Bariod

REMERCIEMENTS

De nombreuses personnes m'ont aidé de près ou de loin durant cette belle aventure de trois ans, je vais tenter de toutes les remercier car elles ont toutes contribué d'une façon ou d'une autre à leur manière à ce travail.

Je tiens tout d'abord à remercier les membres de mon jury qui m'ont fait l'honneur d'évaluer mon travail de thèse : Nathalie Charbonnel, Emmanuelle Gilot-Fromont, Sandrine Ruet, Martin-Hugues St Laurent, Emmanuel Serrano-Feron et Ludovic Say. J'espère que vous apprécierez la lecture de ce manuscrit. Je tiens également à remercier les membres de mon comité de thèse, qui m'ont apporté de précieux conseils pour orienter mes recherches et mener à bien ce beau projet : Hélène Verheyden, Sylvain Dolédec, Clément Calenge, Pascal Marchand et Stéphane Dray.

Je voudrais ensuite adresser un ÉNORME merci à mes deux encadrants, Monsieur Gilles Bourgoïn et Madame Sonia Saïd, sans qui tout cela n'aurait pas été possible. Merci de m'avoir permis de vivre cette expérience, de m'avoir fait confiance tout au long de ces trois années et d'avoir été là quand j'en avais le plus besoin. Gilles, merci pour ta bienveillance, ta gentillesse et ton expertise, je suis ravie d'avoir pu travailler avec toi. Tu te rendais disponible dès que j'en avais besoin, tu m'aidais à ouvrir mon esprit scientifique sur des pistes de recherche toujours plus intéressantes les unes que les autres (si bien que trois années sont insuffisantes pour aboutir à tous ces projets...). Maintenant, grâce à toi, je parviens un peu mieux à apprécier ces petits parasites qui n'ont, il faut le dire, pas grand-chose de séduisant dans leur apparence ... Sonia, je n'ai jamais rencontré une femme aussi forte, endurante et déterminée que toi, et je te remercie vraiment d'avoir été aussi présente pour moi. Ta joie de vivre, ton enthousiasme pour trouver de nouvelles perspectives de travail (cf. compter des insectes, c'est cool ☺), nos discussions sans fin quand nous étions à Birieux, tout cela m'a vraiment apporté autant sur le point scientifique que personnel. Je me souviens qu'au début de ma thèse, tu me disais « Léa, la thèse est un marathon, donc va doucement, tu peux dire non parfois ». J'ai beaucoup réfléchi à cette phrase lors de ces trois années, et je pense que grâce à toi et à tes mots, ainsi qu'à Gilles, je suis parvenue à trouver un équilibre pour rendre cette aventure vraiment enrichissante ! Merci beaucoup, j'ai eu beaucoup de chance d'avoir été encadrée par deux belles personnes comme vous, et j'espère avoir l'occasion de retravailler avec vous à l'avenir !

Mes remerciements vont également aux organismes financeurs de cette thèse, VetAgro-Sup et l'OFB, sans qui ce travail n'aurait pas été possible, et qui m'ont permis d'obtenir les données nécessaires à sa réalisation. Un grand merci à tous les technicien(ne)s qui ont œuvré pour la récolte et l'analyse des précieuses données sur les chevreuils ainsi que pour les bons moments passés ensemble pour certains, je pense notamment à François, Benjamin, Sylvia, Jeanne, Slimania, Marie-Thérèse, Hervé (alias Bidouille), Yoyo, Stéphane, Marc, Jean-Baptiste, Cyril, Nadia, Caroline... (et tous ceux que j'oublie sans doute). Un merci particulier à toutes les personnes que j'ai rencontré à Chizé lors des captures ou de mon squat de bureau à l'OFB (Amandine, Romain, Gaylord, Bastien, Seb, Cyril, Alexandre, Émilienne,...), et à Rébecca avec qui faire du terrain était une véritable partie de plaisir, chantant à tue-tête du Claude François dans la

voiture, véritable échappatoire lorsque j'en avais assez de rédiger devant mon ordinateur. Prendre l'air, ça faisait vraiment trop du bien !

Merci aussi à toutes les personnes du LBBE, aussi bien les permanents que les doctorants (merci les Pinsons et le projet Pangolin), cette aventure n'aurait pas été la même sans vous. Un grand merci à l'équipe Biodémographie Évolutive, notamment Jean-Michel, Emmanuelle, Carole, Pauline, Marlène, Jeff, avec qui les discussions étaient toujours très enrichissantes. Un merci particulier à Lucas, Solène, Jessica (alias JJ), Florentin, Grégoire et Kamal, la team chevreuil (et autres ;-)), c'était un réel plaisir de travailler en votre compagnie, de boire des verres avec vous, de parler de nos bonheurs comme de nos angoisses, de rire d'un rien, vraiment merci ! Un big up pour Mary (alias Bibi) qui adore autant que moi les Golden Retriever et pour Émilie qui a toujours répondu présente pour me donner des conseils en ce qui concernait l'administratif « relou » et l'école doctorale. Je souhaite aussi remercier les personnes avec qui j'ai pu collaborer, notamment Renaud, Clémentine, Carole et Pauline, merci pour votre expertise et votre enthousiasme. Pauline, un merci particulier pour toi car tu m'as beaucoup aidée dans les projets que nous avons en commun, toujours souriante, bienveillante, même quand nous en avons par-dessus la casquette de trier et de peser tous ces poils de chevreuils.

Avoir deux bureaux, c'est remercier deux équipes de travail. Merci beaucoup à toutes les personnes de Birieux, pour toutes les belles discussions autour de la faune sauvage mais aussi du quotidien. Laurence, j'ai trouvé en toi une magnifique personne avec qui j'ai pu boire des litres et des litres de café et raconter des histoires quand même très centrées sur l'amour de nos chiens. Sandrine, tu es une personne formidable, un soutien moral infaillible, j'ai adoré prendre le temps de faire ces pauses cafés avec toi, pour discuter du quotidien. Enfin, Agathe, ma compagne de bureau qui est restée le plus longtemps avec moi, merci de m'avoir supportée et d'avoir acceptée « Bibi ». Ta bonne humeur et ton sourire m'ont beaucoup manqué quand tu es partie de Birieux.

Mon cursus universitaire m'a par ailleurs beaucoup apporté dans l'élaboration de mon envie de faire de la recherche. Merci à mes enseignants de Dijon, notamment Jérôme, Loïc et François, d'avoir éveillé ma curiosité et mon envie de toujours vouloir en apprendre davantage en écologie. Un grand merci également à mes encadrants de stage de Master, Pierre-Yves, Cécile, Léo et Charlotte, de m'avoir initiée à la recherche, j'ai vraiment adoré travailler avec vous. Charlotte, je resterai pour toujours ton pioupiou qui chante « fruit de la passion » à tout moment de la journée. Je ne veux pas non plus oublier Adrienne, sans qui je pense que ma motivation à faire de la recherche n'aurait pas été la même. J'ai eu la chance de découvrir une personne passionnée par son travail, d'assister à ta soutenance en 2019 et de me dire « Wouah, je veux faire la même chose », et j'y suis arrivée ☺. Et surtout, un IMMENSE merci à la team DyCoB, tellement de souvenirs, je me suis vue grandir avec vous, vivre des moments magnifiques, partager des moments inoubliables... merci d'avoir été d'aussi bons vivants. La meilleure compagnie dont je pouvais rêver pour faire ce Master, mais bien sûr, notre aventure n'est pas prête de s'arrêter. Je vous ai entraîné dans des sorties terrain chevreuil, et je continuerai de vous entraîner dans des aventures toutes plus folles les unes que les autres, parce que vous êtes devenus comme une deuxième famille pour moi, merci beaucoup. Merci spécial

à Jul, qui a relu de nombreuses fois cette thèse, ton avis a été très précieux. Et merci également à Paul et Titouan pour leurs magnifiques photos.

Évidemment, je n'aurais pas pu écrire cette thèse sans le soutien de ma famille et de mes amis du Jura, ma terre, la plus belle contrée du monde ! (Oui oui, la percée du vin jaune, vous connaissez ?). Merci aux amis de la Team Jura, les retours dans notre beau département me donnent toujours le sourire pour passer de magnifiques moments chaleureux avec vous. Merci à Marie (alias la Daud's) et Popo d'être venues me rejoindre en Écosse pour vivre une nouvelle aventure des Triplettes de Belleville. Un très grand merci aussi à la team musique, mon groupe de bons sociétaires, mes amis de toujours. J'ai grandi à vos côtés depuis la maternelle, vous avez toujours été là pour moi, je vous considère comme ma famille et j'espère que nos repas conviviaux seront toujours aussi beaux. Merci, bien sûr, à vous papa et maman, qui m'avez toujours soutenue, toujours encouragée dans mes études, et permis de faire mes choix, de grandir entourée de bienveillance, de joie de vivre, et de paysages magnifiques. Merci à ma famille de St Maurice mais aussi et surtout à ma famille de Poids-Fiole, d'être des personnes aussi belles et gentilles qui me poussent à faire de mon mieux pour vous rendre fières. Un grand merci à Gwenaël, mon cher et tendre, mon charentais, qui a dû accepter mes humeurs hautement changeantes, mais surtout qui m'a soutenue et apporté beaucoup d'amour et de bonheur. J'espère que nos aventures ensemble ne font que commencer, que la vie nous réserve des surprises toutes plus belles les unes que les autres (et que le Jura reste bien le plus beau département du monde dans ton esprit). Enfin, le plus tendre des mercis à Saïka (alias Bibi), mon soutien infailible, mon amour de boule de poils, qui m'a permis de garder les pieds sur terre et de trouver de la joie même dans les moments les plus difficiles.

RÉSUMÉ

Titre : Déterminants de l'hétérogénéité spatio-temporelle des agents pathogènes dans des populations d'ongulés sauvages : l'exemple du chevreuil et de ses parasites

Notre monde connaît actuellement des changements globaux brusques et importants, comme le dérèglement climatique et les modifications des habitats naturels, enclins à provoquer l'émergence et la propagation d'agents pathogènes. Les systèmes hôte-parasite, qui intègrent une composante environnementale, sont directement impactés par ces changements, par le biais de multiples facteurs influençant les associations hôte-parasite : conditions climatiques, structure de l'habitat, régime alimentaire, traits comportementaux, socialité de l'hôte, densité de population (hôtes et parasites), virulence du parasite, immunocompétence de l'hôte, condition corporelle. Les recherches concernant la faune sauvage ont souvent mis l'accent sur l'étude des bactéries ou des virus, qui ont des effets évidents sur leurs hôtes, et moins d'attention a été apportée aux parasites. Pourtant, ces derniers sont ubiquistes, et peuvent également influencer la santé de l'hôte, leur comportement, leur état corporel, leur fécondité, ou encore la dynamique des populations. Au sein d'une population d'hôtes, une hétérogénéité des infestations parasitaires est souvent observée, mais les déterminants de cette variabilité sont encore peu connus, notamment lorsque cela concerne des facteurs liés à l'environnement. En prenant l'exemple du chevreuil (*Capreolus capreolus*), un ongulé sauvage hôte de plusieurs parasites, nous avons étudié à différentes échelles spatiales et temporelles, l'influence des attributs phénotypiques et des facteurs environnementaux sur l'hétérogénéité d'infestation parasitaire, en nous focalisant sur des aspects encore peu étudiés dans la faune sauvage : la relation entre le parasitisme, l'immunité et les éléments minéraux, ainsi que les déterminants de l'hétérogénéité spatiale des infestations à fine échelle.

Les éléments minéraux, notamment les oligo-éléments essentiels, ont des rôles importants dans l'immunité, et des concentrations inadéquates dans l'organisme peuvent conduire à une infection parasitaire. Après avoir décrit les concentrations observées en éléments minéraux dans différentes populations naturelles de chevreuils pour constituer une base de valeurs de référence, j'ai étudié leur relation avec les charges parasitaires et les paramètres immunitaires des individus. Les résultats indiquent que globalement, des concentrations de plusieurs oligo-éléments essentiels sont positivement reliées à la charge de tous les parasites internes étudiés et à certains paramètres immunitaires comme les globulines et les basophiles. De plus, ces oligo-éléments proviennent principalement des ressources alimentaires ingérées par les hôtes, qui sont notamment connues pour influencer la physiologie mais aussi le comportement des hôtes, et qui pourraient être un déterminant clé de la charge parasitaire des individus. En partant de ce constat, je me suis intéressée à la structure spatiale de l'infestation parasitaire à l'échelle intra-populationnelle, et plus précisément à l'influence de secteurs de qualités d'habitat différentes (ressources alimentaires, type de végétation), en prenant en compte des facteurs intrinsèques et extrinsèques. Mes résultats confirment qu'une structure spatiale du risque parasitaire est différente selon le secteur dans lequel vivent les chevreuils. Enfin, les précédentes se concentrant sur l'étude de parasites internes, je me suis également intéressée aux infestations par des parasites externes comme les tiques, à la période où ces derniers sont les plus actifs (en Mai). Manquant d'étude sur le long terme sur ces modèles d'infestations, j'ai mis en évidence l'influence de facteurs intrinsèques et extrinsèques, avec notamment une forte variabilité de l'infestation à la suite d'un événement climatique extrême (tempête). Comprendre l'hétérogénéité d'infestation parasitaire nécessite d'adopter une vision intégrative à toutes les échelles des relations environnement-hôte-parasite.

Mots clés : *Capreolus capreolus*, Coccidies, Hétérogénéité d'infestation parasitaire, *Ixodes ricinus*, Nématodes, Oligo-éléments

ABSTRACT

Title: Determinants of spatio-temporal heterogeneity of pathogens in wild ungulate populations: the case of roe deer and their parasites

Our world is currently experiencing sudden and significant global disturbances, such as climate change and the modification of natural habitats, which could cause the emergence and spread of pathogens. Host-parasite systems, included in a specific environment, are directly impacted by these changes through multiple factors that can influence host-parasite associations: climatic conditions, habitat structure, diet, behavioral traits, host sociality, population density (hosts and parasites), virulence of the parasite, host immunocompetence, body condition. Wildlife research has often focused on the study of bacteria or viruses, which have obvious effects on their hosts, and less attention has been paid to parasites. However, they are ubiquitous, and can also influence the health of the hosts, their behavior, their body condition, their fertility, or even population dynamics. Within a host population, heterogeneity of parasitic infestations is often observed, but the determinants of this variability are still little known, particularly when it concerns factors linked to the environment. Taking the example of the roe deer (*Capreolus capreolus*), a wild ungulate host to several parasites, we studied at different spatial and temporal scales the influence of phenotypic attributes and environmental factors on the heterogeneity of parasitic infestation, in focusing on aspects that are still little studied in wildlife: the relationship between parasitism, immunity and mineral elements, as well as the determinants of the spatial heterogeneity of infestations on a fine scale.

Essential mineral elements have important roles in an individual's immunity and inadequate concentrations in the body can lead to a parasitic infection. We first constituted a basis for reference values of the mineral elements concentrations in different natural populations of roe deer, then we studied their relationship with parasite burdens and immune parameters of individuals. The results indicate that overall, concentrations of several essential trace elements are positively related to the burden of all internal parasites studied and to certain immune parameters such as globulins and basophils. In addition, these mineral elements mainly come from food resources ingested by hosts, which are notably known to influence the physiology but also the behavior of hosts, and which could be a key determinant of the parasite burden of individuals. Based on this observation, I was interested in the spatial structure of the parasitic infestation on an intra-population scale, and more precisely in the influence of sectors of different habitat qualities (food resources, type of vegetation), taking into account intrinsic and extrinsic factors. My results confirm that the spatial structure of parasitic risk is different depending on the sector in which the roe deer live. Finally, the previous ones focusing on the study of internal parasites, I was also interested in infestations by external parasites such as ticks, during the period when they are most active (in May). Lacking long-term studies on these infestation models, I highlighted the influence of intrinsic and extrinsic factors, including a strong variability of the infestation following an extreme climatic event (storm). Understanding the heterogeneity of parasite infestation requires adopting an integrative vision at all scales of environment-host-parasite relationships.

Keywords: *Capreolus capreolus*, Coccidia, Heterogeneity of parasitic infestation, *Ixodes ricinus*, Nematodes, Mineral elements

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
1. Agents pathogènes et faune sauvage dans les écosystèmes.....	2
1.1. « One Health ».....	2
1.2. Les agents pathogènes font partie des écosystèmes	4
1.3. Les agents pathogènes dans la faune sauvage : enjeu de connaissance et de gestion.....	6
1.4. Étudier les agents pathogènes dans la faune sauvage.....	7
1.5. Les parasites	9
2. Hétérogénéité d’infestation parasitaire.....	14
2.1. Le rôle de l’hôte dans les infestations parasitaires	15
2.2. Le rôle de l’environnement dans les interactions hôte-parasite.....	19
2.3. Une hétérogénéité d’infestation dans un système complexe à trois entités.....	23
3. Objectifs et structure de la thèse.....	24
CHAPITRE 2 : LE CHEVREUIL, ACTEUR IMPORTANT DANS LA CIRCULATION DES PARASITES.....	29
1. La place du chevreuil en tant qu’hôtes réceptifs aux parasites	30
1.1. Évolution des ongulés sauvages à travers l’Europe.....	30
1.2. Infestations parasitaires chez le chevreuil	35
2. Des données disponibles pour étudier le système : Chevreuil-Parasite-Environnement.....	42
2.1. Acquisition des données	42
2.2. Les sites d’étude et populations de chevreuil étudiées	43
2.3. Les données disponibles sur le chevreuil	45
CHAPITRE 3 : HÉTÉROGÉNÉITÉ D’INFESTATION ET ÉLÉMENTS MINÉRAUX.....	51
1. Éléments essentiels et non-essentiels dans cinq populations de chevreuils, une nouvelle référence pour cette espèce – ARTICLE 1.....	52
1.1. Titre de l’article et auteurs.....	52
1.2. Résumé en français et en anglais.....	52
1.3. Introduction	54
1.4. Material & methods.....	57

1.5.	Results	61
1.6.	Discussion	73
1.7.	Conclusion.....	79
1.8.	Acknowledgments	80
1.9.	Supplementary material.....	80
2.	Relation entre statut en oligo-éléments essentiels et parasitisme chez les chevreuils de deux populations contrastées – ARTICLE 2.....	85
2.1.	Titre de l'article et auteurs.....	85
2.2.	Résumé en français et en anglais.....	85
2.3.	Introduction	87
2.4.	Material and methods	91
2.5.	Results	98
2.6.	Discussion	107
2.7.	Acknowledgments	112
2.8.	Supplementary material.....	112

CHAPITRE 4 : STRUCTURE SPATIALE DU PARASITISME AU SEIN D'UNE POPULATION D'HÔTES 121

1.	Structure spatiale de la charge parasitaire des chevreuils à Chizé – ARTICLE 3...122	
1.1.	Titre de l'article et auteurs.....	122
1.2.	Résumé en français et en anglais.....	122
1.3.	Introduction	123
1.4.	Material & methods.....	125
1.5.	Results	129
1.6.	Discussion	132
1.7.	Conclusion.....	134
1.8.	Acknowledgments	134
1.9.	Supplementary material.....	135

CHAPITRE 5 : MODÈLES D'INFESTATIONS DES NOUVEAUX-NÉS PAR LES TIQUES AU SEIN D'UNE POPULATION D'HÔTES 137

1.	Déterminants de la charge parasitaire des faons de chevreuil à Trois-Fontaines – ARTICLE 4.....	138
1.1.	Titre de l'article et auteurs.....	138

1.2.	Résumé en français et en anglais.....	138
1.3.	Introduction	140
1.4.	Material & methods.....	142
1.5.	Results	149
1.6.	Discussion	155
1.7.	Acknowledgments	157
1.8.	Supplementary material.....	157

CHAPITRE 6 : DISCUSSION GÉNÉRALE & PERSPECTIVES..... 185

1.	Synthèse des principaux résultats.....	186
2.	Méthodologie des études sur la faune sauvage & limites.....	188
3.	Les perspectives de ce travail	193
3.1.	Caractéristiques environnementales de l’habitat du système hôte-parasite	193
3.2.	À l’échelle individuelle	198
4.	Conclusion générale	203

RÉFÉRENCES 205

ANNEXES 243

TABLE DES FIGURES ET TABLEAUX

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GÉNÉRALE

<i>Figure 1 : Type de transmission des maladies infectieuses émergentes par décennie entre 1940 et 2000.</i>	2
<i>Figure 2 : Illustration de la définition « One Health ».</i>	3
<i>Figure 3 : Observation microscopique d'un œuf de <i>Trichuris</i> sp. en haut, et de deux œufs de strongles digestifs.</i>	8
<i>Figure 4 : Schéma illustrant la diversité des modes de vie des parasites.</i>	13
<i>Figure 5 : Schéma récapitulatif de l'introduction.</i>	24
<i>Figure 6 : Description visuelle des objectifs de la thèse.</i>	28

CHAPITRE 2 : LE CHEVREUIL, ACTEUR IMPORTANT DANS LA CIRCULATION DES PARASITES

<i>Figure 7 : Répartition des espèces d'ongulés sauvages en France Métropolitaine et en Corse.</i>	30
<i>Figure 8 : Place des ongulés sauvages.</i>	32
<i>Figure 9 : Répartition du chevreuil en Europe.</i>	32
<i>Figure 10 : Répartition du chevreuil en France établie à partir des tableaux de chasse.</i>	33
<i>Figure 11 : Nombre d'attribution selon le quotas attendu et de réalisations de chevreuils tués.</i>	33
<i>Figure 12 : Némabiomes des chevreuils de trois populations françaises (Aurignac, Chizé, Trois-Fontaines).</i>	35
<i>Figure 13 : Strongle digestif au stade œuf.</i>	36
<i>Figure 14 : Cycle de vie des Strongles digestifs.</i>	37
<i>Figure 15 : Parasite du genre <i>Trichuris</i> au stade œuf.</i>	38
<i>Figure 16 : Cycle de vie des parasites du genre <i>Trichuris</i>.</i>	38
<i>Figure 17 : Parasite du genre <i>Eimeria</i> au stade œuf.</i>	39
<i>Figure 18 : Cycle de vie des parasites du genre <i>Eimeria</i>.</i>	39
<i>Figure 19 : Larve de protostrongles.</i>	40
<i>Figure 20 : Cycle de vie des protostrongles.</i>	40
<i>Figure 21 : Tiques de l'espèce <i>Ixodes ricinus</i>.</i>	41
<i>Figure 22 : Cycle de vie de la tique de l'espèce <i>Ixodes ricinus</i>.</i>	41
<i>Figure 23 : Localisation des populations de chevreuils étudiées en France dans cette thèse.</i>	42
<i>Figure 24 : Carte du site de Chizé, divisé en 3 habitats de qualités différentes (NE, NO et S).</i>	44
<i>Figure 25 : Sabot en bois dans lesquels sont placés les chevreuils capturés (site de TF).</i>	46
<i>Figure 26 : Mise en place de filets tout autour de la parcelle traquée (site de TF).</i>	46
<i>Figure 27 : Manipulation de l'animal (site de CH).</i>	46
<i>Figure 28 : Faon camouflé dans la végétation venant d'être trouvé.</i>	47
<i>Figure 29 : Faon capturé et marqué avec des boucles auriculaires.</i>	47

CHAPITRE 3 : HÉTÉROGÉNÉITÉ D'INFESTATION ET ÉLÉMENTS MINÉRAUX

Figure 30 : Résumé graphique de l'article 1. _____	54
--	----

ARTICLE 1

Figure 1: Study site locations in France. _____	57
Table 1: Geographical and environmental characteristics of the five study sites. _____	58
Table 2: Essential element concentrations determined by ICP-MS or ICP-AES. _____	62
Table 3: Non-essential element concentrations determined by ICP-MS or ICP-AES. _____	64
Table 4: Reference Intervals for essential and non-essential elements. _____	66
Figure 2: Correlation plot between concentrations of minor and trace elements. _____	67
Figure 3: Comparison of essential element concentrations. _____	69
Figure 4: Comparison of non-essential element concentrations. _____	71
Figure 5: Comparison of median element concentrations. _____	72

Figure 31 : Résumé graphique de l'article 2. _____	87
--	----

ARTICLE 2

Figure 1: The geographical location of the two populations in France. _____	93
Figure 2: Scores of individuals on the first axis of the PCA or HSA. _____	99
Figure 3: Coordinates of the variables on the first axis of the PCA or HAS. _____	100
Table 1: Comparison between the population of the mineral element concentrations, parasite burden & immunological parameters. _____	101
Figure 4: Co-inertia between mineral element concentrations and parasite burden. _____	103
Figure 5: Co-inertia between mineral concentrations and immunological parameters (1 st axis). _____	105
Figure 6: Co-inertia between mineral concentrations & immunological parameters (2 nd axis). _____	106
Figure 7: Relationship between the scores of individuals of the HSA & the PCA. _____	107

CHAPITRE 4 : STRUCTURE SPATIALE DU PARASITISME AU SEIN D'UNE POPULATION D'HÔTES

ARTICLE 3

Figure 1: Maps of the study site of Chizé stratified in the three habitats. _____	126
Table 1: Performance of linear and generalized linear mixed models (sector and null models). _____	130
Table 2: Prevalence and intensity of: GI Strongyles, Trichuris sp., Eimeria spp., Protostrongylids. _____	130
Table 3: Best model set descriptions and extracted values for the prevalence of each parasite species. _____	131

Table 4: Best model set descriptions and extracted values for the intensity of each parasite species. _____ 132

CHAPITRE 5 : MODÈLES D'INFESTATIONS DES NOUVEAUX-NÉS PAR LES TIQUES AU SEIN D'UNE POPULATION D'HÔTES

ARTICLE 4

<i>Figure 1: Geographic location in France.</i> _____	143
<i>Figure 2: Yearly estimates of roe deer population density in TF.</i> _____	145
<i>Figure 3: Distribution of fawns at the study site for the period 2010–2018.</i> _____	149
<i>Figure 4: Test of the clustering of tick-infested fawns at various scales using the bivariate function K.</i> __	150
<i>Figure 5: Number of fawns studied per year in the Trois-Fontaines Forest between 1992–2018.</i> _____	151
<i>Table 1: Estimated top parameters for the final model of the infestation of fawns by ticks in TF.</i> _____	152
<i>Figure 6: Mean number of ticks expected under our final model.</i> _____	153
<i>Figure 7: Posterior distribution of the (random) effects $\delta u(j)$ of the year on the instantaneous infestation rate per unit of body size area of fawns by ticks in the Trois-Fontaines Forest.</i> _____	154

CHAPITRE 6 : DISCUSSION GÉNÉRALE & PERSPECTIVES

<i>Figure 32 : Utilisation des poils du miroir des chevreuils pour doser les éléments minéraux.</i> _____	190
<i>Figure 33 : Illustration des perspectives.</i> _____	192
<i>Figure 34 : Cycle de vie de la tique <i>Ixodes ricinus</i>.</i> _____	194
<i>Figure 35 : Résumé graphique de la perspective à l'échelle du contexte environnemental.</i> _____	197
<i>Figure 36 : Résumé graphique de la perspective à l'échelle de l'individu.</i> _____	202

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GÉNÉRALE



© Paul Bienvenu

1. Agents pathogènes et faune sauvage dans les écosystèmes

1.1. « One Health »

Ces dernières décennies, un nombre croissant de maladies ont émergé chez les humains. Parmi elles, les zoonoses, maladies transmises de l'animal vertébré vers l'homme et réciproquement, sont majoritaires. Parmi elles, près de trois-quarts de ces zoonoses proviennent de la faune sauvage (Jones et al. 2008 ; [Fig. 1](#)). Du fait de leur nombre croissant et de leurs conséquences sanitaires et économiques dans la société, ces zoonoses font l'objet d'une préoccupation grandissante.

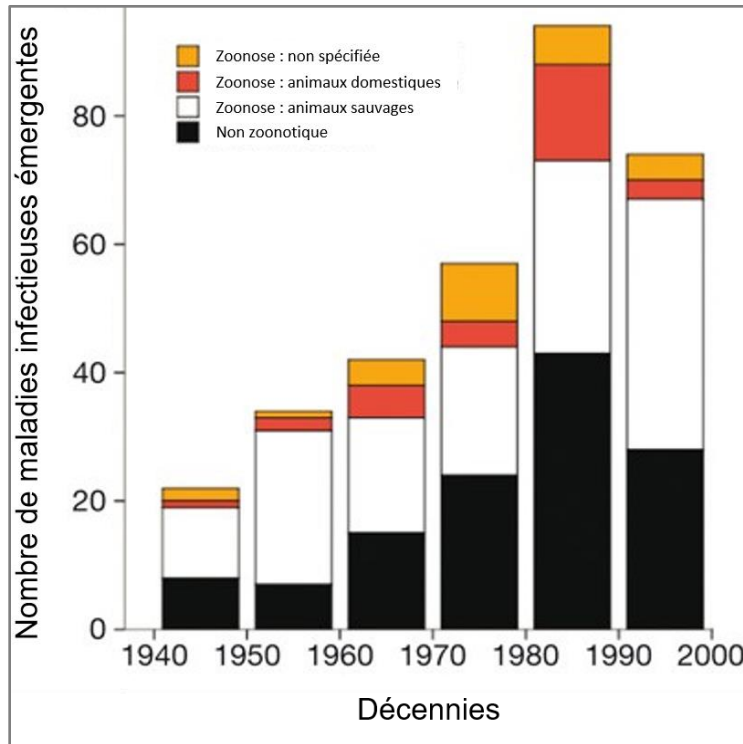


Figure 1 : Type de transmission des maladies infectieuses émergentes dans la société par décennie entre 1940 et 2000. Un évènement de maladie est représenté par le cas d'origine ou le groupe de cas qui correspond à une maladie émergente dans une population. Figure issue de Jones et al. 2008.

Ces émergences ont été l'occasion de constater l'importance des liens entre la santé humaine, celles des animaux domestiques et sauvages, et par le fait les relations entre les écosystèmes et la biodiversité. Actuellement, la médecine humaine et la médecine vétérinaire se consacrent à la santé des humains et des animaux, respectivement. Cependant, la transversalité du lien avec la santé des écosystèmes et la biodiversité est plus compliquée à appréhender dans ce monde médical, et d'autant plus que l'écologie ne fait pas partie des cursus généraux de formation des professionnels de santé (Giraudoux et al. 2022).

Le concept « One Health » (à l'origine : « One World, One Health », ou « Une seule Santé » en français) a été proposé formellement en 2004 par l'élaboration des « Principes de Manhattan » par la Wildlife Conservation Society (Angot 2022). Cette approche a depuis été associée à de multiples définitions et interprétations. En 2020, ce cadre conceptuel a connu un regain d'intérêt suite à la pandémie de SARS-CoV-2. Quatre organismes internationaux, la FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture), l'OMSA (ex-OIE, Organisation Mondiale de la Santé Animale), l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), et le PNUE (Programme des Nations Unies pour l'Environnement) ont créé le groupe d'experts interdisciplinaire de haut niveau One Health (OHHLEP) pour améliorer la collaboration intersectorielle dans ce contexte complexe entourant le concept « One Health ». Ils se sont mis d'accord en décembre 2021 sur une définition commune de ce concept afin qu'elle soit utilisée comme base pour les membres du panel, les organisations partenaires mais également par un public mondial beaucoup plus large. Cette définition propose que « One Health » soit une approche intégrée et unificatrice, mobilisant de multiples secteurs, disciplines et communautés à différents niveaux de la société, qui vise à équilibrer et à optimiser durablement la santé des personnes, des animaux et des écosystèmes (Fig. 2). Elle reconnaît l'interdépendance de la santé des humains, des animaux domestiques et sauvages, des plantes et de l'environnement en général, y compris des écosystèmes (OHHLEP et al. 2022).

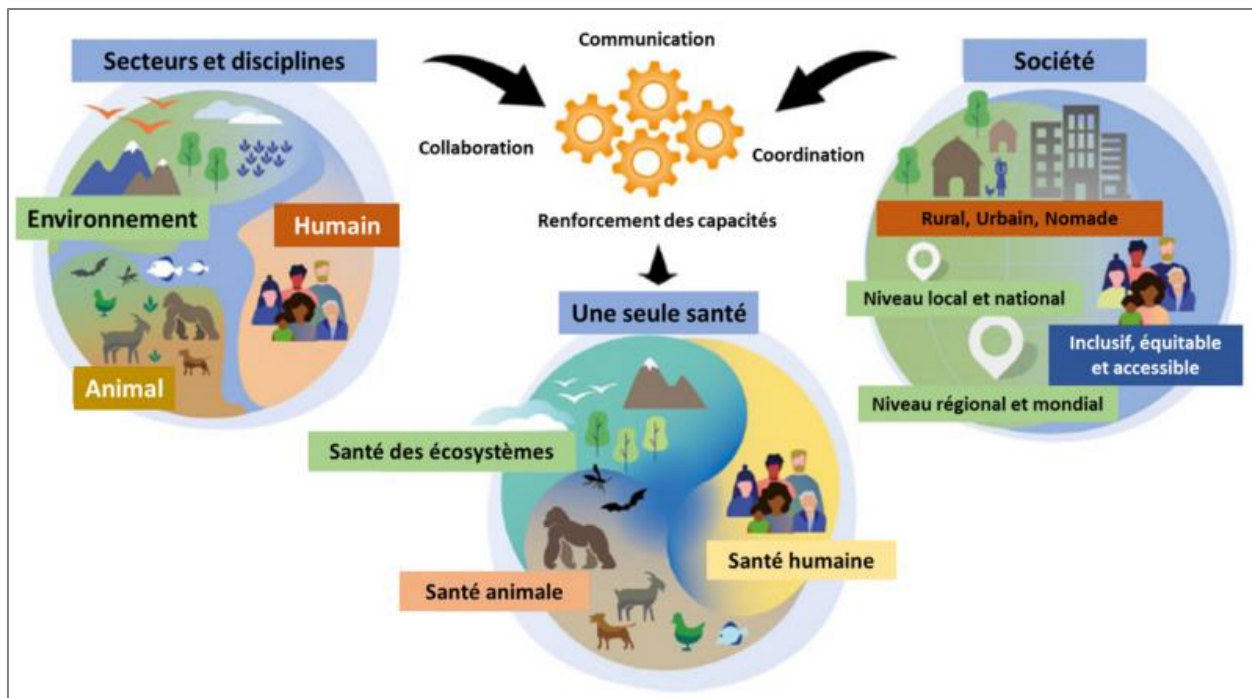


Figure 2 : Illustration de la définition « One Health » proposée par le groupe d'experts interdisciplinaire de haut niveau One Health Issue de la publication OHHLEP et al. 2022.

Dans une approche intégrative, il est en effet logique d'associer aux santés animale et humaine, celle notamment des écosystèmes, et de traduire cette volonté d'intégration sur le terrain (Giraudoux 2023).

Un écosystème en bonne santé permet, selon la définition d'Angot (2022), une bonne productivité biologique, des services écosystémiques de qualité et résilients et donc une meilleure résilience de notre société. En tant qu'unité écologique située dans un cadre spatio-temporel délimité, un écosystème se caractérise par ses propriétés physicochimiques et biologiques, dont sa robustesse et sa résilience, notamment au regard de stress comme les agents pathogènes (Giraudoux 2023). Dans le cadre de cette approche, il est donc nécessaire de considérer les agents pathogènes comme des espèces faisant partie de cette santé des écosystèmes.

1.2. Les agents pathogènes font partie des écosystèmes

Les agents pathogènes sont des organismes capables d'altérer le fonctionnement normal d'un organisme hôte, et donc de déclencher une maladie chez un hôte sensible. Ils regroupent un grand nombre d'espèces incluant des microparasites (bactéries, virus, des champignons et des prions ou protéines infectieuses) et des macroparasites (arthropodes, helminthes, qui seront appelés « parasites » par la suite dans ce texte). Cependant, tous les organismes de ces groupes taxonomiques ne sont pas pathogènes. Comme toutes les espèces, les micro- et macroparasites se sont développés, diversifiés, adaptés et vont persister durablement (Dufour 2017). Leur capacité à provoquer une maladie n'est pas toujours figée. Elle peut évoluer dans le temps (Barreto et al. 2006), selon le contexte et la dynamique de l'interaction hôte-agent pathogène (Casadevall & Pirofski 2014). Les hôtes évoluant également, il est par exemple possible qu'un organisme hôte déclenche une maladie, s'il est à la fois réceptif à l'agent pathogène et sensible. Dans d'autres cas, l'hôte peut ne subir aucun dommage mesurable de la part de l'agent, mais peut participer à l'amplification et à la dissémination de celui-ci dans l'environnement lorsqu'il est réceptif mais non sensible.

Les impacts de ces agents peuvent être majeurs sur l'écologie des espèces hôtes. Au niveau des populations humaines, les maladies infectieuses (dues à des microparasites comme les virus ou bactéries) et parasitaires ont eu un impact important sur l'histoire et l'évolution des sociétés. Jusqu'au milieu du 18^{ème} siècle, les hommes succombaient très souvent à une infection bactérienne ou virale (Debré 2020), entraînant de forts déclin démographiques. L'épidémie majeure de peste noire, au 14^{ème} siècle, a par exemple causé la mort de plusieurs millions de personnes en Europe et en Asie (Wyman 1897). Depuis, de réels progrès en médecine ont été réalisés (prophylaxie, traitement), mais l'épisode récent de SARS-CoV-2 (COVID-19) nous rappelle que le risque de faire face à une nouvelle épidémie est toujours d'actualité. Les différentes crises sanitaires mettent en avant les conséquences de ces épidémies, d'un point de vue de la santé publique mais également d'un point de vue politique et économique, pour tous les pays concernés (Jones et al. 2008). Chez les animaux domestiques, les maladies infectieuses ont également eu de profondes répercussions,

notamment depuis le 18^{ème} siècle avec l'émergence de la peste bovine, de la fièvre aphteuse (Thrusfield 2018) ou plus récemment de l'influenza aviaire à la fin des années 1990 (Worms 2008) et de la peste porcine africaine actuelle (Dixon et al. 2019). Comme pour les êtres humains, de réels progrès en médecine vétérinaire ont été réalisés et les premières campagnes d'éradication ont débuté à la fin du 19^{ème} siècle. Cependant, bien que la peste bovine ait été éliminée totalement à l'échelle mondiale (Moutou 2014), l'émergence de nouvelles maladies, ou la présence de maladies qui n'ont pu être éradiquées comme la tuberculose bovine (Borham et al. 2022), montre que la gestion des maladies infectieuses représente encore un défi de taille. Enfin, les agents pathogènes ont un impact majeur sur les populations animales sauvages. Un exemple bien connu est celui de l'introduction de l'écureuil gris (*Sciurus carolinensis*) au Royaume-Uni, porteur d'un parapoxvirus. Cette espèce, qui tolère bien le virus, l'a transmis à l'espèce endémique, l'écureuil roux (*Sciurus vulgaris*), naïve vis-à-vis de ce dernier. C'est une des causes supposées de la diminution drastique des effectifs d'écureuils roux dans le pays, l'autre cause principale étant la compétition des deux espèces pour les ressources (Cleaveland et al. 2002). Plus globalement, les agents pathogènes sont connus pour influencer la dynamique des populations d'animaux sauvages, la survie et la reproduction des hôtes (Tompkins et al. 2010), et cet impact ne doit pas être sous-estimé.

La transmission des agents pathogènes d'un hôte infecté à un hôte sensible peut se faire par un contact direct, par un contact indirect via l'environnement, ou par un vecteur (arthropode comme les tiques ou les moustiques) (Barreto et al. 2006). Leurs dynamiques et leurs pouvoirs pathogènes dépendent de paramètres liés à l'agent lui-même (ex : virulence, espèce, mode de vie, diversité), à l'hôte (ex : condition corporelle, espèce, mode de vie) ou à l'environnement (ex : conditions climatiques) (Engering et al. 2013). Des mécanismes complexes de transmission se déroulent à l'échelle des écosystèmes, impliquant des espèces sauvages, comme l'illustre la notion de réservoir. En 2003, Haydon et ses collaborateurs ont proposé de définir un réservoir comme une (ou plusieurs) population(s) ou environnement(s) avec des individus épidémiologiquement connectés, dans lesquels l'agent pathogène peut être maintenu en permanence et à partir desquels l'infection est transmise à une population cible définie, de la même espèce ou non. Un réservoir animal peut inclure des populations sauvages, domestiques, ou être composé à la fois de populations sauvages et domestiques. Un exemple bien connu est celui de la maladie de Lyme, provoquée par des bactéries du genre *Borrelia*. Cette maladie vectorielle, transmise par les tiques du genre *Ixodes*, est courante dans les régions tempérées d'Amérique du Nord, d'Europe et d'Asie, avec de plus en plus de cas signalés chez les humains (Kilpatrick et al. 2017). Ses vecteurs, notamment ceux de l'espèce *Ixodes ricinus* (en Europe), se nourrissent de nombreuses espèces animales sauvages ou domestiques (mammifères, reptiles, oiseaux), avec des espèces qui ne sont pas sensibles à la bactérie du genre *Borrelia*, comme les rongeurs forestiers (Cosson 2019). Ces espèces hôtes ont la compétence de maintenir les bactéries dans leur sang, permettant leur transfert dans les tiques se nourrissant sur ces hôtes. D'autres espèces animales peuvent

également participer indirectement à la circulation des borrelies, sans pour autant être réservoir de ces bactéries, tels les cervidés (Mysterud et al. 2016). Tout en étant de mauvais hôtes pour ces bactéries, du fait de leur système immunitaire qui les élimine rapidement, ils sont les principales espèces sur lesquelles les tiques adultes s'accouplent et les femelles se nourrissent, jouant donc un rôle central dans la dynamique de leur population, et indirectement dans la circulation des bactéries (Cosson 2019). De ce fait, l'implication de la faune sauvage dans les maladies émergentes peut être complexe.

1.3. Les agents pathogènes dans la faune sauvage : enjeu de connaissance et de gestion

Les populations d'animaux sauvages sont présentes dans tous les écosystèmes de la planète, aussi bien aquatiques que terrestres, et chaque espèce contribue à l'équilibre de l'écosystème auquel elle appartient. La santé de la faune sauvage est donc étroitement liée à celle des autres animaux, de l'écosystème et des humains, et mieux la comprendre, c'est mieux comprendre la santé globale. Toute une série de facteurs modifiant ces interactions ont amplifié la circulation géographique des agents pathogènes au sein et entre les populations, dont les populations animales sauvages (Engering et al. 2013).

Les opportunités d'émergence ou de réémergence de maladies infectieuses se sont multipliées principalement avec la croissance démographique et l'augmentation des activités anthropiques (multiplication des flux humains, urbanisation, exploitation des ressources naturelles ; Morens et al. 2008), le dérèglement climatique, mais également la multiplication des contacts entre humains et faune sauvage (agriculture, animaux domestiques et environnement naturel ; Ministère de la Transition Écologique 2021). Par exemple, l'évolution des pratiques à l'interface entre l'environnement naturel et l'homme a favorisé à la fin du 20^{ème} siècle, l'émergence du virus Nipah en Malaisie. Suite à la déforestation et à des incendies colossaux ayant détruit la forêt tropicale malaisienne, les chauves-souris frugivores de l'espèce *Pteropus*, réservoir du virus, ont empiété sur les vergers cultivés associés aux porcheries, entraînant ainsi une nouvelle transmission interspécifique vers le porc, puis vers les humains (Chua 2003). Dans ce cas précis, la faune sauvage représentée par la chauve-souris a vu son environnement perturbé, l'obligeant alors à changer son mode de vie. Cela a favorisé la transmission de la maladie aux animaux d'élevage puis aux humains. Le transport d'animaux sauvages ou domestiques lié aux activités humaines, s'avère être également l'un des principaux facteurs anthropiques responsable de l'introduction de maladies dans un nouvel environnement (Chomel et al. 2007). Par exemple, l'introduction de l'écureuil gris au Royaume-Uni, est d'origine anthropique. L'intensification agricole, en particulier sur des espaces naturels déforestés ou à leur lisière, participe également à l'augmentation des contacts entre faune domestique et faune sauvage qui entraîne naturellement l'émergence d'agents pathogènes transmissibles entre espèces (ex : des bactéries du genre

Brucella). Enfin, l'érosion de la biodiversité est elle-même à l'origine d'une augmentation des probabilités de transmission de maladies, d'après l'hypothèse de l'effet de dilution (Schmidt & Ostfeld 2001). Dans ces circonstances, simplifier les écosystèmes par une réduction de la compétition et de la prédation par exemple, augmenterait le nombre d'épidémies (Ostfeld & Holt 2004).

Ainsi, des liens étroits existent entre les humains, les animaux et notre environnement commun. Les mammifères, en particulier, participent de façon importante aux réservoirs d'agents pathogènes pour les humains et les animaux domestiques. Les facteurs et les processus écologiques qui conduisent à la propagation des agents pathogènes restent insuffisamment compris pour proposer des mesures de limitation de cette transmission qui soient efficaces et pertinentes écologiquement. L'étude de l'écologie des maladies de la faune sauvage, notamment des mammifères, a donc une place centrale pour mieux comprendre la diffusion des maladies infectieuses dans les écosystèmes et devrait représenter une priorité d'étude.

1.4. Étudier les agents pathogènes dans la faune sauvage

Pour savoir si un animal sauvage est un hôte d'agents pathogènes, il est nécessaire de faire des analyses bactériologiques, parasitologiques et virologiques à partir d'échantillons biologiques (fèces, sang, organes). Néanmoins, l'étude de la faune sauvage nécessite de prendre des précautions, de faire face à des contraintes logistiques et de respecter des règles éthiques.

En France, le réseau SAGIR est un réseau de surveillance des maladies infectieuses des oiseaux et des mammifères sauvages terrestres. Il est administré et animé par l'Office Français de la Biodiversité, qui travaille en partenariat avec les fédérations des chasseurs, et s'appuie sur le volontariat et la motivation des observateurs. Dans le cadre de ce réseau, les animaux sauvages trouvés morts ou malades sont transportés par des personnes qui disposent d'une autorisation spéciale du Ministère de la Transition écologique et de la Cohésion des territoires, jusqu'au laboratoire départemental d'analyses vétérinaires le plus proche. Une autopsie de l'animal est alors réalisée par des vétérinaires qui visualisent des signes potentiels de maladies et réalisent des prélèvements biologiques afin de faire les différentes analyses pour essayer d'aboutir à un diagnostic précis. La plupart des animaux sauvages autopsiés sont des animaux victimes de collision ou du gibier, et sont amenés en autopsie en laboratoire d'analyse pour un contrôle sanitaire ou parce que des signes de maladie sont visibles (ex : diarrhées ou mortalités anormales) (SAGIR, <https://www.ofb.gouv.fr/le-reseau-sagir>).

Ces dernières années, une autre méthode de surveillance a pris également de l'ampleur : la détection d'agents pathogènes à partir de l'ADN/ARN environnemental. En effet, cette détection de parasites et d'autres symbiotes dans des échantillons environnementaux via l'ADNe/ARNe (eNA) est une source d'informations de plus en plus importante sur leur apparition et leur activité (Bass et al. 2015). Il s'agit de

récolter l'ADN qui a été relâché dans le milieu par les espèces qui y vivent, ce qui permet notamment le suivi et la surveillance des maladies. Cette méthode, non invasive, est particulièrement pertinente pour la parasitologie car les parasites peuvent être difficiles à localiser et sont morphologiquement intraitables et génétiquement divergents (Bass et al. 2015). Cependant, c'est une méthode qui requiert la prise en compte de nombreux facteurs impliqués dans les interactions hôte-pathogène-environnement, et son utilisation comme preuve de diagnostic et d'évaluation du risque de maladie nécessite encore le développement de méthodes appropriées et vérifiées, pour que les détections d'eNA puissent être interprétées et adoptées de manière fiable (Bass et al. 2023).

Enfin, il existe également des programmes scientifiques, menés sur des animaux sauvages vivants, qui permettent d'effectuer une surveillance épidémiologique des populations sauvages. Ils se basent sur une réglementation spécifique à la faune sauvage non captive, impliquant de délimiter le champ d'application, tant concernant les actes à effectuer que le statut des espèces susceptibles d'être étudiées avec une finalité bien décrite (ex : étudier les mécanismes épidémiologiques et écologiques favorisant la transmission des agents infectieux dans la faune sauvage, avec l'homme et la faune domestique). Dans le cadre de ces programmes d'études réglementés, des animaux vivants sont capturés, manipulés (prélèvements d'échantillons biologiques) puis relâchés afin d'assurer le suivi de la faune sauvage. Les prélèvements sont ensuite envoyés dans des laboratoires d'analyses vétérinaires. Ces échantillons biologiques sont bien souvent limités à des prélèvements de fèces, de sang, de poils/plumes et de cartilage pour éviter d'être trop invasifs et de limiter le temps de manipulation des individus. Pour l'étude des parasites par exemple, il s'agit d'une méthode de détection dans les fèces ou par observation directe sur l'animal. Les parasites sont des êtres vivants de petite taille, observables sous différentes formes : œuf, larve, adulte. On peut détecter des parasites macroscopiquement (ex : les tiques), microscopiquement (ex : les nématodes aux stades œufs ou larves dans les fèces des individus grâce à une analyse coproscopique, [Fig. 3](#) ; voir protocole d'analyse coproscopique en [Annexe 5](#)) ou par des méthodes comme la recherche de l'ADN, d'anticorps, etc.



Figure 3 : Observation microscopique d'un œuf de *Trichuris* sp. en haut, et de deux œufs de strongles digestifs en bas. Grossissement objectif : x10. (© S. Benabed; VetAgro-Sup).

Par ailleurs, dans la recherche et la conservation des mammifères sauvages notamment, l'accent a été mis sur les « maladies infectieuses » ou « pathogènes » et leur relation avec la morbidité et la mortalité observées à l'échelle locale (Han & Ostfeld 2019). La littérature sur les parasites a été biaisée par les études sur ce qu'on appelle les microparasites, comme les bactéries ou les virus, qui ont des effets pathogènes

évidents sur leurs hôtes (Shanebeck et al. 2022). Les macroparasites ou parasites au sens strict, comme définis en médecine humaine et vétérinaire, ont reçu moins d'attention. Ils regroupent des métazoaires ou protozoaires parasitant un organisme et entraînant une parasitose (maladie parasitaire ; Morel 1984), comme des helminthes (ex : nématodes, trématodes), des protozoaires (ex : coccidies, leishmanies), et des ectoparasites (ex : tiques, puces, mouches piqueuses qui sont des vecteurs de bactéries ou virus), mais n'incluent pas les virus, les bactéries ou les prions. Ces parasites sont en effet plutôt considérés comme bénins en raison de l'absence de dommages « observables » directement liés à l'infection (Han & Ostfeld 2019). Pourtant, ces agents pathogènes sont ubiquistes, et peuvent avoir de nombreux effets importants sur la santé de l'hôte, le comportement, l'état corporel, la fécondité, ou encore la dynamique des populations (Degen 2008; Bordes & Morand 2011; Sanchez et al. 2018; Defolie et al. 2020; Shanebeck et al. 2022). Malgré ce constat, les études sur l'écologie des parasites chez les mammifères sont peu nombreuses, ce qui suggère que ces agents pathogènes sont un sujet de recherche négligé qui mériterait davantage d'intérêt (Han & Ostfeld 2019 ; Shanebeck et al. 2022).

1.5. Les parasites

a. Intérêts de les étudier

Contrairement aux autres agents pathogènes, les parasites provoquent généralement des infections* ou infestations** chroniques, en lien avec une réponse immunitaire des hôtes souvent incomplète ou de courte durée. Il est même dit, la plupart du temps, que l'hôte tolère le parasite. Il limite son effet à un niveau acceptable en trouvant un équilibre avantageux entre le coût énergétique et nutritionnel lié à la présence du parasite et celui lié à la mise en place et au maintien d'un système immunitaire efficace (Combes 1996).

Les parasites sont omniprésents, et peuvent avoir de nombreux effets complexes sur leurs hôtes. Ils peuvent par exemple avoir des conséquences non négligeables sur la santé et la survie des hôtes, en causant notamment des diarrhées, des baisses de condition corporelle, des anémies, et parfois en entraînant la mort lorsque les charges parasitaires sont très élevées (Hakkarainen et al. 2007). Ils peuvent également influencer le succès reproducteur de l'hôte, son comportement alimentaire ou encore la dynamique de population (Born & Dietz 1989; Delahay et al. 1995; Pelletier et al. 2005; Debeffe et al. 2016). Plusieurs études en milieu naturel confirment que les parasites ont un rôle évident dans la dynamique des populations d'animaux sauvages (Albon et al. 2002; Han & Altizer 2013), bien que leurs effets soient souvent plus subtils que les déclin démographiques spectaculaires observés en réponse à certaines maladies causées par des bactéries ou des virus. Ces effets sont connus chez les humains (Bush 2001), dans le milieu de l'élevage (Waller 1999; Forbes et al. 2000), et peuvent également générer des problèmes de gestion et de conservation dans les populations d'animaux sauvages (Grenfell & Gulland 1995; Tompkins et al. 2001; Irvine 2006). Il a déjà

*Infection : Parasitisme d'un organisme capable de se multiplier **OU** de se reproduire chez son hôte.

Infestation : Parasitisme d'un organisme capable de se multiplier **ET de se reproduire chez son hôte. (Euzéby et al. 2005)

été observé des déclin temporels ou permanents non négligeables de populations, provoqués de manière directe ou indirecte par les agents pathogènes que les parasites peuvent transmettre (ex : rôle de vecteur des tiques ou des moustiques) (Daszak et al. 2000). De plus, comme dit précédemment, les contacts entre la faune domestique, la faune sauvage et/ou l'homme sont de plus en plus fréquents, favorisant les transmissions entre espèces. Il a été montré que de nombreux pathogènes sont partagés et se transmettent régulièrement entre espèces d'ongulés sauvages et espèces domestiques (Martin et al. 2011), tels des nématodes généralistes (Beaumelle et al. 2022). Il paraît donc important d'un point de vue sanitaire mais également social et économique de s'intéresser à ce groupe d'agents pathogènes.

Ainsi, par définition, les parasites ont des effets négatifs sur leur hôte, même si ces effets peuvent être subtils (Poulin 2007). Mesurer les effets de ces parasites est un défi, et comprendre ces infections sublétales et leurs liens avec les changements physiologiques ou comportementaux chez les hôtes, notamment des mammifères, restent peu étudiés (Han & Ostfeld 2019). Pourtant, ces parasites sublétaux doivent être considérés comme une menace potentielle importante pour les populations sauvages, ainsi que pour la structure et le fonctionnement des écosystèmes. Les étudier permettrait de mieux comprendre leurs effets sur la capacité de l'hôte à s'adapter à l'environnement, de mieux appréhender également l'expression de maladies qui peut être un indicateur d'autres changements comme ceux environnementaux. De plus, ils ont pour beaucoup une phase libre dans l'environnement au cours de laquelle ils sont directement soumis aux pressions de celui-ci (Combes 2001). Pour ces raisons, l'étude du parasitisme, et plus globalement de l'écologie des parasites dans les populations d'hôtes, peut constituer un bon indicateur de l'impact des changements environnementaux sur la santé globale des écosystèmes.

b. Le parasitisme

Le parasite et son hôte sont liés par une interaction bien précise que l'on appelle « parasitisme » (Combes 1995). Celui-ci se définit par la relation biologique durable entre deux organismes vivants, au cours de laquelle le parasite tire profit d'un hôte pour se nourrir, s'abriter, se disperser ou se reproduire (Crofton 1971). C'est un mode de vie ou de survie, où l'hôte et son parasite sont toujours en compétition, le second pour exploiter le premier, le premier pour se débarrasser du second ou en limiter son impact. L'interaction du parasite avec l'hôte s'installe dans la durée (Combes 2001). Il est également évident que les parasites peuvent avoir des impacts significatifs sur la dynamique des populations humaine et animale (Albon et al. 2002). En effet, en vivant aux dépens d'un organisme, le parasite peut influencer négativement le métabolisme, le comportement, le développement, et la reproduction de l'hôte, jusqu'à entraîner sa mort (Cizauskas et al. 2015; Joly et al. 2020). Il peut le priver de ressources dont il aurait besoin, ou lui causer des dommages au niveau des organes (Thomas et al. 2012), modifiant physiologiquement l'hôte et affectant inévitablement ses traits d'histoire de vie : temps de développement, taille adulte, fécondité, mortalité. Les

manifestations cliniques de l'infection ou de l'infestation vont être différentes selon l'espèce de parasite impliquée, l'intensité de la charge parasitaire, la diversité des parasites présents chez l'hôte (Bordes & Morand 2011; Budischak et al. 2018), mais aussi selon le statut physiologique de l'hôte. Un hôte peut avoir des signes cliniques marqués lorsque la charge parasitaire est importante, ce qui peut conduire dans certains cas à la mort de l'individu.

Outre la survie, les parasites peuvent impacter la reproduction de l'hôte, en provoquant une réduction de la fécondité, du taux de gestation, de la survie et de la taille de la progéniture (Festa-Bianchet 1991; Fthenakis et al. 2015; Fthenakis & Papadopoulos 2018; Aleuy et al. 2020; Tyrmenopoulou et al. 2021). Ils peuvent également influencer négativement la condition corporelle des individus (Delahay et al. 1995; Hakkarainen et al. 2007; Debeffe et al. 2016; Bourgoïn et al. 2021). La condition corporelle est souvent considérée comme un indicateur de « l'état individuel ». En écologie, les traits phénotypiques choisis pour la déterminer peuvent différer considérablement d'une étude à l'autre. Bien souvent, la condition corporelle est considérée comme une mesure morphométrique (masse ou taille, dépendant de l'espèce étudiée) mais aussi comme l'état énergétique d'un individu ; ainsi les animaux en meilleure condition auraient logiquement de plus grandes réserves d'énergie que les animaux en moins bonne condition (Labocha et al. 2014). Par ailleurs, la relation entre condition corporelle et parasitisme peut mener à un cercle vicieux (Cressler et al. 2014). Les individus en moins bonne condition, à cause de la présence limitée de ressources alimentaires de bonne qualité par exemple, ont moins d'énergie à allouer aux mécanismes de défense immunitaire, et sont donc par le fait davantage parasités, ce qui contribuera à une baisse encore plus marquée de leur condition corporelle (cf. section suivante sur [le rôle de l'hôte dans les infestations parasitaires](#)). En effet, les parasites qui vont se nourrir et prélever de l'énergie, rendent leur hôte moins apte à se défendre. Il a notamment été établi que les parasites peuvent entraîner une baisse de la prise alimentaire (Stien et al. 2002) et détourner des nutriments pour leur propre nutrition. Plus précisément, chez le mouton (*Ovis aries*), il a été montré que l'infection parasitaire par des nématodes gastro-intestinaux induisait une carence en protéines en augmentant la demande d'acides aminés dans le tube digestif tout en réduisant l'offre par dépression de l'appétit (Sykes & Coop 2001). Une autre étude chez cette même espèce hôte a également mis en avant que les parasites peuvent interférer avec l'absorption d'un élément minéral, le cuivre, dans le tractus gastro-intestinal, influençant en conséquence l'expression de maladies (Adogwa et al. 2005). Plus globalement, chez les ruminants domestiques, l'amélioration des niveaux d'oligo-éléments essentiels par l'apport de compléments alimentaires a permis aux éleveurs de réduire les infections parasitaires de leurs animaux (Atiba et al. 2020; Čobanová et al. 2020). Néanmoins, pour la faune sauvage et notamment les mammifères, les études sur le sujet sont encore rares (Myers et al. 2015; Rioux et al. 2022), et aucune n'a d'ailleurs pour l'instant démontré de lien évident et de causalité entre oligo-éléments essentiels et parasitisme.

Enfin, ils peuvent modifier le comportement de l'hôte, en le rendant plus vulnérable à la prédation. En effet, certains parasites qui dépendent de la prédation pour leur transmission, semblent capables de manipuler les traits comportementaux et neurophysiologiques de leur hôte, pour augmenter la probabilité que leur cycle de vie soit complété. Plusieurs mécanismes peuvent intervenir, comme une altération de la communication hormonale et des neurotransmetteurs et/ou une interférence directe avec les neurones et les régions du cerveau qui interviennent dans l'expression comportementale (Kaushik et al. 2012). Un exemple connu est celui des trématodes *Leucochloridium* spp., qui manipulent le comportement d'escargots, hôtes intermédiaires, pour que ces derniers ne se dissimulent pas et soient mangés par des oiseaux, hôtes définitifs (Wesołowska & Wesołowski 2014).

Les impacts négatifs que peuvent avoir les parasites sur leurs hôtes sont donc nombreux. Par ailleurs, tous ces effets vont dépendre du parasite en question. En effet, il existe une grande diversité de parasites au sens strict, appartenant à différents groupes phylogénétiques, et qui se différencient par leurs caractéristiques morphologiques et biologiques. C'est ce dont nous parlerons dans la section suivante, « [La vie des parasites](#) ».

c. La vie des parasites

Ces agents pathogènes sont i) soit permanents, avec une existence se déroulant entièrement dans ou sur un ou plusieurs hôtes (ex : poux), ii) soit temporaires, partageant leur vie entre une phase libre dans l'environnement et une phase parasitaire sur ou à l'intérieur de l'hôte (ex : strongles digestifs), iii) soit intermittents, avec une phase parasitaire courte (i.e. quelques jours) sur leur hôte pour satisfaire leurs besoins nutritifs (ex : moustiques, tiques) (Combes 2001). Selon les parasites et les stades, le site d'infection varie avec des stades présents à l'intérieur d'un organisme (endoparasite), ou s'il vit à la surface du corps, en contact direct avec le milieu extérieur (ectoparasite) (Bush 2001). Le cycle de transmission est propre à chaque type de parasite. Un parasite peut avoir un seul hôte comme il peut en avoir jusqu'à quatre (complexe avec succession d'hôtes ; Combes 2001), et cela va définir le type de cycle de vie qu'il va avoir. On distingue deux catégories : i) cycle direct ou monoxène qui peut être court ou long (après maturation extérieure) chez un seul hôte (ex : *Toxocara canis*, ascaris du chien), ii) cycle indirect ou hétéroxène chez plusieurs hôtes (ex : *Nanophyetus salmincola*, douve du saumon), comptant des hôtes intermédiaires (hébergeant un ou plusieurs stades larvaires du parasite) et des hôtes définitifs (hébergeant le stade sexué du parasite). De ce fait, chaque parasite a un mode de vie qui lui est propre (Fig. 4). Des exemples concrets de cycle de transmission sont également visibles dans la section « [Description des parasites du chevreuil](#) ».

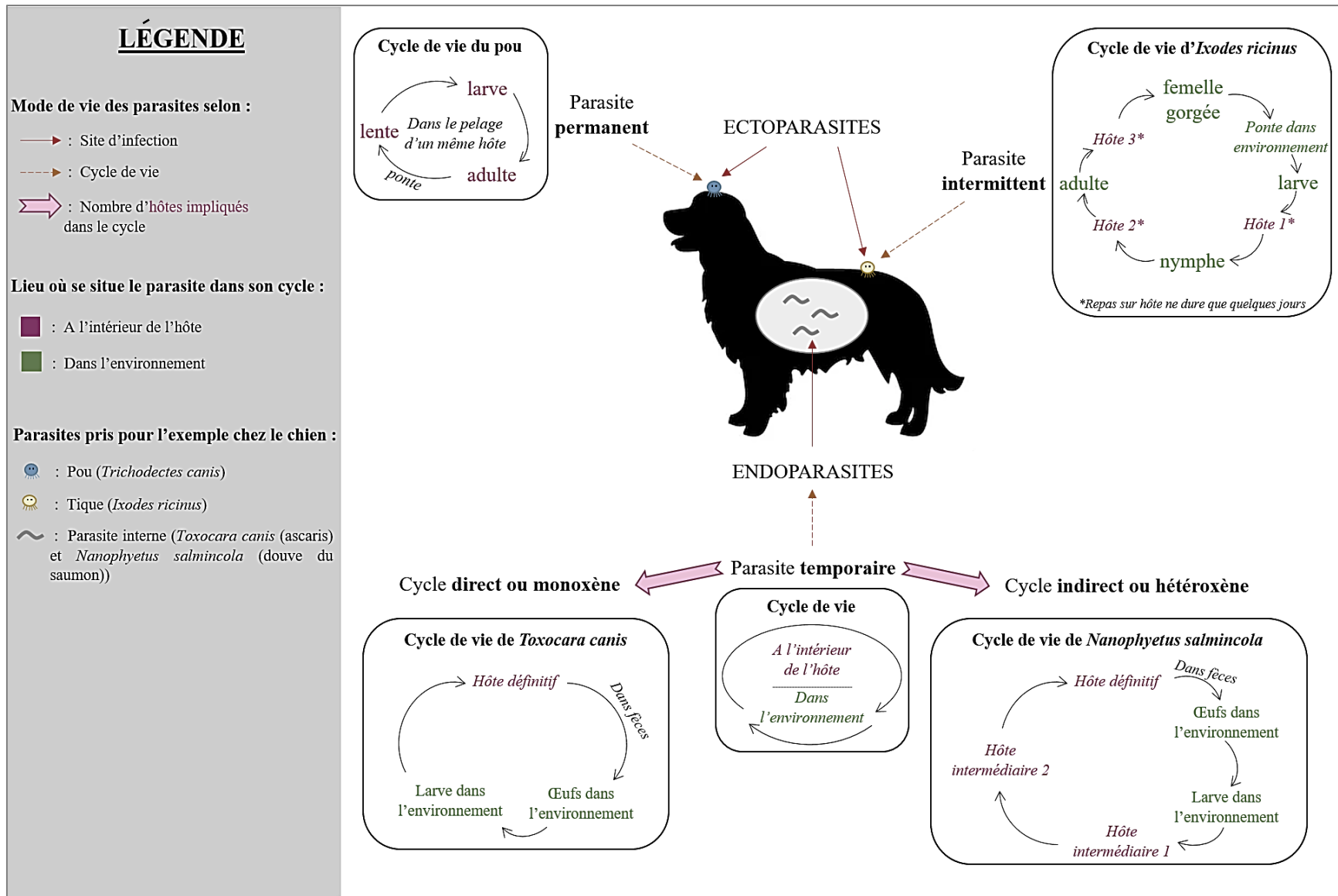


Figure 4 : Schéma illustrant la diversité des modes de vie des parasites ; exemple des parasites chez le chien. Adapté de Combes et al. 2018

Toutes les espèces hôtes n'ont pas la même importance dans la dynamique de population des parasites (Hersh et al. 2012). Un parasite peut être qualifié de généraliste, car il est non-spécifique et peut infester/infecter plusieurs espèces d'hôtes, parfois éloignées phylogénétiquement, qui lui sont indispensables dans son cycle de développement. À l'inverse, il y a des parasites spécialistes qui n'infestent/infectent qu'un seul type d'hôte (une seule espèce, un seul genre, etc.). Par ailleurs, chaque parasite a une niche écologique qui lui est propre, c'est-à-dire l'ensemble des conditions et des ressources abiotiques et biotiques nécessaires au maintien d'une population (Thomas et al. 2012). Les paramètres définissant cette niche peuvent être très nombreux, classables en plusieurs catégories. Tout d'abord, il y a la nature de la ressource exploitée par le parasite, c'est-à-dire savoir si le parasite est hématophage (se nourrit du contenu alimentaire présent dans le lumen du tube digestif), histophage (se nourrit de fragments de l'épithélium et de muqueuse), ou chymivore (se nourrit du contenu alimentaire présent dans le lumen du tube digestif) (Combes et al. 2018). Les variables liées à la biologie des espèces et des populations hôtes sont par ailleurs très importantes, regroupant des facteurs comme le comportement, l'effectif de la population et ses fluctuations, les catégories d'âge, de sexe. Enfin, il y a une dimension environnementale, basée sur les paramètres physico-chimiques du milieu dans lequel se trouve le parasite (Combes et al. 2018). Ainsi, la niche d'un parasite peut se décliner en deux niveaux spatiaux : l'hôte et l'environnement.

Le niveau d'infestation parasitaire dans une population hôte est souvent hétérogène ; la plupart des hôtes ayant une faible charge parasitaire, tandis qu'une faible proportion d'entre eux abrite la majorité des parasites et contribue fortement à leur transmission (Woolhouse et al. 1997; Wilson et al. 2002). La compréhension de l'hétérogénéité de l'infestation est complexe puisqu'elle dépend des interactions entre de nombreux facteurs intrinsèques, comme le sexe, l'âge, le statut reproducteur (Body et al. 2011; Davidson et al. 2015; Debeffe et al. 2016; Aleuy et al. 2018) et extrinsèques, comme la disponibilité et la qualité des ressources alimentaires, la densité des hôtes ou le statut social (Cornet et al. 2009; Body et al. 2011; Knutie et al. 2017; Habig et al. 2018).

2. Hétérogénéité d'infestation parasitaire

L'hétérogénéité d'infestation parasitaire peut être définie comme la variabilité de la contribution des individus, des populations/espèces ou de l'environnement au nombre total de nouveaux cas de parasitisme (VanderWaal & Ezenwa 2016). Au sein d'une population par exemple, les individus sont en effet affectés de manière hétérogène par les parasites, avec notamment des individus pour lesquels le parasitisme pourra avoir des conséquences graves et/ou qui participeront fortement à la dissémination des parasites. À une échelle plus large, toute espèce hôte n'est pas parasitée par toute espèce de parasite (spectre d'hôtes), ces dernières étant restreintes à leur niche écologique, c'est-à-dire l'ensemble des besoins qui caractérisent le

milieu où elles vivent (espace de vie, ressources) (Combes 1996; Combes et al. 2018). Plusieurs mécanismes sont responsables de la restriction du spectre d'hôtes, on parle de « théorie des filtres » (Euzet & Combes 1980). Premièrement, le filtre de rencontre regroupe le filtre de biocénose, qui intègre les espèces hôtes vivant dans le même écosystème que le parasite, et le filtre éthologique, qui intègre les espèces hôtes ayant un contact avec le parasite pour des raisons comportementales. Deuxièmement, on a le filtre de compatibilité, qui rassemble deux sous-filtres : le filtre de l'angle d'exigence du parasite, qui intègre les espèces hôtes capables de procurer au parasite les ressources convenables, et le filtre de l'angle d'évasion immunitaire, qui intègre les espèces hôtes incapables d'éliminer le parasite grâce à leur système immunitaire (Combes 2001). Il est évident que, dans ces filtres de rencontre et de compatibilité, on retrouve deux dimensions importantes : l'hôte et l'environnement dans lequel se trouve le système hôte-parasite. Si une espèce hôte est parasitée, c'est qu'elle présente les caractéristiques nécessaires à la survie, la reproduction, la dispersion et le maintien d'une population de parasites, et se trouve dans un environnement propice à ceux-ci.

2.1. Le rôle de l'hôte dans les infestations parasitaires

Les caractéristiques d'un organisme hôte, de sa physiologie à son comportement, sont importantes pour le parasite. Chaque individu hôte représente un milieu hétérogène et complexe pour le parasite, avec entre autres des paramètres physiologiques et comportementaux propres à chacun, conférant un micro-habitat adapté avec des conséquences sur le développement et la survie de l'agent pathogène (Combes et al. 2018). Cette hétérogénéité prend tout son sens dans l'explication de la façon dont les parasites se distribuent dans les populations hôtes. Les hôtes ont notamment des mécanismes de défense qui vont potentiellement influencer la distribution des parasites et faire varier l'infestation parasitaire d'un milieu. Plusieurs lignes de défenses (physiologiques, comportementales) sont envisageables, soit avant que l'infection ait lieu, soit une fois le parasite établi dans son hôte.

a. Empêcher le parasite d'infecter l'hôte

Dans une étude de 1978 (Anderson & May 1978), il a été démontré que la vitesse de passage d'un parasite d'un hôte à un autre est déterminée par l'abondance et le comportement de l'hôte dans son milieu. Le comportement de l'hôte agit en effet principalement sur la transmission et la dispersion géographique des populations de parasites. La consommation d'aliments contaminés par des parasites représente une voie majeure d'infection. Certains animaux sont capables de moduler leur comportement alimentaire en fonction de la qualité sanitaire de la nourriture disponible dans l'environnement (Hutchings et al. 2003). Il existe deux comportements spatiaux antiparasitaires qui sont bien connus chez les ongulés herbivores : (i)

l'évitement par les individus des aliments qui sont une source de parasites, par exemple les zones à proximité de déjections fraîches, et (ii) la défécation sélective sur des zones précises (Hart 1990; van der Wal et al. 2000; Ezenwa 2004; Fankhauser et al. 2008). Les parasites en question sont souvent des helminthes, dont les œufs se retrouvent dans les fèces où le parasite va évoluer jusqu'à un stade larvaire infestant avant de migrer en dehors des fèces et de se retrouver libre dans l'environnement. Ces deux types de comportements constituent une première ligne de défense pour de nombreux hôtes, avant la défense immunitaire (Hart & Hart 2018). Toutefois, les bénéfices de l'évitement sont différents selon si l'animal est sain, parasité ou immunisé d'une infection antérieure (Thomas et al. 2012). Cela a été observé chez le mouton : lorsque les endroits non contaminés commencent à être sur-pâturés, les moutons immunisés sont ceux qui retournent en premier sur les parcelles contaminées où la nourriture est plus abondante (Hutchings et al. 2001).

Les interactions sociales représentent également des exemples de l'impact du comportement social des hôtes sur la transmission des parasites. L'organisation sociale, qui peut se traduire par le système de reproduction, la taille, la composition du groupe social et les types d'interactions entre les membres du groupe, peut influencer directement la proximité des hôtes, le nombre et la durée des contacts dans une population et donc la transmission de parasites (Habig et al. 2018). Le risque d'infection parasitaire avec le nombre de partenaires sexuels peut par exemple dépendre de la densité d'hôtes et du système de reproduction (Arneberg et al. 1998; Altizer et al. 2003; Thrall et al. 2007). Un individu peut également avoir un comportement d'évitement des individus infectés, en choisissant un partenaire non infecté. Par exemple, une étude sur le tétras des armoises (*Centrocercus urophasianus*) a montré que les femelles tendaient à éviter les mâles infestés par des poux, qui présentaient des hématomes sur leurs deux sacs œsophagiens jaunes gonflés lors de la parade (Spurrier et al. 1991). Un autre exemple est celui du comportement de toilettage chez les espèces sociales comme les mandrills (*Mandrillus sphinx*). Une étude a montré que les individus sains s'abstenaient de toiletter les individus infectés, afin d'éviter d'être contaminés (Poirotte et al. 2017). Pour les endoparasites, ce sera plutôt l'effet négatif du parasitisme sur le développement des caractères sexuels secondaires, qui semble être une information notable pour les femelles dans le choix de leur partenaire (Hamilton & Zuk 1982; Danchin & Cézilly 2021). Cependant, la possibilité de reconnaître le statut parasitaire d'un partenaire va dépendre du type de parasite et aussi de l'espèce hôte, certaines infections restant bien souvent sans conséquence perceptible sur le phénotype de l'hôte.

Enfin, il se peut qu'il y ait des comportements courants pour repousser ou éliminer les parasites, tels que les comportements de toilettages individuels. Ceux-ci sont un moyen d'enlever des ectoparasites comme les tiques. Ce mécanisme de défense a déjà été observé chez les impalas (*Aepyceros melampus*), montrant expérimentalement que sans le toilettage, les individus étaient 20 fois plus parasités par les tiques que les individus pouvant se toiletter (Hart et al. 1992; Mooring et al. 1996).

Ainsi, certains animaux sont capables de modifier leur comportement pour ne pas être infectés par un pathogène, en évitant par exemple un repas contaminé, une zone contaminée (comportements spatiaux), ou encore un individu contaminé (comportements sociaux). Cependant, malgré tous ces comportements d'évitement de l'infection, le parasite peut parvenir à atteindre l'hôte. Ce dernier va donc devoir trouver des moyens, cette fois-ci physiologiques, pour limiter les effets négatifs du parasitisme, et les éliminer.

b. Le « combat » contre l'infection

Toujours au niveau comportemental, l'hôte peut réagir face à l'infection en faisant de l'automédication. Cela consiste en l'ingestion de composés médicinaux, par exemple dans les plantes, pour soigner certains de leurs maux comme le parasitisme et ses conséquences. Le tanin, contenu dans de nombreux arbres feuillus, comme les chênes (*Quercus* sp.), a par exemple des propriétés anthelminthiques, c'est-à-dire qui permettent de tuer des parasites nématodes (Hoste et al. 2009, 2012). Un individu qui consomme davantage une plante qu'il consommait rarement lorsqu'il était en bonne santé, ou l'amélioration des signes de maladie ou d'infection (ex : moins de parasites) due à la consommation de plantes, pourrait symboliser ce comportement d'automédication (Gradé et al. 2008). Il est cependant difficile de mettre en évidence ce genre de comportement en milieu naturel. La défense la plus connue contre l'infection reste le déclenchement de la réponse immunitaire.

En écologie des maladies et en parasitologie, on parle souvent de deux termes : résistance ou tolérance. La tolérance est la capacité d'un hôte à supporter une charge parasitaire donnée sans présenter de symptômes apparents (Råberg et al. 2008). L'hôte limite les effets négatifs du parasite (Combes 1996). Le parasitisme est d'ailleurs la norme plutôt que l'exception chez les animaux sauvages, faisant peu de dégâts ou ayant peu d'impact clinique sur les individus (Liatis et al. 2017). À l'inverse, la résistance est une mesure de la capacité d'un hôte à réduire l'établissement de parasites grâce à son système immunitaire, donc sa capacité à arrêter l'infection avant qu'elle n'ait commencée et à réduire au maximum le développement du parasite à l'intérieur de l'hôte. La défense immunitaire se divise en deux catégories de mécanismes chez les vertébrés, la réponse innée et la réponse adaptative (Goater et al. 2013). L'immunité innée est dite aspécifique (ne cible pas un pathogène en particulier), elle est la réponse immédiate face à l'infection. Elle constitue la première barrière de défense et comprend les barrières physiques, les anticorps naturels, les cellules phagocytaires (monocytes, polynucléaires) et les lymphocytes NK (Natural Killer). L'immunité adaptative répond à un antigène spécifique, déjà rencontré auparavant. Ce sont les lymphocytes B ou T, dotés de récepteurs spécialisés, qui sont impliqués dans ce type de défense (Chatenoud 2002). Lorsqu'un hôte résiste aux parasites, les coûts énergétiques de maintien et de fonctionnement du système immunitaire sont possibles, modifiant notamment ses traits d'histoire de vie (Thomas et al. 2012). Des compromis évolutifs

ont lieu entre les mécanismes de résistance et d'autres traits liés à la valeur sélective comme la reproduction (théorie d'allocation des ressources, Cody 1966; Perrin & Sibly 1993; Rauw 2012).

Ces compromis sont par ailleurs influencés par des paramètres comme le sexe ou l'âge des individus, car les besoins et comportements sont différents. Les vertébrés mâles sexuellement matures sont souvent plus sensibles aux infections et portent une charge parasitaire plus élevée sur le terrain (Zuk & McKean 1996). En effet, les différences entre les sexes en termes de taux d'infection parasitaire et de leur intensité sont courantes dans un large éventail de taxons, et sont souvent expliquées par une physiologie différente (testostérone et système immunitaire) ou un comportement différent (Zuk & McKean 1996). Le comportement social peut induire une variabilité dans l'exposition et la réponse des individus au stress, ce qui peut avoir un impact sur la réponse immunitaire et le niveau d'infection (VanderWaal & Ezenwa 2016). Un exemple connu de la littérature est celui des mandrills. Les mâles dominants sont plus stressés que les mâles subordonnés lorsque la hiérarchie de dominance est instable, induisant des effets immunosuppresseurs et des niveaux plus élevés d'infection par des parasites gastro-intestinaux ; l'inverse est vrai lorsque la hiérarchie de dominance est stable (Setchell et al. 2010). De plus, les individus sénescents et jeunes sont souvent plus infestés et sensibles aux parasites que les adultes (Body et al. 2011; Bourgoïn et al. 2021), ce qui pourrait s'expliquer par un système immunitaire en développement chez les individus jeunes (Coop & Kyriazakis 2001) et une immuno-sénescence chez les individus âgés (Cheynel et al. 2017). Cependant, tous ces mécanismes restent difficiles à comprendre, notamment dans la faune sauvage. Une étude d'Albery et ses collaborateurs (2020b) chez le cerf élaphe (*Cervus elaphus*) parasité par des strongles digestifs a par exemple mis en évidence que des processus autres que les compromis classiques en matière d'allocation des ressources, sont impliqués dans la médiation des relations observées entre la reproduction, l'immunité et le parasitisme chez les mammifères sauvages. Il peut par exemple s'agir de facteurs comme la disponibilité des ressources alimentaires dans l'environnement, qui seront évoqués dans la section suivante.

Par ailleurs, la présence d'un très grand polymorphisme dans les gènes gouvernant la réponse immunitaire et l'investissement de la ressource dans la fonction immunitaire des hôtes n'est pas rare (Minchella 1985). L'immunocompétence des hôtes est un trait polygénique, et de nombreux loci sont liés à la résistance ou à la susceptibilité aux parasites (ex : *le chromosome X* - Beraldi et al. 2007, *le gène de l'interféron gamma* - Luhken et al. 2011, *les gènes des récepteurs de type Toll* - Lin et al. 2016; Benavides et al. 2016). Source de variabilité génétique chez un individu, le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) est également une autre région du génome importante pour la résistance face aux parasites (Frank 2002). Il se divise en deux sous-unités, le CMH de classe I, qui produit des molécules se liant aux antigènes des parasites intracellulaires, et le CMH de classe II, qui code pour des molécules se liant aux antigènes d'origines extracellulaires (Goater et al. 2013). Il est important de noter que les liens entre diversité

génétique au CMH et résistance sont dépendants du type de parasite et des gènes étudiés (Cizauskas et al. 2014; Ezenwa 2016). La base de connaissance sur l'immunogénétique provient principalement de travaux classiques en immunologie ou de programmes de sélection chez les animaux domestiques (Thomas et al. 2012). Très peu de cas d'associations entre des allèles particuliers du CMH et une résistance aux parasites ont été signalés dans des populations naturelles (Kelly & Trowsdale 2017). Il existe encore de réelles lacunes dans l'étude de l'héritabilité de la susceptibilité aux parasites dans ces populations.

Ainsi, il existe plusieurs sources de variabilité individuelle, liées à l'hôte, qui peuvent influencer les infestations parasitaires à l'échelle d'une espèce ou d'une population. Néanmoins, il est important de comprendre que cette interaction hôte-parasite ne se restreint pas qu'aux liens entre ces deux composantes. Le contexte environnemental dans lequel évoluent l'hôte et le parasite est déterminant de l'intensité et de la nature de leur relation (Anderson & May 1978).

2.2. Le rôle de l'environnement dans les interactions hôte-parasite

a. Rôle sur l'hôte

Chaque individu issu d'une population occupe un habitat particulier, défini comme étant une zone présentant une combinaison de ressources (ex : nourriture, refuge, eau) et de conditions environnementales (ex : température, précipitations, présence ou absence de prédateurs et de concurrents) qui favorise l'occupation par celui-ci, et lui permet de survivre et se reproduire (Morrison et al. 2012). La notion d'habitat est une des notions les plus ambiguës en écologie, et se traduit par l'usage de termes multiples lui faisant tous référence (Mitchell 2005). Elle regroupe à la fois un aspect structurel (ensemble de types ou catégories de ressources et de conditions qui le caractérisent, ex : types de végétation, Hutto 1985) et un aspect fonctionnel (ensemble des conditions et des ressources qui déterminent la présence des organismes et permettent leur maintien dans une zone, Hall et al. 1997). La sélection de l'habitat par un individu s'appuie sur un « processus hiérarchique impliquant une série de décisions comportementales innées et acquises prises par un animal à propos de l'habitat qu'il devrait utiliser aux différentes échelles de l'environnement » (Hall et al. 1997). En 1980, Johnson et ses collaborateurs ont par ailleurs proposé 4 ordres de sélection, partant de i) la distribution de l'espèce ou l'aire de répartition de la population, ii) au sein desquelles chaque individu établit son domaine vital (i.e. Aire dans laquelle un individu effectue ses activités normales de la journée, la saison ou l'année ; Burt 1943), iii) choisit ses parcelles, iv) pour finalement sélectionner par exemple la nourriture désirée. Par ailleurs, déterminer la probabilité d'observer un individu dans un ensemble de caractéristiques environnementales est une phase importante, et doit être complétée par une analyse du lien entre les caractéristiques de cet habitat et la performance des individus qui l'occupent, afin

de déterminer la qualité de son habitat (Morrison 2001; Johnson 2007; Mosser et al. 2009; Gaillard et al. 2010; Morrison et al. 2012). Il convient toutefois de faire correspondre les échelles de mesure (Gaillard et al. 2010).

En ce qui concerne le lien avec le parasitisme, les conditions abiotiques du milieu peuvent agir sur la condition physiologique et la réponse immunitaire de l'hôte (Jolles et al. 2015). C'est notamment le cas de la disponibilité et de la qualité des ressources trophiques de l'habitat, déterminants majeurs du statut nutritionnel des hôtes et de leur condition corporelle. Plusieurs paramètres environnementaux vont influencer la répartition spatiale et temporelle de l'abondance et de la qualité des ressources alimentaires des hôtes : les conditions climatiques (ex : influence négative d'une saison sèche sur la disponibilité en ressources nutritives), la qualité générale du milieu (ex : type de végétation, richesse du sol, ...) et la densité de population (Pettorelli et al. 2005). Des études ont notamment rapporté une relation positive entre la densité de population et la prévalence ou l'abondance de parasites car les risques de contaminations directes et indirectes sont plus fréquents (Santín-Durán et al. 2004; Gortázar et al. 2006). Il se peut aussi qu'à l'inverse, l'absence ou la réduction de densité de l'espèce hôte d'un parasite ait pour conséquence l'augmentation du nombre de cet agent pathogène en quête d'un hôte dans l'environnement, et donc un risque plus important d'infestation pour les hôtes potentiels restants. Par exemple, une étude sur les tiques a montré que la perte d'un hôte, le cerf élaphe (*Cervus elaphus*), entraîne une disponibilité accrue des tiques dans l'environnement et une augmentation de l'infestation des rongeurs (Ostfeld & Keesing 2000). Ainsi, tous ces facteurs environnementaux vont influencer la disponibilité en ressources alimentaires disponibles pour les hôtes.

Par ailleurs, l'alimentation a un rôle essentiel dans la santé des organismes hôtes de parasites, la dénutrition et la surnutrition ayant un impact non négligeable sur la santé de beaucoup de taxons (Calder & Kulkarni 2017). Le régime alimentaire et les réserves de nutriment d'un hôte peuvent avoir des effets directs et indirects sur la capacité d'un parasite à se propager avec succès dans/sur un hôte (Samartín & Chandra 2001), notamment en modifiant l'environnement physiologique de l'hôte comme la disponibilité de ressources nutritionnelles clés, ou en renforçant la réponse immunitaire (Cotter & Shareefi 2022). Ils peuvent répondre à l'infection parasitaire en modifiant leur schéma d'allocation des ressources qu'ils ingèrent (nutriments, éléments minéraux), et en investissant plus d'énergie dans la défense contre le parasite. La résistance et/ou la tolérance à l'infection parasitaire chez un individu hôte peuvent en effet varier selon le niveau d'énergie dont il dispose, dû aux différents aliments consommés (Marcogliese & Pietrock 2011; Roug et al. 2015; Pacyna et al. 2018) et à sa condition corporelle. Ainsi, des individus en bonne condition corporelle vont avoir une meilleure réponse immunitaire contre les parasites que des individus en mauvaise condition (Leivesley et al. 2019). De plus, les carences en nutriments comme les oligo-éléments essentiels qui sont utilisés pour l'immunité (Dautremepuits et al. 2004; Adogwa et al. 2005), si elles sont suffisamment

sévères, compromettent la résistance à l'infection (Scrimshaw & San Giovanni 1997). Ainsi, le régime alimentaire et les réserves de nutriment d'un hôte pendant l'infection parasitaire sont d'une grande importance pour sa défense immunitaire (Scrimshaw & SanGiovanni 1997). Il est cependant important de noter que nous nous plaçons dans un système complexe, où d'une part le parasite peut agir sur la condition de l'hôte en détournant par exemple des nutriments et en entraînant une baisse de la prise alimentaire (Sykes & Coop 2001), et d'autre part la disponibilité de ressources alimentaires peut influencer la condition de l'hôte, et avoir un impact sur sa capacité à résister et éliminer le parasite (physiologie, comportement) (Hutchings et al. 2003; Cotter & Shareefi 2022). En résumé, les composants alimentaires peuvent avoir un lien avec le parasitisme de nombreuses manières non mutuellement exclusives, et il est important d'en avoir conscience lorsqu'on étudie les relations entre condition corporelle de l'hôte, parasitisme et nutrition (Cotter & Shareefi 2022).

b. Rôle direct sur le parasite

Les conditions abiotiques de l'environnement peuvent également influencer directement les parasites dont le cycle comprend des phases libres. Certains parasites externes, comme les tiques, ou internes, comme les strongles digestifs, sont particulièrement sensibles aux conditions environnementales du milieu où ils vivent (Santos et al. 2012; Medlock et al. 2013), comme les caractéristiques de l'habitat ou les conditions météorologiques.

Caractéristiques météorologiques

Le développement, la survie et l'activité des ectoparasites et endoparasites dans l'environnement (œufs, stades infectants) sont particulièrement dépendants des conditions météorologiques et microclimatiques. Les paramètres comme la température, l'humidité ou l'exposition aux UV (Ultraviolets), peuvent en effet considérablement influencer la survie des parasites (Gibbs 1982; Lindgren et al. 2000; Schulz et al. 2014). Les températures hivernales par exemple, ne sont pas favorables à la survie des stades libres de nématodes gastro-intestinaux, tout comme les conditions trop chaudes et trop sèches (Gibbs 1982; O'Connor et al. 2006). Par ailleurs, chez les strongles digestifs, la pluie ou la quantité d'eau de rosée sont également déterminantes pour assurer le mouvement des larves présentes dans les fèces vers les brins d'herbe (Santos et al. 2012) ; étape indispensable pour permettre la rencontre entre le parasite et son hôte. Lorsque les conditions environnementales ne leur sont pas favorables, ils entrent en dormance (« hypobiose ») dans leur hôte. Il s'agit d'une adaptation qui, en facilitant la persistance des formes larvaires dans l'hôte pendant des périodes prolongées, permet au parasite de capitaliser sur des opportunités optimales de transfert comme c'est le cas pour certains strongles digestifs (ex : genres *Ostertagia*, *Teladorsagia*, *Haemonchus*, ou encore *Trichostrongylus*) (Gibbs 1986; Kuzmina et al. 2006). Ces nématodes ont même la

capacité de survivre à plusieurs cycles de dessiccation - réhydratation dans un processus appelé anhydrobiose, dans lequel l'activité métabolique est diminuée et la survie des larves est prolongée (Lettini & Sukhdeo 2006). Néanmoins, selon Siamba et ses collaborateurs (2011), des cycles répétés de dessiccation - réhydratation, dus aux variations diurnes de l'humidité des milieux, peuvent réduire la viabilité des larves, qui souffrent d'un épuisement continu de leurs réserves lipidiques irremplaçables. Il y a donc un inconvénient à utiliser cette stratégie.

Les ectoparasites comme les tiques, qui évoluent principalement dans l'environnement, sont également très sensibles aux conditions météorologiques. Par exemple, la tique *Ixodes ricinus* a besoin de gammes de températures ambiantes allant d'environ 7°C à 26°C pour assurer son développement et son activité saisonnière, ainsi que d'une humidité relative supérieure à 70-80 % pour assurer sa survie et ses activités d'affût d'un hôte (MacLeod 1935). Au-delà de 26°C, la température et le risque de dessiccation sont trop importants, elle va donc éviter de rester à l'affût d'un hôte et trouver des endroits plus humides et frais comme la litière du sol (Medlock et al. 2013). À l'inverse, en dessous de 7°C, les conditions sont trop froides et la tique ne peut assurer une activité de quête d'hôte. Pour survivre à ces conditions, elles rentrent donc la plupart du temps en hibernation. Un autre paramètre clé influençant les stades libres dans l'environnement est la durée de l'ensoleillement. En effet, plus cette durée est longue, plus le nombre de tiques adultes en activité est élevé, mettant en évidence la pertinence de la photopériode dans la vie des parasites (Schulz et al. 2014). La durée de l'ensoleillement agit également comme l'un des principaux signaux précurseurs indiquant aux larves infestantes de strongles d'arrêter leur développement chez les hôtes une fois ingérées et de se mettre en hypobiose. Elles attendent ensuite que l'opportunité de transmission à un autre hôte survienne (Langrová et al. 2008). Il se passe la même chose pour les tiques qui attendent que les durées diurnes et de l'ensoleillement soient plus grandes pour sortir d'hibernation (Schulz et al. 2014).

Caractéristiques de l'habitat

La structure de l'habitat des individus hôtes peut avoir un rôle non négligeable sur le risque d'infestation d'un milieu. En effet, la présence de parasites est très hétérogène spatialement, et peut dépendre d'une hétérogénéité environnementale à petite échelle (Albery et al. 2019). Peu d'études se sont intéressées à l'influence de l'habitat sur l'hétérogénéité de la distribution des parasites, alors que la structure des strates végétales peut notamment influencer directement leur développement, leur survie et leur dispersion (Estrada-Peña 2001). Une végétation au sol qui permet d'avoir une zone d'ombre, une grande profondeur de litière et ainsi de créer un microclimat favorable retenant l'humidité est très important pour la survie des tiques (ectoparasites), qui doivent renouveler régulièrement leur stock d'eau perdu lors de l'activité de quête

d'un hôte (Estrada-Peña 2001). On retrouve alors principalement ces parasites dans la litière de feuilles et la végétation de strates basses des forêts de feuillus (Milne 1950; Medlock et al. 2013).

Pour les endoparasites, les œufs et les larves qui se trouvent sur le sol ou dans l'eau suite à leur expulsion de l'hôte, sont également sensibles aux conditions environnementales et au micro-habitat dans lequel ils se trouvent. En effet, comme nous l'avons évoqué dans la [section précédente](#), ils sont très dépendants des conditions météorologiques, ayant besoin notamment d'humidité pour assurer leur développement et leur survie dans l'environnement (Santos et al. 2012). Une végétation assez dense qui retient l'humidité serait donc un milieu plus propice pour les larves dans l'environnement. Néanmoins, les études sur les endoparasites et leur lien direct avec l'habitat (structure, composition végétale) sont très rares, ce qui s'explique notamment par le temps limité passé dans le milieu, et par une majorité d'études ciblées sur leurs hôtes (mesures du parasitisme dans l'hôte et absence d'estimation de l'abondance de parasites dans l'environnement). Bien souvent, les préférences environnementales des endoparasites sont en effet attribuées à la disponibilité d'hôtes sensibles plutôt qu'à la qualité de l'habitat en elle-même.

2.3. Une hétérogénéité d'infestation dans un système complexe à trois entités

La compréhension de l'hétérogénéité d'infestation parasitaire dans la faune sauvage est donc complexe, car nous nous plaçons dans un système à trois composantes (l'environnement, l'hôte et le parasite) ([Fig. 5](#)) où il existe des interactions entre de nombreux facteurs intrinsèques liés à l'hôte (ex : âge, sexe, condition corporelle...), au parasite (ex : cycle de vie, abondance, survie,...) et extrinsèques (ex : microclimat, disponibilité et qualité des ressources, composition de l'habitat...) pouvant modifier l'équilibre hôte-parasite. Plusieurs études ont permis de montrer l'importance de facteurs interagissant avec l'hétérogénéité d'infestation, comme l'âge, le sexe, la condition corporelle, la densité de population, ou encore les conditions météorologiques (Navarro-Gonzalez et al. 2011; Body et al. 2011; Jore et al. 2014; Davidson et al. 2015; Cheynel et al. 2017; Aleuy et al. 2018). Néanmoins, une part importante de cette variabilité reste encore inexploitée. Il est aussi important de souligner que chacun des paramètres impliqués dans ces interactions et évoqués ci-avant, sont variables dans l'espace mais aussi dans le temps. Il sera donc essentiel de tenir compte de différentes échelles spatiales et temporelles dans les études de ces relations environnement-hôte-parasite.

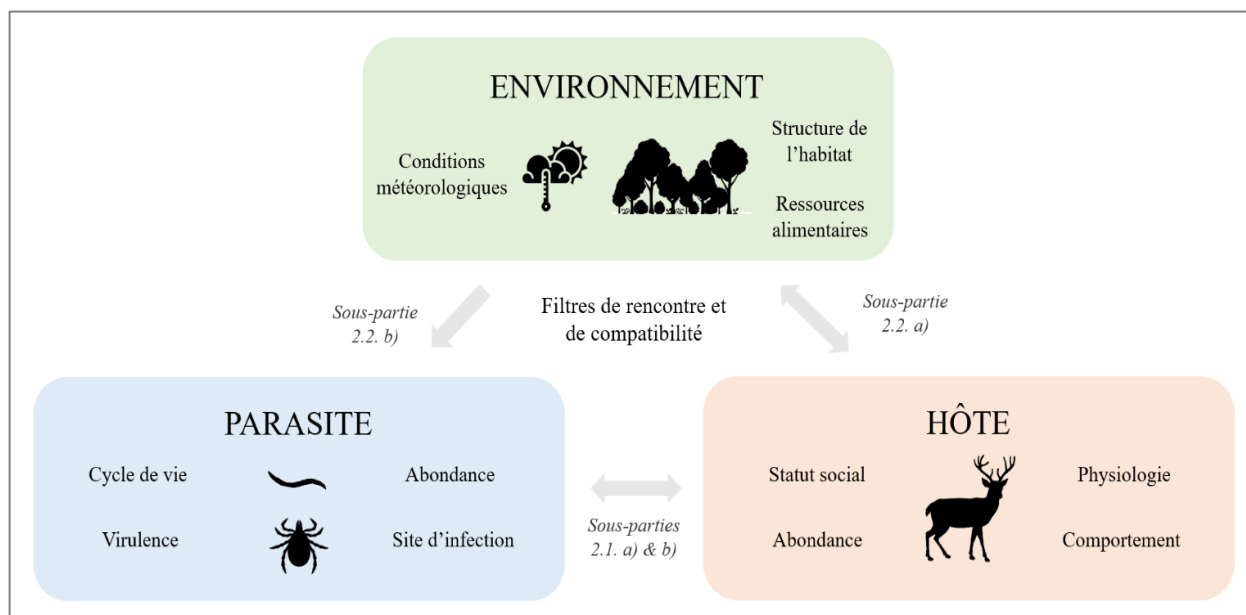


Figure 5 : Schéma récapitulatif de l'introduction : relations entre environnement-hôte-parasite avec des exemples de paramètres reliés à chaque entité, ainsi que les filtres de rencontre et de compatibilité qui se trouvent à l'interface de ces interactions.

3. Objectifs et structure de la thèse

Cette thèse a pour objectifs d'identifier les déterminants de l'hétérogénéité spatio-temporelle des infestations parasitaires et leur importance relative dans les interactions hôte-parasite dans des populations sauvages. L'acquisition de ces connaissances représente une étape fondamentale pour la recherche en écologie et épidémiologie du paysage, afin d'améliorer la gestion des agents pathogènes et des populations d'ongulés sauvages à long terme (Gervasi et al. 2012; VanderWaal & Ezenwa 2016). Afin de répondre à ces objectifs de thèse, il convient toutefois d'avoir des informations variées à la fois sur les hôtes, les parasites et leur environnement. Nous avons donc pris l'exemple d'une espèce d'ongulé sauvage, le chevreuil (*Capreolus capreolus*), dont plusieurs populations en France font l'objet de suivis scientifiques réguliers, coordonnés par l'Office Français de la Biodiversité, depuis de nombreuses années. De plus, cette espèce est actuellement au cœur de questionnements concernant l'accroissement de sa répartition géographique, de plus en plus étendue en Europe et en France (Linnell et al. 2020), et à l'augmentation des densités et des contacts faune sauvage/faune domestique. Cela implique donc de réfléchir davantage aux enjeux que cela engendre, par exemple sanitaires. En effet, le chevreuil est l'hôte de nombreux agents pathogènes, dont des parasites comme des nématodes gastro-intestinaux et des tiques (cf. section « [Description des parasites du chevreuil](#) »), et participent donc à la dynamique et à la circulation de ces agents pathogènes dans les populations.

Dans un premier temps, j'évoquerai dans le [Chapitre 2](#) de ma thèse les matériels et méthodes utilisés pour répondre à nos objectifs, après avoir présenté le chevreuil (*Capreolus capreolus*) et les connaissances sur son parasitisme. Ensuite, les travaux de thèse seront présentés en trois chapitres distincts. Certains facteurs liés à l'hôte et à l'environnement ont déjà été identifiés comme déterminants de l'infestation parasitaire, comme l'âge, le sexe, la densité de population, ou encore la température et l'humidité (Gortázar et al. 2006; O'Connor et al. 2006; Body et al. 2011; Albery et al. 2019; Bourgoïn et al. 2021). Il a par exemple été montré que les individus jeunes et âgés sont plus parasités que les adultes (Body et al. 2011; Jégo et al. 2014; Cheynel et al. 2017). De plus, la masse corporelle et les concentrations de certains paramètres physiologiques comme les taux de fructosamine, de créatinine et d'hématocrite dans le sang sont reliés négativement à la charge parasitaire des individus (Body et al. 2011; Jégo et al. 2014). Au niveau des facteurs environnementaux, il a été montré que la densité de population est reliée positivement à la charge en parasites (strongles digestifs et *Trichuris* sp.) (Body et al. 2011), et que plus les étés sont chauds et secs, plus la charge parasitaire des chevreuils est faible (Body et al. 2011). Malgré ces études, une part importante de la variabilité de l'infestation reste encore inexpiquée.

Comme nous avons pu le voir en introduction, la nutrition des hôtes peut avoir des effets directs et indirects sur la capacité d'un parasite à se propager avec succès dans/sur un hôte (Samartín & Chandra 2001), notamment en modifiant l'environnement physiologique de l'hôte ou en renforçant la réponse immunitaire. L'activation immunitaire est coûteuse en énergie et en protéines, et la privation alimentaire peut entraîner une réduction des réponses immunitaires spécifiques, notamment pour lutter contre les parasites (Cotter & Shareefi 2022). Concernant les éléments minéraux, qui regroupent les oligo-éléments essentiels assurant des rôles importants dans le métabolisme et l'immunité (McClure 2008), les preuves de leur lien avec le parasitisme sont beaucoup plus limitées, surtout chez les espèces sauvages (Sykes & Coop 2001). Pourtant, chez les animaux domestiques et particulièrement chez le mouton, il est connu que les suppléments alimentaires en éléments minéraux permettent d'améliorer leur système immunitaire et leur défense contre des pathogènes comme les parasites (McClure 2008 ; Marcogliese & Pietrock 2011; Ahmad et al. 2020). Ainsi, le premier objectif de cette thèse vise à identifier si une **relation existe entre oligo-éléments essentiels et immunité / parasitisme chez le chevreuil** ([Chapitre 3](#)).

Habituellement, le dosage des éléments essentiels et non-essentiels se fait dans le sang et dans les tissus tels que les reins, le foie ou les muscles (Žele & Vengušt 2013; Lehel et al. 2016; Durkalec et al. 2018). Cependant, l'utilisation de poils, qui sont collectés de manière non-invasive, est de plus en plus populaire. Leur analyse permet par exemple d'évaluer les antécédents alimentaires (Cerling et al. 2006), l'identification génétique (Phoebus et al. 2020), le stress (Di Francesco et al. 2017), ou encore l'exposition à des contaminants (Dietz et al. 2006; Kempson & Lombi 2011). Ils accumulent des concentrations d'éléments tout au long de la période de croissance des poils, fournissant ainsi une mesure stable dans le

temps depuis la dernière mue pour évaluer l'état des animaux (Cygan-Szczegieliński et al. 2014). Néanmoins, aucune étude actuelle ne constitue de référence des concentrations en éléments essentiels et non-essentiels chez le chevreuil. Nous avons donc décrit, dans un premier temps, les concentrations de référence de 22 éléments (Al, As, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Si, Sr, Ti, Tl & Zn) dans cinq populations de chevreuils vivant dans des contextes environnementaux différents, et établi pour la première fois des intervalles de référence pour ces éléments chez cette espèce ([Article 1](#)).

Nous avons en parallèle étudié les relations entre oligo-éléments essentiels et immunité / parasitisme chez les chevreuils de deux populations vivant dans des environnements contrastés, afin d'observer si la tendance est similaire ou non selon le contexte environnemental ([Article 2](#)). Cette partie de la thèse expose une démarche d'étude corrélative, nécessaire dans un premier temps pour ouvrir la discussion sur ce sujet encore trop peu étudié. Il n'est certes pas exclu que le parasite lui-même ait un effet direct sur l'hôte, en détournant par exemple des éléments minéraux, mais les connaissances sur ces mécanismes sont tellement minimales, surtout dans la faune sauvage, que nous avons décidé de partir de l'hypothèse plus globale énonçant que les concentrations en oligo-éléments essentiels des individus issus de leur alimentation, auront un effet sur la condition corporelle des individus et donc sur leur capacité à se défendre contre les parasites.

Par ailleurs, la nutrition peut jouer un rôle important sur la condition corporelle des individus et leur défense contre les parasites. La disponibilité et la qualité des ressources alimentaires dans l'environnement est hétérogène, ce qui peut influencer la capacité des hôtes à éviter ou se défendre contre les parasites. Outre l'influence des ressources alimentaires, d'autres facteurs, comme le climat / microclimat ou les différentes populations hôtes présentes, peuvent également influencer le risque parasitaire. Dans ce contexte, nous pouvons donc nous attendre à observer une hétérogénéité spatiale des infestations (Albery et al. 2019). Généralement, les études sur l'hétérogénéité d'infestation se déroulent à large échelle spatiale (i.e. comparaison de plusieurs populations), et nous ne savons que peu de choses sur les modèles d'infestation parasitaire à petite échelle, i.e. au sein d'une population d'hôtes. Nous n'avons que peu de connaissances sur la manière dont ils influencent les modèles spatiaux d'infestation chez les animaux sauvages, notamment dans des populations d'hôtes qui évoluent dans des habitats présentant une hétérogénéité de la disponibilité et la qualité des ressources trophiques. Le deuxième objectif de cette thèse est donc d'**évaluer la structure spatiale de l'infestation parasitaire par des parasites internes à une fine échelle spatiale, c'est-à-dire au sein même d'une population, en fonction d'une qualité d'habitat connue pour être hétérogène** ([Article 3 - Chapitre 4](#)).

Par ailleurs, les précédentes études sont réalisées en prenant en compte des données de charges en parasites internes. Elles font suite à des connaissances et des recherches déjà réalisées sur les populations de chevreuils étudiées (Body et al. 2011; Jégo et al. 2014; Cheynel et al. 2017) et dont les modèles statistiques ont montré des relations entre le parasitisme et des variables environnementales, ainsi que des

caractéristiques des chevreuils. En partant de ce constat, j'ai également décidé d'orienter mes recherches vers l'étude des parasites externes du chevreuil, et notamment de l'infestation par les tiques (*Ixodes ricinus*). Les espèces d'ongulés sauvages, en particulier le chevreuil, ont permis aux populations de tiques comme *Ixodes ricinus* de croître et de se propager à travers toute l'Europe (Vor et al. 2010), impliquant des enjeux sanitaires importants. Ils sont des hôtes importants dans le cycle de vie des tiques, et notamment pendant la période d'activité maximale de ces parasites, le mois de mai, pour toutes les stases (larve, nymphe, adulte ; Schulz et al. 2014). Les conditions environnementales et la présence de l'hôte pendant cette période sont donc censées être critiques pour la répartition et la dynamique d'*I. ricinus* (Bowman & Nuttall 2008). Quelques études sur les infestations par les tiques ont mis en évidence l'influence de facteurs liés à l'hôte (âge, masse corporelle ; Vor et al. 2010) ou environnementaux (température, humidité, structure de la végétation, densité de population ; Vor et al. 2010; Jore et al. 2014; Schulz et al. 2014) sur la charge parasitaire des hôtes, avec des infestations qui semblent fortement dépendantes des conditions environnementales. Cependant, aucune étude ne s'est intéressée à l'infestation sur le long terme (plus de 20 ans de données), qui peut notamment refléter les changements environnementaux, au cours de la période d'activité maximale des tiques. Dans le troisième et dernier objectif de cette thèse, nous avons voulu **affiner la compréhension des déterminants de l'hétérogénéité d'infestation parasitaire par des parasites externes comme les tiques sur le long terme** ([Article 4](#) - [Chapitre 5](#)). En faisant une étude sur les modèles d'infestations chez les nouveaux-nés de chevreuil (période de naissance entre fin avril et début juin), qui montraient une forte hétérogénéité de charge en tiques dans les premiers jours de leur vie, nous nous attendons à ce que les attributs phénotypiques des hôtes et les facteurs environnementaux (conditions météorologiques, densité de population, structure de l'habitat) déterminent en partie les infestations parasitaires, avec notamment des différences selon la période d'étude (données récoltées de 1992 à 2018). Une nouvelle approche Bayésienne a été utilisée pour étudier ces modèles d'infestations des nouveaux-nés de chevreuil, permettant également de mettre en avant un aspect méthodologique important pour les futures études sur les infestations parasitaires.

Enfin, la dernière partie de ce mémoire est consacrée à la synthèse de mes travaux ainsi qu'à la discussion générale et la mise en avant de plusieurs perspectives d'étude ([Chapitre 6](#)). Les différentes limites de mes études, notamment des approches utilisées, y sont également présentées.

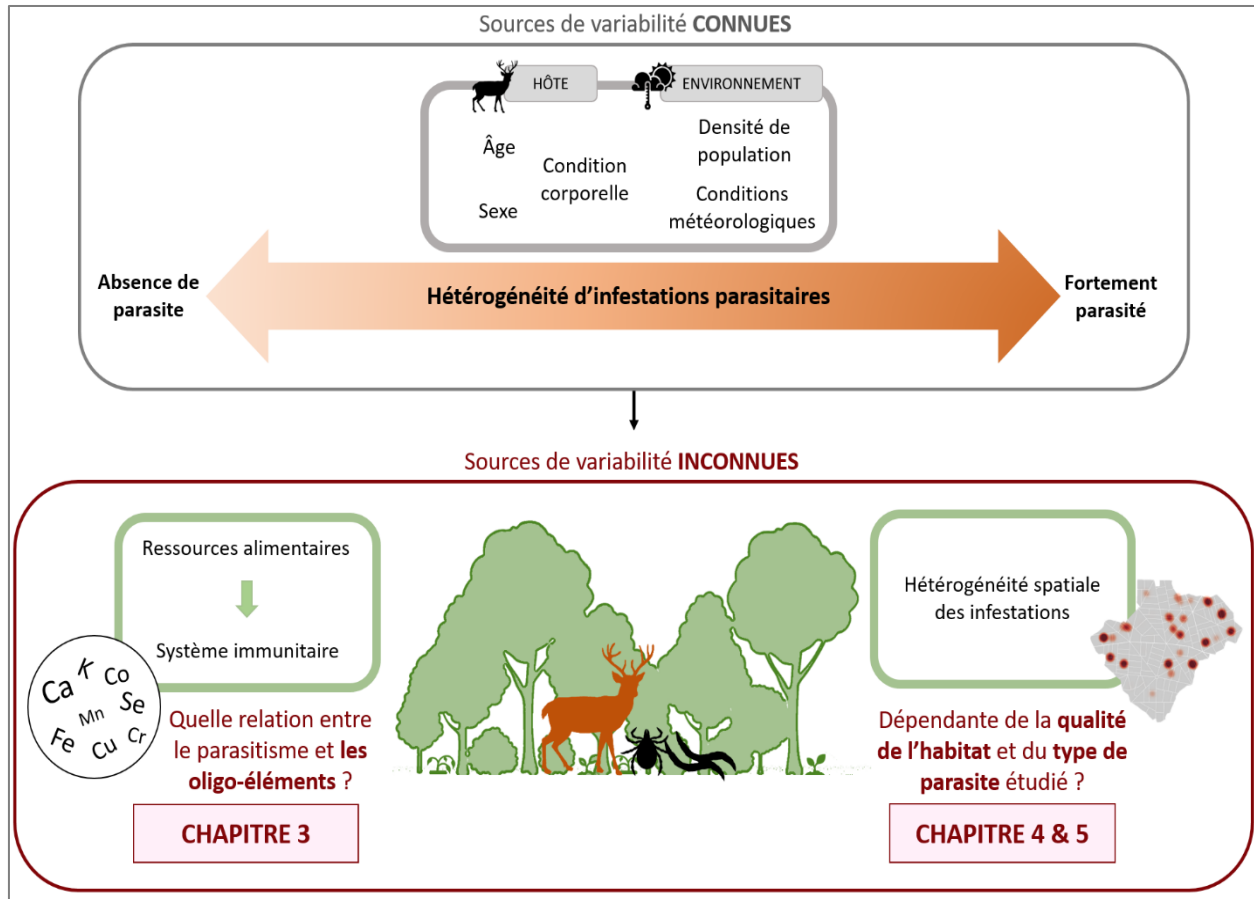


Figure 6 : Description visuelle des objectifs de la thèse. Les chapitres correspondant sont indiqués en gras. Il existe entre les individus hôtes de populations d'animaux sauvages, une hétérogénéité des charges parasitaires dont plusieurs déterminants sont déjà connus : l'âge, le sexe, la masse corporelle, les conditions météorologiques ou encore la densité de population. Cependant, une part de la variabilité est encore inexplicée, et plusieurs facteurs influençant les infestations parasitaires, notamment lié à l'environnement, et à fines échelles spatiales, sont encore inconnus. Depuis quelques années, un intérêt s'est développé autour du rôle de la nutrition des hôtes sur le parasitisme par des parasites internes comme les nématodes, et notamment de la qualité des ressources alimentaires qui peut influencer la capacité des hôtes à se défendre contre les parasites. Un intérêt particulier a été apporté aux oligo-éléments essentiels, qui ont des rôles évidents dans la réponse immunitaire (McClure 2008), suscitant un questionnement tout particulier sur leur lien avec les infestations parasitaires (Chapitre 3 - Articles 1, 2). Par ailleurs, la disponibilité et la qualité des ressources alimentaires dont sont issus ces oligo-éléments est hétérogène dans l'environnement, ce qui peut influencer la capacité des hôtes à éviter ou se défendre contre les parasites. Outre l'influence des ressources alimentaires, d'autres facteurs, comme le climat, peuvent également influencer le risque parasitaire. Il semble donc possible que ces facteurs structurent spatialement les infestations parasitaires, et jouent un rôle sur l'hétérogénéité d'infestation observée au sein même d'une population d'hôtes (Chapitre 4 & 5 - Article 3 & 4).

CHAPITRE 2 : LE CHEVREUIL, ACTEUR IMPORTANT DANS LA CIRCULATION DES PARASITES



1. La place du chevreuil en tant qu'hôtes réceptifs aux parasites

1.1. Évolution des ongulés sauvages à travers l'Europe

a. Expansion des ongulés sauvages en Europe et en France ces dernières années

De la fin du 19^{ème} au début du 20^{ème} siècle, l'impact cumulé des activités humaines (exploitation forestière) a mené diverses espèces d'ongulés sauvages à des déclinés sévères voire des extinctions régionales. Suite à cet épisode, les politiques de reboisement et la déprise agricole ont entraîné une augmentation des espaces forestiers. Les populations d'ongulés sauvages se sont alors renforcées, dans un contexte de gestion conservatrice, avec la mise en place de plans de chasse, le développement d'institutions de gestion de la faune (ex : l'ONCFS, France, 1972) mais aussi de mesures de lutte contre le braconnage (Putman et al. 2011). Des réintroductions ont dans un premier temps permis l'augmentation de plusieurs espèces à travers toute l'Europe (ex : le cerf élaphe *Cervus elaphus*, le sanglier *Sus scrofa*, le chevreuil *Capreolus capreolus*, le bison d'Europe *Bison bonasus*, le chamois des alpes *Rupicapra rupicapra* ; Corlatti & Zachos 2022).

S'ajoutent à cela une diminution drastique sur la même période des effectifs de grands prédateurs à travers le continent (Jedrzejewska et al. 1997; Boitani & Linnell 2015), et des changements de pratiques d'élevage qui ont favorisées l'établissement de nombreuses espèces d'ongulés sauvages (Morelle et al. 2016; Speed et al. 2019). Aujourd'hui, les populations d'ongulés sauvages en Europe sont bien établies et répandues sur tout le continent, avec notamment une forte présence en France (Fig. 7). Nous comptons sur le territoire métropolitain français et la Corse, 12 espèces d'ongulés sauvages vivant en milieu naturel, appartenant à trois familles différentes : les bovidés, les cervidés et les suidés (Encadré 1).

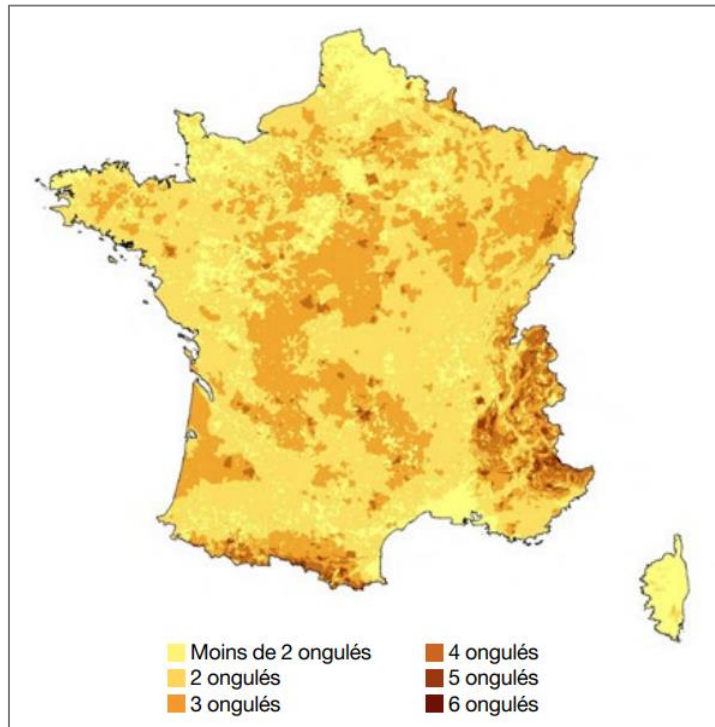
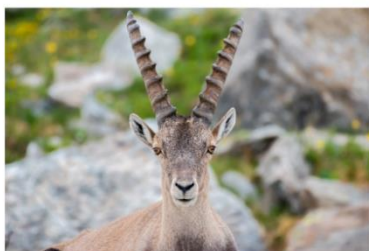


Figure 7 : Répartition des espèces d'ongulés sauvages en France Métropolitaine et en Corse. Carte issue du rapport Efese 2022, réalisée à partir des données du réseau des ongulés sauvages de l'OFB – données de 2015 à 2019 selon les espèces.

ENCADRÉ 1

BOVIDÉS



Bouquetin des Alpes, *Capra ibex*



Bouquetin ibérique, *Capra pyrenaica*



Chamois des Alpes, *Rupicapra rupicapra*



Mouflon méditerranéen, *Ovis gmelini musimon x Ovis sp.*



Mouflon de Corse, *Ovis aries musimon x var. corsicana*



Mouflon à manchette, *Ammotragus lervia*

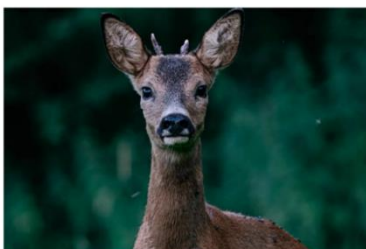


Isard des Pyrénées, *Rupicapra pyrenaica*

CERVIDÉS



Cerf élaphe, *Cervus elaphus*



Chevreuil, *Capreolus capreolus*



Daim, *Dama dama*



Cerf sika, *Cervus nippon*

SUIDÉS



Sanglier d'Europe, *Sus scrofa*

Photos de L. Bariod, T. Basset, P. Bienvenu, JM. Rocek, R. Laszlo, R. Minnish, K. Gallas (libres de droit)

Toutes ces espèces sont chassables sauf les deux espèces de bouquetins ainsi que les espèces de mouflons de Corse et à manchette qui sont protégées. Ces ongulés sauvages sont tous des acteurs majeurs du fonctionnement des écosystèmes, agissant sur la dynamique des communautés végétales et sur les paysages de bien des manières, comme en témoigne la [figure 8](#) issue du rapport Efese « Les ongulés sauvages en France métropolitaine : fonctions écologiques, services écosystémiques et contraintes » (Loison

& Bison 2022). Ces ongulés sauvages influencent en effet les écosystèmes, par l’herbivorie, le transport de nutriments, la dispersion des graines, et le retournement du sol. Ils ont donc un effet sur la structure physique des habitats et les communautés végétales à diverses échelles spatiales. Ils peuvent avoir un rôle important sur des services de régulation, comme le stockage de carbone des sols ou la réduction du risque d’incendie, ou des services culturels grâce à leur symbolique dans la société. Par ailleurs, ils peuvent également être source de conflit, occasionnant parfois des collisions, des dégâts sur les cultures ou encore par la transmission de maladies aux humains et au bétail. Bien entendu, il est important de noter que chaque espèce d’ongulé aura une fonction différente, en fonction de son mode de vie, de son statut, de sa répartition, etc.

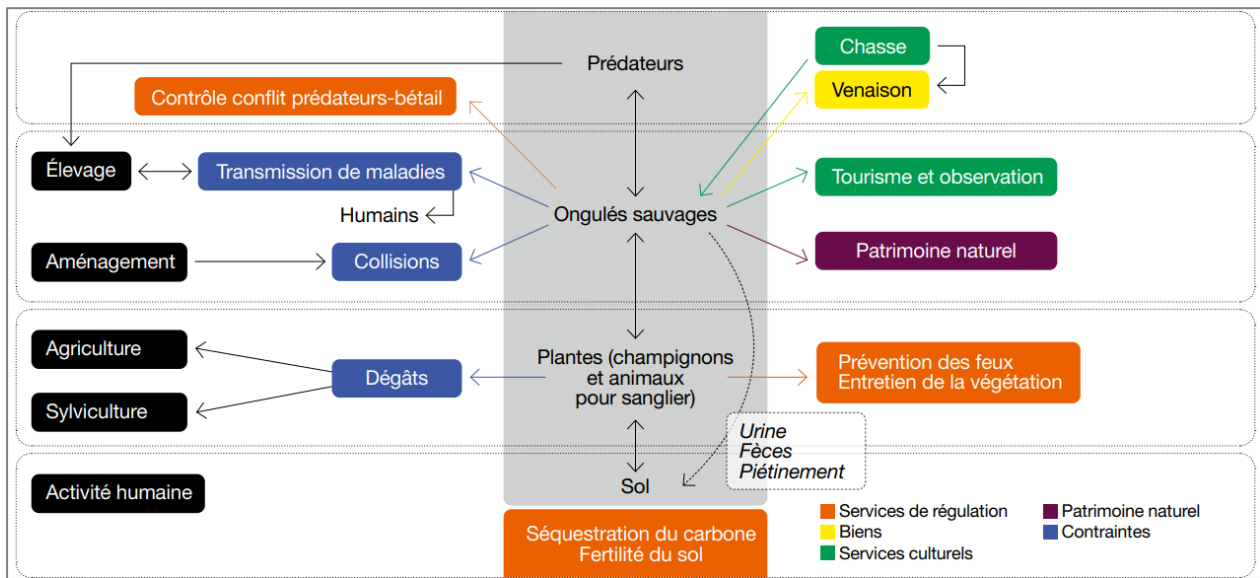


Figure 8 : Place des ongulés sauvages : fonctions écologiques et écosystémiques, enjeux patrimoniaux et contraintes liés à ce taxon de mammifères. Figure issue du Rapport Efese - Loison & Bison 2022.

b. Expansion du chevreuil en Europe et en France

Le chevreuil est aujourd’hui l’espèce d’ongulé sauvage européen la plus abondante sur le continent, avec la distribution spatiale la plus étendue (Fig. 9 ; Linnell et al. 2020). Cette espèce avait connu une réduction drastique de ses effectifs avant le 20^{ème} siècle sur les continents, à cause de la destruction de ses habitats mais également de la surchasse (Lorenzini et al. 2020). Il était alors majoritairement forestier, mais suite à la disparition des prédateurs naturels, à la fragmentation de l’habitat forestier, et à leur réintroduction, les effectifs ont augmenté et l’espèce a colonisé la quasi-totalité des paysages européens au cours du 20^{ème} siècle (Linnell et al. 2020). En France, l’espèce occupe la majorité des

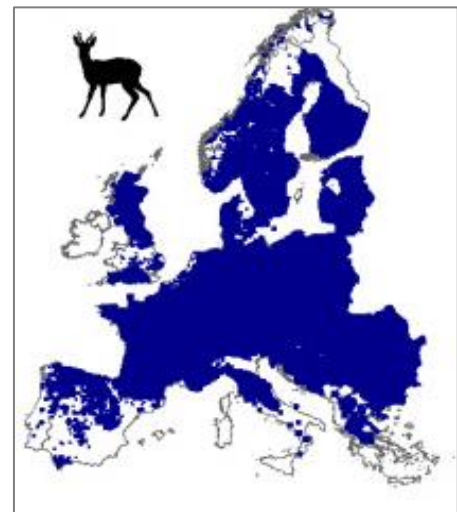


Figure 9 : Répartition du chevreuil en Europe. Carte issue de l’étude de Linnell et al. 2020.

forêts, mais également les milieux anthropisés tels que les grandes plaines agricoles (Cibien & Sempere 1989; Cibien et al. 1989; Hewison et al. 2001; Cimino & Lovari 2003). La répartition de l'espèce dans le pays a augmenté au fil des années, pour arriver à une colonisation sur la quasi-totalité du territoire métropolitain (Fig. 10).

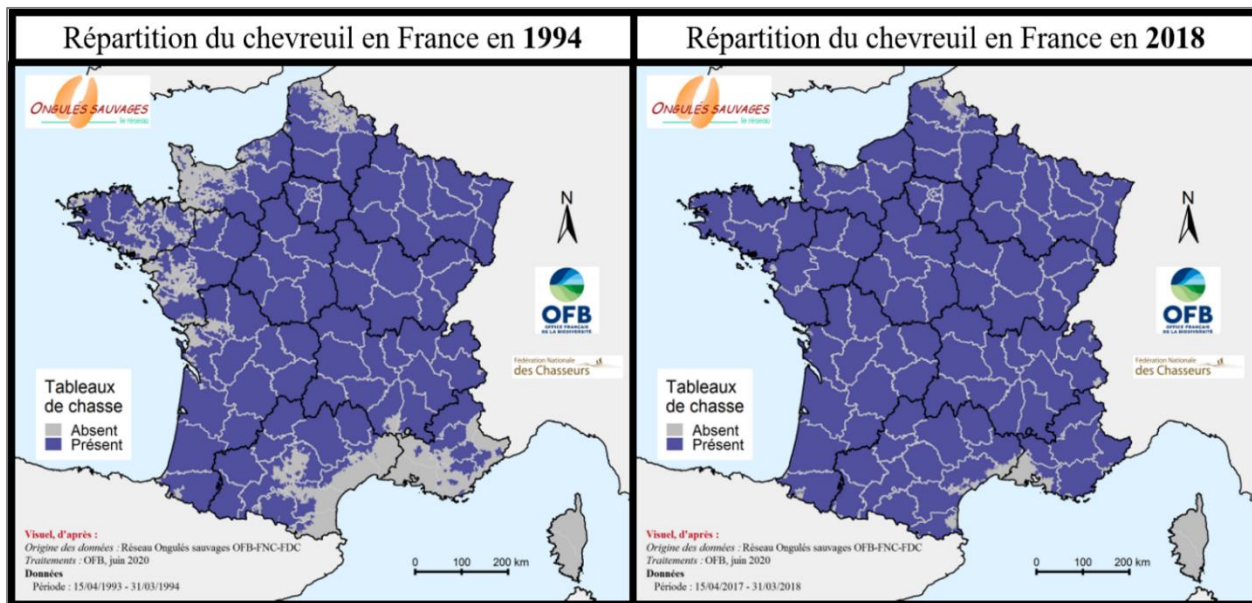


Figure 10 : Répartition du chevreuil en France établie à partir des tableaux de chasse. Source : Réseau Ongulés sauvages de l'Office Français de la Biodiversité. (Réseau Ongulés sauvages | Le portail technique de l'OFB).

Sa chasse est autorisée, avec des quotas annuels de prélèvements qui ne cessent d'augmenter au fil des années (Fig. 11). La description biologique de cette espèce est visible dans l'[encadré 2](#) ci-dessous.

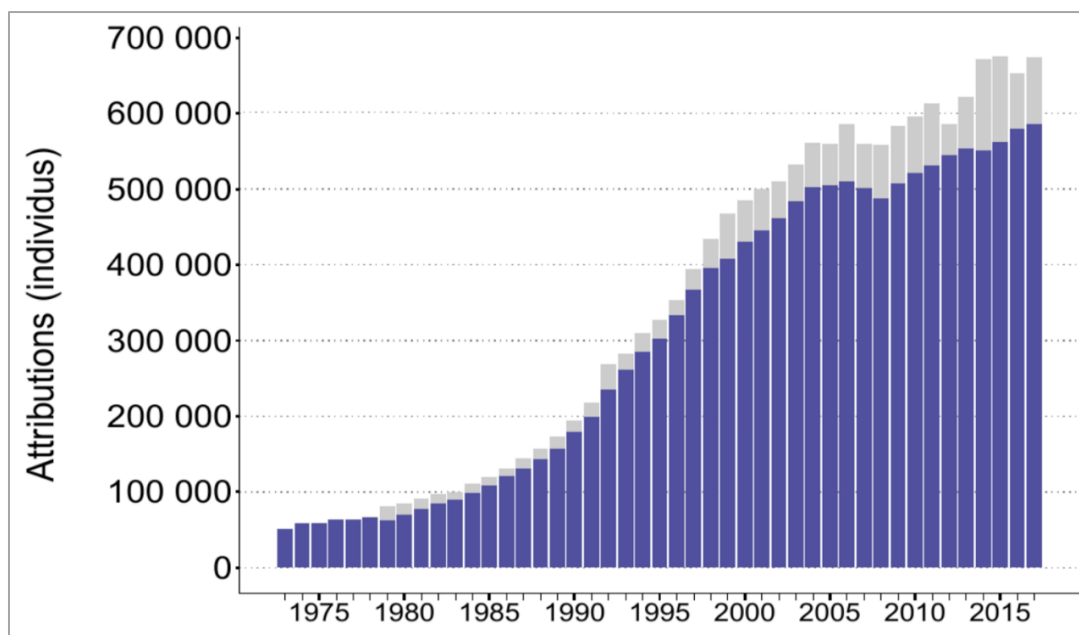


Figure 11 : Nombre d'attribution selon le quotas attendu (en gris) et de réalisations (en bleu) de chevreuils tués lors des saisons cynégétiques entre 1973 et 2017. (Réseau Ongulés sauvages | Le portail technique de l'OFB).

ENCADRÉ 2

Chevreuil, *Capreolus capreolus* (Linnaeus, 1758)



CLASSIFICATION

Ordre : Artiodactyla
Famille : Cervidae
Sous-famille : Capreolinae
Genre : *Capreolus*

STATUT de CONSERVATION UICN



LC : Préoccupation mineure

MORPHOLOGIE

Il s'agit du plus petit cervidé français avec une hauteur au garrot de 60-80 cm. Le poids dépend du contexte dans lequel ils vivent, mais en moyenne, les mâles pèsent 20 à 31kg et les femelles 17 à 29kg (Andersen et al. 1998). Le dimorphisme sexuel est peu marqué, avec seulement la présence supplémentaire d'une paire de bois éphémères pour les mâles, se développant de décembre à mars et tombant en automne (Pélabon & van Breukelen 1998; Vanpé et al. 2007). Le pelage du faon est tacheté durant deux mois (marron avec taches blanches), alors que celui des adultes est uni (roux en été, gris foncé en hiver) avec une tache blanche ornant le fessier, c'est le miroir. Le chevreuil mue deux fois par an, au printemps et en automne.



Mâle adulte (brocard)



Femelle adulte (chevrette)



Faon (0 à 6 mois puis chevrillard jusqu'à 1 an)

REPRODUCTION

La maturité sexuelle est atteinte dès l'âge d'un an pour les deux sexes. La période de rut a lieu de la mi-juillet à la mi-août. La caractéristique essentielle de cette espèce est l'ovo-implantation différée. Une fois le rut et l'accouplement établie (fécondation), l'ovule va entrer dans une phase de diapause embryonnaire avant de reprendre son développement en janvier (Lambert et al. 2001). La durée totale de gestation chez le chevreuil est de 9,5 mois (Strandgaard 1997). Les naissances des faons ont lieu au printemps (de fin avril à début juin) avec un pic lors de la deuxième quinzaine de mai (Linnell & Andersen 1998b). La taille de la portée est d'un à trois faons, avec une moyenne variable inter et intrapopulation (Andersen et al. 1998).

COMPORTEMENT SPATIAL

Le chevreuil est une espèce généralement solitaire (Gaudry 2015) pour une bonne partie de l'année : de l'hiver à la fin de l'été pour les mâles (période de territorialité puis territorialité et rut) et du printemps à la fin de l'été pour les femelles (période de mise-bas puis de rut). Le reste du temps, ils forment des groupes (Danilkin 1995). Après la naissance, les faons sont très peu actifs et restent cachés dans la végétation environnante à distance de leur mère (stratégie « hiders », anti-prédatrice) (Linnell & Andersen 1998b). Ils commencent à suivre leur mère dès l'âge de 8 jours (Pellerin 2005).

Le chevreuil est très sédentaire et présente une forte fidélité au domaine vital tout au long de sa vie, tout en étant très sélectif à une échelle spatiale fine (Linnell & Andersen 1998a). La taille du domaine vital hivernal varie en fonction de la structure du paysage et des conditions climatiques : en milieu boisé, elle avoisine généralement 30 ha (Saïd et al. 2005, 2009).

RÉGIME ALIMENTAIRE

Le régime alimentaire du chevreuil est varié et dépend du type de milieu exploité. En tant qu'herbivore, il affectionne principalement les feuilles de ligneux (chênes, charmes, ormes, lierres, ronces), mais se nourrit également d'herbacées, de plantes cultivées, de conifères, de mousses, de fougères, de champignons ou lichens (Andersen et al. 1998). Il a par ailleurs une stratégie « d'income breeder », c'est-à-dire qu'il compense les coûts énergétiques élevés de la reproduction en s'alimentant durant cette période (Linnell & Andersen 1995; Andersen et al. 2000). L'abondance et la qualité des ressources sont donc très importantes.

1.2. Infestations parasitaires chez le chevreuil

a. Risque parasitaire du chevreuil

Dans la nature, les principales causes de mortalité chez le chevreuil adulte sont les collisions routières et la prédation (naturelle mais aussi anthropique) (Cacard 2004). Cependant, cette étude a également montré que les parasites au sens strict étaient responsables d'environ 9.8 % des cas de mortalité de chevreuils analysés entre 1986 et 2003. En effet, un parasitisme élevé dû à plusieurs types de parasites (dans les sinus, la trachée, le tube digestif, le foie ou sur la peau) peut être une cause de mortalité (Maublanc et al. 2009).

Les chevreuils sont les hôtes de plusieurs types de parasites, mais ces derniers peuvent être différents selon le contexte où se trouve la population d'hôtes. Une étude de Beaumelle et ses collaborateurs (2022) a montré que les chevreuils vivant à proximité d'élevage de moutons (Aurignac, France) ont un nématobiome (communauté de nématodes gastro-intestinaux parasitant) qui converge vers celui du mouton (Fig. 12). Ce nématobiome est alors différent de celui des chevreuils de deux autres populations (Trois-Fontaines et Chizé, France) qui vivent en milieu forestier. Ces derniers ont des nématobiomes assez similaires, bien qu'une distance d'environ 500 km sépare leurs populations, et surtout composés de parasites plus spécifiques de cervidés (Fig. 12). On considère alors ce nématobiome comme une « communauté type » de nématodes gastro-intestinaux présents chez le chevreuil.

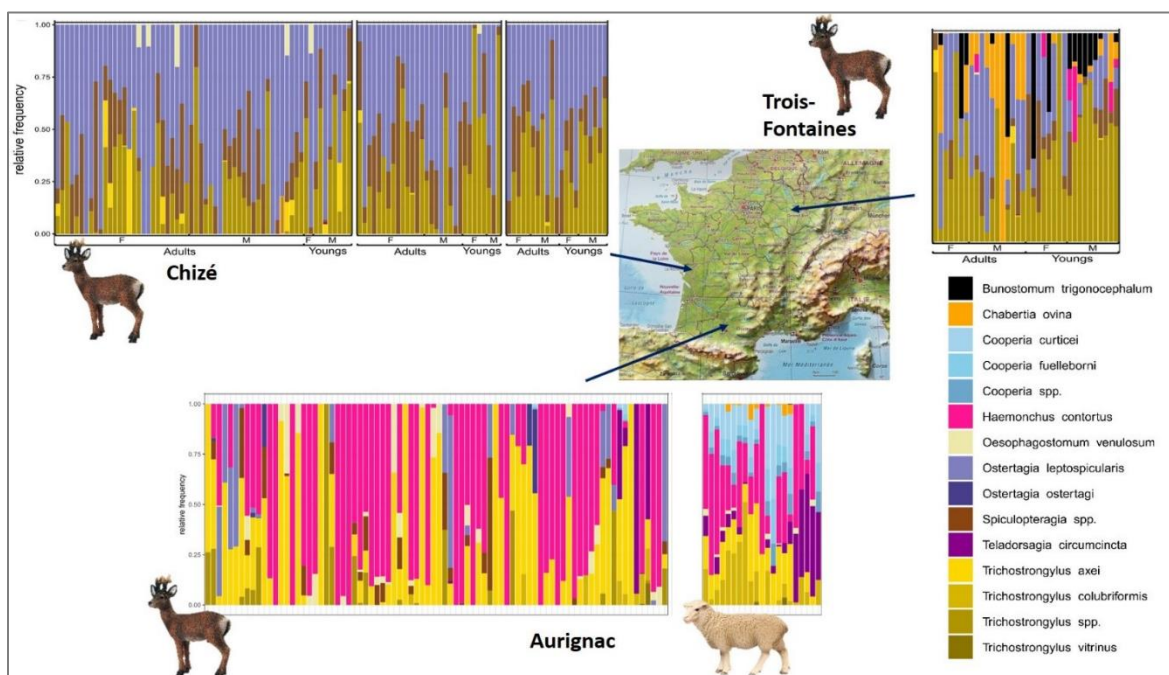


Figure 12 : Nématobiomes des chevreuils de trois populations françaises (Aurignac, Chizé [divisé en 3 secteurs], Trois-Fontaines), ainsi que celui d'un élevage de moutons se trouvant à proximité de la population d'Aurignac. Les espèces de nématodes gastro-intestinaux retrouvées dans les nématobiomes sont renseignées en bas à droite. Cette figure est tirée des articles de Beaumelle et collaborateurs 2021, 2022.

Par ailleurs, cette figure montre tout de même des différences dans les némbiomes des chevreuils de Chizé et Trois-Fontaines, exposant une hétérogénéité d'infestation qui peut être due à des facteurs autres que la proximité aux animaux domestiques. L'environnement, ou des déterminants comme l'âge ou la masse corporelle des individus pourraient par exemple être une des causes de cette différence. La dynamique de transmission est très dépendante du contexte, en perpétuelle évolution, tout comme l'environnement où se trouvent les hôtes et les parasites. Il est difficile de savoir d'où provient le parasite, quel était son premier hôte, et la contribution relative de chacune des espèces hôtes dans la dynamique parasitaire (Brown et al. 2022). De ce fait, le chevreuil semble être un modèle intéressant pour étudier les relations environnement-hôte-parasite, ce qui permettrait peut-être de mieux comprendre ces différences de némbiomes entre populations. Le chevreuil n'est d'ailleurs pas seulement l'hôte de nématodes gastro-intestinaux. D'une manière générale, il est l'hôte de nombreux parasites, tels que des ectoparasites comme les tiques (principalement *Ixodes ricinus* en France) ou des parasites digestifs et respiratoires comme les protostrongles. Les principaux sont décrits ci-après, et sont ceux étudiés au cours de ma thèse.

b. Description des parasites étudiés chez le chevreuil

Parasites digestifs

Strongles digestifs

Les strongles digestifs, ou strongles gastro-intestinaux sont des nématodes, ou vers ronds, qui parasitent le système digestif de leur hôte. On retrouve chez le chevreuil de nombreuses espèces de strongles digestifs, notamment *Ostertagia leptospicularis*, *Spiculoptera spiculoptera* ou encore *Haemonchus contortus* pour les principales (pour plus de détails, voir l'article de Cacard (2004) qui regroupe les différentes espèces identifiées). La plupart des strongles sont chymivores, c'est-à-dire qu'ils se nourrissent des éléments nutritifs présents dans le chyme (ex : acides aminés essentiels). Il y a également des strongles hématophages, en particulier le genre *Haemonchus*, et des strongles histophages, comme *Chabertia* sp. Les strongles exercent presque tous une action traumatique (Enderlein 2002). Ils sont retrouvés à l'état d'œuf dans les fèces de chevreuil (Fig. 13).



Figure 13 : Strongle digestif au stade œuf. Grossissement objectif : x10. (© S. Benabed; VetAgro-Sup).

Le cycle de transmission des strongles gastro-intestinaux rencontrés chez le chevreuil est très voisin pour les différentes espèces. Ils ont un cycle monoxène, avec d'une part un développement endogène dans l'hôte définitif et d'autre part un développement exogène dans le milieu extérieur. Ce cycle comprend un stade œuf, cinq stades larvaires et un stade adulte (Fig. 14), tous les stades étant séparés d'une mue. L'accouplement entre mâles et femelles a lieu dans une portion du tube digestif, spécifique pour chaque espèce de strongles : par exemple, les strongles de la caillette se reproduisent dans cet organe, où la femelle va ensuite pondre ses œufs avant que ces derniers ne se retrouvent dans le milieu extérieur par le biais des fèces de l'animal parasité.

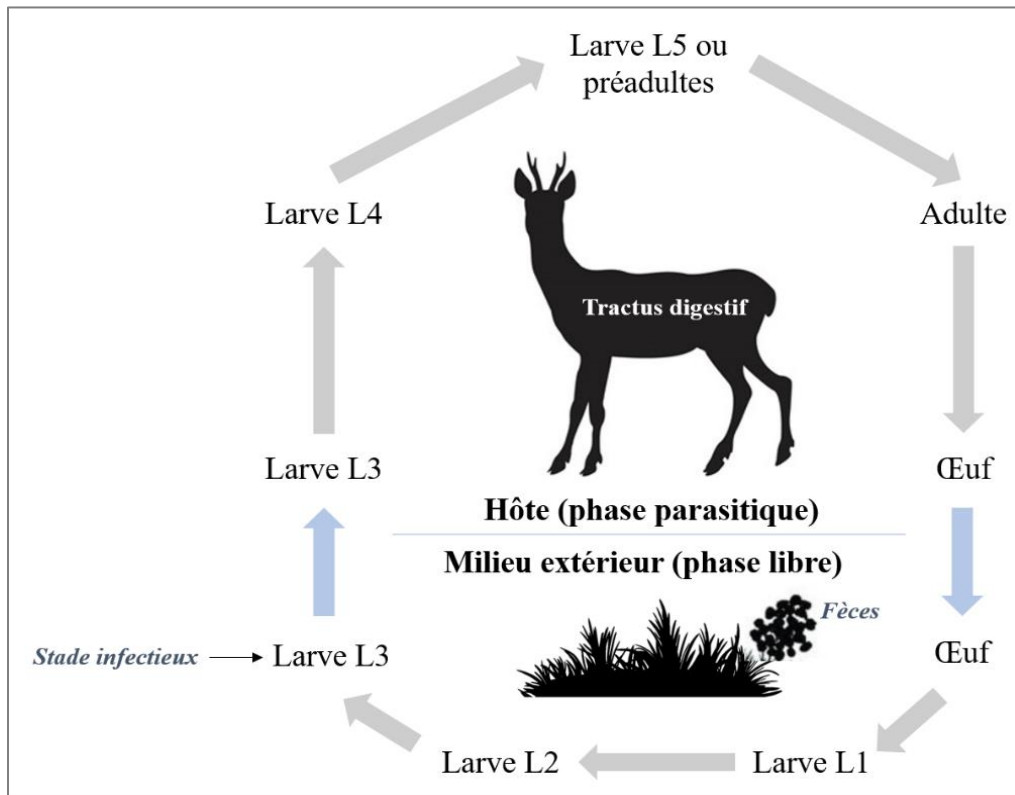


Figure 14 : Cycle de vie des Strongles digestifs. D'après Taylor et al. 2015.

Si les conditions du milieu extérieur, telles que l'humidité, l'oxygénation et la température (Rossanigo & Gruner 1995), sont favorables, les œufs vont se développer et une larve de stade 1 va éclore puis se développer jusqu'au stade larvaire infestant (larve de stade 3 ; L3). Ces larves migrent hors des fèces dans l'environnement où elles pourront être ingérées par un hôte. Certaines espèces de parasites peuvent présenter une particularité dans leur cycle qui se met en place lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables aux stades libres des parasites, que l'on appelle « hypobiose » (Enderlein 2002). Une fois ingérées par l'hôte, le développement larvaire va alors être stoppé et les larves vont rester enkystées dans la muqueuse du système digestif pendant plusieurs mois.

Trichuris sp.

Les trichures sont des nématodes cosmopolites parasitant le caecum et le colon au stade adulte. Ils se nourrissent du sang de leur hôte. Il existe différentes espèces de trichures, qui sont plus ou moins caractéristiques d'un groupe d'hôtes : par exemple, on retrouve *Trichuris trichiura* chez l'Homme, alors que chez le chevreuil, on retrouve principalement trois espèces : *Trichuris capreoli*, *Trichuris ovis* et *Trichuris skrjabini* (Cacard 2004). Ces parasites sont fréquemment rencontrés chez le chevreuil, avec des charges parasitaires généralement modérées, et semblent peu pathogènes sauf en cas d'infestation massive (Cacard 2004). Ils sont retrouvés à l'état d'œuf dans les fèces (Fig. 15).



Figure 15 : Parasite du genre *Trichuris* au stade œuf. Grossissement objectif : x10. (© S. Benabed; VetAgro-Sup).

Ils ont, au même titre que les strongles digestifs, un cycle monoxène, avec un stade œuf, cinq stades larvaires et un stade adulte (Fig. 16).

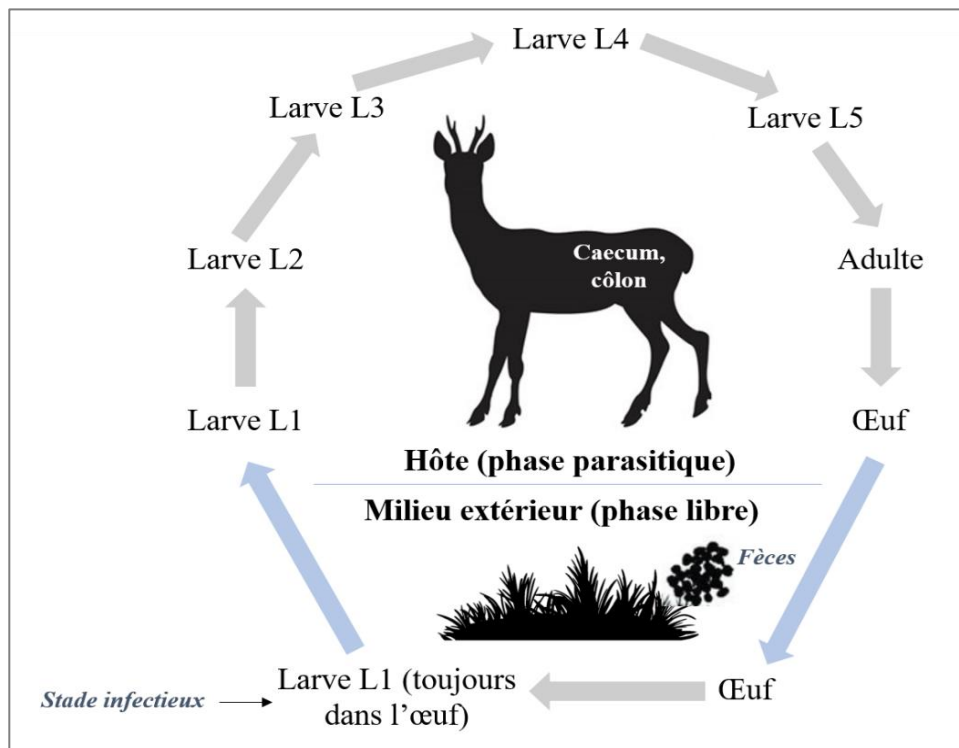


Figure 16 : Cycle de vie des parasites du genre *Trichuris*. D'après Taylor et al. 2015.

Eimeria spp.

Ce sont des protozoaires de la sous-classe des Coccidia. Elles se développent dans les cellules épithéliales des organes creux (intestins, canaux biliaires, tubes urinaires), colonisant ainsi la muqueuse (Taylor et al. 2015). Les coccidies digestives les plus souvent retrouvées chez le chevreuil appartiennent au genre *Eimeria*. Les parasites de cette famille se trouvent chez de très nombreuses espèces de mammifères et d'oiseaux, domestiques ou non. Elles sont retrouvées à l'état d'oocyste dans les fèces (Fig. 17).

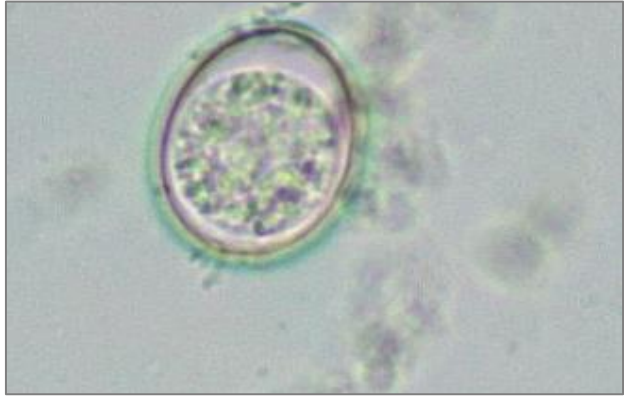


Figure 17 : Parasite du genre *Eimeria* au stade œuf. Grossissement objectif : x10. (© S. Benabed; VetAgro-Sup).

Leur cycle de vie est également monoxène (Fig. 18). La contamination de l'hôte se fait par ingestion d'oocystes sporulés présents dans l'environnement. Une fois dans l'intestin, des sporozoïtes (forme cellulaire infectieuse) sont libérés et donnent des schizozoïtes issus de la reproduction asexuée. Ensuite, la gamétogonie (reproduction sexuée) repose sur la transformation des schizozoïtes en microgamètes mâles et macrogamètes femelles qui s'unissent pour former des ookystes (aussi appelé oocystes) non sporulés. Ces deux étapes de schizogonie et gamétogonie vont se dérouler dans les cellules épithéliales de l'hôte. Les ookystes sont très résistants et peuvent persister longtemps dans le milieu extérieur (Taylor et al. 2015).

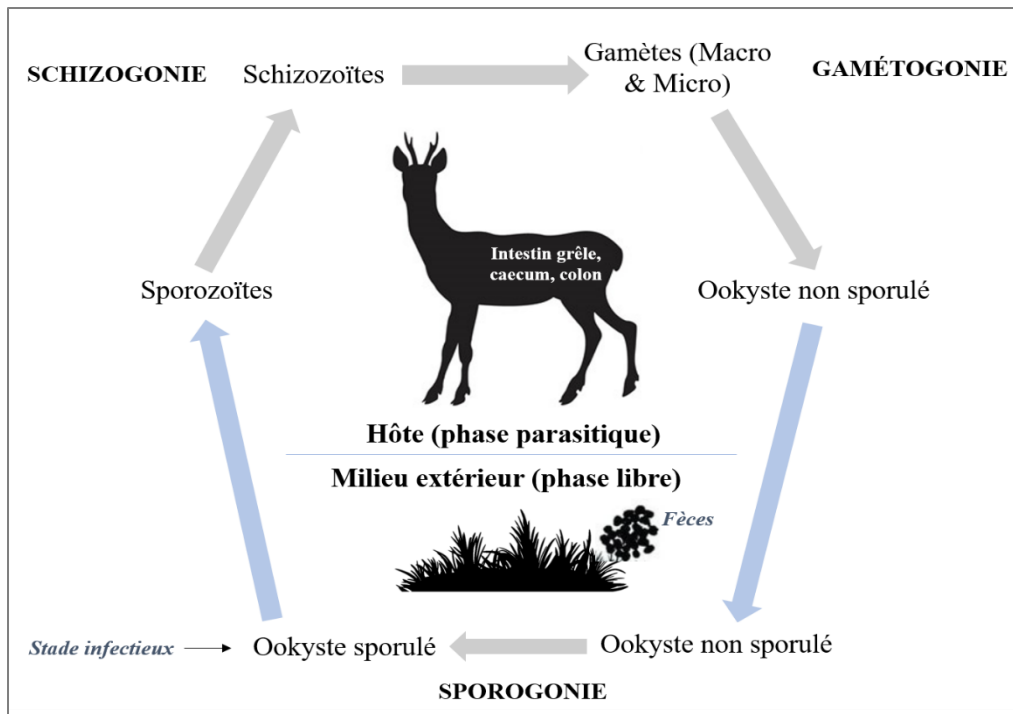


Figure 18 : Cycle de vie des parasites du genre *Eimeria*. D'après Taylor et al. 2015.

Parasites respiratoires : l'exemple des Protostrongles

Ce sont des nématodes, de l'ordre des Strongylidés (tels les strongles digestifs) et de la famille des Protostrongylidés, qui parasitent l'appareil respiratoire de leur hôte. Les deux espèces connues retrouvées chez les cervidés sont *Protostrongylus rufescens* et *Muellerius capillaris* (Taylor et al. 2015). Ils sont retrouvés à l'état de larve dans les fèces de chevreuil (Fig. 19).

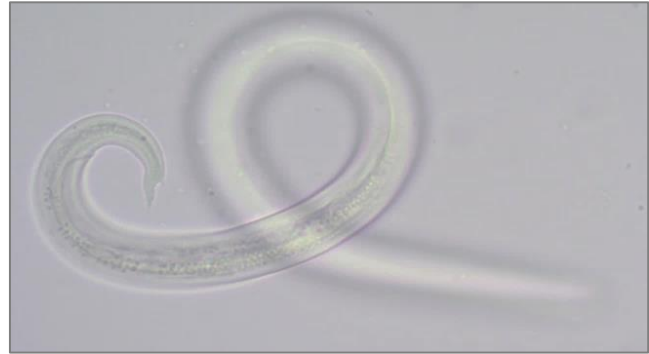


Figure 19 : Larve de protostrongles. Grossissement objectif : x10. (© S. Benabed; VetAgro-Sup).

Ces parasites ont un cycle hétéroxène, impliquant le passage par un hôte intermédiaire (Fig. 20). Les vers adultes dans les poumons pondent des œufs, qui vont éclore dans les bronches et trachées en larves L1. Ces larves vont ensuite remonter les voies aérifères, être dégluties, puis excrétées avec les matières fécales. Une fois dans le milieu extérieur, ces larves vont pénétrer dans l'hôte intermédiaire, un gastéropode terrestre, où elles se développeront en larve L3. Il s'agit du stade infectant, et l'hôte définitif va être infecté après avoir mangé des escargots ou limaces infectés en broutant au sol. Ces larves L3 vont être libérées après digestion, puis vont migrer vers les poumons pour compléter leur développement pour devenir adulte et pondre des œufs (Taylor et al. 2015).

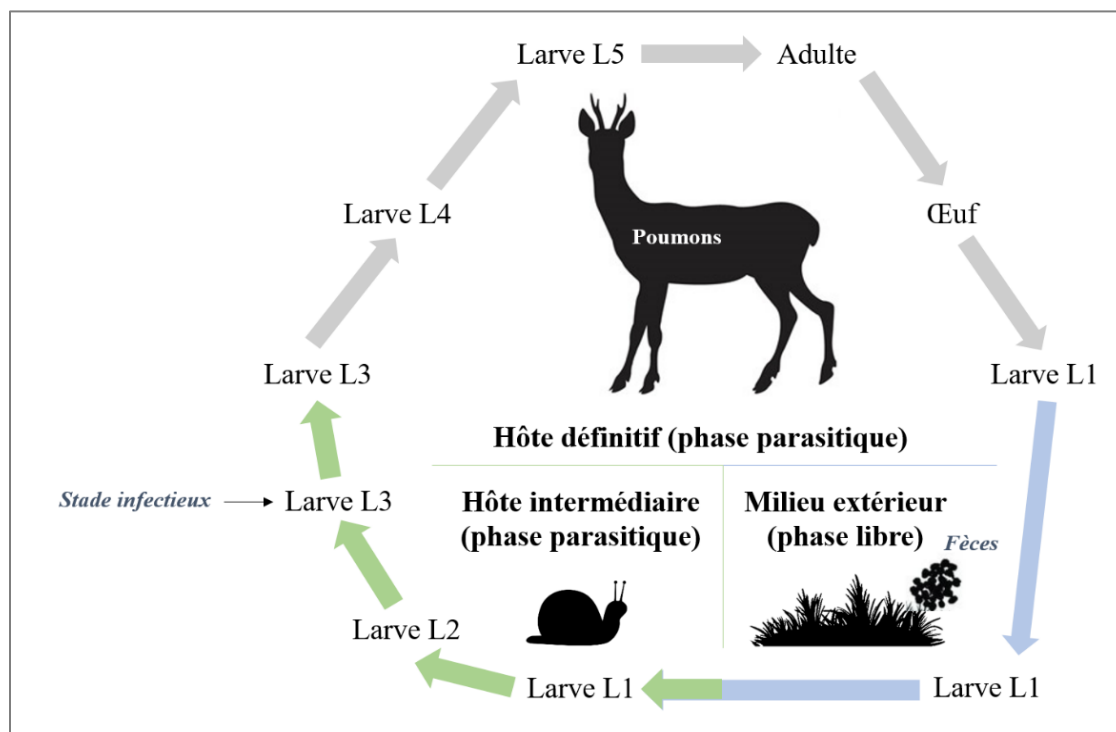


Figure 20 : Cycle de vie des protostrongles. D'après Taylor et al. 2015.

Ectoparasites : exemple des tiques

Les tiques, arthropodes acariens hématophages et ectoparasites de vertébrés (mammifères, reptiles, oiseaux), sont vectrices de nombreux agents pathogènes qu'elles peuvent transmettre à son hôte. Elles appartiennent à la classe des Arachnides, au sous-ordre des Ixodida. Il existe deux catégories de tiques, les tiques molles (parasitant plutôt des oiseaux) et les tiques dures. Ce sont de ces dernières dont nous allons parler. En France, il existe principalement une espèce de tique qui peut parasiter les chevreuils : *Ixodes ricinus* (comm. pers.) (Fig. 21).



Figure 21 : Tiques de l'espèce *Ixodes ricinus* (© J Appolinaire ; OFB).

Ces arthropodes sont connus pour transmettre des pathogènes à l'homme et aux animaux, tels que *Babesia* spp., *Borrelia* spp. ou encore le virus de l'encéphalite (Zintl et al. 2003; de la Fuente et al. 2008; Lindquist & Vapalahti 2008; Raileanu et al. 2017). Le chevreuil peut jouer un rôle en étant infecté par le pathogène transmis par la tique. Il peut déclarer la maladie, ou être asymptomatique mais quand même participer à la transmission du pathogène à une autre tique. De plus, il peut intervenir indirectement du fait de son rôle majeur dans la dynamique des populations de tiques. Les tiques sont observables directement sur l'épiderme du chevreuil.

Ixodes ricinus a un cycle de vie en trois stases à partir des œufs : la larve, la nymphe et l'adulte (mâle et femelle) (Fig. 22). Entre chaque stase, un repas sanguin est nécessaire pour induire la mue.

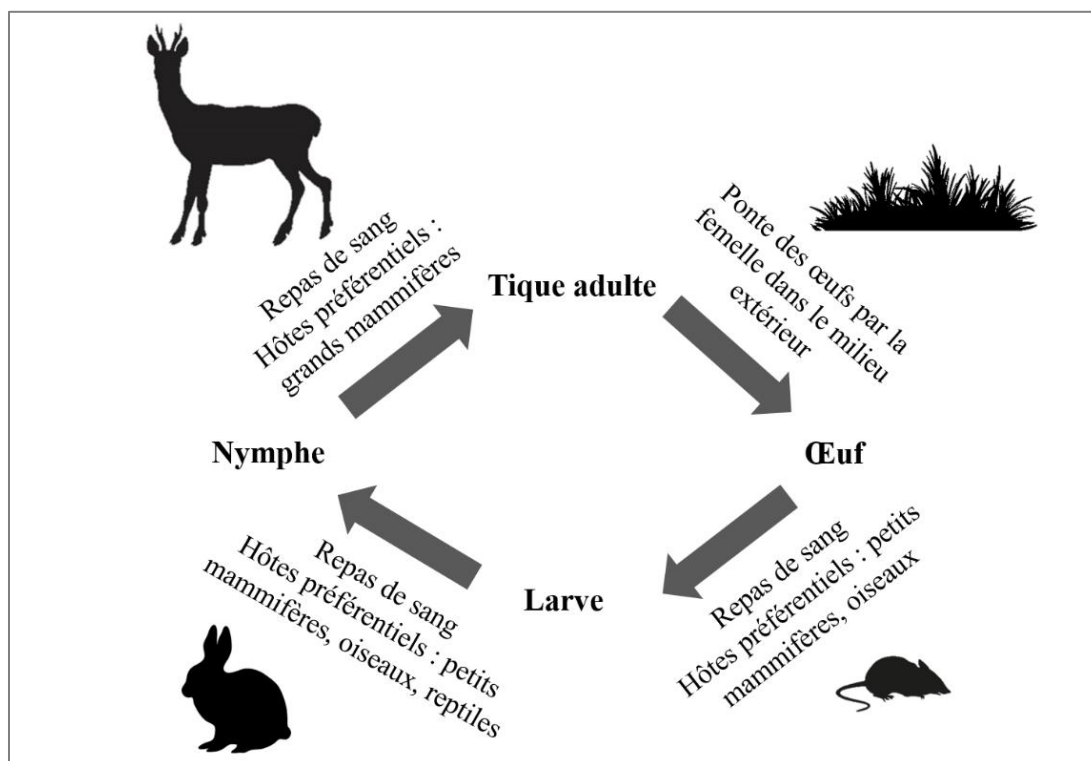


Figure 22 : Cycle de vie de la tique de l'espèce *Ixodes ricinus*. D'après Bowman and Nuttall 2008.

Ensuite, le femelle va se détacher de son hôte vertébré après son repas, et va pondre des milliers d'œufs dans la végétation avant de mourir. Le mâle ne se nourrit pas en général, mais peut se retrouver sur un hôte pour se reproduire avec une femelle. Toutes les stases sont strictement hématophages.

Le chevreuil peut ainsi être l'hôte de nombreux parasites. Par ailleurs, pour chacun des parasites vus précédemment, une phase libre a lieu dans le milieu extérieur. Les conditions de l'environnement influencent fortement la survie, le développement et l'activité des stades libres des parasites, et donc le risque infectieux d'un milieu pour l'hôte. Le chevreuil est également très sensible à son environnement (ressources alimentaires), la qualité de ses ressources ayant un effet considérable sur sa reproduction (en tant qu'*income breeder*), mais aussi sur sa charge parasitaire (Navarro-Gonzalez et al. 2011). Il est donc très intéressant et pertinent de se pencher sur ce système « chevreuil-parasite-environnement » dans ce contexte.

2. Des données disponibles pour étudier le système : Chevreuil-Parasite-Environnement

2.1. Acquisition des données

Pour effectuer ce travail de recherche, nous disposons de données provenant d'un suivi sur le chevreuil, effectué sur cinq sites d'études par l'Office Français de la Biodiversité (ex-Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage). Les différentes études présentées au sein de ce mémoire portent sur les populations de chevreuils de ces cinq sites d'études contrastés aux niveaux de leurs caractéristiques environnementales (ex : types de forêt, de sol). Ces différences environnementales permettent de comparer les modèles d'infestations parasitaires de populations de chevreuils qui évoluent dans des conditions différentes, afin de voir si la tendance est similaire entre populations ou si elle est contexte dépendante.

L'Office Français de la Biodiversité organise depuis plus de quarante ans des captures-marquages-recaptures des

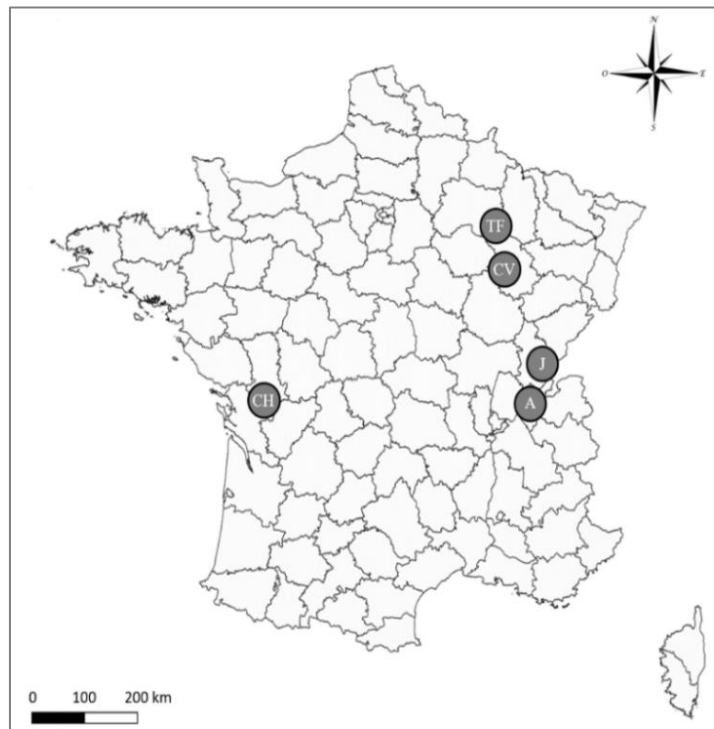


Figure 23 : Localisation des populations de chevreuils étudiées en France dans cette thèse. A : Ain, CH : Chizé, CV : Châteauvillain-Arc-en-Barrois, J : Jura, TF : Trois-Fontaines.

individus sur deux sites d'étude français : Trois-Fontaines (TF, département de la Marne) et Chizé (CH, département des Deux-Sèvres). Plus récemment, il a mis en place des suivis sur d'autres territoires d'études comme la forêt de Châteauvillain-Arc-en-Barrois (CV, département de la Haute-Marne) ou le massif jurassien sur les départements de l'Ain (A) et du Jura (J), permettant d'acquérir des informations sur d'autres populations françaises de chevreuils (voir localisation sur la carte de la [Fig. 23](#)).

Ce sont toutes des populations sujettes à une saison de chasse en automne-hiver. Par ailleurs, les différents suivis ont permis d'acquérir des données sur divers paramètres (attributs phénotypiques, statut parasitaire), nous ayant permis d'étudier la relation environnement-hôte-parasite selon différentes échelles spatiales et temporelles.

2.2. Les sites d'étude et populations de chevreuil étudiées

a. Territoire d'Etude et d'Expérimentation de Trois-Fontaines

Le Territoire d'Etude et d'Expérimentation de Trois-Fontaines (TF) est une forêt clôturée de 1360 ha. Cogérée par l'Office National des Forêts (ONF) et l'Office Français de la Biodiversité (OFB), cette forêt est située dans le nord-est de la France (48°43'N, 4°56'E ; 130 à 230m d'altitude). Le climat y est continental, caractérisé par des hivers doux et des étés chauds mais pas secs. L'étage dominant de la forêt est constitué par le chêne (*Quercus* spp.) et le hêtre (*Fagus sylvatica*) tandis que le taillis est dominé par le charme (*Carpinus betulus*) (Dray et al. 2008). La qualité de l'habitat est qualifiée de bonne pour le chevreuil, avec des ressources réparties de façon homogène sur le site. Le sol est fertile et la forêt très productive, comme l'indique une moyenne à long terme de 5,92 m³ de bois produit/ha/an. Un autre ongulé sauvage peut être observé sur ce site, il s'agit du sanglier.

b. Réserve Biologique Intégrale de Chizé

La Réserve Biologique Intégrale de Chizé (CH) est une forêt clôturée de 2614 ha, située dans l'ouest de la France (46°05'N, 0°25'W ; 47 à 101 m d'altitude). Elle est entretenue par l'Office National des Forêts mais sa gestion conservatoire est assurée conjointement par l'ONF, l'OFB et le Centre National de Recherche Scientifique (CNRS). Le climat est océanique, caractérisé par des hivers doux, des étés chauds et secs, et des sécheresses estivales fréquentes. Ce site est caractérisé par un habitat hétérogène de qualité variable, stratifié en trois parties ([Fig. 24](#) ; Pettorelli et al. 2005) : la partie nord-est (NE) est dominée par une chênaie-charmaie avec une strate basse composée de campanules ou d'étoile de Bethléem, la partie nord-ouest (NO) est représentée par une chênaie-érablaie, et enfin la partie sud (S) contient principalement du hêtre. La partie Nord-Est est la plus riche du site, délivrant la meilleure qualité de l'habitat pour le chevreuil, c'est-à-dire l'habitat avec des aliments plus abondants et de qualité élevée. La productivité de la

forêt est faible (moyenne à long terme de 3,77 m³ de bois produit/ha/an), en partie due à de fréquentes sécheresses estivales. Les sols sont peu profonds, caillouteux et essentiellement calcaires dans la partie nord de la réserve, et calcaires ou argileux dans la partie sud. Le sanglier, autre ongulé sauvage, peut être observé sur ce site.

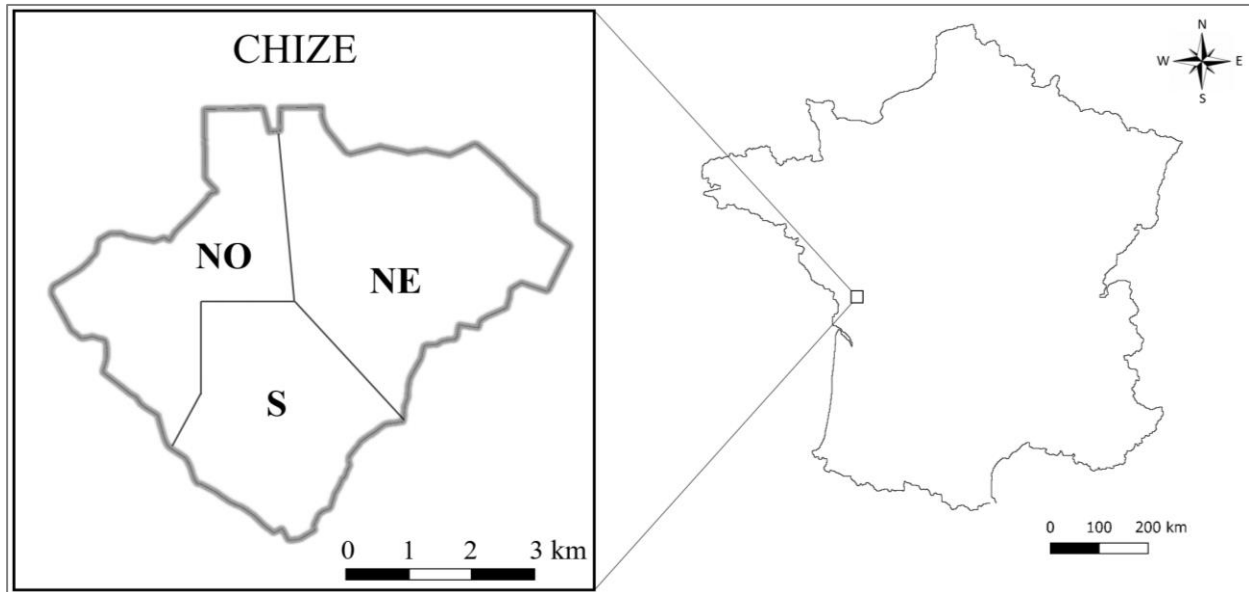


Figure 24 : Carte du site de Chizé, divisé en 3 habitats de qualités différentes (NE, NO et S), avec sa localisation en France.

c. Forêt de Châteauvillain – Arc-en-Barrois

La forêt de Châteauvillain-Arc-en-Barrois (CV) fait 11000 ha et est située dans le département de la Haute-Marne (48°02'N, 5°00'E) et dans le Parc National de Forêts. Elle est divisée administrativement en deux parties : une zone centrale qui couvre 8500 ha de forêt domaniale et une zone périphérique de 2500 ha de forêt privée ou communale. Il s'agit d'une forêt non enclose, contrairement aux deux précédentes, où les chevreuils peuvent s'aventurer également en prairie, en zone agricole, mais ils restent surtout dans l'espace forestier. La forêt est plus particulièrement composée de chênes, de hêtres et de charmes. Le climat est intermédiaire entre les types continentaux et océaniques, avec des étés chauds, des hivers rudes, et une pluviométrie annuelle relativement élevée. Trois principales espèces d'ongulés sauvages sont présentes sur le site d'étude : le chevreuil, le cerf et le sanglier. Il est également possible d'y observer des daims, introduits involontairement sur le site il y a quelques années.

d. Site d'étude du Jura

Le site d'étude du Jura a été défini par des techniciens et chercheurs de la Fédération des chasseurs du Jura et de l'Office Français de la Biodiversité dans le cadre du programme scientifique ECOLEMM

(Etude Chasse Ongulés Lynx au sein d'un Ecosystème de Moyenne Montagne ; <https://www.ecolemm.fr/>). Il regroupe 19 communes dans le département du Jura et s'étend sur 21000 ha. C'est un site situé sur le massif montagneux jurassien, dont l'altitude va de 520 m à 1150 m. L'espace forestier est composé à 47% de forêt fermée mixte (conifères et feuillus), à 37% de forêt fermée de feuillus, à 14% de forêt fermée de conifères et le reste en forêt ouverte de feuillus principalement et en landes. Des surfaces agricoles y sont également présentes, mais ce sont essentiellement des prairies (AOP Comté). Quatre principales espèces d'ongulés sauvages sont présentes sur le site d'étude : le chevreuil, le cerf, le chamois et le sanglier.

e. Site d'étude de l'Ain

Au même titre que le site du Jura, le site d'étude de l'Ain a été défini par des techniciens et chercheurs de la Fédération des chasseurs du Jura et de l'Office Français de la Biodiversité dans le cadre du programme scientifique ECOLEMM. Il regroupe 22 communes dans le département de l'Ain et s'étend sur 30700 ha. C'est un site qui se trouve également sur le massif montagneux jurassien, avec une altitude allant de 400 m à 950 m. Le taux de boisement y est de 69 %. L'espace forestier est alors composé à 63% de forêt fermée de feuillus, à 12% de forêt fermée mixte (conifères et feuillus), à 20 % de forêt fermée de conifères et le reste en forêt ouverte de feuillus principalement et en formations herbacées. Les surfaces agricoles présentes sont essentiellement fourragères, et les zones de l'habitats sont rupestres avec des reculées. Quatre principales espèces d'ongulés sauvages sont présentes sur le site d'étude : le chevreuil, le cerf, le chamois et le sanglier.

2.3. Les données disponibles sur le chevreuil

a. Méthode d'acquisition des données et de suivi des individus

Des captures hivernales de chevreuils sont organisées annuellement sur les sites de l'Ain (~5 jours de capture entre janvier et mars, depuis 2019), de Chizé (~10 jours de capture entre janvier et mars, depuis 1978), du Jura (~8 jours de capture entre novembre et janvier, depuis 2018) et de Trois-Fontaines (~10 jours de capture entre décembre et février, depuis 1976). Ces captures sont dirigées par l'Office Français de la Biodiversité, en collaboration avec le CNRS, et les Fédération des chasseurs du Jura et de l'Ain.

Au niveau du protocole (plus détaillé en [Annexes 1 et 2](#)), des filets mouvants ([Fig. 25](#)) sont utilisés au cours des journées de capture pour attraper les individus. Des personnes, parfois aidées de meutes de chiens, rabattent les chevreuils dans les filets où ces derniers vont être immobilisés avant d'être placés dans des sabots en bois ([Fig. 26](#)).



Figure 25 : Mise en place de filets tout autour de la parcelle traquée (site de TF). (© L Bariod).



Figure 26 : Sabot en bois dans lesquels sont placés les chevreuils capturés (site de TF). (© L Bariod).

Les animaux sont par la suite emmenés dans un lieu où les manipulations (mesures sur l'animal) et les prélèvements de divers échantillons biologiques (prélèvements de sang, de fèces, de poils) générant des mesures physiologiques et parasitaires, vont être réalisés par des personnes qualifiées ([Fig. 27](#); cf. [sections suivantes pour détails des données recueillies](#)). Chaque animal est identifié (boucle auriculaire, puce électronique), permettant son suivi sur plusieurs années. Les individus d'âge connu sont équipés de colliers plaques (avec un identifiant), de colliers avec un émetteur VHF ou de colliers GPS. Après les manipulations, les chevreuils sont relâchés sur leurs lieux de capture.



Figure 27 : Manipulation de l'animal (site de CH). (© L Bariod).

Des recherches de faons sont également organisées depuis 1985 à Trois-Fontaines et à Chizé, ce qui permet d'obtenir le suivi de nombreux individus depuis leur naissance. Celles-ci se déroulent tous les ans durant la saison de mise-bas (de mi-avril à mi-juin). Les chevrettes gestantes sont repérées par télémétrie pour celles équipées de colliers VHF ou en prospectant sur le terrain : observation des chevrettes, utilisation d'un appeau pour reproduire le son du faon afin de faire réagir la chevrette. Des recherches sont ensuite réalisées en prenant en compte la localisation de la chevrette en question, en parcourant la forêt par transect afin de trouver son ou ses faons. L'objectif est de les trouver durant leurs premiers jours de vie, période où ils sont bien camouflés dans la végétation ([Fig. 28](#)), afin de suivre les individus dès leur naissance, et d'étudier le succès reproducteur des chevrettes. Chaque faon est identifié à l'aide de boucles auriculaires ([Fig. 29](#)), et des mesures sont également effectuées (cf. [section suivante](#)).



Figure 28 : Faon camouflé dans la végétation venant d'être trouvé. (© L Bariod).

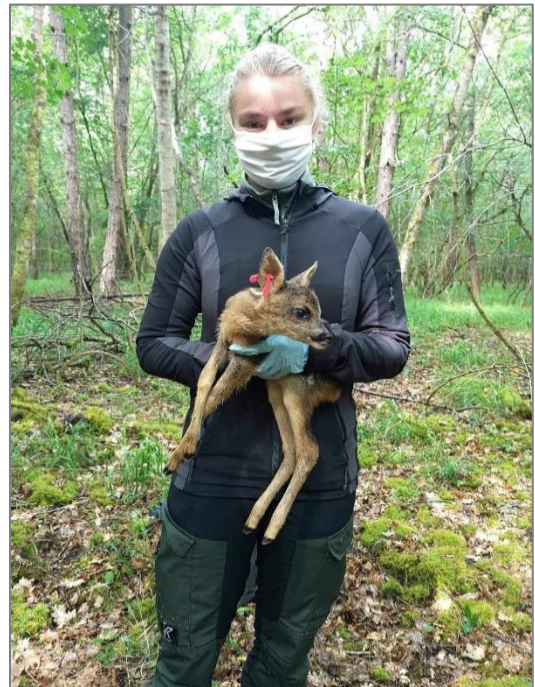


Figure 29 : Faon capturé et marqué avec des boucles auriculaires. (© A Hamon).

Enfin, chaque week-end de fin août à janvier pour le Jura, et d'octobre à février pour Châteauvillain, des informations sont collectées sur les chevreuils tués à la chasse : date de la mort, classe d'âge, sexe, prélèvement de poils. Ces informations sont recueillies dans le cadre d'une collaboration entre Fédération des Chasseurs et Office Français de la Biodiversité.

b. Données sur les attributs phénotypiques

Pour chaque individu (faon et adulte), le sexe et l'âge sont évalués. Les chevrillards sont facilement identifiés, soit parce qu'ils ont été marqués comme nouveau-nés lors des recherches de faons, soit sur la

base des incisives de lait et des troisièmes prémolaires distinctives lors de leur première capture (Van Laere et al. 1989). Si l'individu n'a pas été marqué « faon », et n'a pas les critères de dentition d'un chevillard (deux prémolaires uniquement, grandes incisives), on le catégorise seulement comme un adulte. Chaque individu est pesé ($\pm 0,05$ g près).

c. Données physiologiques

Depuis 2010, des prélèvements sanguins sont effectués dans la veine jugulaire des chevreuils d'âge connu. Ces échantillons sont analysés afin d'en tirer différentes informations sur divers paramètres physiologiques : stress oxydatif, stress aigu, télomères, épigénétique, immunocompétence, biochimie. Pour cette thèse, des mesures descriptives et fonctionnelles de l'immunité ont été utilisées ([Chapitre 3](#)) : concentrations des éosinophiles, basophiles (immunité cellulaire), bêta- et gamma-globulines (immunités humorales innée et adaptative) dans le sang. Les analyses ont été effectuées au laboratoire de biologie médicale à VetAgro Sup, à Marcy l'Etoile (69 Rhône - France). L'immunité cellulaire a été estimée à l'aide de la technologie d'impédance (caractérisation électrique des tissus biologiques) et par analyse de frottis sanguins pour dissocier les types cellulaires. Quant à l'immunité humorale, elle est évaluée par réfractométrie puis par une électrophorèse automatique sur gel d'agarose. Un protocole plus détaillé des analyses est visible dans l'[annexe 3](#).

D'autre part, des prélèvements de poils sur le miroir (zone de poils blancs à l'arrière de l'individu) des chevreuils d'âge connu ont été utilisés pour doser des éléments minéraux ([Chapitre 3](#)). En 2022, les concentrations de 22 éléments essentiels (Calcium [Ca], Cobalt [Co], Cuivre [Cu], Fer [Fe], Magnésium [Mg], Manganèse [Mn], Molybdène [Mo], Nickel [Ni], Potassium [K], Sodium [Na], Sélénium [Se], Zinc [Zn]) et non-essentiels (Aluminium [Al], Antimoine [Sb], Arsenic [As], Cadmium [Cd], Mercure [Hg], Plomb [Pb], Silicium [Si], Strontium [Sr], Titane [Ti], Thallium [Tl]) ont été estimées dans 651 échantillons de poils de cet ongulé au laboratoire Chrono-Environnement de Besançon (25 –Doubs - France). Les concentrations en éléments ont été mesurées par spectrométrie de masse plasma à couplage inductif et par spectroscopie d'émission atomique à plasma à couplage inductif. Le protocole plus détaillé des analyses est visible dans l'[annexe 4](#).

d. Données parasitaires

Les données parasitaires disponibles sont issues d'observations directes lors des captures de chevreuils pour les ectoparasites (essentiellement des tiques, observés seulement sur la tête pour les adultes ; sur la tête, derrière l'insertion des pattes pour les faons), et d'analyses coproscopiques des fèces pour les endoparasites. Ces dernières se font au laboratoire de parasitologie de VetAgro Sup à Marcy l'Etoile. Un protocole de Mac Master modifié (Raynaud et al. 1970) est utilisé pour isoler et quantifier les œufs et

oocystes d'endoparasites (strongles digestifs, *Eimeria* spp., *Trichuris* sp.). Une technique de Baermann (Baermann 1917) modifiée est utilisée pour isoler et quantifier les larves (au premier stade larvaire) des nématodes pulmonaires (protostrongles). Les protocoles détaillés sont visibles en [Annexe 5](#). Ces techniques de comptage sont connues pour être des estimateurs de la charge parasitaire interne des individus (Wilson et al. 2002). Les données parasitaires sont essentiellement disponibles pour les populations de TF et CH.

Il existe différentes mesures permettant de décrire le parasitisme chez un être vivant : la prévalence (présence ou absence d'une espèce de parasite chez un hôte), l'intensité (nombre total d'individus d'une espèce de parasite dans un hôte infesté), et l'abondance (nombre total d'individus d'une espèce de parasite dans un hôte (infesté ou non) parasitaires).

CHAPITRE 3 : HÉTÉROGÉNÉITÉ D'INFESTATION ET ÉLÉMENTS MINÉRAUX



1. Éléments essentiels et non-essentiels dans cinq populations de chevreuils, une nouvelle référence pour cette espèce – ARTICLE 1

1.1. Titre de l'article et auteurs

Minor and trace element concentrations in roe deer hair: a non-invasive method to define reference values in wildlife

Amandine Herrada^{1*}, Léa Bariod^{1,2,3*}, Sonia Saïd³, Benjamin Rey¹, Hervé Bidault⁴, Yoann Bollet⁵, Stéphane Chabot⁶, François Débias¹, Jeanne Duhayer¹, Sylvia Pardonnet¹, Maryline Pellerin⁷, Jean-Baptiste Fanjul⁸, Cyril Rousset⁷, Clémentine Fritsch⁹, Nadia Crini⁹, Renaud Scheifler⁹, Gilles Bourgoïn^{1,2}, Pauline Vuarin¹

1. Université de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, Villeurbanne, France
2. Université de Lyon, VetAgro Sup - Campus Vétérinaire de Lyon, Marcy-L'Etoile, France
3. Office Français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui Scientifique, « Montfort », Birieux, France
4. Office Français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui Scientifique, Chizé, France
5. Fédération départementale des chasseurs de l'Ain, France
6. Office Français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui Scientifique, Trois-Fontaines, France
7. Office Français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui Scientifique, Châteauvillain-Arc-en-Barrois, France
8. Fédération départementale des chasseurs du Jura, France
9. Laboratoire Chrono-environnement, UMR 6249 CNRS / Université Bourgogne Franche-Comté, Université de Franche-Comté, Besançon, France

* **Shared first authorship**

Publié dans « **Ecological indicators** » en février 2024.

1.2. Résumé en français et en anglais

Français

La plupart des oligo-éléments sont cruciaux pour le maintien de la vie, mais des concentrations inadéquates d'éléments essentiels ou l'apport d'éléments non essentiels peuvent avoir des conséquences majeures sur la santé de la faune sauvage. Cependant, les concentrations d'oligo-éléments restent largement inconnues chez les animaux sauvages. Cette étude visait à établir les premières valeurs de référence pour 22 oligoéléments essentiels (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Se, Zn) et non essentiels (Al, As, Cd, Hg, Pb, Sb, Sr, Ti, Tl) dans les poils de chevreuil (*Capreolus capreolus*), et évaluer le degré de covariation

entre éléments et étudier comment le contexte environnemental influence les profils en oligo-éléments. Pour ce faire, 758 échantillons de poils de 542 individus ont été collectés entre 2016 et 2019 auprès de cinq populations de chevreuils (i.e. Ain, Chizé, Châteauvillain-Arc-en-Barrois, Jura and Trois-Fontaines) vivant dans des habitats contrastés en France. Comparée à la rare littérature sur les oligo-éléments présents dans les poils de chevreuil, les concentrations étaient généralement plus faibles et les corrélations entre les éléments étaient pour la plupart positives. Les concentrations d'oligo-éléments étaient hétérogènes selon les populations, avec une plus grande hétérogénéité globale dans deux (i.e. Jura et Châteauvillain-Arc-en-Barrois) des cinq populations, ce qui pourrait s'expliquer par leurs caractéristiques environnementales spécifiques (ex : végétation, climat, altitude). Des études complémentaires sur la biodisponibilité des oligo-éléments sont nécessaires pour clarifier si l'hétérogénéité observée des concentrations d'oligo-éléments dans les poils des chevreuils est principalement due à des caractéristiques individuelles ou géographiques.

Mots clés : Éléments essentiels et non essentiels, Poils, Suivi de population, Intervalles de référence, Ongulés sauvages

Anglais

Most mineral elements are crucial for life maintenance, but the intake of non-essential elements or inadequate concentrations of essential ones can have major consequences on wildlife health. However, concentrations of mineral elements remain largely unknown in free-ranging animals. This study aimed to establish the first reference values for 22 essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Se, Zn) and non-essential (Al, As, Cd, Hg, Pb, Sb, Sr, Ti, Tl) mineral elements in roe deer hair (*Capreolus capreolus*), to assess the degree of covariation between elements, and to investigate how individual characteristics and environmental context influence mineral element profiles. To do so, 758 hair samples from 542 individuals were collected between 2016 and 2019 in five roe deer populations (i.e. Ain, Chizé, Châteauvillain-Arc-en-Barrois, Jura and Trois-Fontaines) inhabiting contrasted habitats in France. Compared to the scarce literature on mineral elements in roe deer hair, concentrations were generally lower, and correlations between elements were mostly positive. Mineral element concentrations were heterogeneously distributed among populations, with overall greater heterogeneity in two (i.e. Jura and Châteauvillain-Arc-en-Barrois) of the five populations, which could be explained by their specific environmental characteristics (e.g. vegetation, climate, altitude). Overall, mineral element concentrations did not differ according to age and sex. Further studies on mineral element bioavailability are needed to clarify whether the observed heterogeneity of mineral element concentrations in roe deer hair is primarily driven by individual or by geographical characteristics.

Keywords: Essential and non-essential elements, Hair, Population monitoring, Reference intervals, Wild ungulate

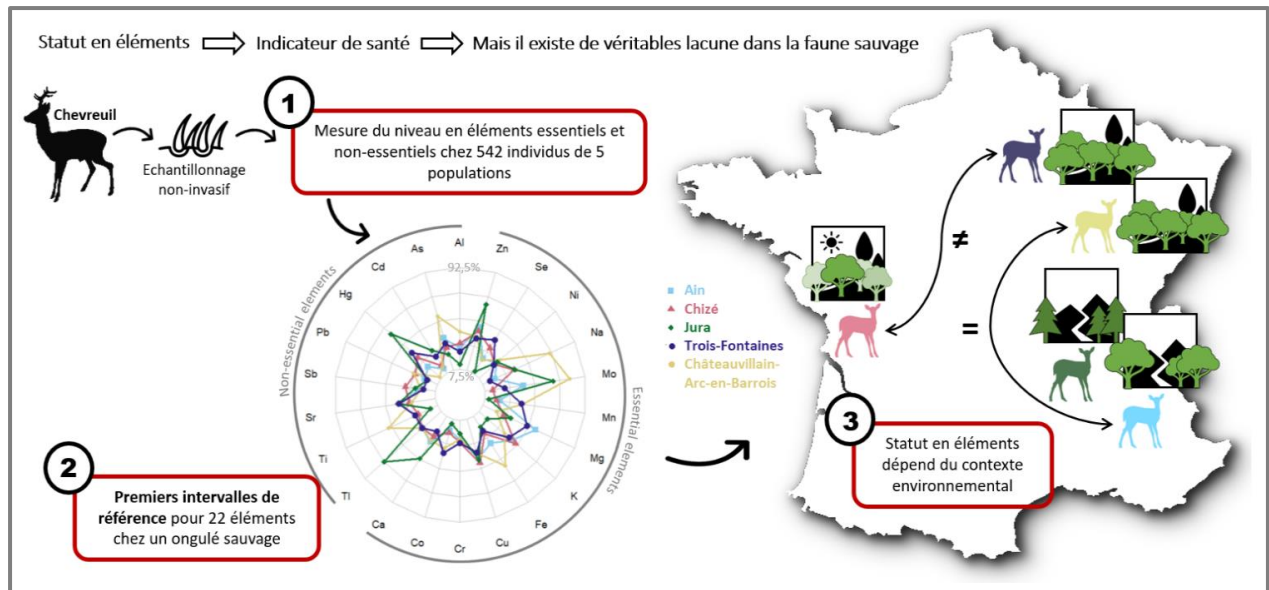


Figure 30 : Résumé graphique de l'article 1.

1.3. Introduction

With increasing anthropogenic pressures, there is growing concern about biodiversity loss and emerging diseases in wildlife, and a need to improve our understanding of the factors that can influence the health and demography of wild populations (Deem et al. 2001; Tegler et al. 2001; Stephen 2014; Decker et al. 2016). In this context of global change and with the emergence of the “One health” concept (i.e. health at the interface between animals, humans and their environment; Hinchliffe 2015), it has become critical to develop practical tools for assessing wildlife health that can be implemented on a large scale as part of wildlife population monitoring (Ryser-Degiorgis 2013). Yet, such an initiative requires the identification of reliable and non-invasive health indicators, which can prove challenging when dealing with free-ranging animals. So far, the most commonly used methods are based on characterisation of blood parameters, assessment of body condition, physical examination, or faecal material analyses (Kophamel et al. 2022). Assessing minor and trace element status can also be relevant to inform on the health of individuals in animal population as done in humans (Fraga 2005). Indeed, minor and trace elements encompass both inorganic nutrients (i.e. minerals) that are classified as essential or beneficial elements because of their tight link to health, survival and reproduction, and non-essential elements that can be toxic even at low dose (Underwood 2012). Although non-essential elements occur naturally in the environment, most contamination stems from anthropogenic activities (e.g. fossil fuel combustion, smelters, mining, agriculture, waste dumps, urban development; He et al. 2005; Engwa et al. 2019; Shahid et al. 2019).

Essential elements are required for normal physiological functions. They are involved in several biochemical pathways (e.g. catalysis or inhibition of enzymatic reactions, hormonal control, regulation of gene transcription; McClure 2008) and are thus crucial for life maintenance (Underwood 2012). Therefore, inadequate intake of essential elements can have a major and lasting impact on the physiology of individuals and, consequently, on their health. Deficiencies in essential elements (such as copper (Cu), selenium (Se), zinc (Zn)) have been shown to impair the immune system, leading to diseases, poor reproductive performance and even death in mice, chicken or several ungulate species, for instance (Prohaska & Lukasewycz 1981; Flueck 1994; O'Hara et al. 2001; Grace & Wilson 2002; Frank 2004; Johnson et al. 2007; Zhang et al. 2012). On the other hand, these essential elements can also become toxic above a critical concentration in tissues, as is the case for chromium (Cr), cobalt (Co), Cu, iron (Fe), manganese (Mn), molybdenum (Mo), nickel (Ni), Se, or Zn (mainly showed in humans; Sandstead 1995; Valko et al. 2005). At the cellular level, such toxicity can result in DNA damage, lipid peroxidation or depletion of proteins (Valko et al. 2005; Feng et al. 2020). However, toxic effects from non-essential elements are rather observed when non-essential elements (e.g. lead (Pb), cadmium (Cd), arsenic (As), mercury (Hg)) accumulate in tissues, i.e. when their rate of absorption and storage exceeds their rate of metabolization or excretion (Govind 2014). These elements have no established biological functions and are toxic to all living forms, even at low concentrations (Raikwar et al. 2008). They are responsible for important physiological damages through interactions with cell components and several enzymes involved in metabolic functions and detoxification and damage repair mechanisms (Tchounwou et al. 2012).

In human health, the use of chemical elements as biomarkers to assess physiological status is common. Although it remains less employed in animals, the desire to develop tools for animal health monitoring has increased in recent years, as human health is often linked to animal health (i.e. One health approach; Frazzoli et al. 2015). Assessment of essential and non-essential element concentrations in farmed and wild animals can provide information on their exposure to environmental stressors such as diet deficiencies or pollution, for instance. Although the concentrations of essential and non-essential elements in livestock are well described (e.g. Gupta & Gupta 1998; Hostetler et al. 2003; Bolan et al. 2004; Raikwar et al. 2008; Gupta 2021; Suttle 2022), there is less data available on wild species. Few studies have reported minor and trace element values in blood, organs or epidermal appendages (e.g. feathers, hair) in birds (Ohlendorf 1993; Kim & Oh 2016; Samaraweera et al. 2022), in fish (Thorrold & Shuttleworth 2000; Agusa et al. 2005) or in wild ungulates (O'Hara et al. 2001; Roug et al. 2015; Durkalec et al. 2018; Pacyna et al. 2018; Cygan-Szczegielniak et al. 2018; Jutha et al. 2022), but reference values for minor and trace element concentrations in wildlife are rarely known. However, these values are necessary to assess wildlife health for diagnostic purposes in the context of wild population monitoring. They could be used to detect deficiencies or detrimental accumulation of elements in wildlife, and therefore to better understand potential

individual or population issues (e.g. disease occurrence, demography patterns). In this context, the use of hair and feather have become increasingly popular in wildlife research, to gain knowledge on wildlife's exposure to environmental contaminants (in feathers: Burger 2007; Poesel et al. 2008; in hair: Dietz et al. 2006; Kempson & Lombi 2011; Draghi et al. 2023). Unlike blood or organ sampling, hair and feathers collection are non-invasive procedures, and their storage (at ambient temperature) does not require a complex logistic chain. Hair accumulates elements throughout its growth period since the last molt, which allows the assessment of an animal's status in chemical elements over a wide temporal window (Combs et al. 1982; Combs 1987; Cygan-Szczegieliński et al. 2014; Tête et al. 2014). Element concentrations in hair are therefore expected to reflect element contents of the habitat (Demesko et al. 2019).

In this study, we focused on the roe deer (*Capreolus capreolus*), a common and widely distributed mammal in Europe. Roe deer are strongly territorial (Linnell & Andersen 1998; Saïd et al. 2009; Gaudry et al. 2018) and highly tolerant to human activities (Linnell & Andersen 1995; Bonnot et al. 2013). Therefore, roe deer might be exposed to a variety of anthropogenic contaminants, and can be considered as a sentinel species for monitoring chemical elements in the environment (Draghi et al. 2023). Moreover, roe deer are harvested for human consumption and their meat represents an important food source in some European countries (Tomasevic et al. 2018). Thus, finding a way to better characterize the health of these animals is not only of ecological relevance, but also of significant socio-economic interest (Tataruch & Kierdorf 2003). Literature on roe deer mainly focused on non-essential element accumulation in organs of hunted individuals (in kidney & liver: Pokorný 2000; Wiczorek-Dąbrowska et al. 2013; in kidney, liver & muscle: Durkalec et al. 2015; in game meat: Gerofke et al. 2018; in antlers: Cappelli et al. 2020; Ludolph et al. 2022). However, reference values for minor and trace elements are lacking in this species, especially in hair, since only a couple of studies provided reference concentrations for certain essential and non-essential elements (Cygan-Szczegieliński & Stasiak 2022; Draghi et al. 2023).

The aim of this study was to establish reference values for a large set of essential and non-essential elements measured in roe deer hair. To do so, we measured the concentrations of 22 essential (calcium (Ca), Co, Cr, Cu, Fe, potassium (K), magnesium (Mg), Mo, Mn, sodium (Na), Ni, Se, Zn) and non-essential (aluminium (Al), As, Cd, Hg, Pb, antimony (Sb), strontium (Sr), titanium (Ti), thallium (Tl)) elements in roe deer hair collected from five French populations, with contrasting environmental conditions. We then evaluated the degree of covariation between the different elements in order to reveal their possible correlations (Cygan-Szczegieliński et al. 2014, 2018; Cygan-Szczegieliński 2021). Finally, we investigated whether element concentrations were dependent on individual characteristics and environmental contexts by comparing the data obtained from the five study sites.

1.4. Material & methods

a. Study populations

Roe deer hair samples were collected on individuals from five populations in France: “Réserve Biologique Intégrale of Chizé” (CH), “Territoire d’Étude et d’Expérimentation of Trois-Fontaines” (TF), Jura (J), Châteauvillain-Arc-en-Barrois (CV) and Ain (A) (Figure 1). These study sites share the same geological substrate, i.e. sedimentary rock (BRGM 2023). However, they differ in a number of environmental characteristics such as altitude, type of habitat, vegetation characteristics, soil composition and climate (Table 1).

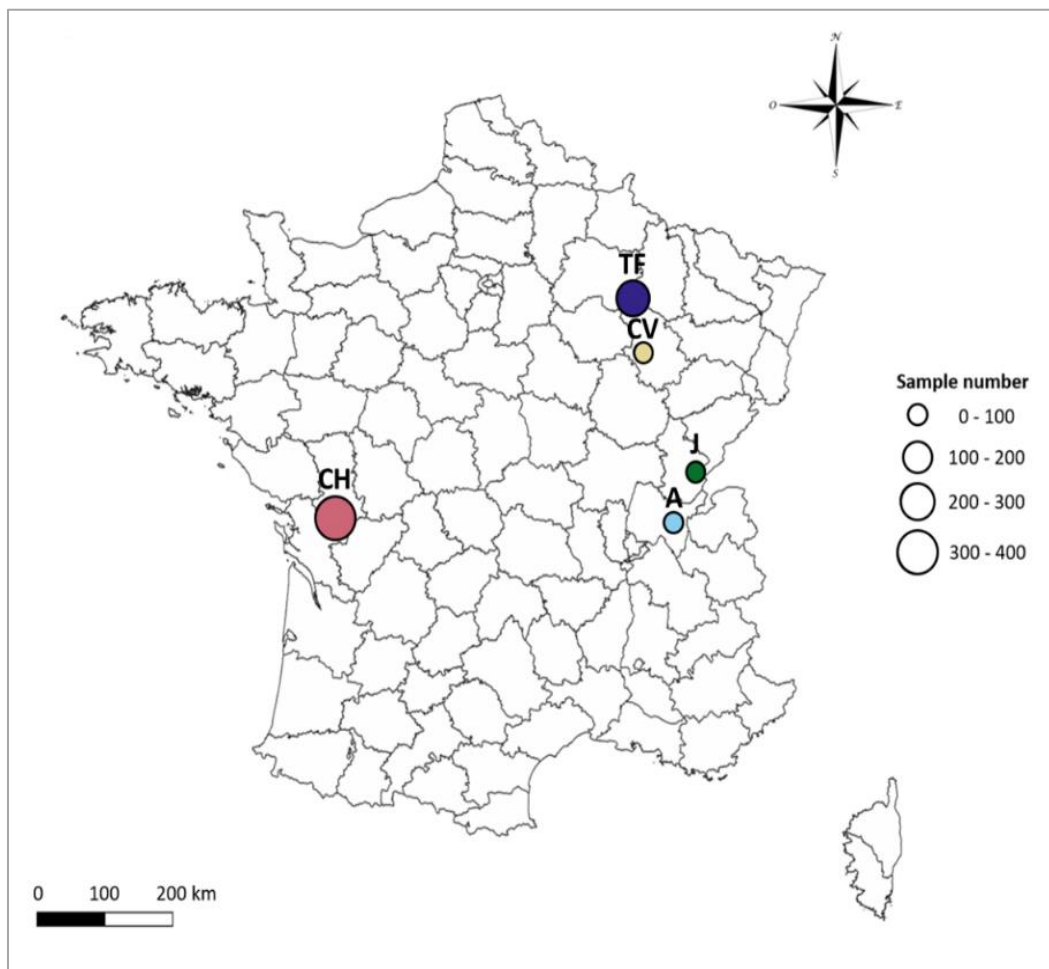


Figure 1. Study site locations in France: Ain (A), Chizé (CH), Châteauvillain-Arc-en-Barrois (CV), Jura (J), Trois-Fontaines (TF). The dots size is proportional to the number of samples collected per site.

Table 1: Geographical and environmental characteristics of the five study sites.

Name of population	Coordinates	Altitude (m)	Size (ha)	Type of habitat (% of forest cover)	Main vegetation	Soil	Climate
Ain	45°99'N, 5°55'E	400-950	11000	Open mountain forest (69%)	Oak (<i>Quercus spp.</i>), beech (<i>Fagus sylvatica</i>)	Marno-calcaerous	Semi-continental (mountain influence)
Chizé	46°12'N, 0°42'W	50-100	2614	Enclosed lowland forest (98%)	Oak, hornbeam (<i>Carpinus betulus</i>), maples (<i>Acer monspessulanum</i> , <i>Acer campestre</i>) & beech	Calcaerous, shallow	Oceanic
Châteauvillain-Arc-en-Barrois	48°02'N, 5°00'E	200-400	30700	Open lowland forest (98%)	Oak, beech	Calcaerous, shallow	Continental-Oceanic
Jura	46°66'N, 6°02'E	500-1100	21000	Open mountain forest (62%)	Conifers (e.g. <i>Abies alba</i> , <i>Picea abies</i>), oak, beech	Calcaerous, shallow	Semi-continental (mountain influence)
Trois-Fontaines	48°72'N, 4°92'E	150-250	1360	Enclosed lowland forest (98%)	Oak, beech, hornbeam	Calcaerous, deep, fertile	Continental

b. Hair sample collection

Hair samples from the populations of Trois-Fontaines, Chizé, Jura and Ain were collected as part of capture-mark-recapture programs that take place each year between October and March, i.e. during the non-reproductive season. In these populations, one-year-olds are sexed and marked with ear tags at first capture, so that age can be determined on subsequent captures. Samples were also collected during hunting seasons between October and February in Châteauvillain-Arc-en-Barrois and in Jura from individuals after shooting. In those cases, individuals were sexed and their age class was assessed based on tooth eruption patterns and presence or absence of tooth wear characters (Maublanc et al. 1991; Delorme et al. 2007). Roe deer captures were carried out in accordance with the French Environmental Code (Art. R421-15 to 421-31 and R422-92 to 422-94-1) and are approved by the Prefecture of Paris (agreement n°2009-14, n°2013-118, n°2019-02-19-003). Handling time was minimized to reduce animal stress in accordance with the guidelines for the ethical use of animals in research (Sikes and the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists 2016).

All hair samples were taken from the white patch around the rump of the animals. A tuft of hair was pulled out, being careful to harvest the bulb. Roe deer undergo molt twice a year, in late spring and then in early autumn (Johnson and Hornby 1975). Animals are expected to have completed most of their autumn moult by October, meaning that all individuals of our study already displayed their winter fur when sampled (Johnson and Hornby 1975). Thus, in each sample, the accumulation of mineral elements during hair growth

was complete, and we do not anticipate any bias in accumulation due to the time of hair collection. All these sampling conditions allow to avoid the effect of hair colour, collection site and seasonal changes in hair growth on mineral element concentrations (Combs et al. 1982; Combs 1987; Wells et al. 1990).

c. Minor and trace element analysis

Minor and trace element analyses were performed at the PEA^{2t} platform from Chrono-environnement laboratory (UMR CNRS 6249, Université de Franche-Comté).

The samples were first washed in six successive baths of alternating acetone and ultrapure water using an ultrasonic cleaning device (140/280 W, 37 kHz, Fisher Scientific, S-LINE 4.25 L) to remove potential external contamination so that only non-essential elements accumulated in (and not deposited on) hair were measured (Nageeb Rashed and Soltan 2005, Amaral et al. 2008, Carneiro et al. 2011). Washed samples were then dried at 60°C in an oven before being mineralized in closed tubes placed in a block digestion system (DigiPREP, SCP Sciences, Courtaboeuf, France). A gradual heating mode is used to achieve a final temperature of 100°C (total run of 265 min). Hair samples weighed on average 118 ± 37 mg. Samples with a mass higher than 125 mg were digested with an acid-oxidant mixture (OptimaTM for ultra-traces, Fisher Scientific) composed of 3.5 ml of nitric acid (65 %) and 1 ml of hydrogen peroxide (30-32%), those with a lower mass were digested with volumes divided by two. They were then diluted by adding 25 or 12.5 mL of ultra-pure water (Elga, 18.2 MV/cm²), respectively. Finally, a filtration to 1 µm was performed.

In total, the concentrations of 22 elements were assessed. We measured the concentrations of the following 18 minor and trace elements using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS, X Series II model, ThermoFisher Scientific, Courtaboeuf, France) after dilution by a factor 10: Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Ti, Tl, and Zn. The following 4 element concentrations were measured by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES, iCAP 6500 radial model, ThermoFisher Scientific, Courtaboeuf, France) without dilution: Ca, K, Mg, and Na. Repeatability (within-run precision) and reproducibility of the measurements were surveyed (checking of relative standard deviation values and use of internal standards), and quality control (control solutions and blanks to check for the absence of drift) was conducted during measurements. Analysis accuracy was checked using two certified reference materials (CRM), i.e. oriental tobacco leaves (INCT-OBTL-5) and fish proteins (NRCC DORM-3). The percentage of recovery between certified values and average of measured values was considered satisfactory between 75 and 125% (USEPA 2000). Therefore, caution should be paid when considering the results for sodium and mercury, as they exhibit a low (46%) and a high (173%) average recovery, respectively, in OBTL-5 CRM (Table S1). For Hg, this is probably due to very low concentration in this CRM (0.0209 µg/g), and recovery rate is much better (92%) in DORM-3 CRM where Hg

concentration is higher (0.409 $\mu\text{g/g}$, Table S1). Concentrations of Na and Hg can nevertheless be included in inter-population comparisons but they cannot be regarded as established accurate reference values in roe deer hair. Blanks (acid + ultra-pure water) and CRM were prepared and analysed using the same methods as the samples. The concentrations of minor and trace elements in hair are expressed as $\mu\text{g/g}$ or ng/g dry mass. For 3.9% of measures, concentrations were below the quantification limits (i.e. As, Cd, Cr, Hg, Mg, Mo, Ni, Sb, Se, Sr, Tl). For those values, half of the quantification limit value was assigned for the statistical analyses (Table S1; USEPA 2000).

Subsequently, to carry out the analyses, we established two categories of elements: essential ones (i.e. Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Se, Zn) and non-essential ones (i.e. Al, As, Cd, Hg, Pb, Sb, Si, Sr, Ti, Tl) (following Underwood 2012 for the classification of elements in human and animals).

d. Statistical analyses

All statistical analyses were performed using R (version 4.2.1; R core Team 2021). To maximize sample size, descriptive statistics (i.e. mean, standard deviation (sd), median, range), reference intervals and correlations were computed from all 758 samples (i.e. including repeated measurements). Data from Chizé and Trois-Fontaines populations effectively included samples from the same individuals that had been collected in different years, but results remained overall similar when analyses were performed with and without these repeated measurements. Reference intervals for the 22 elements were assessed using the `referenceIntervals` package (Finnegan 2022) with a 95% coverage for the calculated reference interval. Outliers were detected using Horn's method (Horn et al. 2001) and Tukey's interquartile fences (Tukey 1949) on a Box-Cox transformation of the data (Box & Cox 1964). If a measurement lied outside 1.5 times the interquartile range from the first or third quartile point, it was considered an outlier. Outliers remained nonetheless in the dataset as we wanted to explore the full variability of the data to calculate reference intervals as representative as possible. Finally, correlations between elements were assessed using Spearman's rank correlation coefficient (Spearman 1906).

When testing for age (i.e. juveniles under 1 year old *versus* adults), sex and population differences in element concentrations, we chose to consider only one randomly selected measurement per individual to prevent pseudo replication issues (leaving us with a final sample size of $n = 542$; except when testing for sex differences where $n = 540$, since the sex of two individuals was not reported). Since most element concentrations did not meet the assumptions of normal distribution nor those of homoscedasticity (statistically verified with the Levene test using the `LeveneTest` package), we used the non-parametrical Kruskal-Wallis test by ranks to examine potential differences among populations (Kruskal & Wallis 1952). Afterwards, a test for multiple comparisons, i.e. post-hoc Dunn test (Dunn 1964), was applied to decipher the differences between the five populations using the `FSA` package (Ogle et al. 2022). Finally, we used the

non-parametric Mann-Whitney test (Mann & Whitney 1947) to test for potential differences in element concentrations between age and sex categories. *P-values* were adjusted using the Holm adjustment method (Holm 1979) to counteract the increase in type I error after multiple testing.

1.5. Results

a. Minor and trace element status of roe deer

In total, 758 samples were collected (n_A : 28, n_{CH} : 363, n_{CV} : 37, n_J : 42, n_{TF} : 288, $n_{juveniles}$: 261, n_{adults} : 497, $n_{females}$: 413, n_{males} : 343). These samples corresponded to 542 different individuals, of which 88 had 2 measurements in two different years, 46 had 3 and 12 had 4. Descriptive statistics for essential and non-essential elements are presented in [Table 2](#) and [3](#), respectively. Results include statistics for all sites combined, but also for each population, age class (juveniles versus adults) and sex.

Table 2

Essential element concentrations determined by ICP-MS or ICP-AES (dry mass) in roe deer hair samples ($n = 758$) collected between 2016 and 2021 in France. Data were collected on juveniles (Juv) and adults (Ad) of both sexes (females: F, males: M) and from 5 different populations (A=Ain, CH=Chizé, CV=Châteauvillain-Arc-en-Barrois, J=Jura, TF=Trois-Fontaines).

			All	Population					Age		Sex	
Unit				A	CH	CV	J	TF	Juv	Ad	F	M
Ca ($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	625 \pm 582	833 \pm 1138	596 \pm 421	755 \pm 604	970 \pm 818	573 \pm 616	679 \pm 641	569 \pm 548	646 \pm 556	599 \pm 614	
	Median	479	540	494	531	686	447	509	461	503	443	
	Range	239 - 7285	249 - 6209	244 - 4890	296 - 3066	293 - 5114	239 - 7285	249 - 7285	239 - 6209	249 - 6209	239 - 7285	
Co (ng/g)	Mean \pm sd	47.6 \pm 59.5	42.2 \pm 53.4	32.1 \pm 19.7	61.6 \pm 48.1	29.1 \pm 32.6	68.5 \pm 85.5	49.4 \pm 54.4	46.6 \pm 62.0	47.9 \pm 67.8	47.1 \pm 47.8	
	Median	32.1	24.8	26.8	40.7	18.7	44.6	34.3	30.9	30.7	33.3	
	Range	7.31 - 1046	12.2 - 292	8.89 - 156	8.63 - 221	7.31 - 177	16.2 - 1046	7.45 - 533	7.31 - 1046	7.86 - 1046	7.31 - 533	
Cr (ng/g)	Mean \pm sd	220 \pm 297	230 \pm 343	204 \pm 230	214 \pm 265	178 \pm 237	248 \pm 368	217 \pm 202	222 \pm 336	225 \pm 339	216 \pm 237	
	Median	145	137	148	133	111	151	155	139	141	149	
	Range	3.12* - 4857	3.12* - 1883	6.49* - 2639	4.72* - 1325	3.12* - 1412	3.74* - 4857	3.12* - 4857	3.12* - 4857	3.12* - 4857	3.12* - 2358	
Cu ($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	6.34 \pm 2.31	6.21 \pm 0.630	6.54 \pm 3.06	6.06 \pm 1.16	6.85 \pm 2.85	6.05 \pm 0.834	6.58 \pm 1.54	6.21 \pm 2.62	6.26 \pm 2.83	6.43 \pm 1.47	
	Median	6.12	6.10	6.22	5.97	6.15	5.96	6.34	6.00	6.03	6.27	
	Range	3.36 - 60.4	5.20 - 7.84	4.11 - 60.4	3.36 - 8.45	5.30 - 24.0	4.15 - 12.0	4.68 - 24.0	3.36 - 60.4	3.78 - 60.4	3.36 - 24.0	
Fe ($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	84.1 \pm 109	113 \pm 133	71.4 \pm 51.6	218 \pm 279	82.0 \pm 110	80.5 \pm 111	81.9 \pm 98.3	85.3 \pm 115	86.0 \pm 116	81.3 \pm 100	
	Median	55.0	73.4	55.6	115	43.4	49.9	56.0	53.0	52.6	55.7	
	Range	12.8 - 1367	31.1 - 730	14.1 - 354	14.6 - 1367	15.2 - 576	12.8 - 1246	15.8 - 1246	12.8 - 1367	12.8 - 1367	13.9 - 1246	
K ($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	4409 \pm 1369	4199 \pm 1087	4653 \pm 1442	4128 \pm 1010	3134 \pm 1131	4343 \pm 1251	4504 \pm 1504	4358 \pm 1290	4568 \pm 1463	4223 \pm 1223	
	Median	4183	4299	4480	3962	3182	4165	4332	4147	4393	4055	
	Range	1080 - 13438	2543 - 6954	2186 - 13438	2090 - 6155	1080 - 5821	1434 - 9926	1080 - 13438	1434 - 10390	1434 - 13438	1080 - 9926	

Mg	($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	276 \pm 173	347 \pm 163	238 \pm 177	234 \pm 175	228 \pm 118	329 \pm 160	284 \pm 196	272 \pm 159	295 \pm 187	253 \pm 152
		Media n	238	349	190	152	225	307	248	231	258	226
		Range	28.4* - 1961	75.1 - 738	46.3 - 1961	28.4* - 742	59.6 - 589	70.2 - 1076	59.6 - 1961	28.4* - 882	55.7 - 1961	28.4* - 1077
Mn	($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	5.57 \pm 7.45	5.34 \pm 5.70	3.62 \pm 4.68	6.07 \pm 4.68	3.09 \pm 3.76	8.33 \pm 9.89	6.14 \pm 9.81	5.26 \pm 5.84	6.11 \pm 8.29	4.90 \pm 6.27
		Media n	3.56	2.89	2.49	5.58	1.60	5.42	3.69	3.48	3.80	3.38
		Range	0.361 - 84.3	1.07 - 27.7	0.395 - 71.7	0.361 - 21.1	0.648 - 17.7	1.00 - 84.35	0.684 - 84.3	0.361 - 60.2	0.361 - 71.7	0.648 - 84.3
Mo	(ng/g)	Mean \pm sd	112 \pm 619	253 \pm 622	49.0 \pm 219	640 \pm 1936	145 \pm 120	104 \pm 632	131 \pm 716	102 \pm 563	119 \pm 638	102 \pm 599
		Media n	39.5	69.5	29.3	133	110	44.7	41.4	38.6	40.2	38.0
		Range	3.93* - 11367	32.1 - 2924	3.93* - 3876	52.8 - 11367	33.4 - 580	14.8 - 10526	9.29 - 10526	3.93* - 11367	3.93* - 11367	3.93* - 10526
Na_s	($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	267 \pm 286	238 \pm 205	281 \pm 133	828 \pm 957	381 \pm 297	164 \pm 92.6	239 \pm 152	282 \pm 335	268 \pm 243	264 \pm 330
		Media n	199	163	247	401	251	141	192	206	206	190
		Range	72.3 - 3984	94.6 - 1081	92.1 - 992	116 - 3984	133 - 1514	72.3 - 987	72.3 - 992	75.0 - 3984	86.5 - 2802	72 - 3984
Ni	(ng/g)	Mean \pm sd	248 \pm 313	260 \pm 236	245 \pm 302	237 \pm 207	214 \pm 149	256 \pm 359	264 \pm 358	239 \pm 286	247 \pm 300	250 \pm 329
		Media n	166	177	166	197	182	161	168	164	172	161
		Range	4.68* - 3760	87.9 - 1130	7.27* - 2812	4.68* - 1135	43.4 - 7456	15.8* - 3760	16.3* - 3760	4.68* - 2881	7.27* - 2881	4.68* - 3760
Se	($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	0.263 \pm 0.153	0.190 \pm 0.0493	0.273 \pm 0.178	0.178 \pm 0.0907	0.120 \pm 0.0445	0.293 \pm 0.121	0.255 \pm 0.163	0.270 \pm 0.147	0.270 \pm 0.156	0.258 \pm 0.149
		Media n	0.229	0.174	0.223	0.168	0.115	0.261	0.216	0.241	0.239	0.224
		Range	0.0192* - 1.34	0.129 - 0.320	0.0678 - 1.34	0.0254* - 0.374	0.0230* - 0.275	0.0192* - 0.794	0.0192* - 1.34	0.0192* - 1.13	0.0230* - 1.34	0.0192* - 1.13
Zn	($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	77.6 \pm 17.1	76.6 \pm 8.62	76.8 \pm 11.9	76.4 \pm 12.6	87.2 \pm 13.9	77.5 \pm 22.8	76.9 \pm 15.3	78.0 \pm 17.9	79.1 \pm 19.0	75.8 \pm 14.1
		Media n	75.2	77.2	75.6	73.4	86.1	72.7	74.8	75.3	76.6	73.4
		Range	44.6 - 296	57.4 - 91.0	46.2 - 123	60.7 - 103	63.3 - 137	44.6 - 296	44.6 - 138	45.2 - 296	44.6 - 296	44.8 - 141

* Values under the quantification limit (UQL)

§ Values must be considered for their order of magnitude but not as accurate reference values because of low (Na) and high (Hg) analytical recovery (see Table S1)

Table 3

Non-essential element concentrations determined by ICP-MS or ICP-AES (dry mass) in roe deer hair samples ($n = 758$) collected between 2016 and 2021 in France. Data were collected on juveniles (Juv) and adults (Ad) of both sexes (females: F, males: M) and from 5 different populations (A=Ain, CH=Chizé, CV=Châteauvillain-Arc-en-Barrois, J=Jura, TF=Trois-Fontaines).

Unit		All	Population					Age		Sex	
			A	CH	CV	J	TF	Juv	Ad	F	M
Al ($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	62.3 \pm 71.8	69.0 \pm 67.6	65.6 \pm 71.2	77.4 \pm 59.7	45.4 \pm 62.9	57.9 \pm 75.2	60.9 \pm 59.0	63.0 \pm 77.7	62.2 \pm 69.0	62.3 \pm 75.3
	Median	41.4	42.1	47.3	62.2	21.0	36.8	39.9	42.4	40.2	42.5
	Range	7.12 - 1020	16.6 - 328	8.58 - 1020	8.86 - 238	7.12 - 337	7.98 - 870	8.37 - 386	7.12 - 1020	7.12 - 870	8.12 - 1020
As (ng/g)	Mean \pm sd	63.9 \pm 106	78.6 \pm 93.7	58.0 \pm 113	135 \pm 157	63.9 \pm 110	60.7 \pm 85.1	60.6 \pm 78.5	65.6 \pm 118	68.9 \pm 125	57.7 \pm 77.9
	Median	38.2	47.3	34.6	76.2	25.6	40.2	42.5	35.5	37.4	39.0
	Range	2.87* - 1475	17.4 - 500	3.38* - 1475	6.53* - 723	2.87* - 644	3.59* - 748	2.87* - 741	2.87* - 1475	2.87* - 1475	2.87* - 741
Cd (ng/g)	Mean \pm sd	55.3 \pm 119	24.2 \pm 29.4	36.0 \pm 67.4	14.2 \pm 11.9	188 \pm 268	68.6 \pm 133	58.0 \pm 116	53.9 \pm 121	53.6 \pm 118	57.8 \pm 120
	Median	19.9	9.71	15.8	13.9	41.8	31.1	28.3	16.0	19.6	23.7
	Range	1.11* - 1181	2.81 - 124	1.11* - 962	2.68* - 47.6	3.64* - 1149	1.11* - 1181	1.11* - 1149	1.11* - 1181	1.11* - 1181	1.11* - 1122
Hg^s (ng/g)	Mean \pm sd	112 \pm 984	67.0 \pm 74.7	62.7 \pm 247	10.7 \pm 10.9	93.3 \pm 51.4	195 \pm 1569	80.7 \pm 313	129 \pm 1193	127 \pm 1296	95.1 \pm 342
	Median	44.7	25.9	42.5	6.57	85.8	52.1	43.8	45.0	43.8	45.9
	Range	1.83* - 26066	2.59* - 220	4.71* - 4116	2.59* - 49.9	2.59* - 266	1.83* - 26066	1.83* - 4998	2.59* - 26066	2.59* - 26066	1.83* - 4998
Pb ($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	0.394 \pm 2.11	0.345 \pm 0.843	0.312 \pm 0.278	2.44 \pm 9.29	0.323 \pm 0.498	0.238 \pm 0.379	0.284 \pm 0.294	0.445 \pm 2.60	0.343 \pm 0.825	0.448 \pm 3.01
	Median	0.197	0.167	0.230	0.242	0.146	0.151	0.203	0.191	0.191	0.203
	Range	0.0407 - 55.7	0.0661 - 4.62	0.0502 - 2.49	0.0434 - 55.7	0.0407 - 2.87	0.0509 - 5.45	0.0520 - 2.87	0.0407 - 55.7	0.0407 - 13.8	0.0526 - 55.7
Sb (ng/g)	Mean \pm sd	29.1 \pm 93.3	13.9 \pm 10.4	35.3 \pm 89.3	57.8 \pm 217	20.0 \pm 22.7	20.5 \pm 81.4	23.2 \pm 37.5	32.2 \pm 112	32.7 \pm 104	24.9 \pm 78.3
	Median	12.8	11.4	17.8	10.4	12.7	8.84	13.9	12.2	13.2	12.3
	Range	0.803* - 1321	2.69* - 47.8	0.803* - 915	1.66* - 1321	1.27* - 121	0.959* - 1305	0.959* - 359	0.803* - 1321	0.803* - 1305	0.959* - 1321
Sr ($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	0.509 \pm 0.608	0.749 \pm 1.34	0.406 \pm 0.368	0.532 \pm 0.596	0.674 \pm 0.888	0.574 \pm 0.647	0.570 \pm 0.617	0.468 \pm 0.585	0.529 \pm 0.621	0.473 \pm 0.569
	Median	0.389	0.421	0.344	0.318	0.441	0.436	0.443	0.359	0.405	0.374
	Range	0.0294* - 7.38	0.185 - 7.38	0.0681* - 4.51	0.0366* - 2.62	0.0294* - 4.92	0.0681* - 6.17	0.0681* - 6.17	0.0294* - 7.38	0.0294* - 7.38	0.0366* - 6.17

Ti ($\mu\text{g/g}$)	Mean \pm sd	1.02 \pm 0.847	1.17 \pm 0.902	0.896 \pm 0.564	1.71 \pm 1.23	0.783 \pm 0.844	1.10 \pm 1.00	1.03 \pm 0.824	1.01 \pm 0.854	1.03 \pm 0.894	1.00 \pm 0.779
	Median	0.769	0.796	0.736	1.33	0.495	0.795	0.772	0.766	0.737	0.782
	Range	0.166 - 9.27	0.380 - 4.12	0.199 - 4.87	0.301 - 6.01	0.166 - 4.25	0.241 - 9.27	0.166 - 6.28	0.186 - 9.27	0.166 - 9.27	0.199 - 6.28
Tl (ng/g)	Mean \pm sd	1.61 \pm 2.72	2.05 \pm 1.50	1.51 \pm 3.10	1.65 \pm 1.10	4.70 \pm 3.81	1.23 \pm 1.83	1.81 \pm 2.94	1.50 \pm 2.59	1.62 \pm 3.08	1.59 \pm 2.21
	Median	0.954	1.38	1.01	1.49	3.27	0.730	1.00	0.938	0.969	0.932
	Range	0.0467* - 34.7	0.595 - 6.26	0.112* - 34.7	0.223* - 4.46	0.505 - 15.4	0.0467* - 14.2	0.0467* - 32.1	0.0467* - 34.7	0.0467* - 34.7	0.0467* - 15.3

* Values under the quantification limit (UQL)

§ Values must be considered for their order of magnitude but not as accurate reference values because of low (Na) and high (Hg) analytical recovery (see Table S1)

b. Determination of reference intervals

The reference intervals determined for the 22 mineral elements and their specific outliers are presented in [Table 4](#). A total of 177 outliers were detected among values for all essential elements, with 80 measurements below the lower limit and 97 above the upper one, representing 1.8% of measurements (i.e. 177 outliers out of 758 samples times 13 essential elements). Chromium was the element with the highest number of outliers below the reference interval ($n = 15$), while Ni was the element with the highest number of outliers detected above ($n = 25$). Calcium was the only essential element that showed no outliers.

For non-essential elements, a total of 179 outliers were identified, with 94 measurements below the lower limit and 85 above the upper limit, representing 2.6% of measurements (i.e. 179 outliers out of 758 samples times 9 non-essential elements). Thallium was found to be the non-essential element with the highest number of concentrations above the reference interval ($n = 27$), and As the one with the most outliers ($n = 65$) (all elements combined). Cadmium was the only non-essential element that showed no outliers.

Table 4

Reference Intervals for essential and non-essential elements ($\mu\text{g/g}$ of dry mass) in roe deer hair samples collected between 2016 and 2021 in France ($n = 758$).

	Unit	Lower reference limit (2.5%)	Upper reference limit (97.5%)	Outliers under lower RI	Outliers above upper RI	
Essential elements	Ca	($\mu\text{g/g}$)	274	1718	0	0
	Co	(ng/g)	11.0	176	3	2
	Cr	(ng/g)	30.3	809	15	16
	Cu	($\mu\text{g/g}$)	4.78	8.64	12	9
	Fe	($\mu\text{g/g}$)	19.5	344	4	2
	K	($\mu\text{g/g}$)	2219	7352	7	9
	Mg	($\mu\text{g/g}$)	68.7	647	1	1
	Mn	($\mu\text{g/g}$)	0.881	22.2	2	1
	Mo	(ng/g)	14.8	398	8	20
	Na [§]	($\mu\text{g/g}$)	95.3	840	1	2
	Ni	(ng/g)	50.6	1045	10	25
	Se	($\mu\text{g/g}$)	0.0808	0.619	8	3
	Zn	($\mu\text{g/g}$)	56.4	110	9	7
Non-essential elements	Al	($\mu\text{g/g}$)	10.8	240	1	2
	As	(ng/g)	3.59	385	45	20
	Cd	(ng/g)	1.11	351	0	0
	Hg [§]	(ng/g)	3.41	235	18	8
	Pb	($\mu\text{g/g}$)	0.0656	1.32	3	2
	Sb	(ng/g)	2.19	119	5	13
	Sr	($\mu\text{g/g}$)	0.0760	1.62	5	14
	Ti	($\mu\text{g/g}$)	0.288	3.23	2	1
	Tl	(ng/g)	0.150	7.91	15	25

§ Values must be considered for their order of magnitude but not as accurate reference values because of low (Na) and high (Hg) analytical recovery (see Table S1)

c. Correlations between elements

Most elements were positively correlated with each other (Figure 2). Iron and Ti were highly correlated, as were Fe and Al, Ti and Al, and Co and Mn. The strongest correlations involving two non-essential elements were Al and As, Ti and As, Al and Pb, Ti and Pb, Cd and Hg, Pb and Sb, and finally As and Cd. Overall, Mg, Zn and Cu were less correlated to the other elements. Mg was weakly, but significantly negatively correlated with Na and Cu primarily, and to a lesser extent to Pb and Sb.

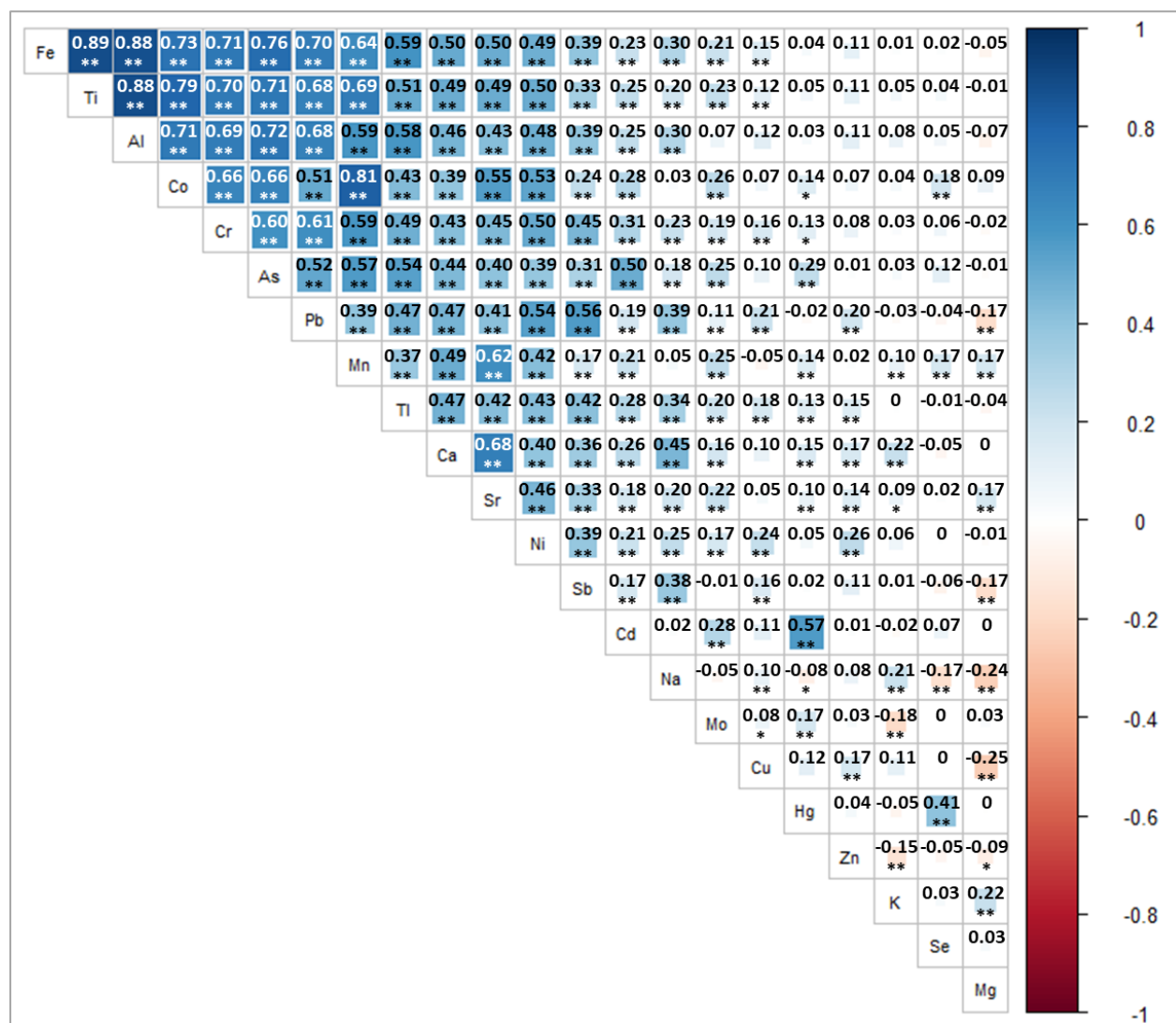


Figure 2. Correlation plot between concentrations of minor and trace elements measured in roe deer hair. The colour of the squares indicates whether the correlation is positive (i.e. blue) or negative (i.e. red), and its size is proportional to the strength of the correlation (i.e. Spearman's rho coefficient). Correlation coefficients are specified in each square. Significant differences between elements are shown with stars (*: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$).

d. Comparison of element concentrations according to population, age and sex

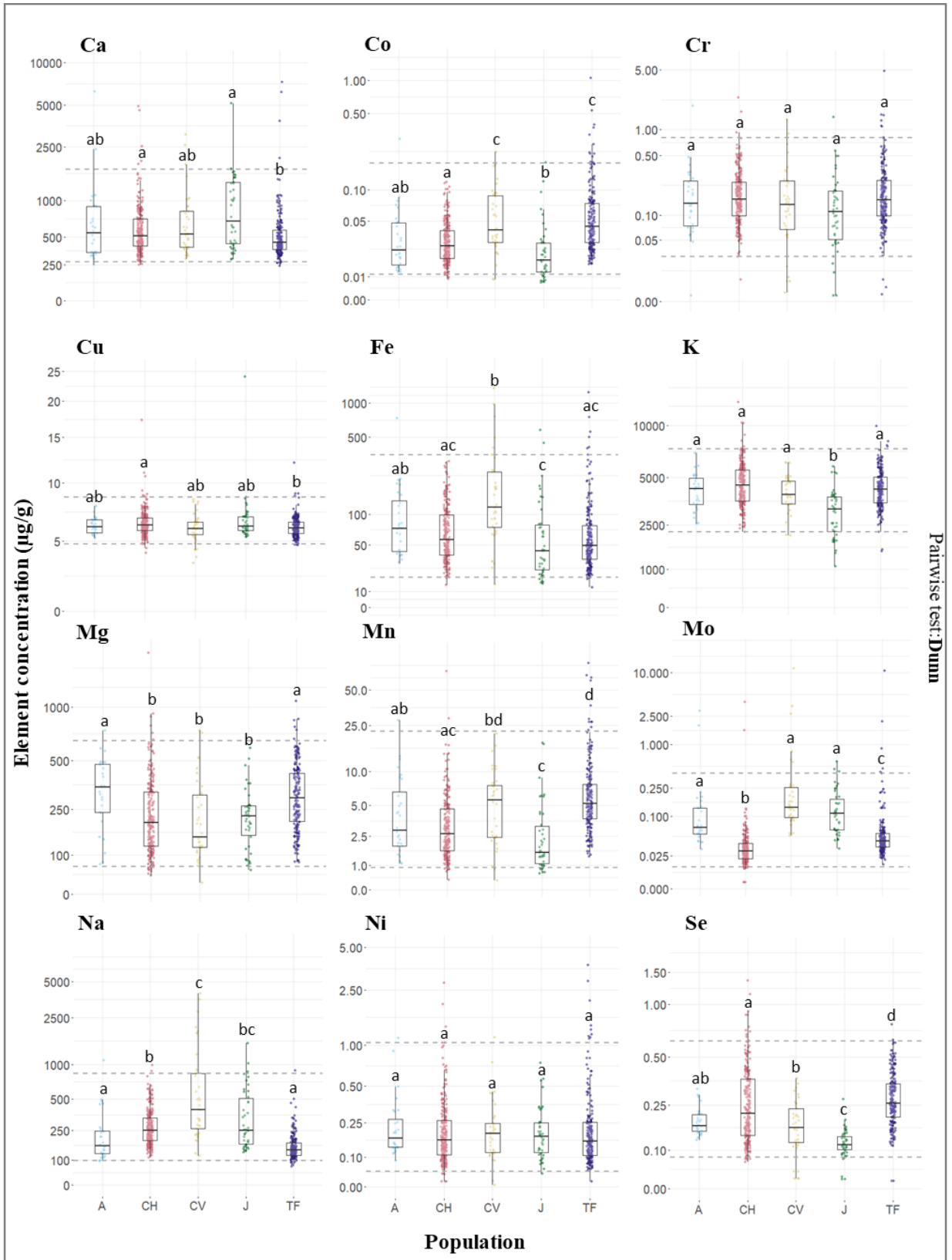
When comparing average element concentrations among populations (Table S2), significant differences were found for 20 out of 22 elements. Only the concentrations of Cr and Ni were not significantly

different between the five populations. Results remained similar when considering repeated measurements as well ($n = 758$; see Table S4 for statistical outputs). The Dunn test allowed us to identify which populations differed from the others for each element (Figure 3 & 4; see Table S3 for detailed statistical results).

Regarding essential elements, Co, Mo, Na and Se concentrations were the most different among populations. Some individuals, from Chizé and Jura especially, also showed very high concentrations of Cu. Zinc concentrations were significantly higher in the Jura population than in the other populations, with the exception of the Ain population. Likewise, Fe concentrations in individuals from Châteauvillain-Arc-en-Barrois were significantly higher, except when compared to the Ain population. Manganese concentrations in individuals from Trois-Fontaines were significantly higher, except when comparing to those from Châteauvillain-Arc-en-Barrois. On the other hand, individuals from Chizé and Jura populations exhibited respectively significantly lower Mo and Se concentrations. Individuals from Jura had significantly less K, and individuals from Ain and Trois-Fontaines significantly less Na, than those from other populations. Jura and Trois-Fontaines stood out with the highest number of elements exhibiting significantly different concentrations with the other populations.

In the case of non-essential elements, Hg and Tl concentrations differed the most among populations, and the highest values for those elements were found in the Jura population. The highest As and Ti concentrations were found in the Ain and Châteauvillain-Arc-en-Barrois populations. Aluminium concentrations were significantly higher in individuals from Chizé and Châteauvillain-Arc-en-Barrois when compared to Jura and Trois-Fontaines, and Sb concentrations were significantly higher in individuals from Chizé when compared to those from Châteauvillain-Arc-en-Barrois and Trois-Fontaines. Overall, the Jura population differed the most from the others. Indeed, significant differences in concentrations were found with at least one population for all non-essential elements but Sb and Sr.

When comparing average element concentrations between age and sex categories (Table S2), significant differences were found between juveniles and adults, and between females and males, for Cu only. More specifically, juveniles ($W=25027$; $p<0.001$) and males ($W=29318$; $p=0.003$) had significantly higher Cu concentrations than adults and females, respectively.



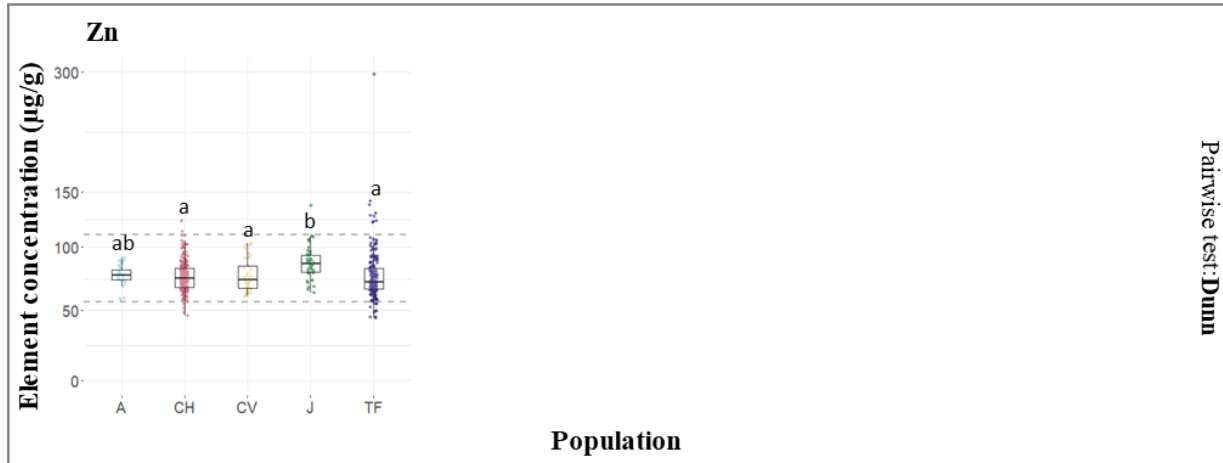


Figure 3. Comparison of essential element concentrations measured in roe deer hair samples (n = 542) collected between 2016 and 2021 in 5 populations in France: A = Ain (n = 28); CH = Chizé (n = 240); CV = Châteauvillain-Arc-en-Barrois (n = 37); J = Jura (n = 42); TF = Trois-Fontaines (n = 195). Y axis was log transformed for readability purposes. Box plots show median concentrations (black solid line) within interquartile ranges. The horizontal grey dotted lines represent upper and lower reference limits, respectively. Populations sharing the same lowercase letter do not exhibit significant differences in their average concentrations ($p > 0.05$).

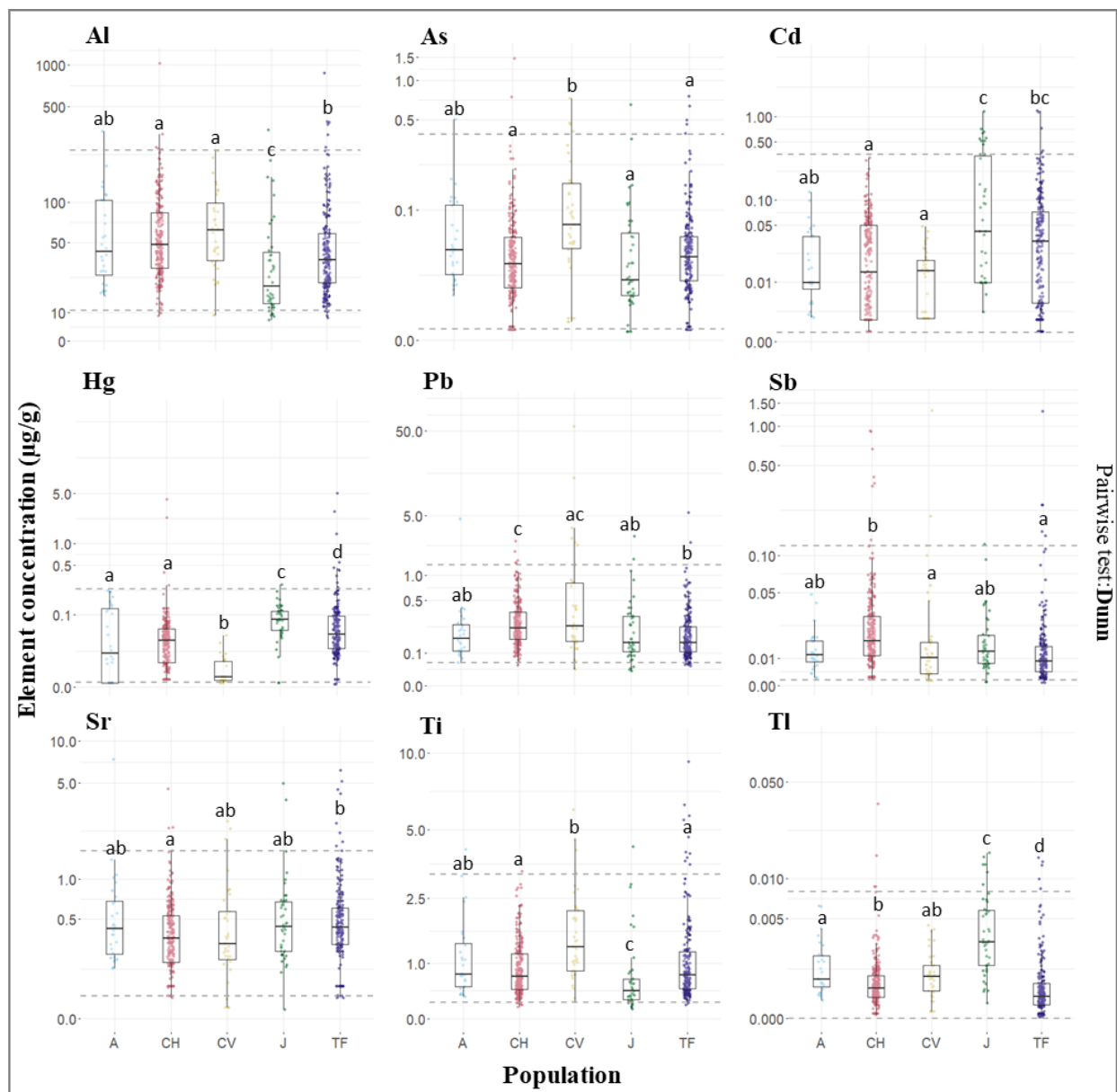


Figure 4. Comparison of non-essential element concentrations measured in roe deer hair samples ($n = 542$) collected between 2016 and 2021 in 5 populations in France: A = Ain ($n = 28$); CH = Chizé ($n = 240$); CV = Châteauvillain-Arc-en-Barrois ($n = 37$); J = Jura ($n = 42$); TF = Trois-Fontaines ($n = 195$). Y axis was log transformed for readability purposes. Box plots show median concentrations (black solid line) within interquartile ranges. The horizontal grey dotted lines represent upper and lower reference limits, respectively. Populations sharing the same lowercase letter do not exhibit significant differences in their average concentrations ($p > 0.05$).

e. Distribution of median trace element concentrations

An overview of the distribution of trace elements in the five roe deer populations is given in [Figure 5](#). Element concentrations in roe deer hair were not distributed the same depending on the study site. Indeed, individuals from Châteauvillain-Arc-en-Barrois and Jura seemed to have overall a greater heterogeneity in their element distribution than the other populations. The Jura population had higher median element

concentrations for Ca, Cd, Hg, Tl and Zn, but on the other hand, the medians were the lowest of all populations for Al, As, Co, Cr, Fe, K, Mn, Se and Ti. Similarly, the Châteauvillain-Arc-en-Barrois population showed the highest median concentrations for Al, As, Fe, Mo, Na, Ni, Pb and Ti but also the lowest for Hg, Mg and Sr.

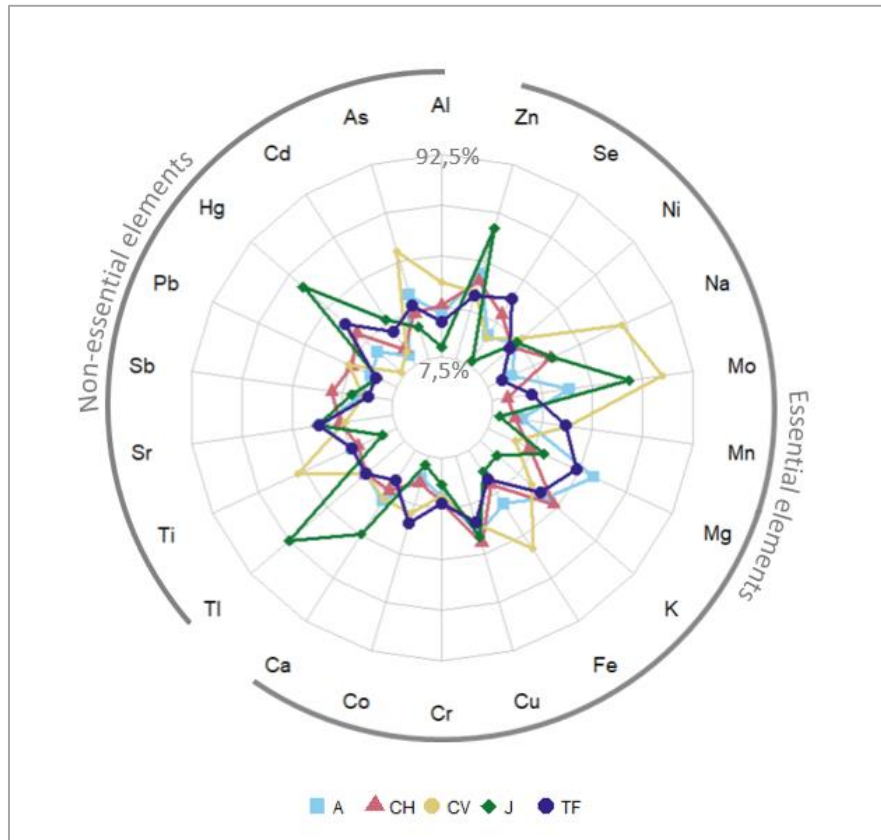


Figure 5. Comparison of median element concentrations ($\mu\text{g/g}$, dry weight) in roe deer hair ($n = 758$) from 5 populations in France: A = Ain ($n = 28$); CH = Chizé ($n = 363$); CV = Châteauvillain-Arc-en-Barrois ($n = 37$); J = Jura ($n = 42$); TF = Trois-Fontaines ($n = 288$). For readability purposes, axes of the radar chart represent upper and lower reference values at 85% coverage instead of 95%.

1.6. Discussion

This study defines for the first time the reference values for 22 essential and non-essential elements in a wild ungulate, the roe deer, using hair as a non-invasive and easily reproducible sampling method. In addition, we also explored the influence of environmental context on mineral element concentrations by comparing values of five populations in France.

a. Minor and trace element profiles

Overall, the literature on minor and trace element concentrations in hair is limited in ungulates, particularly in roe deer. Concerning essential elements, the concentration of Cu ($6.34 \pm 2.31 \mu\text{g/g}$) and Zn ($77.6 \pm 17.1 \mu\text{g/g}$) measured in our study are on average two and three times lower than those found in roe deer in Poland (Cu and Zn of $13.7 \mu\text{g/g}$ and $240 \mu\text{g/g}$ dry mass, respectively; (Cygan-Szczegieliński & Stasiak 2022), but were very close to those reported in roe deer in Italy (Cu: $7.81 \pm 2.04 \mu\text{g/g}$ in the urbanized area and $7.18 \pm 1.48 \mu\text{g/g}$ in the rural area; Zn: $70 \pm 10 \mu\text{g/g}$ both urbanized and rural areas; Draghi et al. 2023). Mean Cr ($0.220 \pm 0.297 \mu\text{g/g}$), Ni ($0.248 \pm 0.313 \mu\text{g/g}$) and Se ($0.263 \pm 0.153 \mu\text{g/g}$) concentrations in our study were also lower than those described in Italy (Cr: $2.01 \pm 1.33 \mu\text{g/g}$ and $1.23 \pm 0.43 \mu\text{g/g}$; Ni: $0.68 \pm 0.58 \mu\text{g/g}$ and $0.96 \pm 1.49 \mu\text{g/g}$; Se: $1.70 \pm 1.42 \mu\text{g/g}$ and 1.52 ± 1.06 for the urbanized and rural areas, respectively; Draghi et al. 2023). Mean Fe concentrations in our study ($84.1 \pm 109 \mu\text{g/g}$) were found close to those from the rural area ($90 \pm 60 \mu\text{g/g}$) but lower than those of the urbanized area ($220 \pm 170 \mu\text{g/g}$; Draghi et al. 2023). Finally, mean Mg ($276 \pm 173 \mu\text{g/g}$) and Mn ($5.57 \pm 7.45 \mu\text{g/g}$) concentrations in our study were comparable to those in the urbanized area in Italy (Mg: $260 \pm 140 \mu\text{g/g}$ and $200 \pm 100 \mu\text{g/g}$; Mn: $4.35 \pm 2.79 \mu\text{g/g}$ and $1.91 \pm 1.05 \mu\text{g/g}$ for the urbanized and rural areas, respectively; Draghi et al. 2023). Overall, there are contrasting concentrations of minor and trace elements between studies which may reflect local environmental differences leading to varying dietary compositions and/or bioavailability of elements.

Compared with published data, our concentration values for non-essential elements rarely meet or exceed those found in roe deer from polluted or unpolluted environments. In our study, mean concentrations of Cd and Pb ($0.0553 \pm 0.119 \mu\text{g/g}$ and $0.394 \pm 2.11 \mu\text{g/g}$, respectively) measured in hair collected between October and March on roe deer living in forest environments were in the same range as those measured in hair from roe deer ($0.06 \mu\text{g/g}$ and $1.04 \mu\text{g/g}$ of dry mass, respectively) hunted between May and January in a moderately industrialized region in Poland (Cygan-Szczegieliński & Stasiak 2022). However, higher Pb concentrations were found in hair of roe deer hunted between June and December in both urbanized ($1.99 \pm 2.09 \mu\text{g/g}$) and rural areas ($0.83 \pm 0.70 \mu\text{g/g}$) in northern Italy, while mean Cd concentrations were close to our values ($0.10 \pm 0.22 \mu\text{g/g}$ in the urbanized area and $0.06 \pm 0.05 \mu\text{g/g}$ in the rural area; Draghi et al. 2023). In this same study, mean Al and As concentrations in hair (Al: $220 \pm 390 \mu\text{g/g}$ in the urbanized area

and 70 ± 60 in the rural area; As: 2.26 ± 2.05 $\mu\text{g/g}$ in the urbanized area and 1.69 ± 1.24 in the rural area; Draghi et al. 2023) were also higher than in our populations (Al: 62.3 ± 71.8 $\mu\text{g/g}$; As: 0.0639 ± 0.106 $\mu\text{g/g}$). Concentrations seem to be influenced by the degree of anthropization of roe deer habitats, with higher burdens in urbanized areas. However, the time of hair sampling could also partly explain these differences between studies (Pokorny & Ribarič-Lasnik 2002). Finally, we did not find any study reporting Hg concentrations measured in roe deer hair.

When comparing to other wild ungulate species, our values were in the reported ranges for Cu, Fe, Mg, Se and Zn measured in the tail hair of free-ranging mule deer (*Odocoileus hemionus*) in California (Roug et al. 2015). Median concentrations for Cd, Co, Cu, Mo and Se of our roe deer populations were also close to those measured in the shoulder's hair of free-ranging woodland caribou (*Rangifer tarandus caribou*; Jutha et al. 2022). Fe, Mn and Pb concentrations were notably higher in our study than in caribou's hair, but median Zn concentration was higher in caribou. Compared to our data, the concentrations of Ca, Mg, Na and K measured in the hair of red deer (*Cervus elaphus*) from a moderately industrialized region in Poland were much higher. Conversely, K concentration was three times lower. Nevertheless, the concentrations of all the elements measured in red deer, with the exception of Ca, are included in our value range (Cygan-Szczegielniak et al. 2018).

Comparing with domestic ungulate species, mean concentrations of Al, As, Hg and Ti in our roe deer populations were close to those found in sheep wool (Kořacz et al. 1999; Patkowska-Sokoła et al. 2009). However, concentrations of Ni and Sr were lower, while that of Cr were higher (Kořacz et al. 1999; Patkowska-Sokoła et al. 2009). Measurements carried out in Germany on wool from sheep grazing on contaminated soils show a mean As concentration 8 times higher than that measured in our study, and a mean Hg concentration close to that measured in our study (As: 0.57 $\mu\text{g/g}$ of dry mass; Hg: 0.107 $\mu\text{g/g}$ of dry mass; Gebel et al. 1996). Concentrations of Pb, Cd, Fe, Mn, Co and Ni measured in sheep wool in Egypt were also consequently higher in three out of four studies locations, and similar in one (Nageeb Rashed & Soltan 2005). Finally, we did not find any values for Sb and Tl measured in hair of a wild or domestic ungulate species in the literature to compare our data with.

Although these studies give us some insight into roe deer's element status compared to closely related species, there is still a general lack of reference values for the concentrations of a wide range of minor and trace elements in hair, whether it concerns domestic or wild mammals. Yet, roe deer is considered as a bioindicator (Cygan-Szczegielniak & Stasiak 2022; Draghi et al. 2023; Garcia et al. 2011) and such data are crucial for the long-term monitoring of essential element deficiencies or non-essential element contaminations. In wild populations, most reference intervals of chemical elements are given for blood (e.g. Ratliff & Hartup 2019; Villa et al. 2017). However, to our knowledge, there is no study describing reference intervals in hair, although this matrix is indicative of the accumulation of elements and recognised as a

suitable bioindicator for determining element status in vertebrates (Tête et al. 2014). The only reference intervals of chemical elements that have been assessed in hair are for humans and some livestock animals for specific agronomic issues (e.g. Mikulewicz et al. 2013; Miroshnikov et al. 2020). Thus, evaluating health and potential ecotoxicological issues in wild populations through element status using a non-invasive method requires a preliminary study that lays the groundwork to fill in the existing gap on reference intervals. By comparing with the literature, we found that our populations had mostly lower element concentrations, which may be attributed to the fact that they live in forested areas, far from industrial sites, qualifying them as poorly contaminated and with a low risk of deficiencies. From this observation, we were entitled to determine reference values from our data.

b. Reference intervals for minor and trace element concentrations

Livestock studies have shown that deficiencies in essential elements often lead to the impairment of fertility, embryo viability, immune responses and an increased risk in disease development which ultimately may result in death (Hidiroglou 1979; McClure 2008). In our case, Cr is the element with the most suspected outliers under our lower reference limit (i.e. 15 values ranging between 0.0303 and 0.809 $\mu\text{g/g}$). The median concentration was several times lower than the one reported in Draghi et al. (2023), and our reference interval was also slightly lower than the one reported in cow hair in Miroshnikov et al. (2020; 0.053 – 1.121 $\mu\text{g/g}$). Finally, when comparing to the values of essential elements determined in cows, our reference intervals remained in the same range as theirs for Co, Fe, Ni, Se and Zn, with the exception of Mn for which our reference interval was much lower than theirs (7.5 – 100.1 $\mu\text{g/g}$ in Miroshnikov et al. 2020). Nonetheless, these differences may be attributed to species-related physiological characteristics, rather than to deficiencies in given mineral elements such as Cr or Mn, for instance. Essential elements can also become toxic when their concentration exceeds a given threshold. For example, Se is a constitutive element of selenocysteines and plays a key role in redox homeostasis through the synthesis of the glutathione peroxidase, a major antioxidant enzyme (Valko et al. 2005; Kořla et al. 2019). However, taken in excess, Se causes toxic effects referred to as selenosis, which results in several clinical symptoms and lesions that can lead to death (Sun et al. 2014). Toxic concentrations of Se in livestock have been set at ≥ 5 $\mu\text{g/g}$ in cattle hair and 4.0 – 6.0 $\mu\text{g/g}$ in sheep wool and pig hair (Reis et al. 2010). Although there is no threshold value for roe deer, it is worth noting that our maximum value (1.343 $\mu\text{g/g}$) was below the toxic concentrations for livestock. Moreover, 9 individuals had very high Cu concentrations (the highest one being 60.443 $\mu\text{g/g}$), even though our upper reference limit is 8.642 $\mu\text{g/g}$. Copper is also needed in various metabolic pathways but liver and kidney damages may occur at high doses (Govind 2014). However, an individual exceeding our upper limit will not necessarily indicate a toxicity, since toxicological data remains missing for roe deer, and wildlife in general.

Non-essential elements can have detrimental effects on all living forms, even at low doses of exposure. Toxic doses for acute and chronic exposure of non-essential elements are well described in livestock (Reis et al. 2010) and some commonly reported toxic effects of these elements include brain damage, kidney damage and reproductive impairments (Tchounwou et al. 2012; Govind 2014). Our upper reference limit for Pb (i.e. 1.32 $\mu\text{g/g}$) was below the median concentrations found in roe deer hair in other studies (Cygan-Szczegielniak and Stasiak 2022; Draghi et al. 2023). However, the median concentration from the Italian urbanized area and the maximal concentrations in both urbanized and rural areas did exceed our reference value (Median Pb: 1.81 $\mu\text{g/g}$, Maximum Pb: 9.42 $\mu\text{g/g}$ in the urbanized area and 2.25 $\mu\text{g/g}$ in the rural area; Draghi et al. 2023). Out of a total of 542 individuals in our populations, two individuals from Châteauevillain-Arc-en-Barrois exhibited Pb concentrations above the upper limit (i.e. 55.70 and 13.82 $\mu\text{g/g}$, respectively), which indicates that some roe deer may be subjected to local contamination in this area, potentially linked to the site's industrial history. This is not surprising as roe deer have a high tolerance to human activities (Linnell and Andersen 1995; Bonnot et al. 2013) and are therefore likely to be exposed to various anthropogenic contaminants. When considering other non-essential elements, some individuals were found above our upper reference limits (e.g. maximum values for Al: 1020; As: 1.48; Hg: 26.1; Sb: 1.32; Sr: 7.38; Ti: 9.27; Tl: 0.0347 $\mu\text{g/g}$). When comparing with other studies, median concentrations for Al and Cd reported in the study of Italian roe deer were under our upper reference limit, whereas median concentration of As was far above, which was suggested as being due to a specific soil composition that can release higher burdens of this element (Draghi et al. 2023). Finally, to our knowledge, the single study that determined reference values in the hair of an ungulate (apart from humans) focused on cows (Miroshnikov et al. 2020). The reference limits are similar to ours for As (0.040 – 0.304 $\mu\text{g/g}$), lower for Cd (0.013 – 0.098 $\mu\text{g/g}$), Hg (0.002 – 0.042 $\mu\text{g/g}$) and Pb (0.096 – 0.681 $\mu\text{g/g}$) and much higher for Sr (3.4 – 29.1 $\mu\text{g/g}$), i.e. these elements being common to both our studies.

c. Correlations between elements

Overall, the observed correlations were mostly positive and the few negative ones almost exclusively included Mg. The positive correlations between several non-essential elements strongly suggest their joint presence in the environment.

The literature is scarce and the few studies that investigated correlations between mineral elements in hair of wild species often found correlations opposite to our results. Significant negative correlations between Cu-Pb ($r_{xy} = -0.369$), Cd-Zn ($r_{xy} = -0.531$) and Cu-Zn ($r_{xy} = -0.409$) were found in the hair of roe deer in Poland (Cygan-Szczegielniak and Stasiak 2022). A negative correlation was also found between Cu-Zn in the hair of red deer (Cygan-Szczegielniak et al. 2018; Cygan-Szczegielniak 2021). This antagonism could be explained by the inhibition of Cu's intestinal absorption by Zn (Sandstead 1995). However, a

significant positive correlation between Cu and Zn, as in our study, has been found in the muscles and kidneys of wild boars (Gasparik et al. 2012), suggesting that relative bioavailability of Cu and Zn may influence the degree of their interaction.

Such contrasted results can stem from environmental differences in terms of mineral element concentrations. Indeed, even if different locations exhibit the same mixture of mineral elements, the local bioavailability patterns will depend on the soil geochemistry and the bioaccumulation rate in plants (Sach et al. 2020; Squadrone et al. 2020).

d. Minor and trace element concentration differences according to environmental context and individual characteristics

Analysis of the concentrations of chemical elements in hair also provides information on the quality of the environment animals inhabit (Tataruch & Kierdorf 2003). Minor and trace elements present in roe deer hair can be assimilated through various ways, for instance with the deposition of atmospheric particles that can cross the dermal barrier or be directly inhaled. These particles can also deposit in water, soil, mushrooms and plants, and be absorbed through feeding (French et al. 2017; Engwa et al. 2019). The circulation of elements through environment and food webs is, however, complex (Bañuelos and Ajwa 1999). Their concentration in water, soil, rocks, fungus and plants can be modified by natural processes including the activity of microorganisms, temperature, pH-related adsorption–desorption (Chen et al. 2022), or by human activities such as industrial and agricultural practices (Bañuelos & Ajwa 1999; Kabata-Pendias 2000). Thus, in our study case, comparing element status of different populations evolving in the same geological background (i.e. sedimentary rock) but different environmental conditions in terms of climate, forage quantity/quality, soil composition and nearby anthropic activities and their accessibility (i.e. open versus closed study sites; see [Table 1](#)) could highlight the effect of the ecological context (McDowell 1996). Although the five study populations occur in forested habitats, they effectively differ markedly in their element profiles, with only two elements (i.e. Cr and Ni) for which there was no significant differences.

The Jura population had the most different concentrations compared to the other populations, especially with the lowest concentrations for 9 elements (Al, As, Co, Cr, Fe, K, Mn, Se, Ti) and the highest ones for 5 elements (Ca, Cd, Hg, Tl, Zn) (Figures [3](#), [4](#) & [5](#)). This population differs from the others through various habitat characteristics, including altitude, snow frequency and forest stand. Located at higher altitude (500-1100m) than the other populations except the Ain one, the presence of snow is notably more important and lasts longer during winter than in any other study sites. Moreover, this is the only territory where the forest is partly composed of conifers, while the other ones are mainly composed of deciduous trees. Heat loss in conifers can also be significantly lower than in bare hardwoods, which could modify roe deer activity rate and habitat use (and by extension their diet composition), as suggested in red squirrels

(Wauters et al. 1992). Hardwood stands are also known to have on average higher aboveground biomass and higher leaf litter production than conifer stands (Park et al. 2008), which could result in contrasted soil composition and element contents. Thus, the particular environmental conditions of the Jura forest could influence roe deer element intake through different processes, and explain the marked contrast in the minor and trace element profiles of this population compared to the other ones.

The populations from Jura and Châteauvillain-Arc-en-Barrois seemed to have overall larger amplitudes in their minor and trace element concentrations than the other populations ([Figure 5](#)), which may be due to greater environmental heterogeneity and/or small sample sizes in these study sites. Alongside with Jura, Châteauvillain-Arc-en-Barrois showed many elements for which the concentrations were on average higher or lower than in the other populations. It had the highest concentration of some non-essential elements (Al, As, Pb, Ti), an effect that may be attributed to nearby agricultural lands where roe deer can venture (unlike Trois-Fontaines and Chizé which are enclosed forests). Indeed, roe deer of Châteauvillain-Arc-en-Barrois live in an open lowland forest where agricultural activity is very present ([Table 1](#)). Arsenic and Pb are known to be associated with agricultural practices, with high concentrations found in pesticides, sewage, sludge and manure (Kabata-Pendias & Szteke 2015). Roe deer that frequent open environments such as meadows or fields are more likely to be exposed to non-essential element pollution, whether from agriculture, road traffic or nearby industry. In future studies, it would therefore be interesting to link our data with local data related to the study sites (e.g. resource quality, soil composition) and more specifically anthropogenic activities associated with agricultural and industrial practices.

On the other hand, Châteauvillain-Arc-en-Barrois and Ain populations were the most similar in terms of minor and trace element concentrations (i.e. only four elements with significantly different concentrations; see [Table S3](#)). This was somehow counter-intuitive, as Châteauvillain-Arc-en-Barrois is a lowland forest environment, whereas Ain is a mountainous one, with different soil types. The most obvious similarity between these two study sites is that the forests are mainly composed of oak and beech. This suggests that the forest stand may be an important factor driving the element status in roe deer. Another explanation could also be that the small number of samples in these two populations (nA: 28, nCV: 37) prevented us from detecting potential differences.

Finally, Chizé and Trois-Fontaines populations were the most dissimilar (i.e. 15 elements with significantly different concentrations), which may be explained by a great influence of the environmental context. While Trois-Fontaines is characterized by a continental climate with mild winters and hot but not dry summers, Chizé is exposed to an oceanic climate with mild winters, hot dry summers and frequent summer droughts (Gaudry et al. 2018). Meteorological conditions can modify forest structure and dynamics, and can in turn modulate habitat use by roe deer (Widmer et al. 2004; Gaudry et al. 2018). Climate can also influence concentrations of chemical elements in soil through its effect on the deposition of atmospheric

particles (Jenny 1994). The dominant trees present in these two forests are substantially the same (i.e. oak, beech, hornbeam), with only more maples in Chizé. Nevertheless, differences in wood productivity and soil structure can be observed between sites. Trois-Fontaines forest is highly productive and overall homogeneous, while forest productivity is lower in Chizé (Pettorelli et al. 2006). The difference in soil type is also marked between Trois-Fontaines (i.e. deep, fertile, calcareous) and Chizé (i.e. shallow, stony and calcareous). A soil too rich in limestone, for example, induces Fe deficiencies by retaining it, which could explain lower concentrations of Fe in Trois-Fontaines (Chen & Barak 1982).

Thus, the observed differences between populations seem to be attributable to environmental differences likely leading to contrasted bioavailability of minor and trace elements. Studies that consider simultaneously element concentrations, environmental variables, habitat use and/or diet of wild animals are scarce, partly due to logistical constraints. Yet, understanding the links between individual element status and these factors is essential to assess the overall health of natural populations.

Chemical element status in hair may also be influenced by individual characteristics such as age and sex. Indeed, a study assessing several element concentrations in hair of roe deer showed significantly higher concentrations of Cr and Mg in older animals (≥ 36 months old) compared to younger ones, and significantly higher concentrations of Cd, Cr, Cu, Fe and Mg in females than in males (Draghi et al. 2023). A review on cows also reported higher concentrations of Ca, Cu, K, Na and Zn in calves, and higher Mn and Fe concentrations in adults. In our study however, we did not find evidence for age nor for sex-specific differences in element concentrations, except for Cu. Our results are congruent with those of another study, which also revealed no age-related differences in Mg and Zn concentrations in cattle hair (Combs et al. 1982). Nevertheless, potential age- and sex-related differences in element concentrations should not be discarded at this stage, since proper identification of these effects might require specific investigation (i.e. using data from known-age individuals rather than from individuals assigned to reductive age categories).

1.7. Conclusion

Hair sampling represents an excellent non-invasive way of monitoring mineral element concentrations in wildlife populations where ethical and logistical contexts are constraining (Zemanova 2020). This matrix is relevant for comparing cumulative levels, since hair remains metabolically inactive and chemically stable, unlike blood or urine, which reflect circulating levels. Using this matrix, we established the first reference intervals for essential and non-essential mineral elements in roe deer. Although we studied populations living in forests only, we highlighted the importance of the environmental context on the mineral element status of individuals. In future studies, it would be interesting to compare these results with data from roe deer populations inhabiting agricultural and urbanized areas, while ensuring

the same sampling parameters (i.e. hair sampling location and season), or to add reference values for other contaminants such as pesticides, which have been shown to affect wildlife as well (Fritsch et al. 2022).

This work highlights the importance of wildlife studies in assessing ecosystem health, as wild animals may be considered sentinels for the environment, but also for domestic animals and even humans. Indeed, they may provide essential information on potential negative impacts of chemical and biological contaminants (Patz et al. 2004; Rabinowitz et al. 2010; Bossart 2011). An elegant perspective to our study would be to investigate the extent to which concentrations of essential and non-essential elements outside established reference limits affect blood biochemical parameters and health indicators. On a population scale, the question also arises as to the effect of these element concentrations on population dynamics, for conservation purposes and risk assessment (Morrissey et al. 2023).

1.8. Acknowledgments

We are grateful to the volunteers and technicians who participated in the captures, hunting sessions and data collection at each study site. The authors are grateful to the “Parc National des Forêts” for permission to use data from Chateauvillain-Arc-en-Barrois forest. We also thank Caroline Amiot for carrying out mineral element analyses.

This study was carried out thanks to the financial support of VetAgro Sup, the French Office of Biodiversity (OFB) under partnership agreement CNV20.0943, and the IDEXLYON Project of the University of Lyon within the framework of the Program “Investissements d'Avenir” (ANR-16-IDEX-0005).

1.9. Supplementary material

S1 Table

Metrology of ICP-AES and ICP-MS methods for minor and trace element analysis: mean values are given for blanks, QL, DL, and recovery rates for CRM. Absolute values of DL and QL are provided in $\mu\text{g/L}$ while the associated percentage corresponds to the proportion of values under detection/quantification limits over the 758 hair samples analyzed in the present study. Note that only QL (not DL) are provided by the ICP-MS. Certified values are derived from oriental tobacco (OBTL-5) and fish proteins (DORM-3) certified reference material. Recovery percentages are estimated from certified values from the 2 reference materials.

Analytical method	Element	Blank values ($\mu\text{g/L}$)	QL ($\mu\text{g/L}$)	UQL (%)	DL ($\mu\text{g/L}$)	UDL (%)	CRM INCT-OBTL-5		CRM DORM-3	
							Recovery (% \pm sd, $n = 23$)	Certified values ($\mu\text{g/g}$)	Recovery (% \pm sd, $n = 4$)	Certified values ($\mu\text{g/g}$)
ICP-AES	Ca	149	15.3	0	4.58	0	98.2 \pm 5.4	39960 \pm 1420	ND	NA
	K	272	70.6	0	21.1	0	99.6 \pm 8.0	22710 \pm 760	ND	NA
	Mg	UDL	47.0	0.1	10.6	0	103.0 \pm 5.4	8530 \pm 340	ND	NA
	Na	59.7	17.7	0	5.32	0	45.7 \pm 3.1	435 (IV)	ND	NA
ICP-MS	Al	3.26	1.45	0	ND	ND	79.4 \pm 32.5	1980 \pm 280	66.1 \pm 0.3	1700 (IV)
	As	0.0176	0.0089	10.3	ND	ND	106.5 \pm 7.2	0.668 \pm 0.086	94.4 \pm 11.0	6.88 \pm 0.30
	Cd	0.0526	0.0066	26.5	ND	ND	106.4 \pm 6.0	2.64 \pm 0.14	101.6 \pm 10.5	0.290 \pm 0.020
	Co	0.0035	0.0020	0	ND	ND	90.7 \pm 13.9	0.981 \pm 0.067	ND	NA
	Cr	0.0254	0.0166	2.0	ND	ND	80.7 \pm 29.4	6.30 (IV)	65.3 \pm 2.8	1.89 \pm 0.17
	Cu	0.142	0.0270	0	ND	ND	97.1 \pm 17.2	10.1 \pm 0.4	87.4 \pm 6.5	15.5 \pm 0.63
	Fe	0.369	0.178	0	ND	ND	88.9 \pm 16.8	1490 (IV)	87.0 \pm 4.8	347 \pm 20
	Hg	0.0266	0.0085	8.8	ND	ND	167.1 \pm 95.9	0.0209 \pm 0.0013	91.8 \pm 19.6	0.409 \pm 0.027
	Mn	0.0303	0.0131	0	ND	ND	98.9 \pm 7.9	180 \pm 6	57.8 \pm 4.3	4.6 (IV)
	Mo	0.0663	0.0046	0.5	ND	ND	103.9 \pm 15.8	0.414 \pm 0.062	ND	NA
	Ni	0.175	0.0203	1.2	ND	ND	94.0 \pm 13.1	8.50 \pm 0.49	99.1 \pm 24.1	1.28 \pm 0.24
	Pb	0.0723	0.0045	0	ND	ND	96.0 \pm 15.3	2.01 \pm 0.31	53.0 \pm 4.6	0.395 \pm 0.050
	Sb	0.0116	0.0028	10.9	ND	ND	88.2 \pm 21.8	0.0755 \pm 0.0125	ND	NA
	Se	0.0050	0.0324	1.3	ND	ND	107.6 \pm 17.0	NA	106.7 \pm 10.4	3.3 (IV)
	Sr	0.906	0.109	15.6	ND	ND	101.0 \pm 6.3	105 \pm 5	ND	NA
	Ti	0.0386	0.0154	0	ND	ND	74.6 \pm 38.3	80.7 (IV)	ND	NA
	Tl	0.0002	0.0002	7.5	ND	ND	91.6 \pm 14.3	0.0513 (IV)	ND	NA
Zn	3.79	0.285	0	ND	ND	107.9 \pm 17.7	52.4 \pm 1.8	90.3 \pm 6.2	51.3 \pm 3.1	

DL: detection limit, ICP-AES: inductively coupled plasma atomic emission spectrometry; ICP-MS: inductively coupled plasma-mass spectrometry; IV: indicative (not certified, no uncertainty provided) value; NA: not available; ND: no data; QL: quantification limit; UDL: under detection limit; UQL: under quantification limit.

S2 Table

Statistical comparisons of minor and trace element concentrations in roe deer hair samples between 5 different French populations (Ain, Chizé, Châteauvillain, Jura, Trois-Fontaines; $n = 542$), age (juveniles vs adults; $n = 542$), and sex ($n = 540$). Samples were collected between 2016 and 2021. P-values were adjusted after the Mann-Whitney test using the Holm adjustment method.

		Population		Age		Sex	
		χ^2 Kruskall-Wallis (df=4)	<i>p</i>	W Mann-Whitney	<i>p-adjusted</i>	W Mann-Whitney	<i>p-adjusted</i>
Essential elements	Ca	23.50	< 0.001	30779	0.068	40982	0.183
	Co	99.73	< 0.001	33364	1.000	33892	1.000
	Cr	8.63	0.071	33148	1.000	34560	1.000
	Cu	14.43	0.006	25027	< 0.001	29318	0.003
	Fe	37.30	< 0.001	35445	1.000	35738	1.000
	K	44.39	< 0.001	32912	1.000	38650	1.000
	Mg	51.59	< 0.001	35268	1.000	41176	0.140
	Mn	112.40	< 0.001	34274	1.000	39599	1.000
	Mo	237.02	< 0.001	35654	1.000	38517	1.000
	Na	199.42	< 0.001	40683	0.193	39122	1.000
	Ni	1.52	0.823	34391	1.000	36901	1.000
	Se	97.83	< 0.001	37112	1.000	36021	1.000
	Zn	28.85	< 0.001	37062	1.000	40191	0.573
Non-essential elements	Al	38.37	< 0.001	36830	1.000	34726	1.000
	As	27.37	< 0.001	32654	0.995	35631	1.000
	Cd	34.61	< 0.001	30965	0.088	34743	1.000
	Hg	111.66	< 0.001	33338	1.000	32723	0.897
	Pb	52.24	< 0.001	34469	1.000	34379	1.000
	Sb	67.26	< 0.001	33737	1.000	36710	1.000
	Sr	14.46	0.006	30696	0.061	39513	1.000
	Ti	38.83	< 0.001	35369	1.000	34687	1.000
Tl	96.97	< 0.001	34848	1.000	36151	1.000	

Significant differences ($p < 0.05$) are shown in **bold**

S3 Table

Z statistic and Holm adjusted *p*-values for inter-population comparisons using Dunn's Test.

	A - CH		A - CV		CH - CV		A - J		CH - J		CV - J		A - TF		CH - TF		CV - TF		J - TF		
	Z	<i>p</i>	Z	<i>p</i>	Z	<i>p</i>	Z	<i>p</i>	Z	<i>p</i>	Z	<i>p</i>	Z	<i>p</i>	Z	<i>p</i>	Z	<i>p</i>	Z	<i>p</i>	
Essential elements	Ca	-0.31	0.75	-0.79	1.00	-0.77	0.89	-1.97	0.29	-2.51	0.10	-1.26	1.00	1.20	0.92	3.16	<0.05	2.45	0.10	4.25	<0.001
	Co	-0.06	0.95	-2.92	<0.05	-4.07	<0.001	1.88	0.18	2.82	<0.05	5.28	<0.001	-3.90	<0.001	-8.04	<0.001	-0.31	1.00	-7.32	<0.001
	Cr	-0.59	1.00	0.44	1.00	1.28	1.00	1.33	1.00	2.63	0.08	0.95	1.00	-0.55	1.00	0.06	0.95	-1.23	1.00	-2.56	0.10
	Cu	-0.81	1.00	0.66	1.00	1.85	0.52	-0.87	1.00	-0.30	1.00	-1.67	0.67	0.82	1.00	3.41	<0.01	0.01	0.99	2.22	0.24
	Fe	1.62	0.21	-1.79	0.22	-4.38	<0.001	2.72	<0.05	2.02	0.17	4.93	<0.001	2.60	0.06	2.09	0.19	5.43	<0.001	-0.81	0.42
	K	-1.55	0.48	0.08	0.94	1.87	0.37	3.23	<0.01	6.56	<0.001	3.41	<0.01	-0.66	1.00	1.84	0.33	-0.85	1.00	-5.41	<0.001
	Mg	3.69	<0.01	3.37	<0.01	0.62	1.00	2.96	<0.05	-0.08	0.94	-0.54	1.00	0.71	1.00	-6.15	<0.001	-3.91	<0.001	-3.40	<0.01
	Mn	1.43	0.30	-1.43	0.45	-3.65	<0.01	2.72	<0.05	2.25	0.10	4.53	<0.001	-3.00	<0.05	-9.26	<0.001	-1.38	0.17	-7.46	<0.001
	Mo	7.66	<0.001	-1.68	0.28	-11.04	<0.001	-0.78	0.44	-10.28	<0.001	1.03	0.61	3.68	<0.001	-8.16	<0.001	6.49	<0.001	5.48	<0.001
	Na	-3.73	<0.01	-5.19	<0.001	-3.14	<0.01	-3.28	<0.01	-0.32	0.75	2.22	0.08	2.10	0.07	12.13	<0.001	9.62	<0.001	7.19	<0.001
	Ni	1.00	1.00	0.37	1.00	-0.61	1.00	0.80	1.00	-0.03	0.98	0.46	1.00	1.07	1.00	0.17	1.00	0.69	1.00	0.12	1.00
	Se	-1.97	0.10	0.53	0.60	2.98	<0.01	3.34	<0.01	7.22	<0.001	3.02	<0.05	-3.63	<0.01	-3.51	<0.01	-4.83	<0.001	-9.09	<0.001
Zn	0.87	1.00	0.78	1.00	0.13	0.90	-2.57	0.07	-4.79	<0.001	-3.65	<0.01	1.33	1.00	0.97	1.00	0.40	1.00	5.26	<0.001	
Non-essential elements	Al	-0.65	0.52	-1.22	0.67	-1.00	0.64	2.88	<0.05	4.97	<0.001	4.47	<0.001	1.27	0.82	4.00	<0.001	3.13	<0.05	-2.62	<0.05
	As	2.21	0.16	-1.50	0.40	-4.62	<0.001	2.39	0.12	0.85	0.39	4.25	<0.001	1.40	0.32	-1.63	0.41	3.67	<0.01	-1.76	0.39
	Cd	0.15	0.88	0.99	0.65	1.23	0.66	-3.04	<0.05	-4.61	<0.001	-4.38	<0.001	-1.59	0.45	-3.64	<0.01	-3.17	<0.05	2.47	0.07
	Hg	-0.03	0.97	4.30	<0.001	6.14	<0.001	-4.01	<0.001	-5.80	<0.001	-9.11	<0.001	-2.41	<0.05	-4.98	<0.001	-9.72	<0.001	2.88	<0.05
	Pb	-2.71	<0.05	-2.51	0.06	-0.50	1.00	-0.15	0.88	3.01	<0.05	2.63	0.05	0.46	1.00	6.58	<0.001	4.03	<0.001	0.76	1.00
	Sb	-2.62	0.07	0.41	0.68	3.55	<0.01	-0.77	0.88	2.00	0.27	-1.29	0.98	1.22	0.89	7.99	<0.001	0.80	1.00	2.56	0.07
	Sr	1.54	0.74	1.26	1.00	0.05	0.96	-0.16	1.00	-2.07	0.35	-1.57	0.81	-0.08	1.00	-3.36	<0.01	-1.85	0.51	0.13	1.00
	Ti	1.02	0.93	-2.28	0.09	-4.38	<0.001	3.32	<0.01	3.63	<0.01	6.13	<0.001	0.67	0.50	-0.69	0.98	3.95	<0.001	-3.96	<0.001
Tl	2.98	<0.05	0.88	0.38	-2.12	0.07	-2.42	<0.05	-7.09	<0.001	-3.60	<0.01	4.65	<0.001	3.57	<0.01	4.01	<0.001	9.00	<0.001	

Significant differences ($p < 0.05$) are shown in **bold**. A = Ain; CH = Chizé; CV = Châteauvillain-Arc-en-Barrois; J = Jura, TF = Trois-Fontaines

S4 Table

Statistical comparisons of minor and trace element concentrations in roe deer hair samples ($n = 758$) between 5 different populations in France (Ain, Chizé, Châteauvillain, Jura, Trois-Fontaines). Samples were collected between 2016 and 2021.

		χ^2 Kruskall-Wallis ($df=4$)	<i>p</i>
Essential elements	Ca	26.19	<0.001
	Co	145.21	<0.001
	Cr	8.32	0.080
	Cu	26.27	<0.001
	Fe	39.16	<0.001
	K	47.69	<0.001
	Mg	85.84	<0.001
	Mn	169.25	<0.001
	Mo	300.66	<0.001
	Na	277.79	<0.001
	Ni	2.27	0.686
	Se	115.88	<0.001
	Zn	30.09	<0.001
Non-essential elements	Al	39.24	<0.001
	As	29.26	<0.001
	Cd	35.65	<0.001
	Hg	125.26	<0.001
	Pb	64.31	<0.001
	Sb	91.38	<0.001
	Sr	29.37	<0.001
	Ti	43.25	<0.001
	Tl	116.80	<0.001

2. Relation entre statut en oligo-éléments essentiels et parasitisme chez les chevreuils de deux populations contrastées – ARTICLE 2

2.1. Titre de l'article et auteurs

Essential mineral elements in roe deer: Associations with parasites and immune phenotypes in two contrasting populations

Léa Bariod^{1,2,3*}, Sonia Saïd³, Clément Calenge⁴, Renaud Scheifler⁵, Clémentine Fritsch⁵, Carole Peroz^{1,2}, Slimania Benabed^{1,2}, Hervé Bidault⁶, Stéphane Chabot⁷, François Débias², Jeanne Duhayer², Sylvia Pardonnet², Marie-Thérèse Poirel^{1,2}, Paul Rivelli², Pauline Vuarin², Gilles Bourgoïn^{1,2}

1. Université de Lyon, VetAgro Sup - Campus Vétérinaire de Lyon, Laboratoire de Parasitologie Vétérinaire, Marcy-L'Etoile, France
2. Université de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, Villeurbanne, France
3. Office Français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui Scientifique, Service Conservation et Gestion des Espèces à Enjeux, « Montfort », Birieux, France
4. Office Français de la Biodiversité, Direction de la Surveillance, de l'Évaluation et des Données – Unité données et appui méthodologique, Le Perray en Yvelines, France
5. Université de Franche-Comté, UMR CNRS 6249, Laboratoire Chrono-environnement, Besançon, France

*Corresponding author

E-mail: bariod.lea@orange.fr

En révision dans « Ecology and Evolution »

2.2. Résumé en français et en anglais

Français

Les éléments essentiels tels que Co, Cr, Cu, Fe, Mn sont susceptibles d'être impliqués directement ou indirectement, par exemple en mobilisant des enzymes, dans l'activation de la défense immunitaire, notamment contre les parasites. Cela a été démontré à de nombreuses reprises chez les animaux domestiques, mais rarement chez la faune sauvage. Le but de cette étude était d'évaluer si les concentrations d'oligo-éléments pouvaient être un facteur influençant l'infestation parasitaire et le phénotype immunitaire chez le chevreuil (*Capreolus capreolus*) à l'aide d'analyses multivariées. De 2016 à 2019, nous avons collecté des prélèvements sur des chevreuils âgés de 7 à 9 mois pour évaluer les concentrations de 11 oligo-éléments (ex : Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Se, Zn) dans les poils, la charge parasitaire (nématodes

gastro-intestinaux et pulmonaires) à partir des fèces et des paramètres immunitaires (globulines et globules blancs) à partir de prélèvements sanguins, dans deux populations françaises aux contextes écologiques différents (Trois-Fontaines et Chizé). Nous avons montré une hétérogénéité des phénotypes individuels, car les animaux de faible masse corporelle présentaient des concentrations élevées de tous les éléments minéraux (en particulier Ca, Fe, Cu, K et Mn), une charge parasitaire élevée et des concentrations élevées de globulines. Une association entre des concentrations élevées en oligo-éléments essentiels et des charges parasitaires élevées a été constatée sur les deux sites d'étude malgré des conditions environnementales différentes. Une relation entre les concentrations d'oligo-éléments et les paramètres immunitaires a également été identifiée, avec davantage de basophiles et de globulines associées à des concentrations élevées d'oligo-éléments essentiels (c'est-à-dire Ca, Fe, Cu et dans une moindre mesure Se, Cr et Zn). Ces résultats suggèrent principalement que les jeunes individus ayant une faible masse corporelle et un parasitisme élevé pourraient sélectionner des ressources alimentaires riches en éléments minéraux, ce qui pourrait être une réponse pour améliorer leur capacité à contrôler l'infestation et/ou à atténuer les conséquences négatives des parasites. Ils suggèrent également que les jeunes chevreuils présentant des concentrations plus élevées d'éléments minéraux auront un système immunitaire plus efficace.

Mots clés : *Capreolus capreolus*, Environnement, Juvénile, Immunité, Ongulés sauvages, Besoins en oligo-éléments

Anglais

Essential mineral elements such as Co, Cr, Cu, Fe, and Mn are likely to be directly or indirectly involved—for example, by mobilizing enzymes—in the activation of immune defense, particularly against parasites. This phenomenon has been demonstrated widely in domestic animals but rarely in wildlife. The aim of this study was to assess whether element concentrations could influence parasitic infection and the immune phenotype in roe deer (*Capreolus capreolus*). From 2016 to 2019, we collected data from 7–9-month-old roe deer to assess the concentrations of 11 minerals, i.e., Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Se, and Zn in hair, the parasite burden (gastrointestinal and pulmonary nematodes), and immunological parameters (globulins and white blood cells), in two French populations with contrasting ecological contexts (Trois-Fontaines and Chizé). We showed heterogeneity in the individual phenotypes and that animals with low body mass had high concentrations of all the mineral elements (in particular, Ca, Fe, Cu, K, and Mn), a high parasitic burden and high concentrations of globulins. An association between high concentrations of essential mineral elements and high parasite burden was found at the two study sites despite markedly different environmental conditions. A relationship between trace element concentrations and immune parameters was also detected, with more basophils and globulins being associated with high concentrations of essential trace elements (i.e., Ca, Fe, Cu and, to a lesser extent, Se, Cr and Zn). These results suggest

primarily that young individuals with low body mass and high parasitism may select feeding resources rich in mineral elements, which might be a response to improve their ability to control the infestation and/or to mitigate the negative consequences of parasites. They also suggest that roe deer with higher mineral element concentrations will have a more effective immune response.

Key words: *Capreolus capreolus*, Environment, Immunity, Juvenile, Mineral elements, Wild ungulate

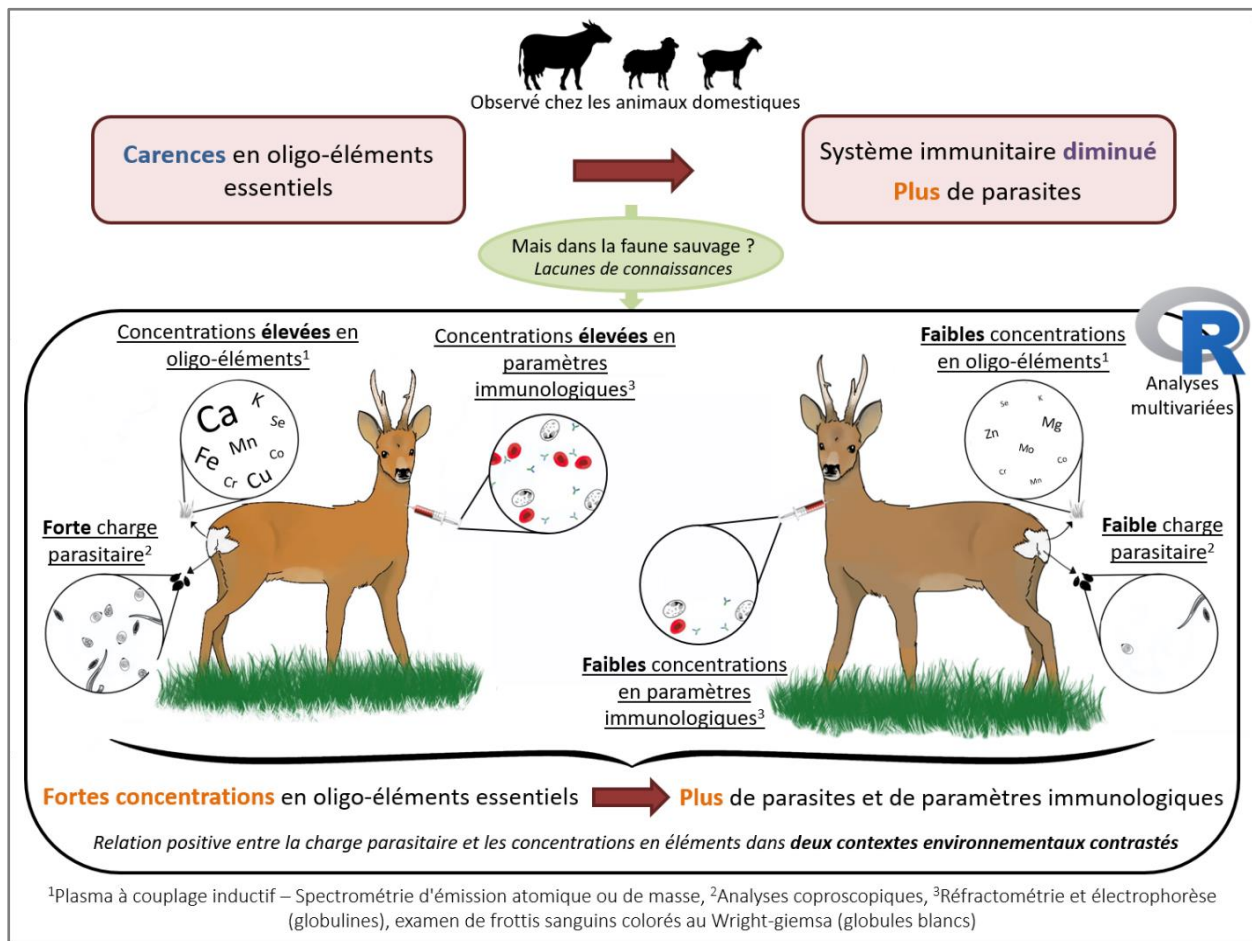


Figure 31 : Résumé graphique de l'article 2.

2.3. Introduction

Parasites are considered natural stressors for hosts due to their influence on metabolism and behavior (Budischak et al., 2018; Joly et al., 2020). The negative effects of parasites on the host can vary depending on parasite virulence (i.e., mode of transmission, burden, species diversity; Bordes & Morand, 2011; Budischak et al., 2018) and host tolerance and resistance (i.e., the host's ability to mitigate parasite-inflicted damage or to reduce infection) (Råberg et al., 2009). Heterogeneity of parasitic infestation between

individuals is common, with some individuals within the same population being more heavily parasitized than others. Old and young individuals are often more infested and sensitive to parasites than adults are (Body et al., 2011; Bourgoin et al., 2021), which could be explained by the developing immune system in young individuals (Coop & Kyriazakis, 2001) and by immunosenescence in old individuals (inflammaging; Cheynel et al., 2017). Additionally, males are often more parasitized than females are, likely due to physiological and ecological differences between sexes, particularly costs associated with sexual selection in males (Forbes, 2007; Turner & Getz, 2010; Body et al., 2011; Jégo et al., 2014). The nutritional status and body condition of hosts also play essential roles in the establishment and survival of parasite populations (Parkins & Holmes, 1989; Beldomenico & Begon, 2010).

Previous studies have shown that individuals with poorer body condition often have greater parasite burdens (e.g., Davidson et al., 2015; Aleuy et al., 2018), which may result from the effects of the infection (Beldomenico et al., 2008; Begon & Townsend, 2020) or from the poor environmental conditions where those individuals live (i.e., low quantity or poor quality of food). Parasites, such as helminths and lungworms, can cause food intake depression in hosts (Fox, 1997), altering their metabolism (e.g., inhibiting the ability of the host to store or use lipids and proteins; Gulland, 1992; Coop & Holmes, 1996) and leading to a reduction in mass gain (Corrigall et al., 1982). For example, parasitic infection can induce protein deficiency by increasing the demand for amino acids in the digestive tract while reducing nutrient intake through appetite depression (as shown in sheep, Sykes & Coop, 2001). Animals living in habitats with low quantities and quality of food resources can have higher parasitism due to a higher infection risk but also to a lower ability to control parasitism. When resources are scarce, animals might aggregate where food patches remain, providing opportunities for direct parasite transmission (Becker et al., 2015). Many animals can also expand their home range to find resources (Harestad & Bunnell, 1979; Relyea et al., 2000), which could increase the risk of encountering parasites (Ostfeld et al., 2005). In other words, populations facing harsh environmental conditions (e.g., food scarcity, poor nutritional quality, high host density) are more prone to parasitic infection because they have less resources and energy to gain mass and maintain their immune system and will pay a greater cost of parasitism. Immune activation is costly in terms of energy and protein, and food deprivation can lead to a reduction in specific cellular and humoral immune responses, particularly to fight against parasites (Cotter & Shareefi, 2022). For example, in insects, a study by Banville et al. (2012) showed that food deprivation in *Galleria mellonella* larvae resulted in reduced cellular and immune responses and increased susceptibility to infections. In mammals such as sheep, dietary protein supplementation results in a higher expulsion rate of *Trichostrongylus colubriformis* larvae (van Houtert et al., 1995), revealing the importance of nutrition in the expression of immunity. However, not all immune effectors react in the same way to dietary manipulation, and this will depend on the needs of the host to maintain other functions (Cotter & Shareefi, 2022). Moreover, increased immune responses are not always

beneficial for individuals and can lead to immunopathology; for example, autoinflammatory disease manifested by tissue aggression linked to excessive activation of innate immunity (Sibilia, 2007).

Veterinary research is particularly interested in the consequences of nutrition and parasitism in farmed animals, particularly for economic and health reasons (Coop & Holmes, 1996; Asano et al., 2002; Sordillo, 2016; Rosendahl et al., 2022). Studies on this subject have considered these interactions within a framework that takes into account the physiology of the infection and the distribution of nutritive resources such as glucids, proteins or even mineral elements to various bodily functions, including defense against pathogens (Coop & Kyriazakis, 1999). Most of the understanding of the influence of parasites, primarily gastrointestinal nematodes, on metabolism comes from experimental infections in sheep (Cotter & Shareefi, 2022). Moreover, for several years, mineral elements have received particular attention because they include micro- and macronutrients, which are essential for all living organisms (Paul & Dey, 2015) and may also influence host sensitivity to parasites (McClure et al., 1999; McClure, 2003; Atiba et al., 2020; Čobanová et al., 2020). As mineral elements work globally as cofactors for various enzymes and are also important components of various tissues (Ahmad et al., 2020), their inadequate intake can have major impacts on an individual's physiology and health, affecting the immune response. In fact, these elements are involved in processes such as the maintenance of physical barriers (i.e., skin and mucous membranes), the differentiation and proliferation of cells, and inflammation and antioxidant protection (i.e., protein secretion) (Hughes & Kelly, 2006; McClure, 2008; Paul & Dey, 2015). In livestock, several micronutrients, such as selenium, copper, zinc, manganese, iron, chromium, cobalt and molybdenum, are likely to be positively involved in gut immunity via physiological roles in regulating or triggering immunity (McClure, 2008). For instance, zinc deficiencies have been shown to cause atrophy of lymphoid tissues, leading to decreased numbers of immune cells and functional defects during antigen-specific responses (Scott & Koski, 2000) and increasing the sensitivity of individuals suffering from such disequilibrium to parasitic infections. Macroelements, such as calcium, magnesium and potassium, are involved mainly, but not exclusively, in the structure of molecules as well as in enzymatic systems, which also partly explains the need for their substantial intake (Lippert, 2020). Therefore, mineral elements, either in minimal (micro) or larger (macro) quantities, are essential for ensuring optimal functioning of the organism, particularly in response to parasites. Most of the literature on this subject, however, addresses domestic animals (McClure, 2008; Paul & Dey, 2015; Ahmad et al., 2020; Atiba et al., 2020; Čobanová et al., 2020). To our knowledge, only two studies on wild ungulates (i.e., *Odocoileus hemionus*, Myers et al., 2015; *Rangifer tarandus caribou*, Rioux et al., 2022) have focused on parasite burden and mineral elements, although they did not highlight a general trend between these parameters. Thus, the relationships between host nutritional status and mineral element levels, parasite burden and immune responses in the wild remain to be determined.

In the present study, we focused on a wild ungulate, the roe deer (*Capreolus capreolus*), which is a highly sedentary species (Andersen et al., 1998; Saïd et al., 2009; Gaudry et al., 2018). It can be infected by many parasite species, including gastrointestinal helminths and lungworms, which can have a negative impact on both its nutritional status and growth rate (Zaffaroni et al., 1997; Segonds-Pichon et al., 2000; Pato et al., 2013). Moreover, young roe deer are more susceptible to parasitic infection (Body et al., 2011) due to their developing immune system (Coop & Kyriazakis, 2001) and therefore exhibit greater heterogeneity in terms of infestation levels than adults. In addition, as they have specific nutritional requirements for growth (Hewison et al., 2002), young roe deer are more likely to be dependent on the quality of food resources and, in particular, on their mineral element contents. Thus, young roe deer are a relevant model for understanding the links between essential element concentrations, parasite burdens and immune phenotypes.

We studied 7–9-month-old roe deer caught during winter (January–March) between 2016 and 2019 in two populations exhibiting markedly different ecological contexts (Trois-Fontaines and Chizé). Indeed, while Trois-Fontaines is a rich forest with abundant resources overall, Chizé is a poorer forest with limited resources stratified into three habitats (Figure 1) contrasting in forest structure and food resource quality (Gaillard et al., 1993; Pettorelli et al., 2005; Saïd et al., 2005; Saïd & Servanty, 2005; William et al., 2018). To carry out this study, we used data on different parameters evaluated from samples taken during capture: mineral element status measured in hair, parasite burden measured in feces and immune phenotype measured in blood. Generally, mineral element levels are quantified in storage organs (liver and kidneys) or in blood (Jutha et al., 2022) to understand the current condition of an individual. However, hair has been recognized as a good matrix for assessing an organism's long-term exposure to mineral elements (Patra et al., 2006; Roug et al., 2015; Mosbacher et al., 2022; Draghi et al., 2023). Hair is composed of three distinct layers that each play a role in the absorption of mineral elements: the cuticle, which contains sulfur and can absorb elements (Noguchi et al., 2012); and the medulla and cortex, which contain little or no sulfur but are embedded in pigment granules and can selectively bind mineral elements (Tobin, 2008). Due to these special characteristics, using hair to monitor mineral element status in a natural population is a reliable method. In roe deer, the coat is renewed twice a year: the winter molt begins in September and lasts approximately two months, while the spring molt begins in May and lasts two months (Johnson & Hornby, 1975). Thus, hair samples collected during winter captures reflect mineral elements incorporated during the period of hair growth in the autumn of the previous year, i.e., the period when food resources are very important for fawn growth, providing an indicator of an individual's condition at the time of hair formation (Katz & Chatt, 1994).

Therefore, using concentrations in hair would allow us to determine the importance of the essential mineral elements that are ingested during this critical period for body condition and consequently for

immune defense and the control of parasitism. Indeed, depending on nutritional intake during autumn and the beginning of winter, an individual with higher concentrations of certain elements elicits a more effective immune response and eventually better eliminates parasites, which is associated with no or low parasite burden and high concentrations of some immunological parameters (e.g., basophils, Obata-Ninomiya et al., 2020). Currently, the minimum requirements for mineral elements in this species are unknown. To our knowledge, no reference values are available for concentrations in hair, which prevents a diagnosis of deficiency. Thus, we predicted a general trend in which mineral element concentrations would be negatively linked with parasite burden (P1) and positively linked with immunological parameters (P2). Moreover, body mass reflects the nutritional status of individuals and, indirectly, its consequences for the immune response and susceptibility to parasites. Hence, an individual with a low body mass, due to a low intake of good quality food resources (i.e., low quantity or poor quality of food, loss of appetite due to parasites), was expected to have lower concentrations of mineral elements, poorer immune defenses and a greater parasitic burden (P3). Finally, the quality of the habitat, in particular the quantity and quality of food resources, determines nutrient availability to hosts for their immune system and the control of parasites. We thus expected to find lower mineral element concentrations and greater variability in phenotypic profiles, i.e., in terms of mineral status, parasite burden and immune status, in individuals living in areas with poorer resource quality, typical of in Chizé compared to Trois-Fontaines (P4a), but also inside the Chizé site, in the area of lower quality ([Figure 1](#)) (P4b).

2.4. Material and methods

a. Ethical consideration

Roe deer captures and experimental procedures were in line with the French Environmental Code (Art. R421-15 to 421-31 and R422-92 to 422-94-1). They were approved by the authorities (French Ministry of Environment) and performed in accordance with the conditions detailed in the specific accreditation delivered to the “Office Français de la Biodiversité” by the “Préfecture de Paris” (agreement n°2009-014, n°. 2013-118, n°2019-02-19-003). These experiments were carried out by minimizing the stress and the handling time of the animals (limited to 15 minutes), and by ensuring their welfare, thus respecting the European and French laws defined for the ethical use of animals in research.

b. Study populations

Roe deer from two French populations at two enclosed study sites, namely, “Territoire d’Étude et d’Expérimentation of Trois-Fontaines” (hereafter referred to as TF) and “Réserve Biologique Intégrale of Chizé” (hereafter referred to as CH) were studied between 2016 and 2019 ([Figure 1](#)). During this period,

the density of roe deer at TF oscillated between 12 and 15 individuals/100 ha, and that at CH oscillated between 13 and 18 individuals/100 ha (numbers estimated by capture–mark–recapture models). These two study sites differ in terms of habitat quality, i.e., soil fertility, vegetation structure, and the quantity and quality of resources available for roe deer (Saïd et al., 2009; Gaudry et al., 2018), which could provide resources with different nutritional qualities and influence the concentrations of mineral elements ingested by individuals. TF is located in northeastern France (48° 38' N, 4° 54' E), where the climate is continental and characterized by cold winters and hot but not dry summers. This is an enclosed forest of 1360 ha with an overstory dominated by oak (*Quercus* spp.) and beech (*Fagus sylvatica*), while the coppice is dominated by hornbeam (*Carpinus betulus*). The high productivity and rich soil (i.e., deep, fertile) at the site provide a high-quality habitat for roe deer (Pettorelli et al., 2006). CH is located in western France (46° 50' N, 0° 25' E), where the climate is temperate oceanic with Mediterranean influences. This site is characterized by poor soil quality (i.e., shallow, stony) and low productivity, offering a poorer habitat quality for roe deer (Pettorelli et al., 2006). In this enclosed forest of 2614 ha, three contrasted habitats in a timber stand and coppices were distinguished: the northeastern area (Area 1), covered by oak forest with a coppice dominated by hornbeam; the northwestern area (Area 2), covered by oak forest with Montpellier maple (*Acer monspessulanum*) coppice; and the southern area (Area 3), represented by beech forest. Moreover, plants in the north have a greater nitrogen content than those in the south (Pettorelli et al., 2001), which makes oak forests richer habitats than beech forests.

The two populations have been monitored using capture–mark–recapture methods since 1976 (TF) and 1978 (CH) (Gaillard et al., 1993). Driving nets are used each year between December and March to catch individuals (10–12 days of capture per year). In this study, we considered only 7–9-month-old roe deer captured between 2016 and 2019 (for each year, data were collected between January and March; see Table S1A in Supporting Information). Age was estimated based on dentition (two premolars only, large incisors - Maublanc et al., 1991; Delorme et al., 2007) or on if the individual had already been captured as fawn the year before and thus identified (i.e., marked by an ear tag). Once an individual was captured, its sex and body mass (to the nearest 50 g) were recorded. On average, the roe deer from the TF were heavier (mean \pm SD; 15.39 \pm 2.49 kg) than those from the CH were (area 1: 12.91 \pm 2.32 kg; area 2: 11.46 \pm 2.03 kg; area 3: 12.37 \pm 2.44 kg) (see Figure S1 in Supporting Information). In addition, various biological samples (feces, blood, hair) were collected. In total, we studied 233 roe deer (111 at TF and 122 at CH). However, it was not always possible to collect all the biological samples from each individual or to obtain enough samples for analysis, leading to unbalanced sample sizes (mineral element concentrations, n = 233 [111 in TF, 122 in CH]; parasite burden, n = 190 [87 in TF, 103 in CH]; and immunological parameters, n = 105 [54 in TF, 51 in CH]).

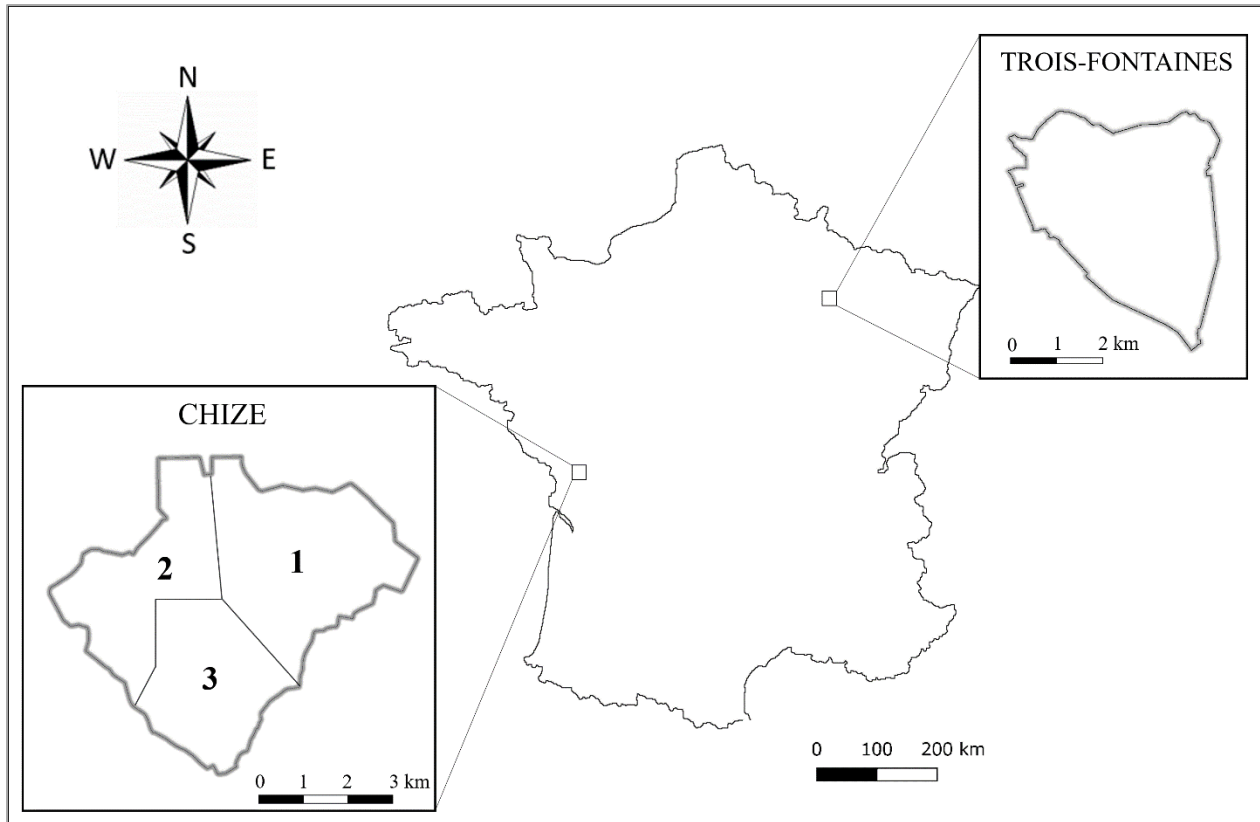


Figure 1: The geographical location of the two populations in France. On the left: spatial representation of the Chizé site with the three distinct vegetation areas: 1) oak-hornbeam, 2) oak-Montpellier maple, 3) beech. On the right: spatial representation of the Trois-Fontaines site.

c. Roe deer data

Mineral element concentrations in hair

Mineral element concentrations were measured at the Chrono-Environnement Laboratory (Besançon, France) in hair collected from the white patch around the rump of the captured roe deer. A handful of hair was removed, the bulb was carefully harvested, and the hair was stored in paper envelopes at room temperature. Using hair from the same region of the body helps to avoid measurement bias, especially for the dosage of minerals (Combs, 1987). The hair samples weighed 117 ± 32 mg on average.

Only mineral elements considered essential [i.e., calcium (Ca), cobalt (Co), chromium (Cr), copper (Cu), iron (Fe), potassium (K), magnesium (Mg), manganese (Mn), molybdenum (Mo), selenium (Se) and zinc (Zn)] for metabolism were analyzed in this study (Underwood 2012). The term "mineral elements" will therefore refer only to these essential elements. First, the hair samples were washed as advised by Peakall & Burger (2003) to remove potential external contamination so that only the mineral elements accumulated in (and not deposited on) the hair were measured. Washing involved six successive baths of 5 min in an

ultrasonic cleaner device (140/280 W, 37 kHz, Fisher Scientific, S-LINE 4.25 L), alternatively using three baths of acetone and three baths of ultrapure water (UP water, Elga, 18.2 MΩ cm). The samples were subsequently dried at 60 °C, digested with nitric acid and diluted by adding ultrapure water prior to analysis. Concentrations of Ca, K, and Mg were measured by inductively coupled plasma–atomic emission spectrometry (ICP–AES; Thermo Fisher Scientific iCAP 6,000), and concentrations of Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Se, and Zn were measured by inductively coupled plasma–mass spectrometry (ICP–MS; Thermo Fisher Scientific XSeries 2). A certified reference material (Tabac obt15) was also analyzed to validate the results. The reproducibility of the measurements was surveyed by checking relative standard deviation values and using internal standards, and quality control using control solutions and blanks to check for the absence of drift was regularly conducted during the measurements.

Parasitological data

The feces of each captured roe deer were collected manually from the rectum and placed in plastic bags, from which the air was removed before sealing. In the field, bags were stored in an insulated box to avoid exposure to low temperatures. The samples were then either directly transported or mailed to the parasitology laboratory of VetAgro Sup (Marcy-l’Etoile, France) within 24–48 h following fecal collection. Four groups of parasite species commonly found in roe deer from our study populations (Body et al., 2011; Cheynel et al., 2017) were investigated: gastrointestinal nematodes (strongyles [hereafter GI strongyles] and *Trichuris* sp.), *Eimeria* spp. (protozoan), and pulmonary nematodes (protostrongylids). On receipt of the fecal samples, two different techniques were used to measure the number of parasite propagules per gram of feces: i) the modified McMaster protocol with a solution of zinc sulfate (ZnSO₄, s.g. = 1.36) (Raynaud et al., 1970) and a theoretical sensitivity of 15 eggs per gram (EPG; for gastrointestinal nematodes and *Trichuris* sp.) or oocysts per gram (OPG; for *Eimeria* spp.) of feces and ii) the Baermann fecal technique (Baermann, 1917) for first-stage larvae of pulmonary nematodes (larvae/g of feces, LPG). On average, 3.63 ± 1.47 g of feces was used to carry out the McMaster protocol, and 2.43 ± 1.67 g of feces was used to carry out the Baermann technique.

These measures of fecal excretion of parasite propagules (FEPP) can be considered proxies for parasitic infection of the host. However, FEPP provides only an overview of the parasite burden of an individual and cannot be measured directly. Several factors might influence the production of propagules by parasites and the results of a fecal egg count, such as the immune response of the host, the diversity of parasite species (variability of fecundity among species, including species of the same group of parasites such as gastrointestinal strongyles), the density-dependent production of propagules (production of propagules decreases as parasite burden increases), the temporal variation in propagule production and the heterogeneous distribution of propagules in feces (e.g., Cabaret et al., 1998; Denwood et al., 2012; Nielsen,

2022). In this study, we use the term "parasite burden" to refer to these measurements, keeping in mind that this is an overview of what is found in deer feces, not in their bodies.

Immunological parameters

Blood samples (EDTA and dry tubes) were collected from the jugular vein (with a maximum volume of 1 mL/kg) of each individual. Whole blood was preserved on EDTA at 4 °C for white blood cell counts (analyzed within 52 hours of sampling), and the serum, extracted by centrifugation from dry tubes immediately upon blood collection, was stored at -20 °C for functional measures of activity (i.e., humoral immunity). Hematological assays were performed at the Biochemical and Endocrinological Laboratory of VetAgro-Sup.

Humoral immunity was assessed by measuring the circulating levels of natural antibodies and complement-mediated cell lysis activity following hemagglutination-hemolysis. The total protein content (in g/L) was assessed by refractometry followed by automatic agarose gel electrophoresis (HYDRASYS, Sebia, Evry, France), which separates the albumin and globulin fractions. In our study, we focused on gamma- and beta-globulin levels (mg/mL), which encompass some of the components involved in defense against parasites and should reflect the antiparasitic response. Both are involved in the inflammatory response and reflect the inflammatory condition of the animal during the few days preceding capture. The gamma-globulin fraction is mainly composed of antibodies (IgG, IgA and IgE) and the beta-globulin fraction of IgM and IgA as well as other proteins involved in innate immunity. In addition, we assessed innate cellular immunity by counting white blood cells (WBCs, in 10³ cells/mL), which is considered a proxy for the allocation to immune defenses, using a Konelab 30i automaton (Fisher Thermo Scientific, Cergy-Pontoise, France). The proportions of each WBC type were quantified under a microscope (x1000) by counting the first 100 WBCs on blood smears previously stained with May-Grünwald and Giemsa solution (Houwen, 2001). Two innate cell types were analyzed here: basophils, which play a role in the defense against macroparasites (e.g., parasitic helminths and ticks), and eosinophils, which are implicated in the defense against internal parasites and the inflammatory response (Mitre & Nutman, 2006). The parameters mentioned above reflect the immunological status from the few weeks before capture to the date of capture. Basophils and eosinophils remain in blood for short periods only before they home to tissues or organs, but their number increases in the case of parasitic infection, and their count reflects an animal's parasite burden. However, immunoglobulins have longer half-lives (several weeks, depending on the isotype).

Data analysis

All the statistical procedures were performed using R version 4.0.4 (R Core Team, 2021) and the package “ade4” (Thioulouse et al., 2018) to perform multivariate analyses. The significance threshold was set at the $\alpha = 0.05$ level. Mineral element concentrations, parasite burdens and immunological parameters (i.e., beta-globulin and gamma-globulin) were asymmetrically distributed, leading to the risk that a small number of animals characterized by high values of these variables would strongly support the results of our analysis. We therefore log-transformed these variables to limit such influences. Basophil and eosinophil counts were analyzed as prevalence (presence/absence) because of the low values and variability of concentration of each cell type in the blood samples of the studied roe deer (basophils: prevalence = 0.26 [n = 27/105]; median concentration: 0 g/L; eosinophils: prevalence = 0.48 [n = 50/105]; median concentration: 0.076 g/L).

We studied several mineral elements, immunological parameters and parasites, and we wanted to assess the relationships between these sets of variables. We were not interested in the specific relationship between, for example, one mineral element and one parasite but rather between mineral elements taken as a whole (i.e., mineral status) and parasites taken as a whole (i.e., parasite burden). We therefore used a statistical methodology tailored for this task, i.e., factorial analysis methods. These methods search for synthetic variables summarizing each set of variables. The weight of each variable of a given set in this synthetic variable was a coefficient that measures its importance in the definition of the synthesis. We first carried out a principal component analysis (PCA) on the mineral element concentrations and parasite burdens and a Hill & Smith analysis (HSA) on the immunological parameters to identify the correlation patterns within each set of variables. These analyses allow us to obtain the most relevant summary possible of the initial data, i.e., by looking at the synthetic variable(s) most correlated with all these parameters. To identify the number of components to interpret in a given PCA or HSA, we used a parallel analysis (package “paran”; Dinno, 2009, 2022) developed by Horn in 1965 (Horn, 1965). We then carried out several coinertia analyses to explore the association patterns between the different datasets. Coinertia analysis is especially suitable for exploring the covariance structure between tables paired by rows (Dolédéc & Chessel, 2006; Thioulouse et al., 2018). The coinertia analysis of two tables (for example, the table of mineral element concentration and the table of parasite burden) first involved finding two linear combinations of the columns of the first and second tables, respectively (called factorial axes), that are characterized by the largest possible covariance. These two linear combinations describe the costructure between the two tables. Then, this method searches for two more linear combinations of the columns of the first and second tables with the largest possible covariance under the constraint that these combinations must be uncorrelated with the first set of factorial axes, and so on. These two linear combinations can be used to calculate two sets of

scores for the animals in the dataset (and the mean of these two scores will be further called “individual scores”) and to describe the costructure between the two tables. Thus, we performed a coinertia analysis between mineral element concentrations and each other table (parasite burden [Prediction 1] and immunological parameters [Prediction 2]) to relate mineral element profiles defined by the PCA with each set of explanatory variables in the two other tables. Given the differences in sample sizes between the mineral element data ($n = 233$) and the other tables ($n = 190$ for parasite burden, $n = 105$ for immunological parameters), we considered only individuals with data on both mineral elements and parasite burden/immunological parameters to perform the coinertia analyses. We also computed the RV coefficient (a multivariate generalization of the Pearson correlation coefficient; see Thioulouse et al., 2018, p. 185), ranging from 0 to 1, as a measure of global correlation between matrices, and tested its significance with a Monte Carlo permutation test using 999 permutations (Manly, 2007). The closer the RV is to 1, the greater the global similarity between the two matrices.

All multivariate analyses were performed on the individuals from both populations together. For the intrasite comparison in CH, we reran the analyses only on this population to then be able to compare the scores of the individuals according to the three areas of the site (Figure 1). Moreover, since we have four years of data (2016 to 2019), we checked for the effect of the year on our results. In terms of the relationship between immunological parameters and mineral elements, we had too much imbalance in the amount of data between years to make comparisons ($n_{2016} = 42$, $n_{2017} = 29$, $n_{2018} = 10$, $n_{2019} = 24$). However, we examined the relationship between parasite burden and mineral elements and found that the observed trend was the same between study years (see the relationship between individual scores on the first axis of the PCA on the parasite burden and the individual scores on the first axis of the PCA on the concentrations of mineral elements in Figure S2, Supporting Information). As a result, we no longer took the year into account in the following results. Similarly, sex effects were tested, but no detectable differences were detected in mineral element concentrations except for copper (Student’s *t* test: $n = 233$, $t = -2.43$, p value = 0.02) or in the scores of the individuals in each coinertia analysis. We thus pooled males and females together in each analysis. We then compared mineral element concentrations, parasite burdens, immunological parameters, and individual scores for each PCA/HSA/coinertia analysis between sexes (no effect) and study sites [Prediction 4a] using Student's *t* test and between the three areas of CH using the Kruskal–Wallis test [Prediction 4b] (nonparametric: unbalanced number of samples per area) and post hoc Dunn tests. Pearson's correlations were performed to verify the correlation between the covariates used in the coinertia analyses and to study the relationship between body mass and the score of individuals from each PCA/HSA/coinertia analysis [Prediction 3]. As coinertia assesses the global correlation between two sets of variables and suggests which variables from one set (e.g., mineral elements) are the most correlated with the variables of another set (e.g., immunology), we also calculated the correlation between these identified pairs of variables

to assess their relationships more precisely using Pearson's correlations. We also studied the relationship between body mass and the score of individuals from each PCA/HSA/coinertia analysis [Prediction 3]. In roe deer, body mass is known to depend on the Julian date (Vanpé et al., 2007) and sex (Gaillard et al., 1996). We did not find any significant changes in body mass according to the Julian date (slope of the linear regression between body mass and Julian date \pm SE = -0.017 ± 0.011 , $t = -1.46$, p value = 0.15) or sex (Mann & Whitney test: $n = 233$, $W = 6755$, p value = 0.38). However, body mass was corrected for each study site by taking the residuals of the linear model [P3], as young roe deer are heavier at TF than at CH (Mann & Whitney test: $n = 233$, $W = 2520$, p value < 0.001). Finally, as the samples were collected between January and March at each study site, we tested for the effect of the Julian date on the data collected for each group of parameters by performing a linear model with, as the response variable, individual scores on the first axis of the PCA for mineral elements and parasitic burden or on the first axis of the HSA for the immunological parameters and the Julian date as a fixed effect (see Table S1B in Supporting Information). The Julian date had a significant effect on the concentrations of three mineral elements in CH only: Ca (estimate \pm SD, p value; 6.78 ± 3.06 , 0.03), Co (0.0003 ± 0.001 , 0.01) and Fe (0.70 ± 0.26 , 0.01). Thus, we did not consider the effect of the Julian date on our results since the data were restricted to a few elements at a single study site.

2.5. Results

a. Mineral element concentrations

The first principal component of the PCA on mineral element concentrations captured 32.06% of the total inertia and was much more important than all the following axes (see Figure S3a in Supporting Information), leading us to retain only this axis for interpretation. The scores of individuals on the first axis showed that a few individuals were isolated on the right (Figure 2a). This raises the question of the effect of these individuals on the definition of the principal axis (i.e., the risk that a few individuals are driving the results of the analysis). However, when we performed the PCA without these individuals, we obtained the same structure of our variables, which showed that these isolated individuals did not influence the result of the PCA.

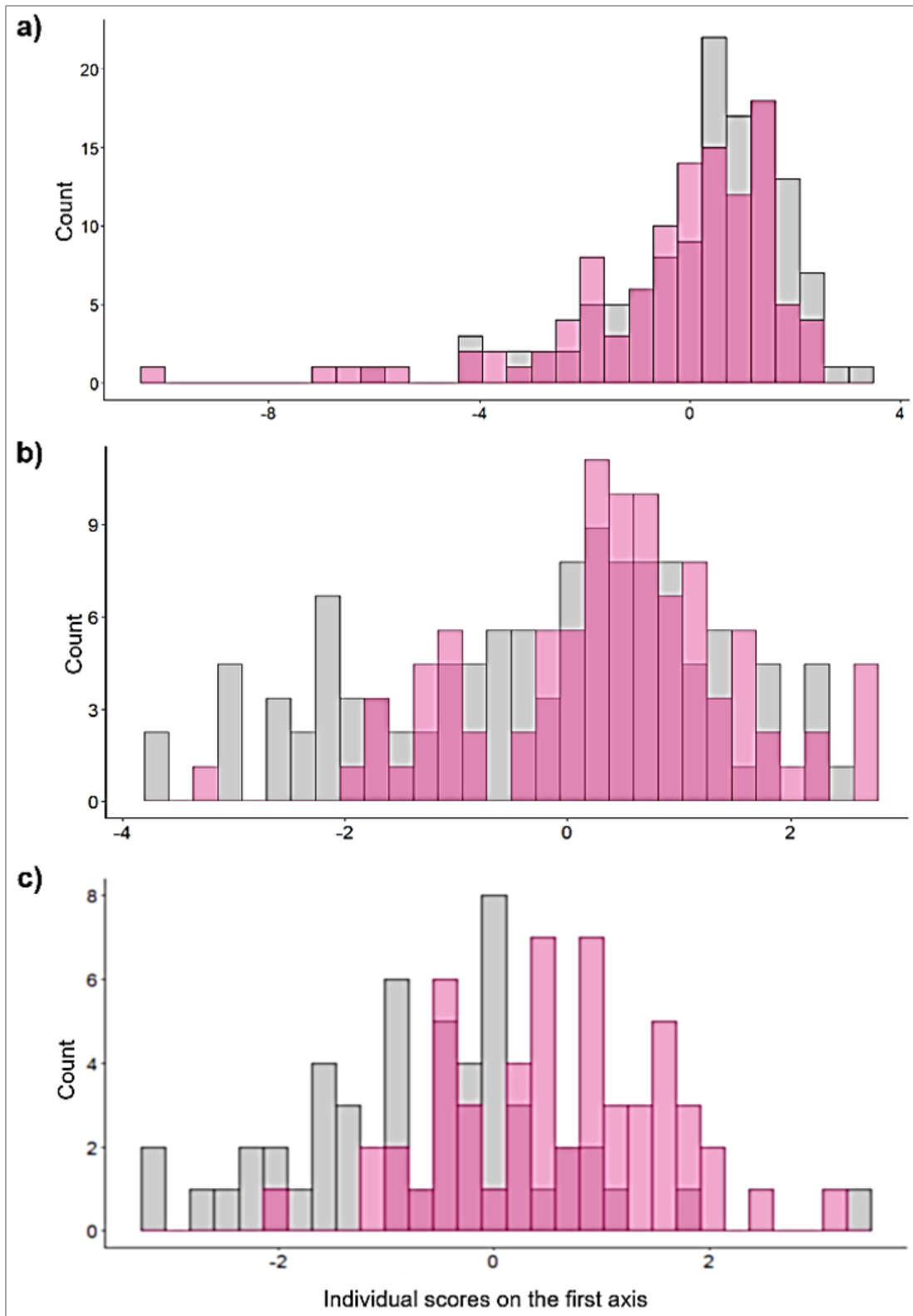


Figure 2: Scores of individuals on the first axis of the Principal Component Analysis or Hill & Smith Analysis on (a) mineral element concentrations, (b) parasite burden, (c) immunological parameters depicting the distribution of CH (in grey) and TF (in pink) scores on this axis.

All the elements were positively correlated with the first axis of the PCA (Figure 3a), indicating a gradient in the data opposing animals with large concentrations of all the mineral elements (positive values of the first principal component, on the right of the red line) to animals with low concentrations of these elements (negative values of the first principal component, on the left of the red line).

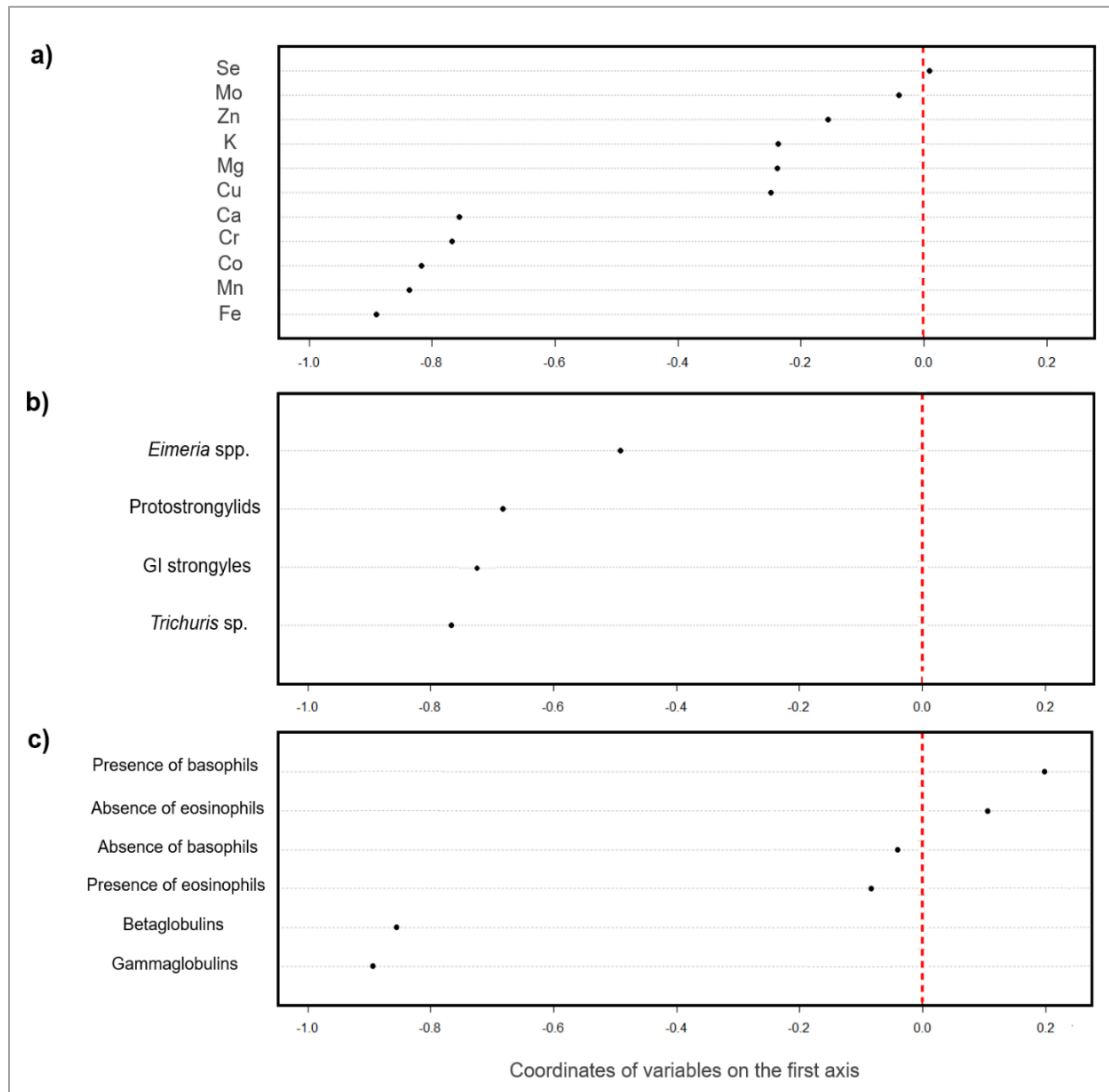


Figure 3: Coordinates of the variables on the first axis of the Principal Component Analysis or Hill & Smith Analysis on (a) mineral element concentrations, (b) parasite burden, (c) immunological parameters in two populations of roe deer in France. The red dotted vertical line represents the score of 0. These scores represent the Pearson's correlation coefficient between a variable and the first axes.

Individual scores on the first axis were negatively correlated with body mass (Pearson's correlation $R = -0.15$, $df = 231$, p value = 0.02), indicating that individuals with low body mass have more mineral elements in their hair. Moreover, although the distributions of scores of individuals from the two populations largely overlapped (Figure 2a), Student's t test showed a difference between populations in the mean rank of individual scores on the first axis ($n = 233$, $t = 2.47$, p value = 0.01). Differences between sites were

mainly explained by higher concentrations of Mg, Co, Mn and Mo at TF and higher concentrations of Ca at CH (Table 1). Finally, when we compared the scores of individuals on the first axis of the PCA between the three areas of the CH, no detectable differences were found (Kruskal–Wallis test: $n_1 = 51$, $n_2 = 26$, $n_3 = 26$; $H = 0.46$, $df = 2$, p value = 0.80).

Table 1: Comparison between the population (CH & TF) of the mineral element concentrations measured in roe deer hair samples (median, mean +/- sd [min-max]; in $\mu\text{g/g}$ of dry mass), the parasite burden (median, mean +/- sd [min-max]; in egg per gram of feces for Gastro-intestinal strongyles, *Trichuris* sp.; in oocysts per gram of feces for *Eimeria* spp. and in larvae per gram of feces for Protostrongylids), the concentration (median, mean +/- sd [min-max]; in g/L) of immunological parameters (i.e. globulins). In bold: statistically significant differences in element concentration between the two populations. We implemented the Holm's multiple testing correction procedure for the p-values estimation (see Legendre and Legendre, 1998).

	TROIS-FONTAINES		CHIZE		Mann & Whitney		
	Median	Mean \pm sd [Min-Max]	Median	Mean \pm sd [Min-Max]	W	P-value	
MINERAL ELEMENT CONCENTRATIONS (n = 233)	Calcium (Ca)	476.76	637.65 \pm 724.95 [268.06-7285.35]	554.88	704.99 \pm 598.36 [316.02-4889.71]	8226	0.03
	Cobalt (Co)	0.048	0.072 \pm 0.074 [0.019-0.53]	0.028	0.034 \pm 0.021 [0.01-0.12]	3142	< 0.001
	Chromium (Cr)	0.16	0.24 \pm 0.22 [0.004-1.28]	0.49	0.22 \pm 0.20 [0.045-1.61]	6795.5	1
	Copper (Cu)	6.27	6.34 \pm 0.92 [4.68-12.038]	6.49	6.66 \pm 1.24 [5.16-17.28]	8087	0.06
	Iron (Fe)	55.9	92.93 \pm 138.03 [21.00-1245.51]	57.97	76.86 \pm 51.87 [19.62-291]	7185	1
	Potassium (K)	4188.95	4402.76 \pm 1192.3 [2215.99-8113.69]	4639.52	4838.35 \pm 1694.23 [2218.78-13437.72]	7775	0.25
	Magnesium (Mg)	269.84	314.74 \pm 164.12 [80.70-1076.88]	202.08	262.27 \pm 228.50 [60.47-1961.22]	4798	< 0.001
	Manganese (Mn)	5.3	9.16 \pm 12.55 [1.91-84.35]	2.49	4.12 \pm 6.84 [0.68-71.73]	2775.5	< 0.001
	Molybdenum (Mo)	0.046	0.18 \pm 1.01 [0.017-10.53]	0.03	0.080 \pm 0.37 [0.01-3.88]	3367	< 0.001
	Selenium (Se)	0.24	0.26 \pm 0.11 [0.019-0.61]	0.22	0.28 \pm 0.20 [0.068-1.34]	6027	0.6
Zinc (Zn)	72.14	76.54 \pm 17.34 [44.55-137.90]	74.22	75.58 \pm 13.16 [48.4-115.87]	6954	1	
PARASITE BURDENS (n = 190)	GI Strongyles	7.5	20.52 \pm 28.56 [0-135]	15	31.60 \pm 42.90 [0-270]	5161.5	0.14
	<i>Trichuris</i> sp.	7.5	27.33 \pm 76.02 [0-645]	30	124.81 \pm 252.38 [0-2160]	6165	< 0.001
	<i>Eimeria</i> spp.	15	281.90 \pm 1151.38 [0-10125]	15	267.60 \pm 810.52 [0-6855]	4447.5	0.93
	Protostrongylids	1.3	19.76 \pm 53.03 [0-248]	7	56.88 \pm 155.16 [0-900]	5443.5	0.03
IMMUNOLOGICAL PARAMETERS CONCENTRATIONS (n = 105)	Betaglobulins	5.3	5.41 \pm 0.98 [3.5-9]	6.1	6.16 \pm 1.36 [3.3-12.9]	1766	< 0.001
	Gammaglobulins	13.3	13.55 \pm 2.98 [7.3-19.6]	17.4	18.66 \pm 5.51 [9-34.9]	2015.5	< 0.001
	Basophils	0	0.08 \pm 0.12 [0-0.51]	0	0.06 \pm 0.10 [0-0.60]	1565.5	0.59
	Eosinophils	0	0.02 \pm 0.04 [0-0.19]	0	0.01 \pm 0.02 [0-0.10]	1341.5	0.56

b. Relationship between parasite burden and mineral element concentrations

A clear break was observed in the decrease in the eigenvalues after the first component (Axis 1: 45.29% of total inertia; see Figure S3b in Supporting Information) of the PCA on parasite burden; therefore, only the first axis was interpreted. This axis exhibited a clear pattern of correlation between all the parasites (Figure 3b), indicating a clear gradient in the data opposing animals with a high burden of all parasites (positive values of the first principal component, on the right of the red line) to animals with a low burden of parasites (negative values of the first principal component, on the left of the red line). Individual scores on the first axis were negatively correlated with body mass (Pearson's correlation $R = 0.48$, $df = 188$, p value < 0.001), indicating that individuals with low body mass have a greater parasite burden. Moreover, the CH-related scores were greater than the TF-related scores (Student's t test: $n = 190$, $t = -3.80$, p value < 0.001 ; see Figure 2b), and these differences were attributed to greater *Trichuris* sp. and protostrongylid burdens (Table 1). In CH (for a comparison of the element concentrations among the three areas, see Table S2 in Supporting Information), the differences in scores among the three areas were significant (Kruskal–Wallis test: $n = 103$, $K_{hi^2} = 6.93$, $df = 2$, p value = 0.03). However, the Holm-adjusted p values of the Dunn test were not significant. The pairs of areas that appeared to show the greatest differences in scores were Areas 1-2 (Dunn test: $n_1 = 51$, $n_2 = 26$, $Z = -2.17$, p value = 0.09) and Areas 1-3 (Dunn test: $n_1 = 51$, $n_3 = 26$, $Z = -2.14$, p value = 0.09).

We then performed a coinertia analysis on the two tables containing mineral element concentrations and parasite burden. There was a clear break in the decrease in the eigenvalues after the first axis (71.17% of total inertia), indicating that most of the coinertia was expressed on the first axis (see Figure S4a in Supporting Information). We interpreted only this axis. The association between these two tables was statistically significant despite a low RV ($RV = 0.044$, p value = 0.02; many large arrows indicate a low correlation between the two tables in Figure S4b, Supporting Information). Nevertheless, we could identify an association between these tables as individuals with positive scores calculated from mineral element concentrations also exhibited, in general, positive scores calculated from parasite burdens.

The first axis opposed the individuals with high concentrations of most mineral elements (mainly Ca, Fe, Cu, K, and Mn, as indicated by higher scores on the first axis) and a high burden of parasites (mainly GI strongyles and protostrongylids, as indicated by higher scores on the first axis) to individuals with low concentrations of most mineral elements and low parasite burdens (Figure 4a & 4b).

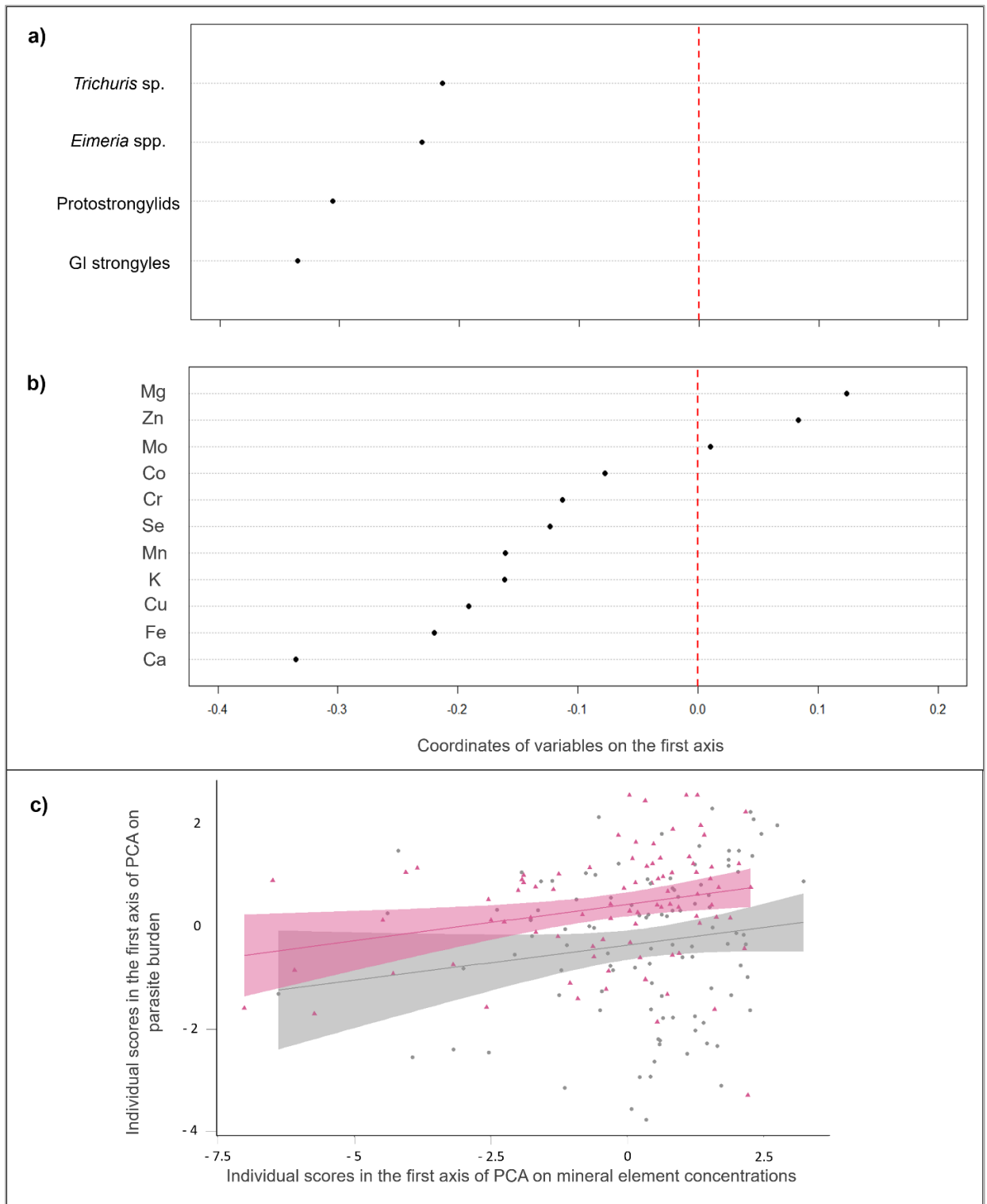


Figure 4: Co-inertia analysis of the two tables containing mineral element concentrations and parasite burden, respectively. **(a)** Coordinates of the variables in the table containing parasite burden on the first axis of the co-inertia analysis. **(b)** Coordinates of the variables in the table containing mineral element concentrations on the first axis of the co-inertia analysis. **(c)** Relationship between the score of individuals on the first axis of the PCA on parasite burden and the score of individuals on the first axis of the PCA on mineral element concentrations according to population studied (in pink: TF with Pearson's correlation $R = 0.26$, $df = 85$, p -value = 0.02); in grey: CH with Pearson's correlation $R = 0.16$, $df = 101$, p -value = 0.11).

Thus, animals with the highest concentrations of most elements (except Mg, Zn, and Mo) were also the most parasitized (see Figure S5 in Supporting Information, which presents the global concentrations of mineral elements in individuals according to the burden of each parasite). This observed trend was the same for the two studied populations ([Figure 4c](#)) and between the four study years (see Figure S2 in Supporting Information). Nevertheless, there was a significant difference in the scores of individuals between TF and CH (Student's t test: $n = 190$, $t = -3.35$, $p \text{ value} < 0.001$), with higher scores at CH (i.e., reflecting a higher concentration of Ca and higher values of *Trichuris* sp. and protostrongylids at CH; see Table 1). Finally, for the PCAs on mineral element concentrations and parasite burden, individual scores on the first axis were negatively correlated with body mass (Pearson's correlation $R = 0.48$, $df = 188$, $p \text{ value} < 0.001$), indicating that individuals with low body mass have higher mineral element concentrations and a greater parasite burden.

We could not identify any significant association between mineral element concentrations in roe deer hair and parasite burden in CH (low RV = 0.051, $p \text{ value} = 0.15$; see comparison of the element concentrations and parasite burden between the three areas in Table S2, Supporting Information). Therefore, we did not carry out an intrasite analysis to compare the different areas of the site.

c. Relationships between immunological parameters and mineral element concentrations

The first principal component of the HSA for immunological parameters captured 40.44% of the total inertia and was much more important than all the following axes (see Figure S3c in Supporting Information), leading us to retain only this axis for interpretation. This axis was mainly represented by gamma-globulins and beta-globulins, which were positively correlated (Pearson's correlation $R = 0.51$, $df = 103$, $p \text{ value} < 0.001$; see [Figure 3c](#)), indicating a gradient opposing animals with high quantity of globulins (i.e. gamma-globulins and beta-globulins) to animals with low quantities. Although the Pearson correlation coefficient was high (i.e., $R=0.51$), we considered that there was no collinearity between the two globulins, in agreement with the findings of Dormann et al. (2013), who defined a collinearity threshold of $R=0.7$. Individual scores on the first axis were negatively correlated with body mass (Pearson's correlation $R = -0.22$, $df = 103$, $p \text{ value} = 0.03$), indicating that individuals with low body mass have higher globulin concentrations in their blood. Moreover, the individual scores on the first axis were greater at CH than at TF (Student's t test: $n = 105$, $t = -5.47$, $p \text{ value} < 0.001$; see Figure 2c); this difference is mostly explained by the greater concentrations of globulins at CH ([Table 1](#)). When we compared the scores among the areas at CH (see comparison of the globulin concentrations between the three areas in Table S2, Supporting Information), we found no detectable difference (Kruskal–Wallis test: $n = 51$, $H = 3.98$, $df = 2$, $p \text{ value} = 0.14$).

We then performed a coinertia analysis on the two tables containing mineral element concentrations and immunological parameters. There was a clear break in the decrease in the eigenvalues after the second axis (Axis 1: 53.85% of total inertia; Axis 2: 32.40% of total inertia; see Figure S6a in Supporting Information). We thus interpreted the first two axes. The association between these two tables was statistically significant, albeit weak ($RV = 0.069$, p value = 0.025). The interpretation of the two first coinertia axes confirmed the low correlation between the two tables (i.e., many large arrows; see Figure S6b in Supporting Information). Although the structure on the first two axes was much less clear than that in previous analyses, we could nevertheless identify a trend between mineral element concentrations and immunological concentrations.

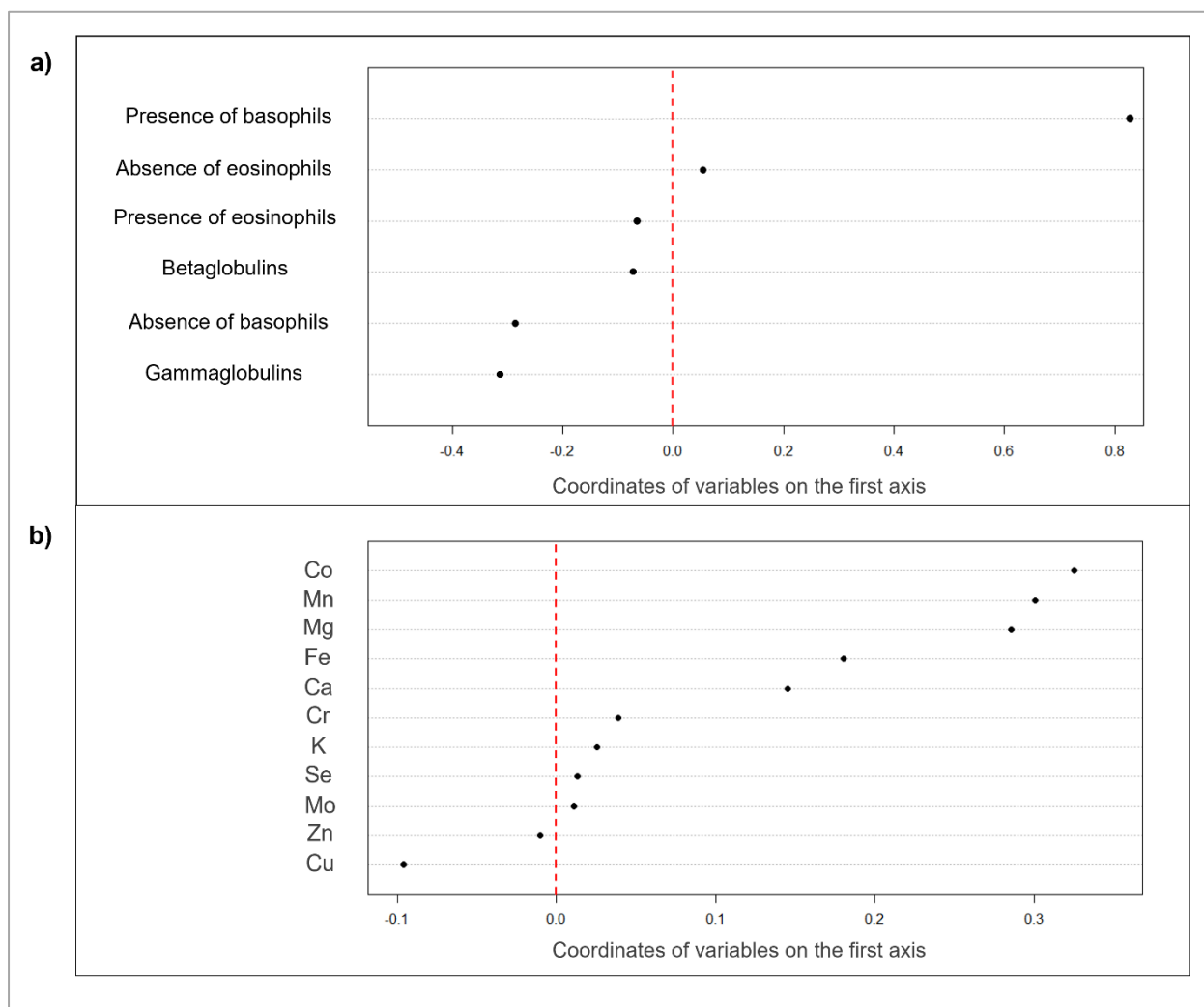


Figure 5: Co-inertia analysis of the two tables containing mineral element concentrations and immunological parameters, respectively. Coordinates of the variables on the first axis of the co-inertia analysis in the table containing immunological parameters and mineral element concentrations.

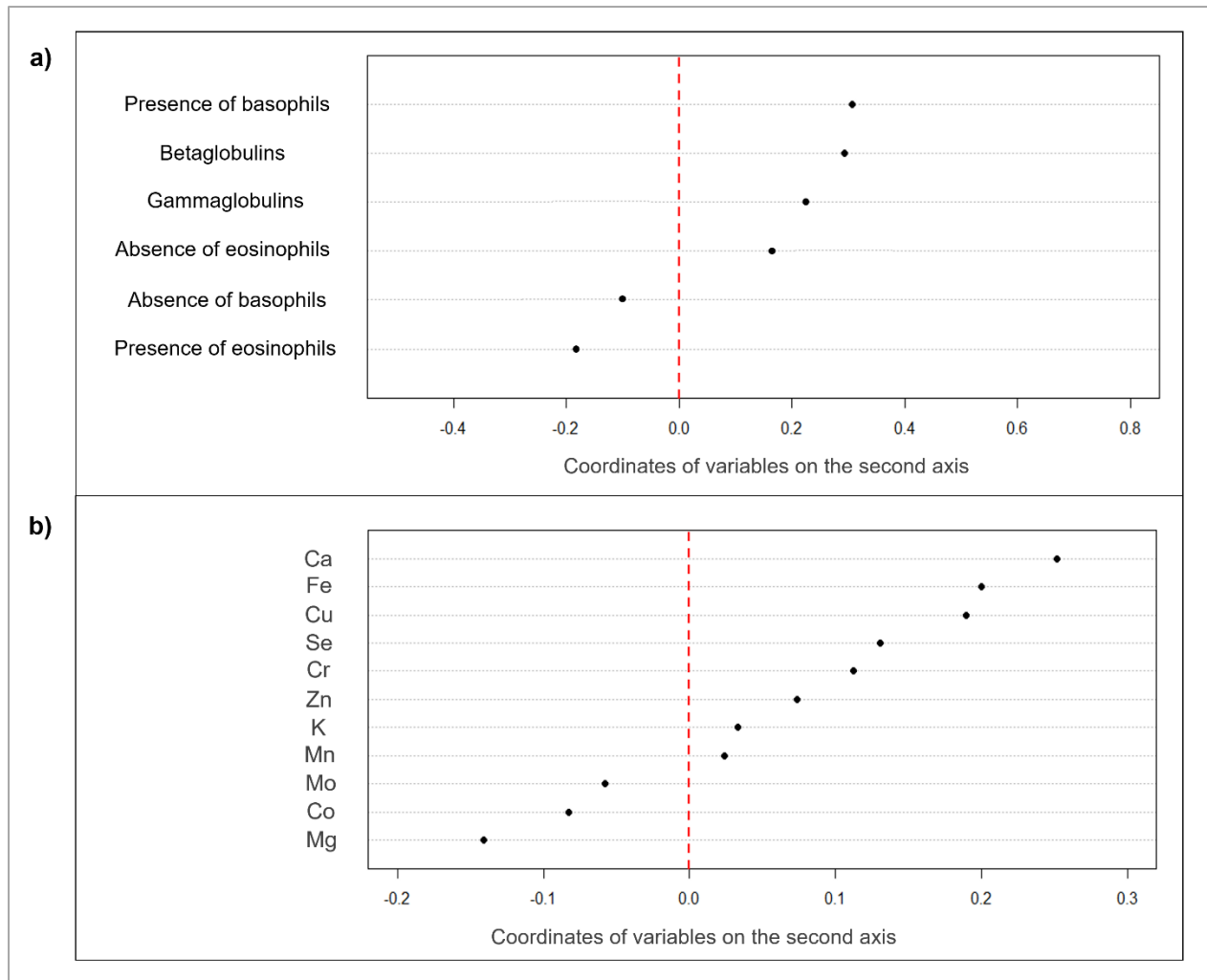


Figure 6: Co-inertia analysis of the two tables containing mineral element concentrations and immunological parameters, respectively. Coordinates of the variables on the second axis of the co-inertia analysis in the table containing immunological parameters and mineral element concentrations.

The first axis opposed animals with high concentrations of most mineral elements (mainly Co, Mn, Mg, Fe and Ca, visible by higher scores on the first axis) and presence of basophils in their blood to animals with the opposite characteristics (Figure 5). The second axis opposed animals with high concentrations of many mineral elements (i.e., Ca, Fe, Cu and, to a lesser extent, Se, Cr and Zn), presence of basophils and high concentrations of globulins in their blood to animals with the opposite characteristics (Figure 6). The observed trend seemed more pronounced in CH (see Figure 7 for the relationship between individual scores on the first axis of PCA on immunological parameters and individual scores on the first axis of PCA on mineral element concentrations). Individual scores also differed according to the studied population (Student's t test: $n = 105$, $t = 3.94$, $p \text{ value} < 0.001$ [Axis 1]; Axis 2: $n = 105$, $t = -4.16$, $p \text{ value} < 0.001$ [Axis 2]). Finally, body mass was not significantly related to the scores of individuals on the first axis of the coinertia analysis (Pearson's correlation $R = 0.13$, $df = 103$, $p \text{ value} = 0.19$), but it was related to the second

axis (Pearson's correlation $R = -0.20$, $df = 103$, p value = 0.04), indicating that individuals with lower body mass have higher concentrations of some mineral elements (i.e., Ca, Fe, Cu and, to a lesser extent, Se, Cr and Zn) associated with higher concentrations of globulins.

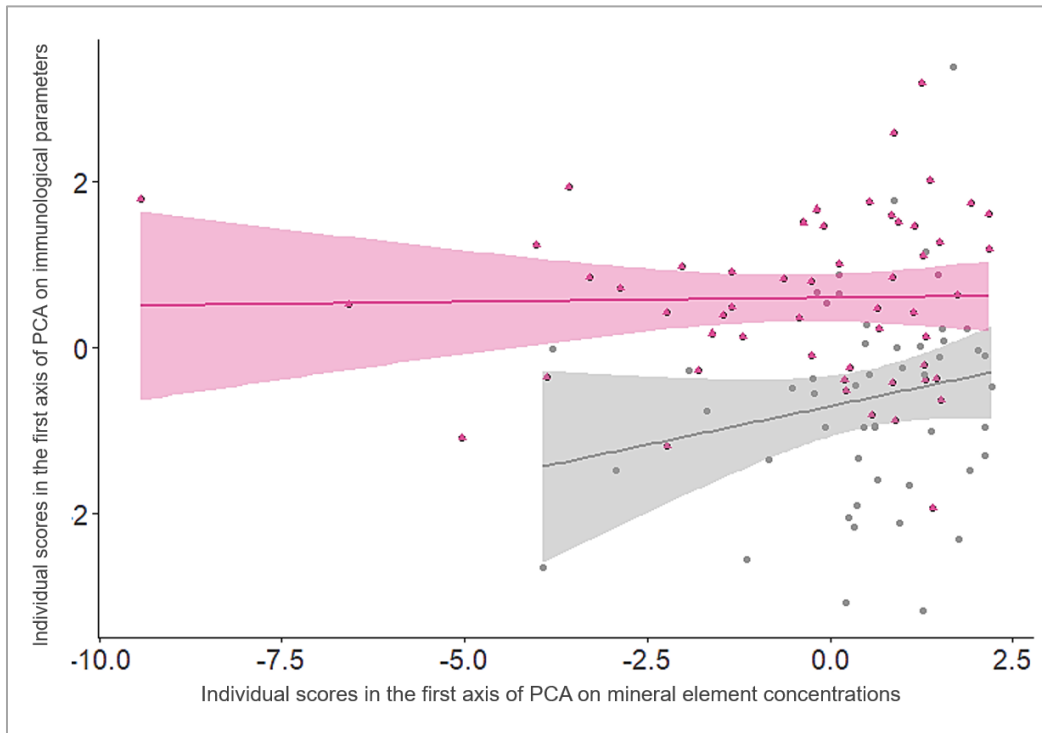


Figure 7: Relationship between the score of individuals on the first axis of the HSA on immunological parameters and the score of individuals on the first axis of the PCA on mineral element concentrations according to population studied. In pink: TF with Pearson's correlation $R = 0.023$, $df = 52$, p -value = 0.87. In grey: CH with Pearson's correlation $R = 0.21$, $df = 49$, p -value = 0.14.

2.6. Discussion

This study highlights how essential mineral element concentrations measured in hair, reflecting mineral status in autumn and the quality of the diet are related to winter parasite burden and immunological parameters in young roe deer from two populations subjected to different ecological contexts. Multivariate analyses revealed marked gradients for mineral element concentrations, parasite burdens, and immunological parameters and an overall positive association between essential elements and both parasites and immunity. Our results thus depict strong heterogeneity of individual phenotypes, with clear gradients opposing animals with low body mass associated with high concentrations of mineral elements (in particular, Ca, Fe, Cu, K, and Mn), high parasitic burden and high globulin concentrations to animals with the opposite characteristics, not supporting the P3 prediction (i.e., body mass being associated positively with mineral element concentrations and immunological parameters and negatively with parasite burden). In this study, we expected low concentrations of essential mineral elements to be associated with high parasite burdens (Suttle & Jones, 1989; Koski & Scott, 2001) and to play a role in immune defenses against

endoparasites (e.g., roles of Co, Mo; McClure, 2008). In contrast to our first expectation (P1), parasitism, especially GI strongyle and protostrongylid burdens, was positively associated with the concentrations of mineral elements, particularly Ca, Fe, Cu, K and Mn. Moreover, relationships between the concentrations of many minerals (i.e., Co, Mn, Mg, Fe, Ca, and Cu and, to a lesser extent, Se, Cr and Zn) and immunological parameters (mainly the presence of basophils but also globulins) were also detected, partly supporting our second hypothesis (P2). The results revealed similar positive relationships between mineral element concentrations and parasite burdens at both study sites (Figure 4c) and highlighted the positive relationships between the presence of basophils and many mineral elements (i.e., Co, Mn, Mg, Fe, Ca, and Cu) at CH. Only small differences in mineral element status were observed between populations, as the distributions of individual scores for the PCA of mineral element concentrations largely overlapped. These small differences included higher concentrations of Ca and lower concentrations of Mg, Co, Mn and Mo in individuals from CH than in those from TF (P4a). No difference was found among the three CH areas (P4b). Therefore, our fourth hypothesis (P4a) was only partially supported due to some differences observed between CH and TF for certain elements but not all. Although differences between males and females are known for mineral element status (Draghi et al., 2023), we did not find any effect of sex on our mineral element concentrations (except for copper). This result could be attributed to the studied age class and the measurement period, which do not reflect specific needs linked to sex, such as gestation or lactation, in adult females.

A parasitic infection caused by nematodes or coccidia is known to impact the host's capacity to absorb nutrients and can lead to weight loss (Maublanc et al., 2009; Ramana, 2012). Moreover, parasites such as GI strongyles can reduce food intake and the efficiency of different metabolic mechanisms, such as protein utilization in the host immune response (Coop & Holmes, 1996). Our observation of a greater parasite burden in young roe deer with a low body mass therefore seems to reflect these findings. However, in these individuals, the observation of higher mineral element concentrations is difficult to explain, given that they were rather expected to have lower mineral element concentrations (i.e., inappropriate concentrations to use for their immune defenses and/or a lower percentage of ingested elements reflecting their low body mass). Parasite infections can also induce behavioral changes in the host that may cause weight loss, meaning that not all parasite-associated weight loss occurs through direct parasite interference with nutrient absorption. One explanation for our result could be that the high mineral element content reflects the host's careful selection of food resources that are richer in mineral elements. A host with a low body mass could indeed become more selective by targeting food that can minimize the risk of infection or that is rich in antiparasitic compounds (Kyriazakis et al., 1998). Although no studies have documented this phenomenon in wild ungulates, a study in sheep showed that individuals parasitized by nematodes chose a diet containing a greater proportion of nutrients (Cooper, 1996). The appetite of roe deer for plant species varies according to several criteria, e.g., composition of the overall vegetation, abundance of species, state

of satiety, and chemical composition of the plants (Barrere et al., 2022), and certainly according to their health, as shown for sheep (Cooper, 1996). As a result, roe deer can select plants or parts of plants of different nutritional qualities depending on their parasitic status. Furthermore, the selection of foods richer in mineral elements has already been established in birds. Indeed, a study of insectivorous birds in Australia showed that the nutritional quality of insects plays an important role in food selection because, among the range of available prey, birds mainly choose those richest in mineral elements (i.e., containing high concentrations of Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, and Zn; Razeng & Watson, 2015) to maximize energy intake (Kaspari & Joern, 1993; McCarty & Winkler, 1999) and specific nutrients for their metabolism (Graveland & Van Der Wal, 1996; Naef-Daenzer et al., 2000). These elements could thus be important determinants of food choice, and this could also be the case for roe deer, particularly for parasitized ones. Indeed, mineral elements such as Co, Cr, Cu, Fe, and Mn are likely to be involved in immunity directly or indirectly via their roles in other physiological systems that regulate immunity (Larsen et al., 1988; Cerone et al., 1995; Park et al., 2004; McClure, 2008; Lequeux, 2016), which may suggest selection of foods richer in these elements to activate the immune system against parasites. This could thus explain why we observed higher concentrations of mineral elements in the parasitized young roe deer. It would be interesting to verify this finding by including diet data (i.e., mineral element content) from roe deer to better understand the link between the use of resources by individuals and their mineral element profile.

Moreover, Cygan-Szczegielniak (2021) reported significant correlations between the concentrations of both mineral elements and toxic metals measured in different organs (i.e., muscle, liver and kidneys) and in the hair of red deer (*Cervus elaphus*). For instance, hair concentrations were correlated with renal concentrations for Fe, Mg, Mn, and Cu, and hair concentrations were correlated with hepatic concentrations for Cd and Pb. However, the associations were positive in some cases (i.e., Fe, Mn, Cu) but negative in others (i.e., Na, Ca, Mg, Pb and Cd) (Cygan-Szczegielniak, 2021). Conversely, in wood mice (*Apodemus sylvaticus*) sampled along a soil metal pollution gradient, positive correlations have been detected between Cd and Pb concentrations in hair and in the liver and/or kidneys, although the associations were weak for Cd and stronger for Pb (Tête et al., 2014). In another study conducted on wood mice sampled along the same pollution gradient, Powolny et al. (2019) reported positive relationships between concentrations in blood and in the liver and/or kidneys for Cd, Fe, Mo, Pb, Tl and Zn, while no significant correlations were detected for Cu or Ti (Powolny et al., 2019). Cygan-Szczegielniak (2021) stressed that accumulation in a specific tissue or organ may be linked to an increase or a decrease in the elemental concentrations in another part of the body, but such processes are influenced by the complex mechanisms of toxicokinetics and toxicodynamics (e.g., variable elimination rates in different tissues, metal binding to organic or inorganic molecules), age, sex and body condition, and temporal variation in the uptake of elements from environmental sources (Powolny et al., 2019). Therefore, it would be interesting to compare our results with

measurements of mineral concentrations in other organs, such as the liver, to determine whether the same tendency occurs with respect to parasitism.

We found associations between many mineral elements (i.e., Co, Mn, Mg, Fe, Ca, and Cu) and several immunological parameters, mainly basophils but also globulins (i.e., verifying the second prediction P2), in young roe deer with low body mass. Basophils are granulocytes that are rarely found in blood under homeostatic conditions. Nevertheless, the frequency of these cells in the blood increases in peripheral tissues, and they play important roles in type 2 immune responses, such as allergic inflammation and helminth infections (Obata-Ninomiya et al., 2020). As already mentioned, parasitic infections elicit a type 2 response and an increase in antibody (or immunoglobulin) levels, which can be followed by those of beta- and gamma-globulin fractions. Therefore, in our study, young roe deer, which have a low body mass and a high parasite burden, probably exhibited an adaptive immune reaction (Gilot-Fromont et al., 2012). The positive correlation between the concentrations of immunological parameters and the concentrations of mineral elements (i.e., Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, and Se) may thus reflect the essential role of these elements in the development of optimal immune responses during parasitic infections (Strain et al., 2002; Stear et al., 2003; Lee et al., 2011; Aboshady et al., 2020). Indeed, as a reminder, they function in the maintenance of physical barriers (skin and mucous membranes), cell differentiation and proliferation, inflammation, antioxidant protection (i.e. protein secretion), and, more generally, the regulation or triggering of immune responses (Hughes & Kelly, 2006; McClure, 2008; Paul & Dey, 2015). For instance, magnesium deficiency could be associated with inadequate immune modulation (Kubenam, 1994) and selenium deficiencies could lead to a loss of immune competence (Spallholz et al., 1990; Rivera et al., 2003; Powolny et al., 2023).

Conversely, a positive relationship between mineral element concentrations and immunological parameters in young roe deer was found mainly at CH (i.e., greater slope in Figure 7) relative to TF. However, a positive relationship between mineral element concentrations and parasite burdens was found at both study sites, despite the marked differences in environmental conditions. Overall, at CH, as at TF, individuals with low body mass exhibiting the highest mineral element concentrations also displayed the highest parasite burdens. This is surprising because the environments the two populations inhabit differ in several parameters, such as the quantity and quality of resources or the soil composition. Some of these differences are reflected in the concentrations of some mineral elements, with more Mg, Co, Mn, and Mo (i.e., microelements) at TF and more Ca at CH. It is also surprising that no difference is visible within the CH site, but this is probably due to the amount of data, which are not balanced between the sites. The forest at TF is highly productive, with abundant and high-quality forage, whereas at CH, the forest is limited by low resource availability (Pettorelli et al., 2006; Gaudry et al., 2018). Forest productivity is known to be strongly dependent on soil quality, including mineral element composition (Ranger 2018). Despite the fact that the soil is calcareous at both sites, it is deeper and more fertile at TF than at CH, where it is stonier and

shallower and where limestone patches prevent roots from growing deeper into the ground. A soil is the most fertile when it has nutrients (e.g., mineral elements) in sufficient quantities. This could explain why there was more of some mineral elements at this study site. However, at present, we do not have data verifying that environmental conditions (i.e., soil composition and food resources) influence mineral element concentrations in roe deer hair. Therefore, further investigations are still needed to better understand these complex interactions.

Most of the literature that has focused on dietary deficiencies and their effects on animal health comes from veterinary research and relates to livestock (Parkins & Holmes, 1989; Droke & Spears, 1993; Coop & Holmes, 1996; McClure, 2008). In wildlife, it is much more difficult to properly assess a species' requirement for essential mineral elements and to determine the threshold at which an individual can be considered to suffer from a deficiency. Studying wild populations is challenging because of the limited access to these animals and the limited opportunities to follow them for long periods (Wilson & McMahon, 2006). Therefore, our study provides novel information suggesting that a high parasite burden could predispose young roe deer with low body mass to have higher metabolic requirements associated with immunity, possibly leading to increased mineral element intake through increased food selection (i.e., rich in mineral elements). In addition, our study showed that an immune reaction, possibly following an infection, i.e., high concentrations of basophils and globulins, is related to high concentrations of mineral elements, which may reflect the importance of these essential elements in the mobilization of the immune system. We thus provide a potential explanation for the observed link between the concentrations of mineral elements and parasite burden/immunological parameters, considering that all the studied elements can impact metabolism if they are present at inadequate concentrations. However, our results are correlative and do not prove causality. We are aware that each element has a different function in the body (see McClure, 2008) and that we cannot link all the elements in the same way to immune function or defense against parasites. It also remains difficult to conclude that a deficiency in a mineral element leads to a decrease in immunity based on our data. Indeed, there is no current concentration threshold to refer to, and the use of hair to assess mineral element concentrations could mask a possible deficiency (i.e., due to an accumulation pattern throughout the growth of hair). A study is nevertheless currently ongoing to establish reference values for roe deer using data on the concentrations of 22 mineral elements from 542 individuals (Herrada & Bariod et al. in revision). We are also aware that our variables were measured at different periods (e.g., autumn for hair versus winter for feces) and that we do not have quantitative information on the diet of individuals. Hence, specific studies on diet quality are needed, and measuring all variables at the same time is necessary to confirm our results, as is taking into account possible annual differences, which may reflect the effect of climate, for example. Moreover, in the study by Draghi et al. (2023), age-related patterns of trace element accumulation were found. Potential age- and even sex-related differences in mineral element

concentrations should not be discarded, and it would be interesting to conduct the same study in older animals, which have different physiological needs (e.g., production of secondary sexual characteristics in males or pregnancy/lactation in females), to determine whether similar trends occur.

2.7. Acknowledgments

We are grateful to the volunteers and technicians for participating in the captures and data collection at Trois-Fontaines and Chizé (France). We would like to address special thanks to Maryline Pellerin for her coordination of scientific studies. We thank Caroline Amiot and Nadia Crini for the analysis of the hair samples at the Chrono-Environnement laboratory. We are also grateful to Stéphane Dray for his help about the statistical analyses, and to Jean-Michel Gaillard for comments on previous drafts of this manuscript. Finally, we thank the proofreaders of AJE (<https://secure.aje.com/en/certificate>) who have agreed to read this manuscript.

This study is part of the long-term Studies in Ecology and Evolution (SEE-Life) program of the CNRS. It was supported by the VetAgro Sup, and the ‘Office Français de la Biodiversité’ (OFB) under partnership agreement CNV20.0943. It was also carried out thanks to the financial support of the IDEXLYON Project of the University of Lyon within the framework of the "Investment for the Future" Program (ANR-16-IDEX-0005). There was no additional external funding received for this study. The authors are employed by VetAgro Sup, LBBE and OFB and then, had role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

2.8. Supplementary material

Appendix 1

Table S1: **A)** Distribution of sampling according to month and year by study site and **B)** relationships (LM) between the Julian date and the score of individuals on the first axis of the PCA for the mineral elements and the parasitic burden, or on the first axis of the HSA for the immunological parameters. In bold: statistically significant p-value.

A)

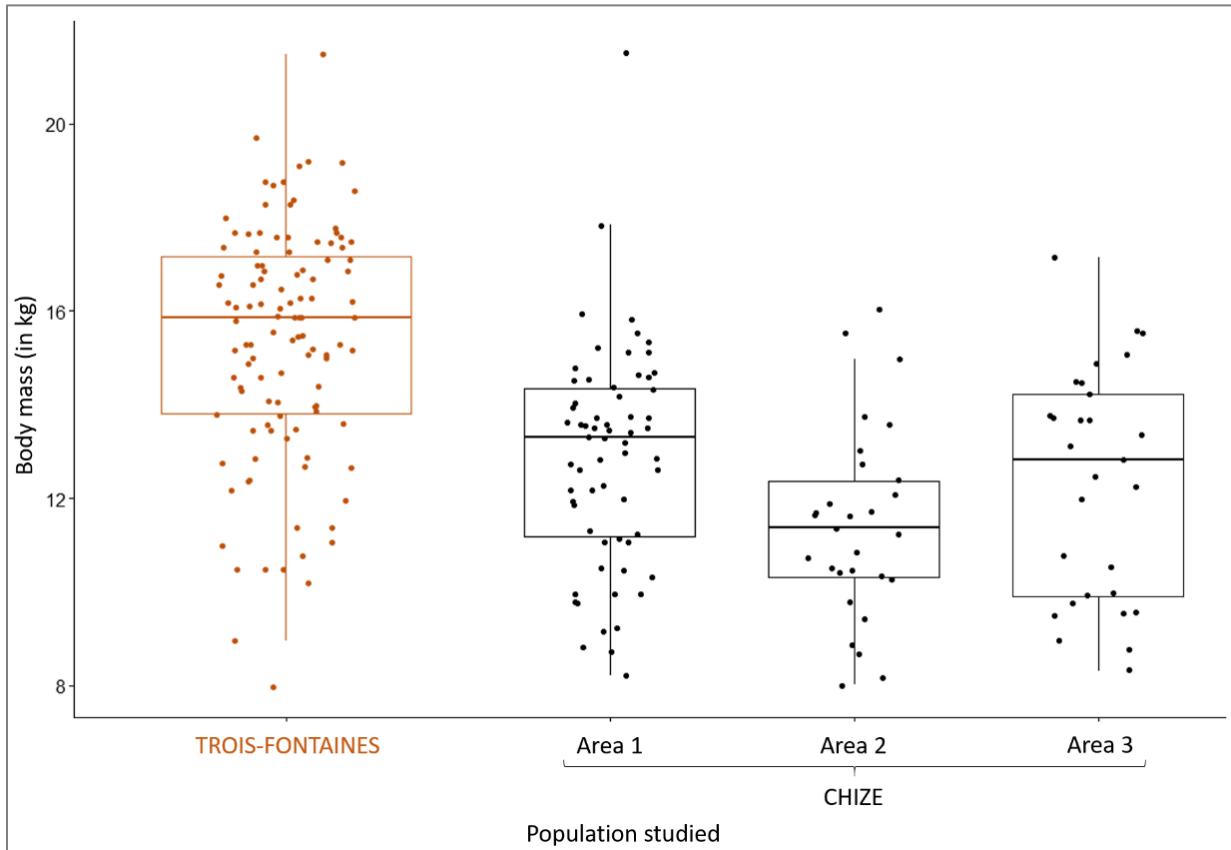
		Trois-Fontaines			Chizé		
		Hair samples	Feces samples	Blood samples	Hair samples	Feces samples	Blood samples
2016	January	7	7	7	8	7	8
	February	17	16	15	8	3	7
	March	0	0	0	5	5	5
2017	January	10	7	6	21	20	7
	February	25	18	12	16	14	2
	March	0	0	0	3	3	2
2018	January	8	8	0	8	7	2
	February	14	12	0	12	11	6
	March	0	0	0	13	7	2
2019	January	8	5	3	2	2	0
	February	22	16	11	19	16	6
	March	0	0	0	7	6	4

B)

Individual scores		Julian date effect	
		Estimate ± SD	P-value
Trois-Fontaines	Mineral elements	-0.02 ± 0.01	0.08
	Parasite burdens	0.003 ± 0.008	0.97
	Immunological parameters	-0.0007 ± 0.01	0.94
Chizé	Mineral elements	-0.02 ± 0.008	0.003
	Parasite burdens	-0.01 ± 0.008	0.13
	Immunological parameters	-0.02 ± 0.008	0.48

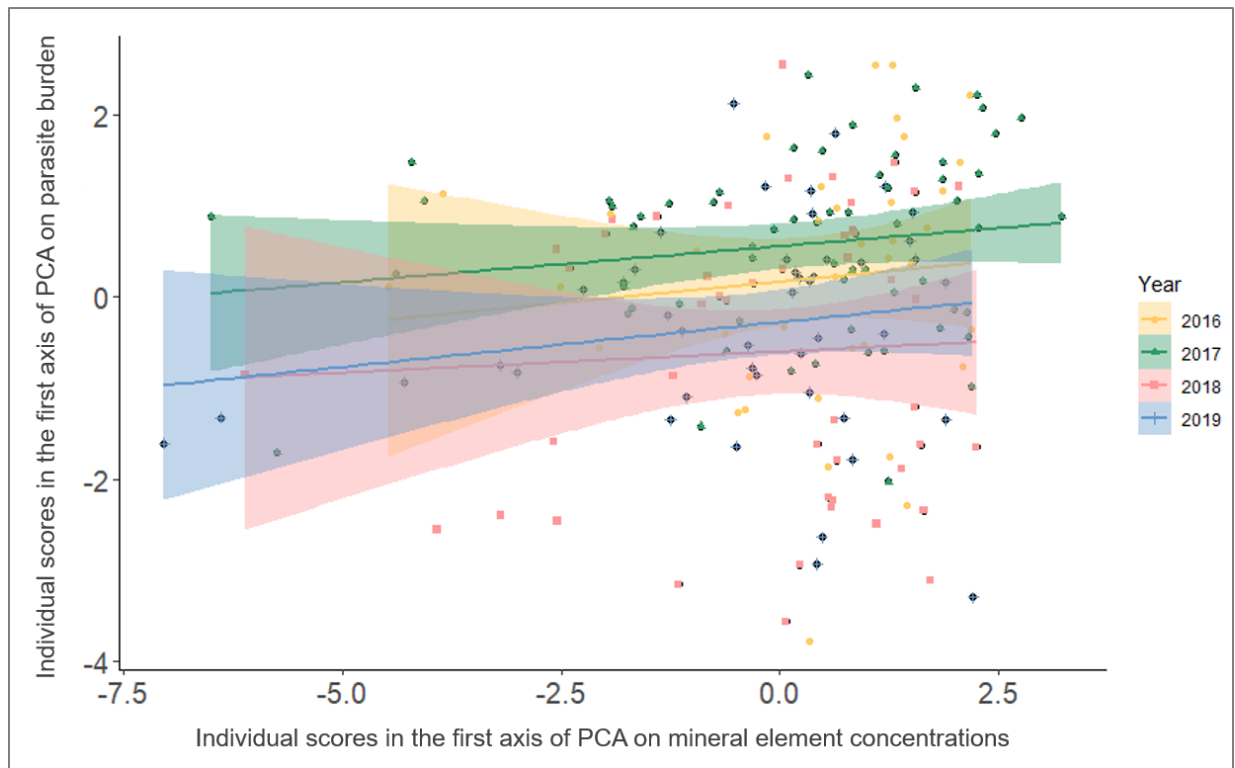
Appendix 2

Figure S1: Body mass of the roe deer according to the study site (Trois-Fontaines in orange, n = 111; Chizé in black, n = 122) and the areas of Chizé (Area 1, n = 64; Area 2, n = 29; Area 3, n = 29). The horizontal line in the box corresponds to the median.



Appendix 3

Figure S2: Relationship between the score of individuals on the first axis of the PCA on parasite burden and the score of individuals on the first axis of the PCA on mineral element concentrations according to the study year (in yellow: 2016 with Pearson's correlation $R = 0.11$, $df = 36$, p -value = 0.53; in green: 2017 with Pearson's correlation $R = 0.16$, $df = 60$, p -value = 0.20; in red: 2018 with Pearson's correlation $R = 0.03$, $df = 43$, p -value = 0.84; in blue: 2019 with Pearson's correlation $R = 0.16$, $df = 43$, p -value = 0.28).



Appendix 4

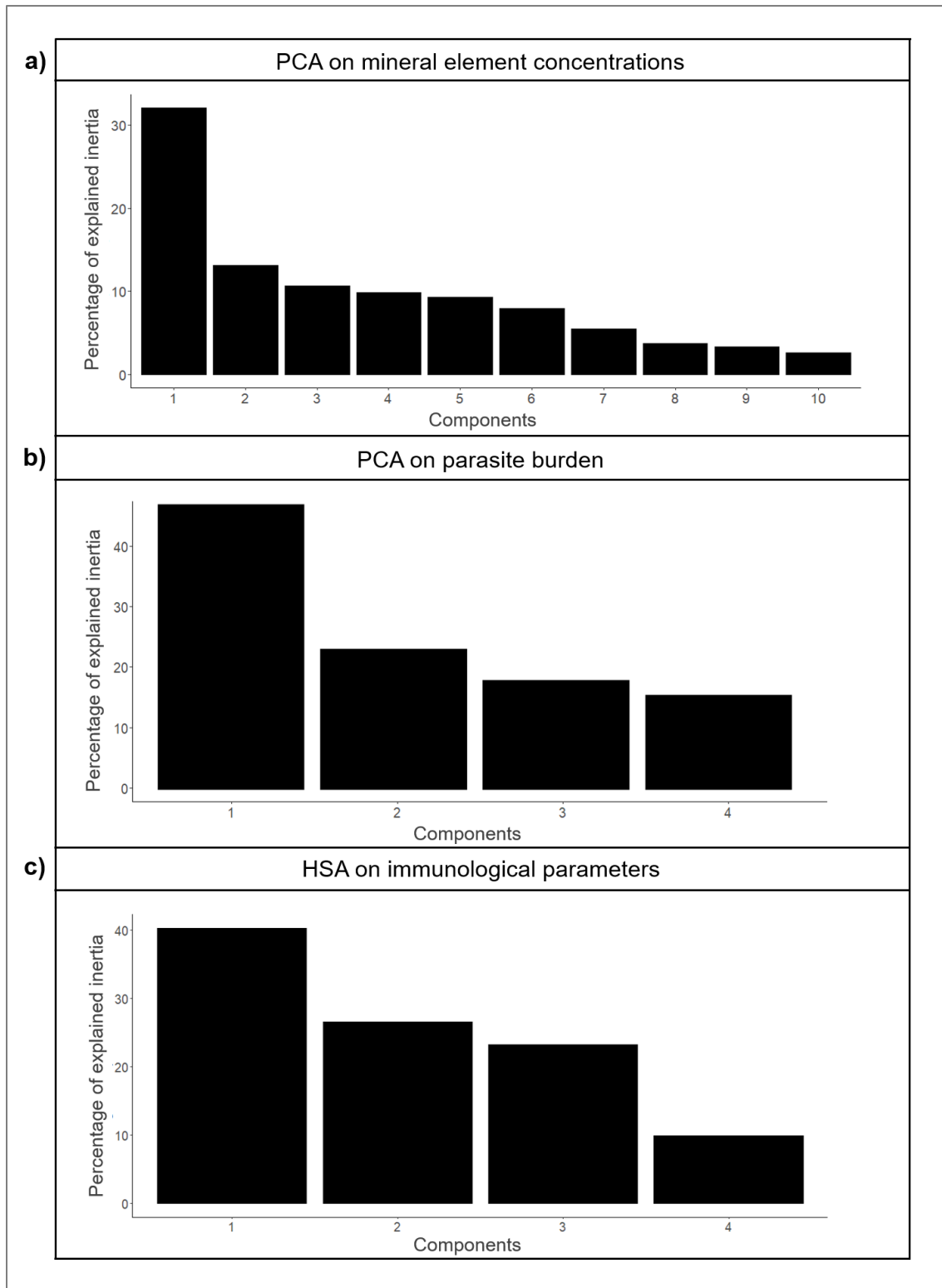


Figure S3: Decomposition of the variance among principal components of the Principal Component Analysis or the Hill & Smith Analysis on (a) mineral element concentrations, (b) parasite burden, (c) immunological parameters, expressed as the percentage of inertia explained by each component.

Appendix 5

Table S2: Comparison between the three areas in Chizé of (A) the mineral element concentrations (median, mean +/- sd [min-max]; in µg/g of dry mass) measured in roe deer hair samples (n[Area1] = 64, n[Area2] = 29, n[Area 3] = 29), (B) the parasite burden (median, mean +/- sd [min-max]; in egg per gram of feces for Gastro-intestinal strongyles, *Trichuris* sp.; in oocysts per gram of feces for *Eimeria* sp. and in larvae per gram of feces for Protostrongylids; n[Area1] = 51, n[Area2] = 26, n[Area 3] = 26), (C) the concentration (median, mean +/- sd [min-max]; in g/L) of immunological parameters (n[Area1] = 27, n[Area2] = 8, n[Area 3] = 16). In bold: statistically significant differences in element concentration between the two populations. We implemented the Holm's multiple testing correction procedure for the p-values estimation (see Legendre and Legendre, 1998).

	Area 1		Area 2		Area 3		Kruskal-Wallis		Dunn's test			
	Median	Mean ± sd [Min-Max]	Median	Mean ± sd [Min-Max]	Median	Mean ± sd [Min-Max]	Chi ²	P-value	1-2	1-3	2-3	
MINERAL ELEMENT CONCENTRATIONS	Calcium (Ca)	554.88	692.31 ± 556.19 [337.23-4562.76]	521.45	808.06 ± 852.18 [316.02-4889.71]	557.12	629.92 ± 328.33 [320.17-1964.54]	0.66	0.72		-	
	Cobalt (Co)	0.03	0.04 ± 0.02 [0.01-0.12]	0.03	0.03 ± 0.02 [0.01-0.11]	0.02	0.03 ± 0.02 [0.01-0.07]	2.79	0.25		-	
	Chromium (Cr)	0.15	0.2 ± 0.15 [0.04-0.79]	0.18	0.18 ± 0.09 [0.06-0.39]	0.17	0.29 ± 0.32 [0.06-1.61]	1.04	0.59		-	
	Copper (Cu)	6.55	6.52 ± 0.75 [5.16-9.26]	6.54	6.63 ± 0.63 [5.4-8.16]	6.27	6.99 ± 2.21 [5.49-17.28]	0.65	0.72		-	
	Iron (Fe)	58.4	80.96 ± 57.77 [25-291]	57.13	69.19 ± 44.12 [27.9-241.62]	56	75.50 ± 45.50 [19.62-182.5]	0.41	0.82		-	
	Potassium (K)	4667.79	4741.30 ± 1452.78 [2218.78-11201.21]	5563.25	5625.14 ± 2134.96 [2390.94-13437.72]	3897.54	4265.76 ± 1447.51 [2458.62-10246.87]	11.93	0.003	0.06	0.16	0.003
	Magnesium (Mg)	192.25	248.92 ± 184.02 [60.47-918.13]	198.16	319.68 ± 356 [79.13-1961.22]	206.39	234.33 ± 134.46 [62.74-564.26]	0.77	0.68		-	
	Manganese (Mn)	2.55	3.66 ± 3.19 [0.68-17.03]	2.78	5.88 ± 12.94 [0.81-71.73]	2.32	3.38 ± 2.70 [0.91-12.36]	0.47	0.79		-	
	Molybdenum (Mo)	0.03	0.03 ± 0.01 [0.01-0.08]	0.03	0.04 ± 0.02 [0.02-0.12]	0.05	0.23 ± 0.76 [0.02-3.88]	19.19	< 0.001	0.07	< 0.001	0.18
	Selenium (Se)	0.16	0.22 ± 0.15 [0.07-0.71]	0.27	0.30 ± 0.19 [0.09-0.87]	0.36	0.38 ± 0.26 [0.08-1.34]	13.85	< 0.001	0.07	0.002	0.5
Zinc (Zn)	74.07	74.67 ± 11.76 [52.08-110.13]	77.95	79.43 ± 13.25 [56.38-104.94]	72.21	73.74 ± 15.53 [48.4-115.87]	3.39	0.18		-		
PARASITE BURDENS	GI Strongyles	7.5	26.62 ± 44.83 [0-270]	30	39.81 ± 42.78 [0-135]	30	33.17 ± 39.18 [0-165]	4.20	0.12		-	
	<i>Trichuris</i> sp.	15	80.74 ± 137.29 [0-480]	52.5	202.21 ± 440.41 [0-2160]	120	133.85 ± 133.92 [0-465]	5.10	0.08		-	
	<i>Eimeria</i> spp.	7.5	303.68 ± 1052.72 [0-6855]	75	174.52 ± 293.24 [0-1185]	22.5	289.90 ± 604.78 [0-2385]	3.10	0.21		-	
	Protostrongylids	3.33	50.38 ± 159.28 [0-900]	19.25	72.21 ± 174.42 [0-673.6]	7	54.29 ± 129.31 [0-613.3]	3.18	0.20		-	
IMMUNOLOGICAL PARAMETERS CONCENTRATIONS	Betaglobulins	6.2	6.28 ± 0.7 [5.2-8.3]	6	6.14 ± 1.06 [5-8.5]	5.5	5.97 ± 2.19 [3.3-12.9]	6.15	0.05		-	
	Gammaglobulins	19.40	20.26 ± 6.01 [11.2-34.9]	15.65	16.28 ± 2.99 [12-21.8]	16.1	17.15 ± 4.91 [9-25.6]	4.58	0.1		-	
	Basophils	0	0.01 ± 0.03 [0-0.1]	0	0.01 ± 0.03 [0-0.06]	0	0.01 ± 0.02 [0-0.06]	2.8	0.25		-	
	Eosinophils	0.05	0.05 ± 0.06 [0-0.21]	0.08	0.15 ± 0.21 [0-0.6]	0	0.04 ± 0.08 [0-0.27]	0.17	0.92		-	

Appendix 6

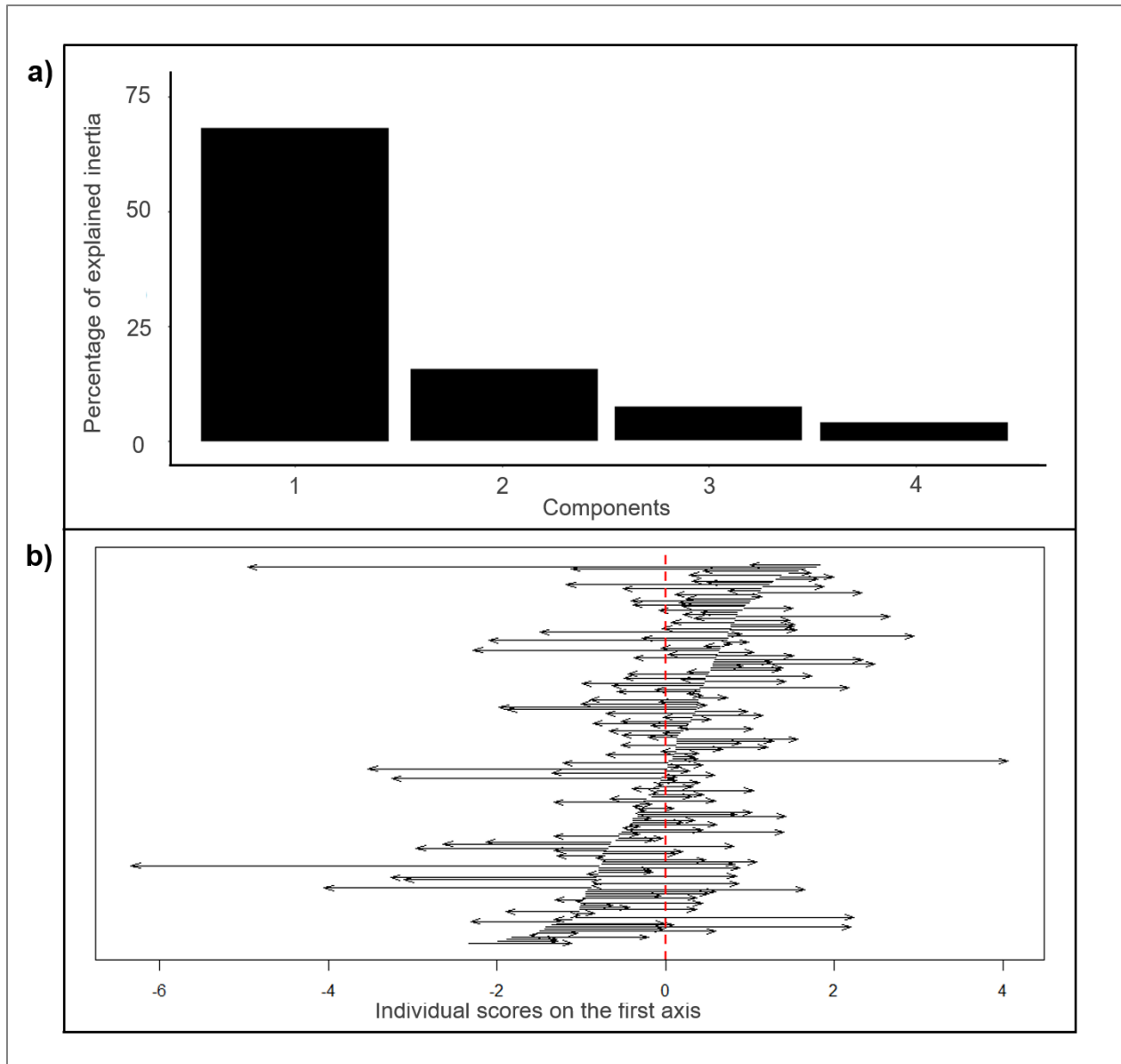


Figure S4: Co-inertia analysis of the two tables containing mineral element concentrations and parasite burden, respectively. **(a)** Eigenvalues diagram of the analysis; the eigenvalues are presented as the percentage of co-inertia explained by each axis (first axis selected for interpretation). **(b)** Individual scores from smallest to largest in the co-inertia plan: mineral element concentration (origin of arrows) and corresponding linear combination of parasite burden data (extremity of arrows). As the co-inertia analysis finds two linear combinations of the variables of the two tables that are characterized by the largest covariance, a high correlation between the two tables is characterized by a short arrow (i.e. many individuals having a similar score calculated from the two tables).

Appendix 7

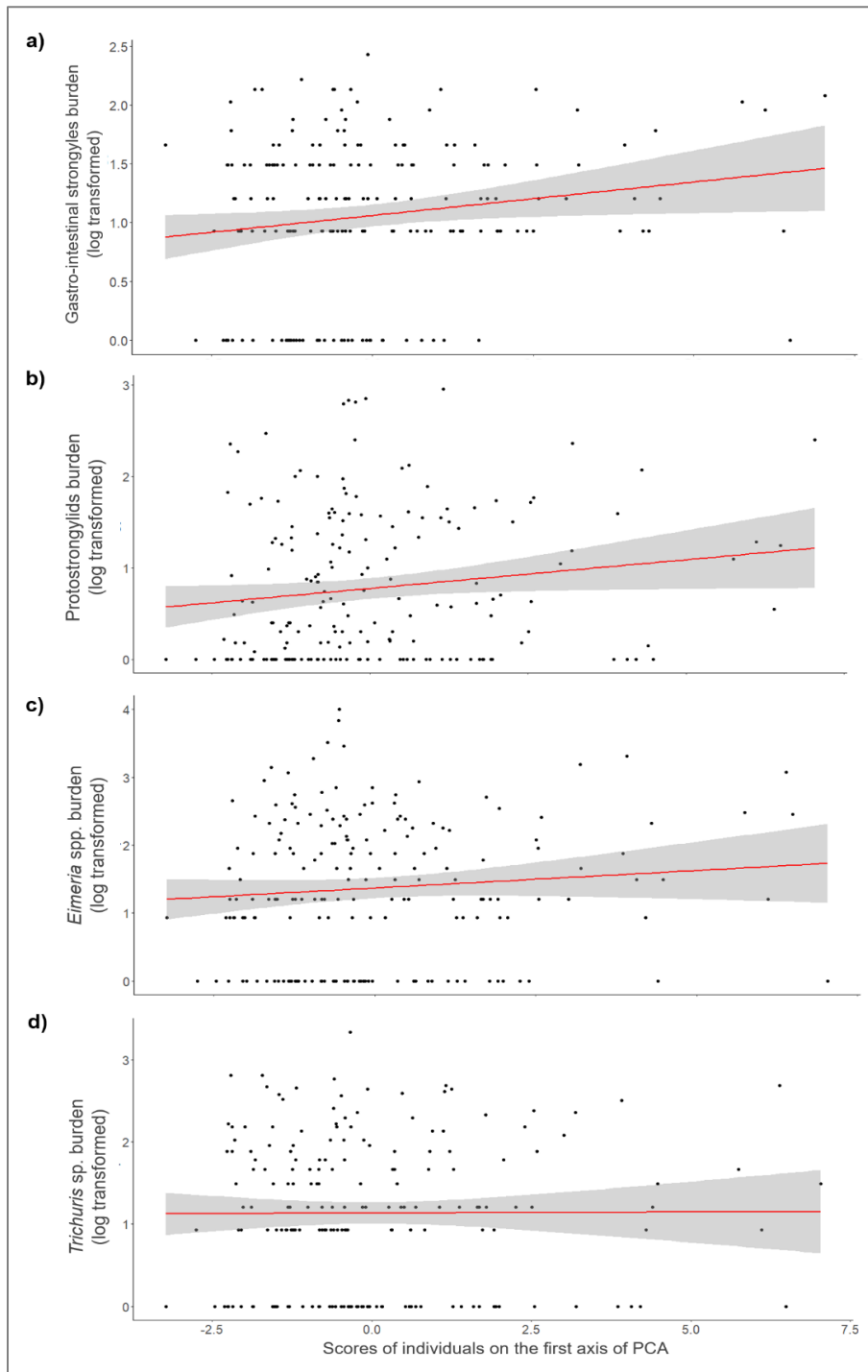


Figure S5: Relationship between the score of individuals on the first axis of the Principal Component Analysis on mineral elements and parasite burden, respectively, according to each parasite studied: (a) Gastro-intestinal strongyles (Pearson's correlation $R = 0.16$, $df = 188$, $p\text{-value} = 0.03$), (b) Protostrongylids (Pearson's correlation $R = 0.15$, $df = 188$, $p\text{-value} = 0.04$), (c) *Eimeria* sp. (Pearson's correlation $R = 0.09$, $df = 188$, $p\text{-value} = 0.19$), (d) *Trichuris* sp. (Pearson's correlation $R = 0.001$, $df = 188$, $p\text{-value} = 0.99$).

Appendix 8

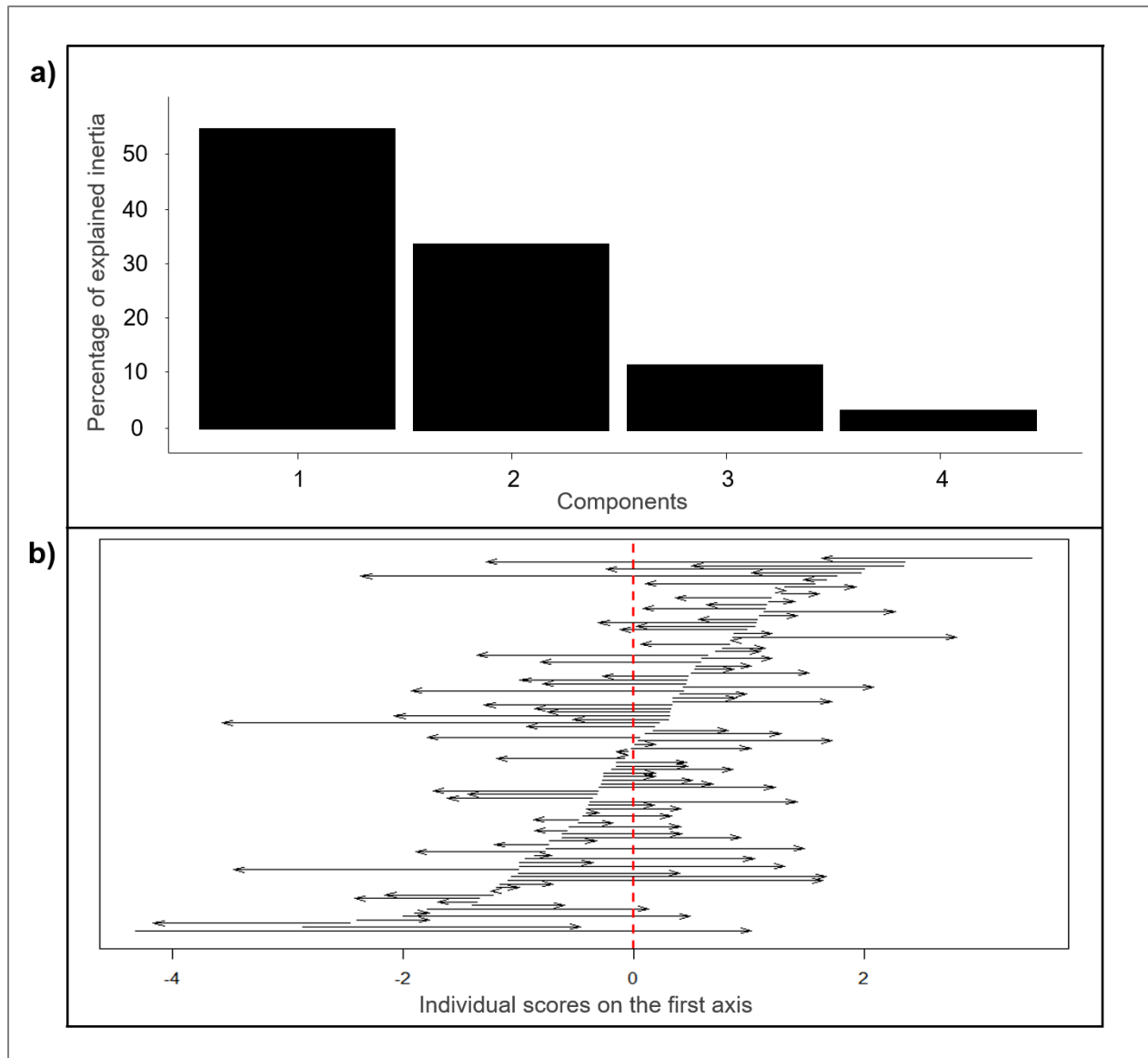


Figure S6: Co-inertia analysis of the two tables containing mineral element concentrations and immunological parameters, respectively. **(a)** Eigenvalues diagram of the analysis; the eigenvalues are presented as the percentage of co-inertia explained by each axis (two first axes selected for interpretation). **(b)** Individual scores from smallest to largest in the co-inertia plan: mineral element concentration (origin of arrows) and corresponding linear combination of parasite burden data (extremity of arrows). As the co-inertia analysis finds two linear combinations of the variables of the two tables that are characterized by the largest covariance, a high correlation between the two tables is characterized by a short arrow (i.e. many individuals having a similar score calculated from the two tables).

CHAPITRE 4 : STRUCTURE SPATIALE DU PARASITISME AU SEIN D'UNE POPULATION D'HÔTES



1. Structure spatiale de la charge parasitaire des chevreuils à Chizé – ARTICLE 3

1.1. Titre de l'article et auteurs

Spatial pattern of parasite burden in roe deer in a heterogeneous habitat

Léa Bariod^{1,2,3*}, Sonia Saïd³, Hubert Ferté⁴, Slimania Benabed¹, Hervé Bidault⁵, Jeanne Duhayer², Sylvia Pardonnet², Gilles Bourgoïn^{1,2}

1. Université de Lyon, VetAgro Sup - Campus Vétérinaire de Lyon, Laboratoire de Parasitologie Vétérinaire, Marcy-L'Etoile, France
2. Université de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, Villeurbanne, France
3. Office Français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui Scientifique, Service « Conservation et Gestion des Espèces à Enjeux », « Montfort », Birieux, France
4. EA 7510, ESCAPE -Vecpar, UFR de Pharmacie, Université de Reims, Champagne-Ardenne, Reims, France
5. Office Français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui Scientifique, Service « Conservation et gestion durable des espèces exploitées », Chizé, France

***Corresponding author**

E-mail adress: bariod.lea@orange.fr

En relecture auprès des co-auteurs.

1.2. Résumé en français et en anglais

Français

La répartition spatiale des infestations parasitaires dépend de facteurs abiotiques comme les caractéristiques végétales du milieu, ou de facteurs biotiques comme la susceptibilité des hôtes. Les habitats et les ressources sont utilisés de manière hétérogène entre les individus, leur statut parasitaire influençant notamment leur alimentation et leur comportement spatial. Cependant, cette hétérogénéité d'infestation a principalement été évaluée à grande échelle spatiale. Peu d'études se sont intéressées à l'hétérogénéité spatiale du parasitisme chez les animaux sauvages, notamment au sein d'une population et d'un site. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'influence de la qualité de l'habitat comme déterminant spatial de la charge parasitaire au sein d'une population de chevreuils vivant dans un environnement hétérogène en termes de ressources. On s'attend à observer les individus les plus parasités dans l'habitat le plus pauvre. Nous avons collecté 1469 échantillons fécaux pour mesurer la charge parasitaire sur 952 chevreuils capturés

entre 1996 et 2020 à Chizé (France), un site d'étude stratifié en deux secteurs contrastés en termes de qualité des ressources. Nous avons quantifié l'impact du secteur sur le parasitisme après avoir pris en compte les influences possibles de l'âge, du sexe, de la masse corporelle et de la date julienne. Une relation négative a été trouvée entre la masse corporelle de l'hôte et la charge parasitaire de chaque parasite étudié. Il y avait plus d'individus parasités dans le secteur le plus pauvre, mais l'intensité de la charge parasitaire n'était pas influencée par le secteur. Ces résultats suggèrent qu'une hétérogénéité spatiale est présente au sein d'une population, probablement en raison de la différence de qualité de l'habitat, montrant la nécessité d'étudier le parasitisme à des échelles plus fines.

Mots clés : Hétérogénéité de l'infestation, Distribution des parasites, Ressources, Type de végétation

Anglais

Spatial distribution of parasitic infestations depends on abiotic factors such as the plant characteristics of the environment, or on biotic factors such as host susceptibility. Habitats and resources are used heterogeneously between individuals, with their parasitic status influencing their diet and spatial behavior in particular. However, this heterogeneity of infestation has mainly been evaluated on a large spatial scale. Few studies have focused on the spatial heterogeneity of parasitism in wild animals, particularly within a population and a site. The objective of this study is to evaluate the influence of habitat quality as a spatial determinant of parasite burden within a population of roe deer living in a heterogeneous environment in terms of resources. We expect to observe the most parasitized individuals in the poorest habitat. We collected 1469 fecal samples to measure the parasite burden on 952 roe deer captured between 1996 and 2020 in Chizé (France), a study site stratified into two contrasting sectors in terms of resource quality. We quantified the sector's impact on parasitism after taking into account the possible influences of age, sex, body mass and Julian date. A negative relationship was found between host body mass and parasite burden of each parasite studied. There were more parasitized individuals in the poorer sector, but the intensity of the parasite burden was not influenced by the sector. These results suggest that spatial heterogeneity is present within a population, probably due to difference in habitat quality, showing the need to study parasitism at finer scales.

Key words: Heterogeneity of infestation, Parasite distribution, Resources, Vegetation type

1.3. Introduction

Studying the ecology of parasite populations is crucial to better understand and predict their impact on their hosts. In wild populations, multiple factors drive parasite circulation, ranging from climatic and

environmental influences to the biology of the parasite, as well as the host itself (Musella et al. 2011; Albery et al. 2021). With their complex life cycle (i.e. several hosts, passage in the environment between each host), the population dynamic of parasites is influenced by the environmental conditions (e.g. population density, Costamagna et al. 2004; climatic effects, Yan et al. 2016), but also by the behavior of their host (Moore 2002). Parasite spread and infection are often studied at large spatial scales in wild populations (Murray et al. 2018; Kołodziej-Sobocińska 2019), for example by comparing distinct populations living in different habitat (e.g. Cheynel et al. 2017; Horcajada-Sánchez et al. 2018) rather than studying what happens within a population. However, the structure of the infection is spatially heterogeneous, sometimes at finer scales within a population, depending e.g. on local environmental and climatic conditions and host populations (Murdock et al. 2017; Albery et al. 2022). For example, Albery and his colleagues (2019) showed that the intensity of *Fasciola hepatica* in a red deer population seemed to be strongly influenced by the presence of wet grazing areas on a site of approximately 12 km². It is therefore important to better understand the spatial patterns of infection, taking into account different scales, for example for public health intervention purposes.

One of the key factors of parasitism at the scale of a site is the environmental conditions where the parasites live. Indeed, for several parasite species, their life cycle includes a free phase in the environment (e.g. trichostrongylids; O'Connor et al. 2006). Climatic parameters such as temperature, humidity or exposure to UV rays can indeed considerably influence the survival of parasites (Gibbs 1982) but also their activity. For example, in digestive strongyles, rain or the amount of dew water are also decisive in ensuring the movement of larvae trapped inside the feces towards the grass (Santos et al. 2012). Furthermore, the structure of the plant layers of the habitat can directly influence the development, survival and dispersal of parasites (Estrada-Peña 2001), with parasites preferring a micro-habitat that retains humidity and does not expose them to excessively extreme climatic conditions (e.g. high heat). Another key factor at this study scale is the quality of the habitat for the host (Chapman et al. 2015), which translates into the availability of food resources, their quality and competition for them (Johnson 2007). For example, when the quantity or quality of food resources are insufficient, the physical condition of individuals can be negatively impacted, leading to a decrease in their ability to control parasites (Gortázar et al. 2007). Conversely, increased parasitism can occur when local host density is high or food resources are rare, implying that the hosts forage in the same location, increasing parasite risk of transmission in this area (Feldhamer et al. 2020). Hence, the parasite infection of a host may depend on the feeding behavior of the host, the previous nutritional status of the host, but also on the quality of the diet during the period of infection (Scrimshaw and SanGiovanni 1997). Within a population, individuals can live in different types of habitat and can have very different immune phenotypes and parasitic burden (i.e. sheep, Musella et al. 2011; red deer, Albery et al. 2019). Spatial heterogeneity in host susceptibility and exposure to parasites is a source of confounding

variation in disease ecology studies and should be considered more often. The spread of parasites through a host population must therefore be studied by quantifying infection patterns at a finer scale to take into account a context of environmental variation.

We aimed in this study to investigate the influence of habitat quality as a spatial determinant of the parasite burden within a population living in habitat with variable environmental conditions. Using fecal samples, we measured parasite burden of four groups of parasites (i.e., gastro-intestinal strongyles, *Trichuris* sp., *Eimeria* spp. and Protostrongylids) in a roe deer (*Capreolus capreolus*) population living in Chizé, a French study site with three sectors of contrasting habitat quality (Pettorelli et al. 2005), i.e. quantity and quality of resources. Previous studies in Chizé have also shown that individuals living in the richest part of the study site have higher body mass (Pettorelli et al. 2001, 2002), reflecting a spatial heterogeneity in phenotypic quality of roe deer. Thus, based on current knowledge, we predicted that parasite burden would be higher in individuals facing poor environmental conditions such as low availability of food resources, compared to individuals living in richer environments.

1.4. Material & methods

a. Study site and habitat quality

This work was conducted on the population of roe deer living in the “Réserve Biologique Intégrale of Chizé”, an enclosed forest of 2614 ha managed by the “Office National des Forêts”. This study site is located in western France (46° 50' N, 0° 25' E) (Fig. 1), where the climate is temperate oceanic with Mediterranean influences.

The forest of Chizé presents low productivity due to poor quality soils and frequent summer droughts. Moreover, this site is characterized by a heterogeneous habitat of variable quality. The major large scale spatial pattern in this study site is an opposition between the north-eastern area and the rest of the reserve (north-western and southern areas) (Fig. 1). The north-eastern area, composed by oak (*Quercus* sp.) as the dominant species and hornbeam associated with hawthorn (*Crataegus monogyna*), dogwood (*Cornus* spp.), and maple (*Acer* sp.) (many herbaceous plants, mainly and/or preferred food eaten by the roe deer during spring or summer; Duncan et al. 1998), is the richest area in terms of resources, also reflected by a greater mass of fawns compared to the other part of reserve (Pettorelli et al. 2003). The other part of the study site is considered as poorer, and is stratified in two habitat type: the north-western part which is represented by oak (*Quercus* sp.) and maple (*Acer* sp.), and the south part which mainly contains beech (*Fagus sylvatica*) and which the poorer habitat in Chizé. Thus, for the following analyzes, we will use the term “sector” to define these two areas of the study site: “sector R” for the north-eastern area (richer area), “sector P” for the north-western and southern areas (poorer area) (Fig. 1).

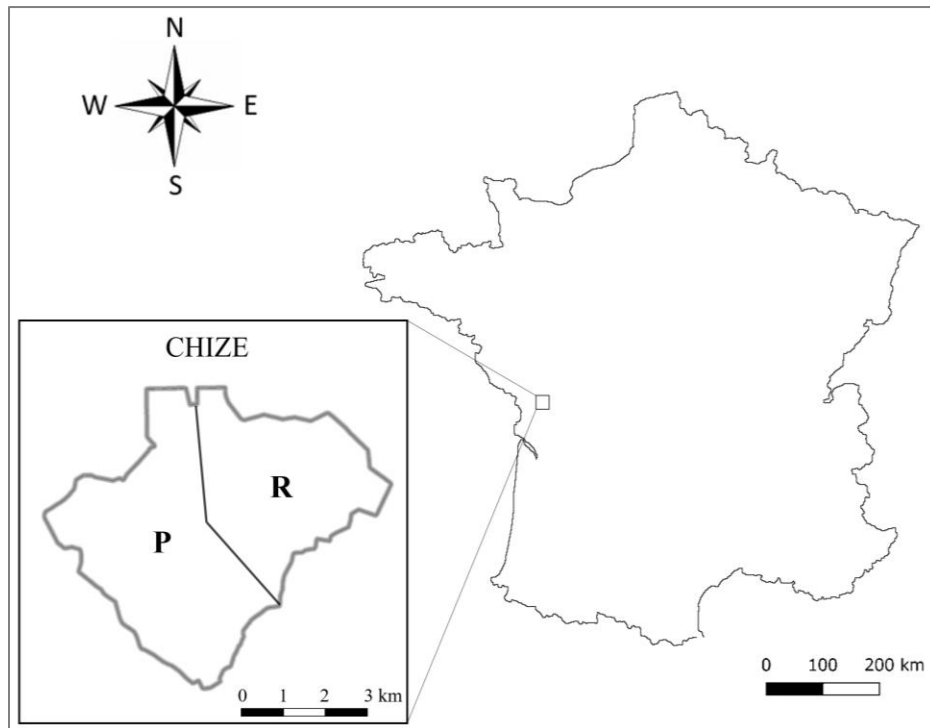


Figure 1: Maps of the study site of Chizé stratified in the three habitats with its location in France. In red: the two sector characterized as richer sector (R) and poorer sector (P). This figure was carried out using the Qgis 3.16 software.

b. Data collection

Data on roe deer were collected during Capture-Mark-Recapture program. Since 1977, roe deer captures by drive-netting that took place every winter (January-March) in Chizé, with 10-12 capture days per year (see Gaillard et al. 1993a for further details). Once an animal is captured, manipulations occurred between 1 and 4 hours and several information or biological samples are collected, such as age, sex, body mass (in kg, to the nearest 0.05g) and faecal matter (used to measure parasite burden). In this study, we only used data on individuals of known age (i.e. captured within their first year of life) on the period from 1996 to 2020, except for the year 2000 (no captures carried out after the hurricane “Lothar” of 1999; Gaillard et al. 2003) and the years from 2003 to 2007 (no data collected on parasitism in roe deer).

The total dataset consisted of 1469 measurements from 952 individuals of known age (n=418, 819 and 232 measurements on 1, 2-7 and 8-17 years old individuals, respectively) captured between 1996 and 2020 (no data for the years 2000, and 2003-2007). Among the 952 roe deer studied, 655 were captured once, 165 twice, 77 three times, 31 four times, 24 five to seven times. Furthermore, these numbers are indicative of the total dataset but the number of data used to make the analyzes was dependent on the measure of parasitism used. Approximately 60% of roe deer were captured in the sector R and 40% in the sector P. Each age was represented in each sector except individual of 16 years in sector P (see the distribution of data by age and by sector on the Fig. S1 in Appendix). The sex-ratio in each sector is approximately balanced

(sector R: 51% of females, 49% of males; sector P: 54% of females, 46% of males). Moreover, heavier roe deer on average were in the sector R [19.67 +/- 4.46 g] than in the sector P [18.97 +/- 4.85 g] (Mann & Whitney, $W = 357029$, $p\text{-value} = 0.005$).

c. Measures of parasite burden

At Chizé, in roe deer, we have several categories of eggs or larvae identifiable during the analysis of feces: lung parasites, the protostrongylids (nematodes), and digestive tract parasites such as (coccidian: Protozoa) and nematodes, i.e. gastrointestinal strongyles (GI strongyles) and *Trichuris* sp. We considered feces eggs/larval count as a marker of the infection of an individual (i.e. classic estimation in domestic ruminants to assess parasitic infestations). Faecal samples were analysed with the Baermann technique (Baermann 1917) to isolate and count the first stage larvae of pulmonary nematodes in larvae per gram of faeces (LPG). We also performed a modified McMaster analyse with a solution of zinc sulfate (MgSO_4 , $d=1.26$) (Raynaud et al. 1970) to count the number of eggs/oocysts per gram of faeces (EPG/OPG for digestive parasites (helminths and coccidian)). Briefly, for each sample, we mixed 2.5-5 g of faeces in 70 mL of zinc sulphate. We then homogenized the solution and sampled 1 mL that was loaded on a McMaster slide with two chambers. We thus counted the number of parasite propagules in the whole chambers (quantitative examination; theoretical sensitivity of 15 epg/opg). We also centrifuged a 14 mL tube with the remaining solution, covered with a coverslip. We thus placed the coverslip on a microscope slide before to seek with a microscope (lens: $\times 10$) for the presence of parasite propagules ('control slide'; qualitative examination). We attributed the value of 7.5 epg/opg (rounded up to the nearest whole number for statistical analyzes) for parasites with no egg/oocyst observed on the McMaster slide, but at least one egg/oocyst observed on the control slide.

d. Statistical analyses

Response variables

To assess parasite infections in roe deer according to different factors, we used two measures of the level of parasitism in a host as response variables: a) parasite prevalence assessed by the individual presence/absence of parasites propagules; b) parasite intensity estimated by the number of fecal parasite propagules in infested individuals only. We only considered the most prevalent parasites in the population of Chizé: GI strongyles, *Trichuris* sp, *Eimeria* spp. and protostrongylids. We ran separate analyzes for each parasite and measure of the level of parasitism. We analyzed prevalence using a generalized linear mixed model (GLMM) with a binomial error. For the intensity analysis, parasite egg count distributions are non-normal and strongly overdispersed. Just like the Poisson model, the negative binomial model is commonly

utilized as a distribution to model such count data; it allows a variance higher than its mean. Using the “descdist” function from the “fitdistrplus” package (Delignette-Muller et al. 2023), we confirmed that GI strongyles and *Trichuris* sp. intensities followed a negative binomial distribution. However, it didn’t fit for *Eimeria* spp. and protostrongylids intensities. These both variables were thus log-transformed as $\log_{10}(x + 1)$ to get a normal distribution and analyzed using linear mixed models (LMM). Moreover, the intensity of *Eimeria* spp. had about ten extreme values above 4000 OPG (e.g. 210000 OPG), we therefore rounded all these values to 4000 OPG in order to improve the distribution for which it follows a normal distribution.

Explanatory variables

We included in the models all the variable known to possibly affect parasite burden in roe deer: age, sex, body mass and Julian date. We accounted for possible effects of age (linear or quadratic effect, determined by model selection and in accordance with the publication of Cheynel et al. 2017) and sex because previous work has shown that in roe deer, juveniles and males are more infested than adults and females (Body et al. 2011). Moreover, roe deer with lower body mass are more parasitized than the individuals with higher body mass (Body et al. 2011; Cheynel et al. 2017; Bariod et al. 2022) thus we took into account this variable in our model. Body mass measured on young individuals (i.e. first year of life) depends on the date of capture (gain on average 12 g/day during the capture period; Douhard et al. 2017) and on the sector in Chizé (up to 2 kg difference in the mass of fawns between sector R and sector P in Chizé; Pettorelli et al. 2003). Therefore, we standardised juvenile body mass with Julian date and sector by taking residuals of a linear model. For adult roe deer (i.e. ≥ 2 years old), body mass depends on the sex (males are heavier than females, Mann & Whitney test: $n = 1162$, $W = 11986$, $p\text{-value} < 0.001$), on the age (body mass does not change between the ages of 4 and 10 years in both males and female (Pettorelli et al. 2002) but we need to control for 2, 3 and after 10 years old) and on the sector too. We thus standardized the adult body mass by these parameters (linear effect of age and categorical effect of sector) by taking residuals of a linear model. The Julian date of capture (Day 1 = January 1st) was also added to control for potential among-individual differences in parasite burden and body mass due to the timing of sampling. The median day of sampling was the day 37 of the year corresponding to the February 7th [January 7th; March 13th]_{95%CI}.

To avoid pseudo-replication problems (Hurlbert 1984), we included the factors individual’s identity (i.e., individuals can be captured between 1 and 10 times in our dataset) and year of capture as random effects. This allowed to control for unexplained variance due to among-individual and inter-annual variations.

To test our prediction, we performed model selection for each group of parasites and parasitism measure (intensity and prevalence) by fitting a null model (*measure of parasite burden* ~ *age* + *sex* + *body mass* + *Julian date* + *1/year of capture* + *1/individual identity*) including all the previously described

variables and we compared this model (“null model”) to a model (“sector model”) including also the sector of capture (2 categories: R and P), as a marker of local resources quality and quantity (i.e. habitat quality).

Model selection

Based on the Akaike’s information criteria (AICc, Burnham and Anderson 2002), we selected the best model describing variation of each parasite prevalence/intensity by comparing complete and null models (Table 1). For each response variable, we retained the model with the lowest AICc. When competing models differed in AICc (Δ AICc) by less than two, we retained the most parsimonious one, i.e. the model with less parameters. Finally, we assessed the goodness of fit by calculating the marginal (R²_m; variance explained only by fixed effects) and conditional (R²_c; variance explained by the entire model) variances using the `r.squaredGLMM` function of the MuMIN package (Bartoń 2019). For each model selected, the normality of the residuals was evaluated visually.

All statistical analyses were performed using R (version 4.2.2; R core Team, 2021). We fitted models using the functions `lmer`, `glmer` and `glmer.nb` from package `lme4`. Significance threshold was set at the $\alpha = 0.05$ level. Moreover, all the maps (i.e. characteristics of the study sites, hotspots of parasite burden at Chizé) were performed using Qgis 3.16 software.

1.5. Results

a. Data description

GI strongyles and *Trichuris* sp. were observed in more than half of the roe deer in Chizé (56% and 55% respectively), unlike *Eimeria* spp. and Protostrongylids which were in less than half (37% and 23%, respectively). In terms of parasite intensity, the mean number of eggs/larval per gram of faeces +/- standard deviation was: 63.0 +/- 115.6 EPG for GI strongyles (n = 1469), 307.4 +/- 812.3 EPG for *Trichuris* sp. (n = 1466), 1152.6 +/- 12138.5 OPG for *Eimeria* spp. (n = 1467) and 30.9 +/- 103.2 LPG for Protostrongylids (n = 1422).

b. Parasitic prevalence

Parasitic prevalence (GI strongyles, *Trichuris* sp. and *Eimeria* spp.) was best described by the models including the sector effect (Δ AICc > 2; [Table 1](#)) except for the Protostrongylids (Δ AICc < 2; [Table 1](#)). However, for this parasite, the two models had a very close AICc (Δ AICc = 0.5). Globally, a higher parasite prevalence was observed in roe deer living in sector P ([Table 2](#)).

Table 1: Performance of linear and generalized linear mixed models (sector and null models) to explain the variation in the prevalence and intensity of each group of parasites according to different predictors in fixed effect (age, sex, body mass, Julian date, sector) and in random effect (year of capture, individual identity). The best model (in bold) is the model reflecting the best compromise between accuracy and complexity of the model. Δ AICc is the difference in AICc between the two models.

	Response variable	Model	AICc	Δ AICc	
Prevalence	GI strongyles	Sector	1823.1	0	
		Null	1827.7	4.6	
	<i>Trichuris</i> sp.	Sector	1683.5	0	
		Null	1686.7	3.2	
	<i>Eimeria</i> spp.	Sector	1684.9	0	
		Null	1688.8	3.9	
	Protostrongylids	Null	1090.2	0	
		Sector	1090.7	0.5	
	Intensity	GI strongyles	Null	7969.3	0
			Sector	7970.6	1.3
<i>Trichuris</i> sp.		Sector	9779.2	0	
		Null	9779.4	0.2	
<i>Eimeria</i> spp.		Null	6676.0	0	
		Sector	6677.1	1.1	
Protostrongylids		Null	710.9	0	
		Sector	715.9	5.0	

Table 2: Prevalence (% of presence) and intensity of: GI strongyles (egg/g faecal dry matter), *Trichuris* sp. (egg/g faecal dry matter), *Eimeria* spp. (oocyst/g faecal dry matter), Protostrongylids (larvae/g faecal dry matter) according to the sector of Chizé as well as the total on the site.

	Sector	Prevalence		Intensity			
		n	%	n	Mean \pm SD	Min	Max
GI strongyles	R	841	54	451	62.31 \pm 110.26	8	1050
	P	628	60	375	63.89 \pm 121.86	8	1440
<i>Trichuris</i> sp.	R	837	53	442	317.61 \pm 918.05	8	9500
	P	629	58	367	295.08 \pm 663.99	8	6750
<i>Eimeria</i> spp.	R	838	34	283	1114.12 \pm 12568.91	8	210200
	P	629	40	253	1194.81 \pm 11699.25	8	180000
Protostrongylids	R	801	21	168	23.83 \pm 91.44	0.16	900
	P	621	25	157	38.48 \pm 114.33	0.09	766.8

As expected, a negative effect of body mass on the prevalence was found for each parasite (Table 3), meaning that individuals with lower mass were parasitized overall. Age was also a factor structuring the prevalence of GI strongyles, *Eimeria* spp. and Protostrongylids (Table 3), with the young roe deer (1-year-old) being more often parasitized compared to adults and old individuals (see the Fig. S2 in Appendix). Julian date had also a significant effect on the prevalence of *Trichuris* sp. and *Eimeria* spp. with a higher

prevalence later in the catching season. Finally, only the prevalence of *Trichuris* sp. was sex-specific, with males being more parasitized than females.

Table 3: Best model set descriptions and extracted values for the prevalence of each parasite species. In bold: significant effect (p-value < 0.05) of the predictor in each model.

Parasite prevalence (Response variable)	Best model	Significant parameters in the model selected	Estimate ± SE	z-value	p-value	R ² m	R ² c
GI strongyles (n=1469)	<i>Sector</i>	Intercept	0.12 ± 0.14	0.85	0.39	0.11	0.20
		Age	-0.17 ± 0.06	-2.70	0.007		
		Sex (Male)	0.18 ± 0.13	1.42	0.15		
		Body mass	-0.67 ± 0.07	-9.09	< 0.001		
		Julian date	0.01 ± 0.07	0.20	0.84		
		Sector (P)	0.33 ± 0.13	2.56	0.01		
<i>Trichuris</i> sp. (n=1466)	<i>Sector</i>	Intercept	-0.01 ± 0.17	-0.08	0.93	0.22	0.40
		Age	-0.02 ± 0.07	-0.21	0.84		
		Sex (Male)	0.41 ± 0.16	2.64	0.01		
		Body mass	-1.18 ± 0.11	-11.24	< 0.001		
		Julian date	0.16 ± 0.08	2.02	0.04		
		Sector (P)	0.35 ± 0.15	2.27	0.02		
<i>Eimeria</i> spp. (n=1467)	<i>Sector</i>	Intercept	-0.75 ± 0.12	-6.44	< 0.001	0.17	0.23
		Age	-0.56 ± 0.07	-7.72	< 0.001		
		Sex (Male)	-0.15 ± 0.13	-1.12	0.26		
		Body mass	-0.70 ± 0.07	-9.34	< 0.001		
		Julian date	0.14 ± 0.07	2.12	0.03		
		Sector (P)	0.32 ± 0.13	2.44	0.01		
Protostrongylids (n=1422)	<i>Null</i>	Intercept	-2.69 ± 0.39	-6.86	< 0.001	0.33	0.51
		Age	-0.67 ± 0.16	-4.13	< 0.001		
		I(Age ²)	0.32 ± 0.09	3.41	< 0.001		
		Sex (Male)	0.23 ± 0.21	1.09	0.28		
		Body mass	-1.59 ± 0.20	-8.07	< 0.001		
		Julian date	0.001 ± 0.006	0.14	0.89		

c. Parasitic intensity

Parasitic intensity was best described by the null models (i.e. without the sector effect) for each group of parasites excepted *Trichuris* sp. (Table 1). For GI strongyles and *Eimeria* spp., the models including sector effect had also a very close AICc (Δ AICc = 1.3 and 1.1, respectively) with the null model. This result is in agreement with the higher average intensity of these parasites in roe deer in the sector P than those in the sector R (Table 2). For *Trichuris* sp., Δ AICc of the two models was very small (Table 1). Parasitic intensity was higher in the sector R (Table 2) but the median intensity was higher in the sector P (median (P) = 75 EPG; median (R) = 60 EPG), which could explain why the best model is the one with the sector but with a non-significant sector effect (p-value = 0.13).

As for models selected on prevalence, a negative effect of body mass on the intensity was found for each parasite (Table 4), meaning that individuals with lower body mass had overall higher intensities of

parasites. Age was also a factor structuring the intensities of all parasites except GI strongyles (Table 4), with the young roe deer (1-year-old) having higher intensities of parasites than the adults and old individuals (2-17 years old). Julian date and sex had no significant effects on the parasitic intensities.

Table 4: Best model set descriptions and extracted values for the intensity of each parasite species. In bold: significant effect (p-value < 0.05) of the predictor in each model.

Parasite intensity (Response variable)	Best model	Significant parameters in the model selected	Estimate ± SE	z- or t-value	p-value
GI strongyles (n=826)	<i>Null</i>	Intercept	3.62 ± 0.14	25.04	< 0.001
		Age	0.07 ± 0.03	2.11	0.04
		Sex (Male)	0.08 ± 0.07	1.22	0.22
		Body mass	-0.36 ± 0.03	-10.55	< 0.001
		Julian date	-0.04 ± 0.03	-1.04	0.30
<i>Trichuris</i> sp. (n=809)	<i>Sector</i>	Intercept	4.43 ± 0.20	21.83	< 0.001
		Age	-0.14 ± 0.05	-2.91	0.004
		Sex (Male)	0.19 ± 0.10	1.90	0.06
		Body mass	-0.77 ± 0.05	-16.13	< 0.001
		Julian date	-0.001 ± 0.05	-0.02	0.98
		Sector (P)	0.15 ± 0.10	1.51	0.13
<i>Eimeria</i> spp. (n=536)	<i>Null</i>	Intercept	4.60 ± 0.16	28.56	< 0.001
		Age	-0.27 ± 0.07	-3.72	< 0.001
		Sex (Male)	0.04 ± 0.14	0.30	0.76
		Body mass	-0.44 ± 0.07	-6.12	< 0.001
		Julian date	-0.07 ± 0.07	-0.95	0.34
Protostrongylids (n=325)	<i>Null</i>	Intercept	0.59 ± 0.09	6.42	< 0.001
		Age	-0.09 ± 0.04	-2.12	0.03
		Sex (Male)	-0.05 ± 0.08	-0.67	0.51
		Body mass	-0.29 ± 0.04	-7.19	< 0.001
		Julian date	0.07 ± 0.04	1.81	0.07

1.6. Discussion

Understanding the spatial pattern of parasite infection in large mammals often depends on the environmental conditions, such as habitat and climatic/micro-climatic conditions, where hosts and parasites are found. This study aimed to assess whether the habitat quality was a determinant of parasite infection in roe deer at Chizé, a contrasting study site in terms of environmental conditions. We provided evidence that the level of parasitism varied among sectors in Chizé, after considering possible confounding effects of phenotypic attributes. Indeed, parasite prevalence of roe deer was sector dependant, with more parasitized individuals in the sector of poor habitat quality compared to high-quality habitat. However, no effect of sector on parasitic intensity does not seem to appear in our results.

Increased the immune response to suppress parasites by host nutrition would be the main strategy of roe deer to control parasite infection (Scrimshaw and SanGiovanni 1997). The resource quality or availability determine greatly the allocation of energy to immune defense, with an increase of defenses when the resources are richer and more present (Ojala et al. 2005; Klemola et al. 2007). Our results showed that most of the unparasitized roe deer are in the sector R ([Table 2](#)), which can indeed be explained by a better defense of the roe deer to eliminate the parasites. In addition to oaks, the sector R is composed of hornbeam, hawthorn, dogwood associated with herbaceous species such as bluebells (*Hyacinthoides nonscripta* L.) or Pyrenees star of Bethlehem (*Ornithogalum pyrenaicum* L.), which are very appreciated by roe deer (Duncan et al. 1998; Pettorelli et al. 2001). These plants are more frequent in the sector R and are known to have a high nitrogen content (Pettorelli et al. 2001), which makes it a habitat with generally richer resources for roe deer. Moreover, the roe deer are heavier in the sector R (19.67 +/- 4.46 kg) than the sector P (18.97 +/- 4.85 kg), which can be explained by this higher quality of habitat (quality or quantity of food). An individual needs energy to ensure other physiological functions, such as growth, reproduction then preventing the exclusive allocation of resources to immune defenses (Zuk and Stoehr 2002). As a result, individuals with high body mass could have enough energy in their body to allocate to their immunity in order to reduce or even suppress parasites (Cressler et al. 2014), unlike an individual with a low body mass who has less energy to allocate against parasitism. This could explain why roe deer with low body mass are more parasitized. Conversely, the negative covariance between body mass and parasitism could also come from the parasite, which reduces the host's appetite and negatively influences its body mass (Stien et al. 2002). More parasitized individuals would be impacted by the parasite which will feed and take energy, making their host even less able to defend itself. A study has, for example, showed that the presence of parasites accentuated the reduction of trace elements such as copper, iron or even zinc, essential for intestinal immunity, and thus influenced the expression of disease (Dautremepuits et al. 2004; Adogwa et al. 2005). Therefore, a more parasitized individual will always be negatively impacted if he does not have the energy resources necessary to defend himself.

An other explanation to the higher parasitism in sector P ([Table 2](#)) could come from a higher encounter rate of infested parasites in environment, due to the roe deer behavior. A study of Saïd and collaborators (2009) has shown that female roe deer living in low quality areas adjusted the size of their home range to include more patches of habitat and compensate the lack of resources (Saïd et al. 2009). Thus, an intraspecific competition for resources could be present in the same part of the sector. The roe deer in this sector may move further to find resources and therefore encounter more areas where other roe deer infected have defecated and where infesting larvae are present. The host density is known to increase the encounter rate between individuals and parasites transmitted through environmental stages (Body et al.

2011). Thus, it would be interesting to quantify local density of roe deer in each sector to see possible link with food resources and parasitism.

1.7. Conclusion

To conclude, the results of this study are consistent with many other works on the subject, showing that the parasitism can be also dependent on the quality of habitat (Musella et al. 2011; Murdock et al. 2017; Albery et al. 2019). The spatial trend seen (mainly in prevalence) demonstrates that higher or lower parasitism can be associated with different sectors of a given study system, signifying that an uneven sampling in space could introduce confounding variation and bias. It is however difficult to understand the influence of host habitat and resources on the abundance of pathogens such as parasites, in particular because it is difficult to disentangle their direct effect on parasite replication from their indirect effect on pathogen mortality, mediated by the immune system. Moreover, one of the main limitations of this study is that the parasite burden measurements are carried out in winter, at a period when internal parasites can enter hypobiosis (Gibbs 1986; Kuzmina et al. 2006) and therefore when the infestation rate is the lowest of the year. Spatial patterns are rarely static and can change over time (Hawkins 2012), but seasonal changes are rarely studied, partly because data are not available. However, the infestation could vary depending the different seasons of the year (spring, summer, autumn and winter), because whether in terms of the needs of the individual, the vegetation or the life of the parasites, there are seasonal variations (Geerken 2009; Maublanc et al. 2009; Albery et al. 2019). Thus, this study is one of the first steps in understanding parasite infestation hotspots in a wild ungulate population. Future studies should integrate different aspects of host immune, physiological and behavioral responses at even finer spatial scales to better identify the mechanisms of parasite transmission and maintenance in a host population. At the same time, it would be interesting to study the diet (quality: N, P and minerals) of the host population according to habitat type, but also to define the local density according to sector, as the density of the host population can have an impact on parasite infestation in a population. Finally, it would be interesting to model the infestation and spatial pattern of parasite burden according to the different seasons of the year.

1.8. Acknowledgments

There was no additional external funding received for this study. We are especially grateful to the technicians of Chizé (Guy Van Laere, Gilles Capron, Hervé Bidault), all the volunteers for their help during captures and Maryline Pellerin for her coordination of scientific studies. We would like to thank Jérôme

Depaquit, Damien Jouet, Monique Boutry and Anne Segonds-Pichon for their help during coproscopic analyzes.

1.9. Supplementary material

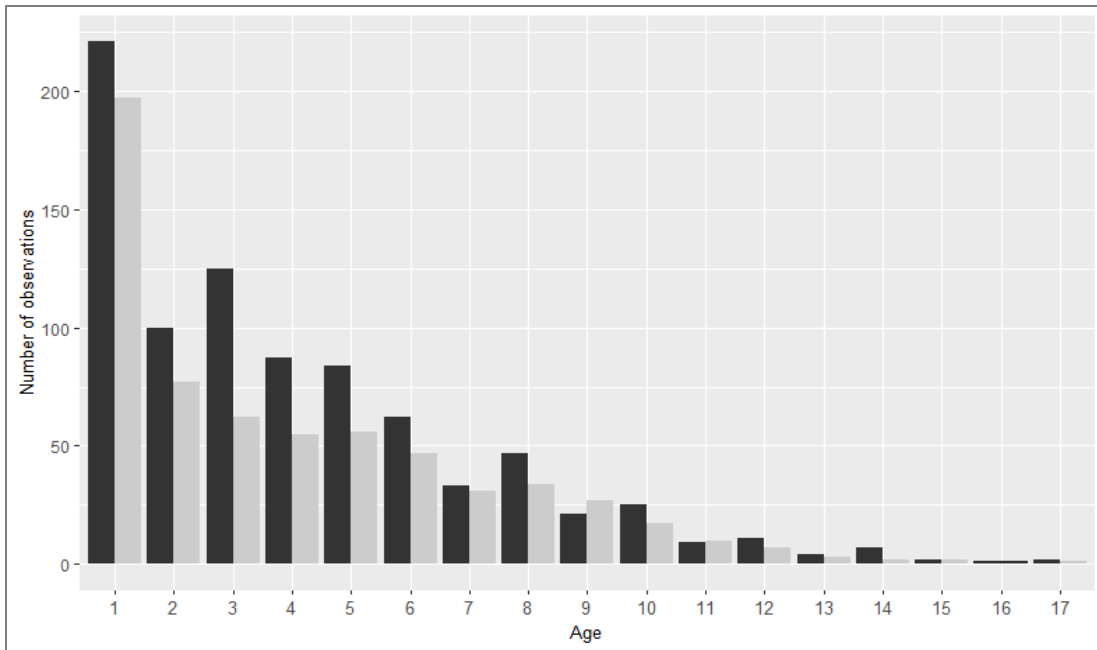


Figure S1: Number of observations according the age of roe deer and the sector: in black, sector R; in light grey, sector P.

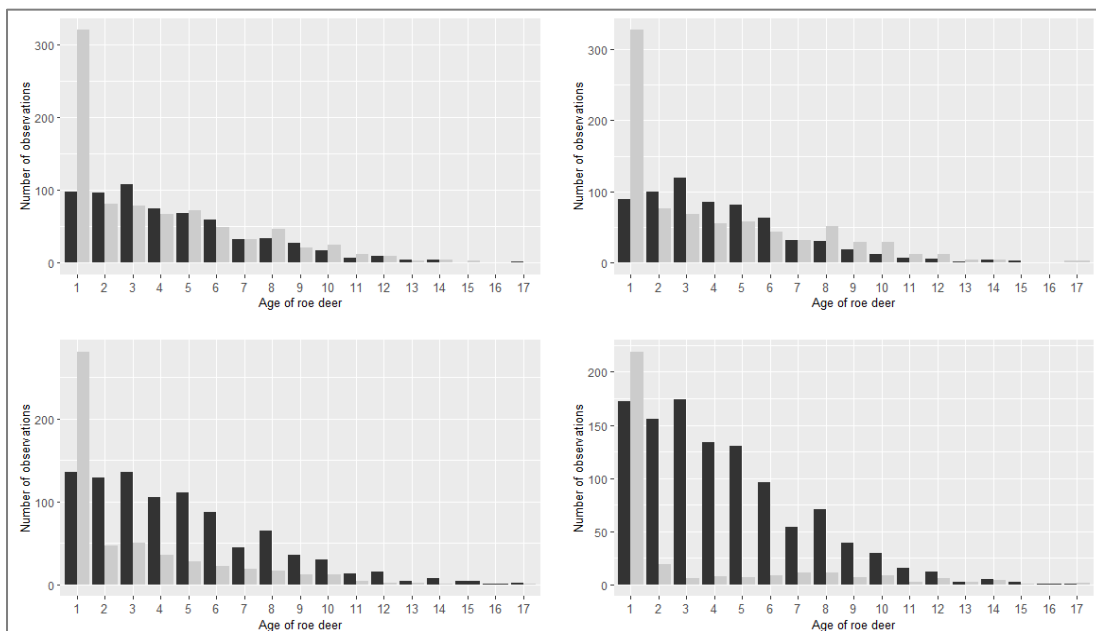


Figure S2: Presence/absence of a) GI Strongyles, b) *Trichuris* sp., c) *Eimeria* spp. and d) Protostrongylids in roe deer according to the age of individuals. In black, absence of parasites; in light grey, presence of parasites.

CHAPITRE 5 : MODÈLES D'INFESTATIONS DES NOUVEAUX-NÉS PAR LES TIQUES AU SEIN D'UNE POPULATION D'HÔTES



1. Déterminants de la charge parasitaire des faons de chevreuil à Trois-Fontaines – ARTICLE 4

1.1. Titre de l'article et auteurs

Parasitized or non-parasitized, why? A study of factors influencing tick burden in roe deer neonates

Léa Bariod^{1,2,3*}, Sonia Saïd³, Clément Calenge⁴, Stéphane Chabot³, Vincent Badeau⁵, Gilles Bourgoïn^{1,2}

1. Université de Lyon, VetAgro Sup - Campus Vétérinaire de Lyon, Laboratoire de Parasitologie Vétérinaire, Marcy-L'Etoile, France
2. Université de Lyon, Université Lyon 1, CNRS, UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, Villeurbanne, France
3. Office Français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui Scientifique, Birieux, France
4. Office Français de la Biodiversité, Direction de la Recherche et de l'Appui Scientifique, Le Perray en Yvelines, France
5. Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement, Champenoux, France

*Corresponding author

E-mail: bariod.lea@orange.fr

Publié dans « PLOS ONE » en juillet 2022.

1.2. Résumé en français et en anglais

Français

Ixodes ricinus, l'espèce de tique la plus répandue en Europe, est connue pour transmettre des agents pathogènes majeurs aux animaux et aux humains, tels que *Babesia* spp. ou *Borrelia* spp. Son abondance et sa répartition ont augmenté régulièrement en Europe au cours des dernières décennies, en raison des changements environnementaux globaux. En effet, comme les tiques passent la majeure partie de leur vie dans l'environnement, leur activité et leur cycle de vie dépendent fortement des conditions environnementales et donc des changements climatiques ou de l'habitat. Simultanément, les ongulés sauvages ont élargi leur aire de répartition et ont considérablement augmenté leur abondance dans le monde, en particulier le chevreuil (*Capreolus capreolus*), permettant aux populations de tiques de croître et de se propager. Actuellement, l'infestation par les tiques des ongulés sauvages nouveau-nés est peu documentée. Cependant, ces derniers sont considérés comme plus sensibles aux morsures de tiques et à la transmission d'agents pathogènes en raison de leur système immunitaire immature. Ainsi, améliorer les connaissances

sur les facteurs influençant l'infestation des tiques chez les nouveau-nés est essentiel pour mieux comprendre leurs risques pour la santé. Cette étude a été menée dans la forêt de Trois-Fontaines, Champagne-Ardenne, France (1992-2018). En nous basant sur un suivi à long terme des faons de chevreuils, nous avons utilisé un nouveau modèle bayésien d'infestation des faons pour identifier quels facteurs biotiques ou abiotiques étaient susceptibles de modifier le niveau d'infestation par les tiques de 965 faons au fil du temps. Nous montrons que la charge de tiques augmente plus rapidement au cours des premiers jours de vie des faons et devient constante lorsque les faons ont cinq jours et plus, ce qui pourrait s'expliquer par l'épuisement des tiques en quête d'hôte ou le renouvellement des tiques se nourrissant des faons. De plus, malgré l'influence positive connue de l'humidité sur l'activité des tiques, la charge en tiques était faiblement liée à ce paramètre. Nos résultats démontrent que l'infestation par les tiques était très variable selon les années, en particulier entre 2000 et 2009. Nous émettons l'hypothèse que cela résulte d'une modification de l'habitat provoquée par l'ouragan Lothar.

Mots clés : *Capreolus capreolus*, nouveau-nés, *Ixodes ricinus*, âge, variabilité climatique, habitat, densité de population

Anglais

Ixodes ricinus, the most common species of tick in Europe, is known to transmit major pathogens to animals and humans such as *Babesia* spp. or *Borrelia* spp. Its abundance and distribution have been steadily increasing in Europe during recent decades, due to global environmental changes. Indeed, as ticks spend most of their life in the environment, their activity and life cycle are highly dependent on environmental conditions and therefore, on climate or habitat changes. Simultaneously, wild ungulates have expanded their range and increased dramatically in abundance worldwide, in particular roe deer (*Capreolus capreolus*), allowing tick populations to grow and spread. Currently, tick infestation on newborn wild ungulates is poorly documented. However, newborn ungulates are considered more sensitive to tick bites and pathogen transmission because of their immature immune systems. Thus, improving knowledge about the factors influencing tick infestation on newborns is essential to better understand their health risks. This study was conducted at Trois-Fontaines Forest, Champagne-Ardenne, France (1992–2018). Based on a long-term monitoring of roe deer fawns, we used a novel Bayesian model of the infestation of fawns to identify which biotic or abiotic factors were likely to modify the level of infestation by ticks of 965 fawns over time. We show that tick burden increased faster during the first days of life of the fawns and became constant when fawns were five days old and more, which could be explained by the depletion of questing ticks or the turnover of ticks feeding on fawns. Moreover, despite the known positive influence of humidity on tick activity, the tick burdens were weakly related to this parameter. Our results demonstrate that tick

infestation was highly variable among years, particularly between 2000–2009. We hypothesize that this results from a modification of habitat caused by Hurricane Lothar.

Keywords: *Capreolus capreolus*, newborns, *Ixodes ricinus*, age, climatic variability, habitat, population density

1.3. Introduction

Ticks are considered to be one of the most important arthropod vector of diseases in the world (de la Fuente et al. 2008). They are of major concern as they can transmit several pathogens to their host during their blood meal, such as viruses, bacteria, or protozoans (Parola and Raoult 2001; Hubálek and Rudolf 2012). They can also have direct negative effects to their host, such as blood loss (known as spoliation effect (Pfäffle et al. 2009)) or destruction of host tissue by enzymes present in their saliva (Bowman et al. 1997). Over past decades, these ectoparasites have become an increasing worldwide health burden, threatening both humans and animals (de la Fuente and Merino 2013). The abundance and distribution of ticks can strongly vary among areas and have considerably increased in recent decades (Medlock et al. 2013; Jore et al. 2014; Alkische et al. 2017). In order to understand the population dynamics and the geographic distribution of ticks, and to predict the risks of transmission of tick-borne pathogens, it is of major concern to determine the factors driving the abundance and spread of these parasites (Ruiz-Fons and Gilbert 2010).

In Central Europe, *Ixodes ricinus* is the most common hard-tick species. It is of particular concern due to their major role as a vector of many pathogens for both animals and humans, such as *Anaplasma* spp. (Silaghi et al. 2017), *Babesia* spp. (Zintl et al. 2003), *Borrelia* spp. (Raileanu et al. 2017), and tick-borne encephalitis virus (Lindquist and Vapalahti 2008). This three-host tick species take one blood meal on their host per life stage (3 life stages: larva, nymph, and adult), with blood meals lasting for a few days (2–12 days according to their life stage; Taylor et al. 2015; Militzer et al. 2021) before dropping off the host onto the ground where they molt into the next stage or lay eggs and die (Bowman and Nuttall 2008). As this tick spends most its life free in the environment, its survival, development, and questing activity are highly dependent on the weather conditions and microclimate (Lindgren et al. 2000; Gray et al. 2009), including temperature and relative humidity or saturation deficit (Perret et al. 2000; Randolph et al. 2002). Ground-based vegetation that retains moisture and provides shadow is therefore highly important for ticks, explaining the abundance of ticks in the leaf litter and low strata vegetation of woodlands and forests (Milne 1950; Medlock et al. 2013), particularly deciduous forests containing oak and beech, with an important shrub cover (Gray 1998; Tack et al. 2012).

The life cycle of *I. ricinus* is also highly dependent on the availability of hosts, because of their questing behavior (i.e., the “ambush” technique; Medlock et al. 2013). This ectoparasite species is a ubiquitous tick in Europe, which can parasitize a wide range of animal species, including mammals, reptiles, and birds (Cull et al. 2018). Larvae and nymphs of *I. ricinus* are commonly found on small animals such as rodents (Mihalca and Sándor 2013), although they can also be seen on larger hosts such as sheep or roe deer (Ogden et al. 1997; Bonnet et al. 2007). Large vertebrates are the main suitable hosts for blood meals and mating of adult ticks (Gray 1998). The infestation consequences on the host will be greater especially if these parasites are found in large quantities (Pfäffle et al. 2009).

Hosts can develop an immune response against ticks to decrease their fixation time and engorgement, and hence, the spoliation effect and risk of pathogen transmission (Kotál et al. 2015; Nuttall 2019). Resistance to tick infestation implicates both acquired and innate immunity (Leboulle et al. 2002). However, ticks can circumvent host defenses with active components secreted in their saliva which can induce host immunosuppression and facilitate acquisition of blood meals for ticks and the transmission of the tick-borne pathogens (Wikel 1999). This is why newborns can be considered more sensitive to tick bites. Indeed, they have a naïve and immature immune system even if they are not totally vulnerable thanks to the transmission of acquired immunity by the colostrum of the mother (Brossard & Girardin 1979; Jennewein et al. 2017). In addition, failure in the transfer of humoral immunity from mothers can happen and increase the susceptibility of newborns to tick bites (Parkinson et al. 1982; Hasselquist and Nilsson 2009).

The cervids, and particularly the roe deer (*Capreolus capreolus*), are considered key hosts for the population dynamics of *I. ricinus* (Gray 1998). During recent decades, their population has been increasing in the Northern Hemisphere (Côté et al. 2004; Beguin et al. 2016), which, in turn, has led to the increase and geographical spread of tick populations (Mejlon and Jaenson 1997; Vor et al. 2010; Ruiz-Fons and Gilbert 2010; Kiffner et al. 2011; Gray 1998). Tick activity is most important in spring and egg laying by female ticks occurs at the same time as the birth period of fawns, i.e., around the month of May (Gaillard et al. 1993b; Schulz et al. 2014). Furthermore, fawns of roe deer have a hider behavior (i.e., they hide in the vegetation cover to limit the probability of detection by a predator; Lent 1974) and therefore, have a preference for dense vegetation. Their naïve immune system also makes them an easy target for questing ticks even if their movements are limited during the first days of life (Carl and Robbins 1988; Linnell et al. 1999). To our knowledge, no study has yet investigated the factors influencing the level of infestation by ticks on roe deer neonates.

Based on previous knowledge on ticks, we predicted a higher tick burden (H1) during warm and wet spring conditions as it favors tick activity. We also predicted (H2) an influence of habitat on tick infestation, with more parasitized roe deer fawns living in habitats with important shrub cover and ground-based vegetation which retains humidity; and (H3) an influence of the density of roe deer on tick burden,

with the highest values of infestation by ticks during the years when roe deer density, calculated the winter preceding the catches of fawns, is the highest. Indeed, as the intensity of tick burden on deer increases with high host populations densities, we can assume that ticks will be more abundant in the environment and parasitize fawns more (Pichon et al. 1999; Ruiz-Fons and Gilbert 2010).

Based on a long-term monitoring of roe deer neonates from 1992 to 2018 in the population of Trois-Fontaines in France, we studied the factors influencing the tick burden of newborn roe deer fawns. This long-term monitoring of the infestation of fawns during their first days of life by the tick, *I. ricinus*, allowed us to study the effects of factors linked to the host (individual and populational factors) on tick risks, but also of variations in spring weather conditions (temperature, humidity, extreme events), and habitat characteristics. We developed a Bayesian model of the tick infestation process, describing how the number of ticks on a roe deer fawn changes with time, accounting for biotic factors (e.g., fawn body mass) as well as abiotic factors (e.g., humidity, temperature) that are likely to affect the rate of infestation of fawns by ticks.

1.4. Material & methods

a. Ethics statement

In accordance with European and French laws, roe deer captures were carried out minimizing animal stress and handling time (limited to 10 minutes for a fawn), and ensuring animal welfare, as defined in the guidelines for the ethical use of animals in research. All methods were approved by the authorities (French Ministry of Environment). These experiments were performed in accordance with the conditions detailed in the specific accreditation delivered to the Office National de la Chasse by the Préfecture de Paris. Animal captures and experimental procedures were in line with the French Environmental Code (Art. R421-15 to 421-31 and R422-92 to 422-94-1) and duly approved by legislation from the Prefecture of Paris (agreement n°2009-014, n°. 2013-118, n°2019-02-19-003).

b. Data collection

Study area

This study was carried out in the Territoire d'Étude et d'Expérimentation (TEE) of Trois-Fontaines, located in north-eastern France (48° 38' N, 4° 54' E) ([Fig 1](#)). This is an enclosed forest of 1360 ha with an overstory dominated by oak (*Quercus* spp.) and beech (*Fagus sylvatica*), while the coppice is dominated by hornbeam (*Carpinus betulus*) (Dray et al. 2008). The climate is continental, characterized by cold winters

(mean daily temperature in January–February was 3.2 °C between 1992 and 2018, data from Météo France) and hot but not dry summers (mean daily temperature in July was 19.2 °C and total rainfall in July and August was 137.63 mm between 1992 and 2018, data from Météo France).

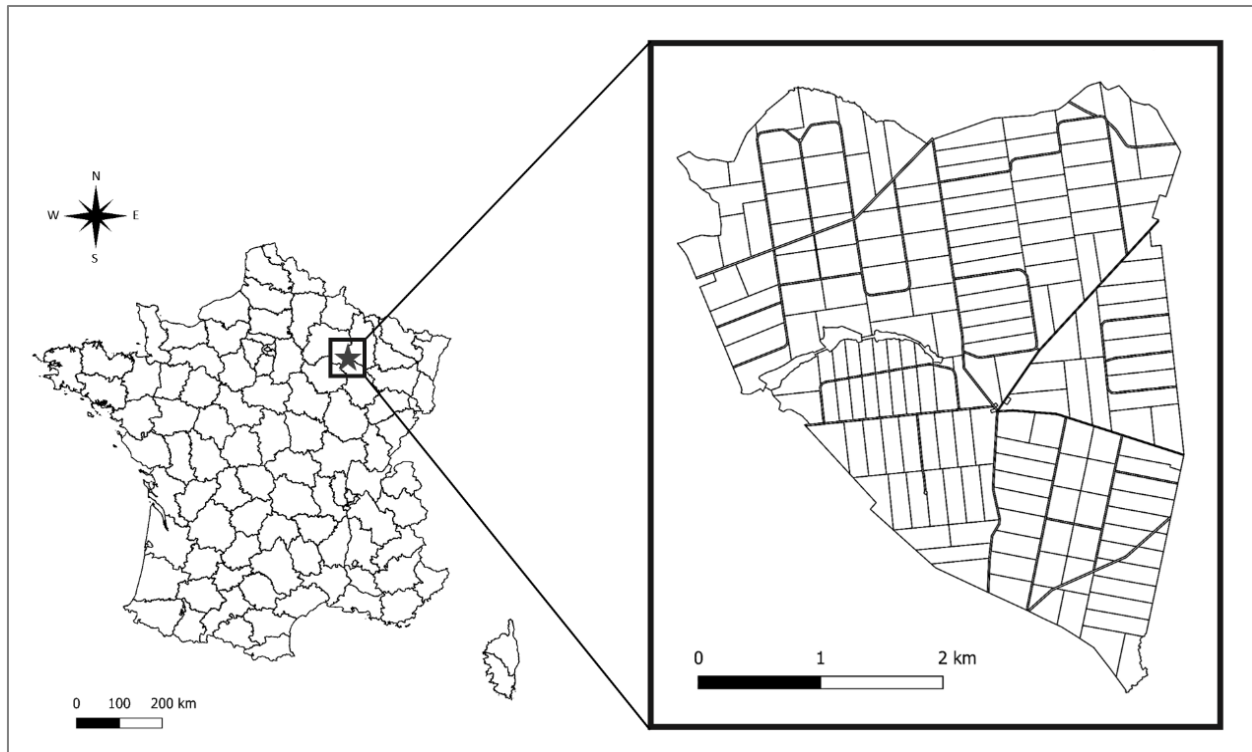


Fig 1. Geographic location in France (on the left) of the study site composed of 172 forest plots (on the right). Figure made by authors using QGIS software. Authors have assigned the figure the CC-BY 4.0 license.

Fawn data and tick sampling

The search for fawns was organized in the TEE of Trois-Fontaines by field workers and volunteers (hunters, foresters, etc.) every year during the fawning period (April–June) (Gaillard et al. 1993b). Fawns detected hiding in a bedding site during their first days of life were captured. Then, in a short handling time (10 min maximum) to avoid too much disturbance of the fawn, we identified each of them with ear-tags and collected information on sex, age (in days), body mass (in kg), and tick burden. Umbilicus characteristics and behavior of fawns during the capture were used to determine their age (Jullien et al. 1992). For fawns found between 2010–2018, the GPS coordinates of the place of capture were collected.

The last minutes of handling the fawn were devoted to assessing the level of tick infestation (all stages: larvae, nymph, adult) by visually and manually inspecting the neck and head of each captured fawn. This measurement was used as a proxy for the fawn's overall infestation. These areas of the body are often the most infested by ticks, easily accessible when handling a fawn, and, as no fur is present in the ears, the probability to visually and manually detect ticks is higher. The detection of the largest ticks – therefore the

adult ticks – was much higher than for other stages, due to both their larger size and short handling time of the fawn. However, we know that larvae and nymph stages are also present on roe deer (Lebouille et al. 2002). Therefore, we cannot rule out that these stages were also detected and we supposed that our numbering of ticks covered all three stages.

Based on the number of detected ticks, we attributed to each fawn the following infestation classes: (i) class 1 = < 10 ticks; (ii) class 2 = 10–20 ticks; (iii) class 3 = > 20 ticks. A previous study of the ticks in Trois-Fontaines showed that *I. ricinus* was the only tick species observed on roe deer (G. Bourgoïn, unpublished data).

Based on their measured body mass, we calculated the body surface area (bsa) of each fawn using Meeh's formula (Meeh 1879):

$$bsa = k \times W^{\frac{2}{3}}$$

with k: Meeh constant (k = 10); W: body mass (in kg).

Data on the population of roe deer and the environment

The roe deer population in Trois-Fontaines has been intensively monitored for 40 years using capture–mark–recapture methods (Gaillard et al. 1993a). Driving nets are used each year in December–March to catch the individuals (10–12 days of capture per year). Using Capture-Mark-Recapture modeling, the number of roe deer older than one year was thus estimated every year in March, which we used to derive a value of density every year ([Fig 2](#)) (Gaillard et al. 1996).

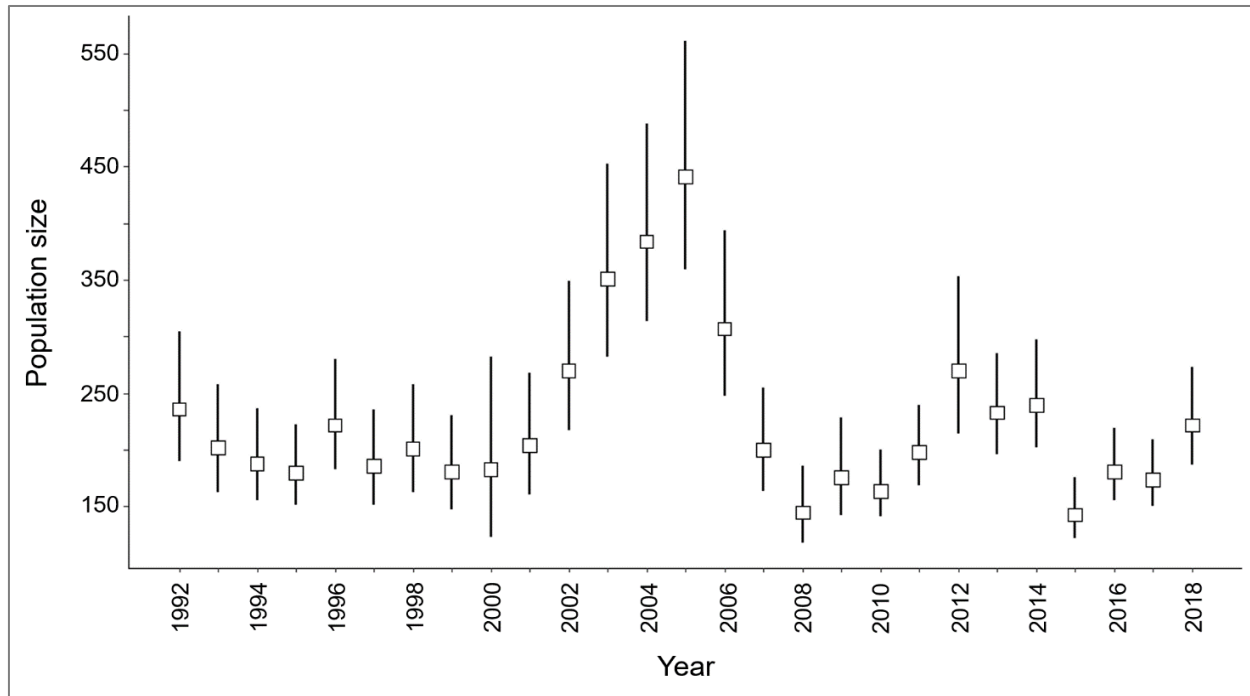


Fig 2. Yearly estimates (with 95% confidence intervals) of roe deer population density in March individuals > 1 year) at TEE of Trois-Fontaines (France) estimated by capture–mark–recapture models (see (Gaillard et al. 1993a) for further details) for the period 1992–2018.

Weather data for this study were obtained thanks to the SAFRAN system. This is a mesoscale atmospheric analysis system that reconstructs surface atmospheric variables at an hourly timescale on a regular 8 km grid using ground observations and large-scale general circulation model products (Météo France, (Vidal et al. 2010)). This reanalysis is described in Durand et al. (Durand et al. 1993, 2009) and several validations have been performed (Quintana-Seguí et al. 2008; Vidal et al. 2010). In this study, we used the mean values of air temperature (in °C) and relative humidity (in %) of the capture day and four days before this day. Indeed, nymph and larvae of ticks take a blood meal on their host during an average three days, and adults in seven days, before dropping off the host (Militzer et al. 2021). Assuming fawns were infested by the three tick stages, we therefore considered a mean duration of blood meal of five days, explaining why we took the weather conditions into account during this time. The saturation deficit was considered and calculated according to Randolph and Storey (Randolph and Storey 1999):

$$SD = \left(1 - \frac{RH}{100}\right) \times 4.9463 \times \exp(0.0621 \times T)$$

with SD: the air saturation deficit (in mm Hg); RH: the air relative humidity; T: the air temperature; and where $\exp(x)$ stands for the exponential of x.

Our study site contained 172 forest plots measuring on average 7.95 ha, delineated by forest trails. In each forest plot during autumn, the dominant plant species and its cover proportion were determined for

the following years: yearly from 1996 to 2005, in 2009, and in 2012 (Saïd and Servanty 2005; Dray et al. 2008). We used these data to assess the habitat effect on tick infestation. When habitat data were not available for a year: (1) we used habitat data from the closest year (i.e., ± 2 years max); (2) data after 2014 were not considered, because we did not collect any data on habitat structure after 2012, and we considered that habitat structure had changed too much after two years to be ignored in a study of habitat effect on tick infestation.

Between 1996–1999, forest managers made openings in the habitat (i.e., pasture area) to improve roe deer habitat. Then, in late December 1999, Hurricane Lothar, apparently the strongest hurricane in the region for at least 1000 years, hit the Trois-Fontaines site, disturbing the habitat (Gaillard et al. 2003; Widmer et al. 2004). This event created several openings and modified the microclimatic conditions of the environment.

c. Model of the infestation process

First, based on the GPS location of 308 fawn bedding sites, we explored the spatial autocorrelation of infestation levels. More precisely, we used the bivariate K function (Baddeley and Turner 2005) to assess the mean number of fawns infested by ticks within a given radius from a fawn not infested by ticks, for different radii comprised between 0–2.5 km. We tested the significance of a clustering of ticks at various scales by comparing this observed function to a set of bivariate K functions calculated using the same dataset after randomly allocating the infestation status to the fawn locations (i.e., random labeling ; Baddeley et al. 2015). We carried out this analysis with the package `spatstat` (Baddeley et al. 2015).

Then, we designed a Bayesian model describing the infestation process of the roe deer fawns by ticks during the first eight days of their lives, to test the effect of environmental variables on the infestation rate. All the codes and data used for this modeling approach are available in an R package named `tickTF` (R Core Team 2021), (Digital Object Identifier: 10.5281/zenodo.5764798), available on Github at the URL: <https://github.com/ClementCalenge/tickTF>. It can be installed in R with the package `devtools` (Wickham et al. 2020), using the function `devtools::install_github("ClementCalenge/tickTF", ref="main")`. The package `tickTF` includes a vignette describing how the user can easily reproduce the model fit (available with the command `vignette("tickTF")` once the package has been installed). This vignette is also available as supplementary material of this paper (S1 Appendix), and describes the complete mathematical development of the model, the implementation of the model using the R package `NIMBLE` (de Valpine et al. 2017), the complementary analyses, and model checks.

In this section, we give a short description of the model, and we refer the reader to the supplementary material for a more complete development.

We modeled the infestation process by a Poisson process (e.g., Taylor and Karlin (Taylor and Karlin 1998)). In other words, the number N_j of ticks present on a given fawn j is supposed to follow a Poisson distribution with mean Λ_j :

$$N_j \sim P(\Lambda_j)$$

The expected number of ticks on fawn j is supposed to be the result of a process of accumulation of ticks, i.e., is equal to the integration over time t of an instantaneous risk function $\lambda_j(t)$:

$$\Lambda_j = \int_0^{a_j} \lambda_j(t) dt$$

where a_j is the age of fawn j at the time of capture. We modeled this instantaneous risk of infection of a fawn having t days old with:

$$\lambda_j(t) = \zeta_j \times \mu(\mathbf{x}_j) \times s_j(t) \times \exp(\gamma_v \times I(t > 5)) \quad (1)$$

The instantaneous rate of infestation of a given fawn was therefore the product of an instantaneous rate of infestation per unit of body size area $\mu(\mathbf{x}_j)$ – which itself was supposed to depend on environmental variables characterizing the capture \mathbf{x}_j (see below), of the body size $s_j(t)$ of the fawn j at times t , and of a random individual effect ζ_j . These random effects followed a gamma distribution $G(1/\varphi, \varphi)$, with φ a dispersion parameter to be estimated, and account for the fact that different fawns have different sensibilities to ticks.

As we said before, we considered a mean duration of blood meal of five days. Then, after five days, the ticks that infested the fawn on its first day of life start to drop off the host, which is expected to lead to a decrease in the observed infestation rate, as the number of ticks infesting a fawn may be partly compensated by the number of ticks quitting the animal. Thus, the instantaneous rate of infection is supposed to be different for fawns aged up to five days old and for older fawns (this rate is multiplied by $\exp(\gamma_v)$ after that) – in this equation, $I(t > 5)$ takes the value one when the fawn is older than five days old and zero otherwise.

To fit this model, we developed a submodel for the instantaneous rate of infestation per unit of body size area $\mu(\mathbf{x}_j)$ – which was independent of age – and another submodel for the changes of body surface area $s_j(t)$ of fawn j with time – which varied with age.

For the latter, we used the data collected on captured fawns to model the relationship between the age at capture a_j and body surface area at capture $\underline{s}_j(a_j)$. Our data suggested that the following quadratic regression model was reasonable to describe the growth of roe deer fawn during the first eight days of life (see supplementary material):

$$s_j(t) = \beta_0 + \beta_1 \times t + \beta_2 \times t^2 + \epsilon_j$$

where ϵ_j is a gaussian residual with zero mean and standard deviation σ_s .

Moreover, we proposed the following loglinear submodel for the instantaneous rate of infestation per unit of body size area:

$$\log \mu(x_j) = \alpha_0 + \delta_{u(j)} + \sum_{k=1}^p \gamma_k x_{jk} \quad (2)$$

where α_0 is the intercept, $\delta_{u(j)}$ is a gaussian random effect characterizing the year $u(j)$ of capture of fawn j , and γ_k are coefficients characterizing the effect of environmental variables x_{jk} . Note that preliminary versions of our model revealed that the variance of the year random effects $\delta_{u(j)}$ varied a lot across periods. We distinguished three periods based on the dynamics of the forest structure: (i) period 1 corresponded to the period before Hurricane Lothar (between 1992–1999); (ii) period 2 corresponded to the 10 years following this hurricane (between 2000–2009); (iii) period 3 corresponded to the later years (2010–2018). We estimated one variance parameter $\sigma_u^{(p)}$ of the year random effects for each period p . During the step of model building, we tested the effect of several variables x_{jk} on the infestation rate: (i) humidity, (ii) temperature, (iii) saturation deficit, (iv) roe deer density, and (v) habitat type. We kept only the most influential variables in the model.

One difficulty with this model is that we did not know the exact number N_j of ticks on fawn j but rather the tick-burden class. However, given A_j we could calculate the probability of all the possible values of N_j within a given class (since N_j followed a Poisson distribution), and therefore, we could calculate the probability of each burden class by summing the probabilities of all values of N_j in this class (see supplementary material for more details).

We estimated the posterior distribution of the vector of parameters of the model, i.e., $\theta = (\beta_0, \beta_1, \beta_2, \phi, \sigma_s, \{\sigma_u^{(p)}\}, \{\delta_u\}, \alpha_0, \gamma_v, \{\gamma_k\})$. We fitted our model using Markov Chain Monte Carlo (MCMC) using the package `NIMBLE` ((de Valpine et al. 2017) see supplementary material for technical details) for the R software, using four chains of 50 000 iterations after a burn-in period of 1000 samples. To save some memory space, we thinned the chains by selecting one sample every 20 iterations. We checked the mixing properties of the chains both visually and using the diagnostic of Gelman and Rubin (Gelman and Rubin 1992). We checked the goodness of fit by using the approach recommended by Gelman and Meng (Gelman et al. 1996). Each MCMC iteration generated a sampled value $\theta^{(r)}$ of the parameter vector θ . For each simulated value $\theta^{(r)}$, we simulated a virtual dataset and calculated a summary statistic on it; we then compared the observed statistics with the distribution of simulated values. We used several summary statistics: the number of fawns in each of the three tick-burden classes in total, for each possible age, and in each year. In all cases, the observed values were within the limits of the 95% credible interval.

1.5. Results

We present the spatial distribution of the captured fawns at Trois-Fontaines in [Figure 3](#). This distribution was quite uniform in space, and the tick infestation status seemed to be randomly distributed.



Fig 3. Distribution of fawns at the study site for the period 2010–2018. The level of infestation is indicated according to the three tick-burden classes (light gray points = less than 10 ticks; dark gray triangles = between 10–20 ticks; black squares = more than 20 ticks). Figure made by authors using QGIS software. Authors have assigned the figure the CC-BY 4.0 license.

This was confirmed by the analysis of the bivariate K function ([Fig 4](#)). We could not identify any departure from a random distribution of the infestation status in space, at all scales.

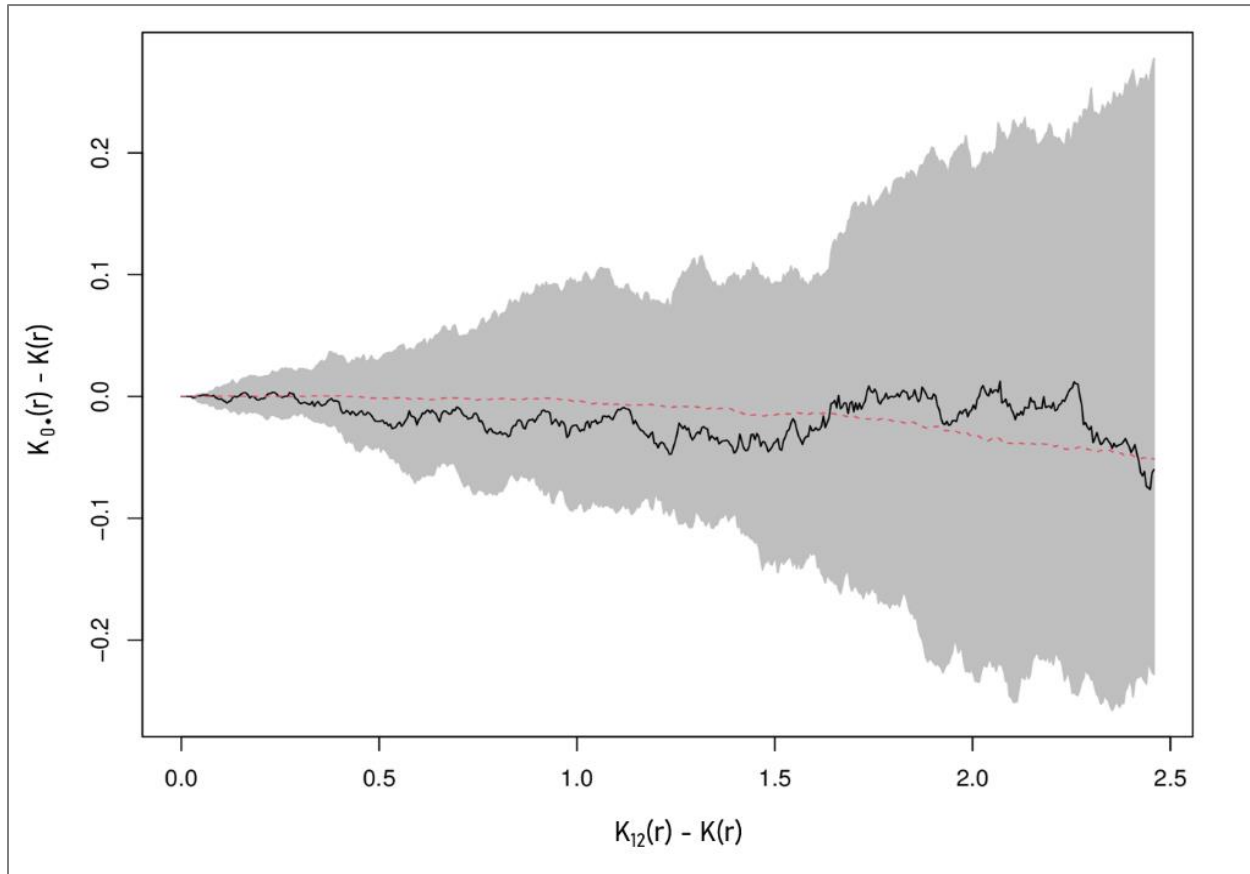


Fig 4. Test of the clustering of tick-infested fawns at various scales using the bivariate function K . For clarity, we present, for various radii r , the function $K_{12}(r) - K(r)$ where $K_{12}(r)$ is the bivariate K function and $K(r)$ is the univariate K function; this difference is lower than zero when there are, on average, less infested fawns within a radius r of a non-infested fawn than expected under a random spatial distribution of statuses (i.e., clustering of infested ticks). The black curve corresponds to the observed function. The gray area and dotted red curve correspond respectively to the envelope and mean value of the 100 functions simulated under the random labeling assumption (see text).

In total, we collected data of tick infestation on 1043 fawns, assuming that all three tick stages were present. The age of individuals was estimated between 1–20 days (mean \pm SD = 4.01 ± 3.05 ; min = 1, max = 20) during the 1992–2018 period. Only fawns aged between 1–8 days were kept for our analysis, as older fawns were rare in our data (8% of the total dataset). For the following analyses, we only used data from the 965 fawns less than eight days old (mean = 3.35 ± 2.02) when captured (Fig 5). Among them, 696 fawns had < 10 ticks (26 fawns/year on average, SD = 11), 167 had 10–19 ticks (7 fawns/year, SD = 3), and 102 had ≥ 20 ticks (4 fawns/year, SD = 3).

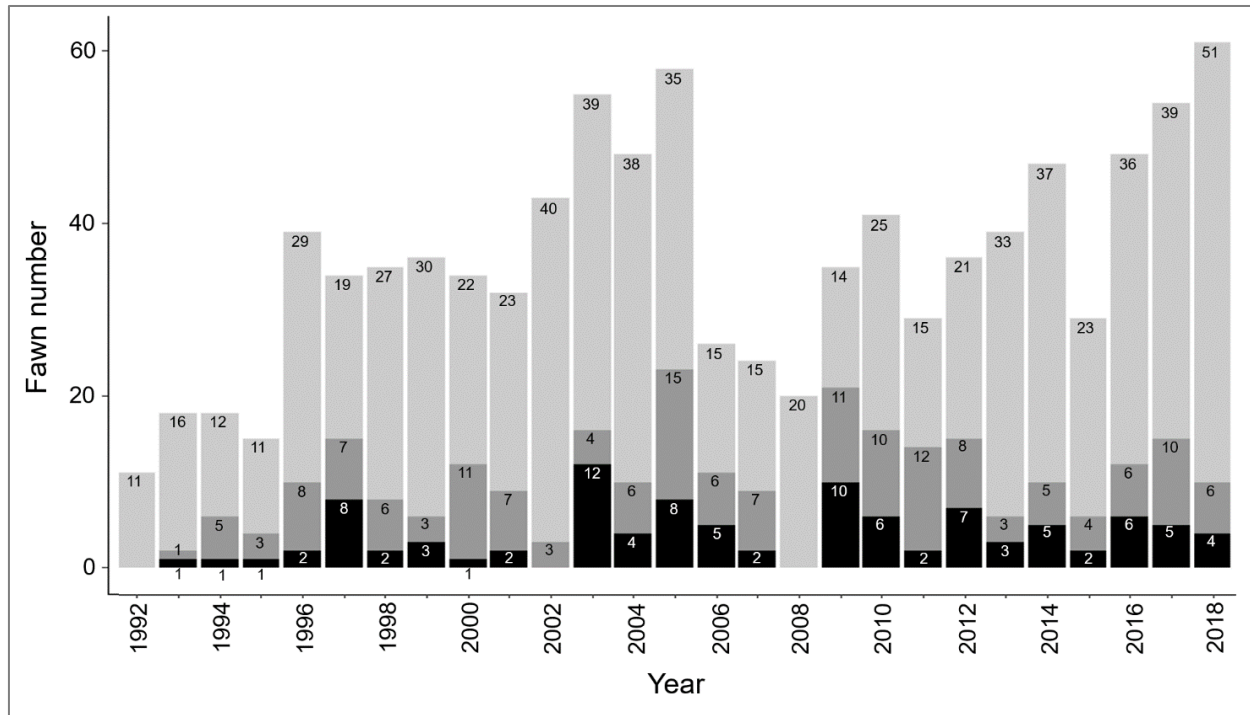


Fig 5. Number of fawns studied per year in the Trois-Fontaines Forest between 1992–2018. The three gray scales correspond to the three tick-burden classes (light gray = less than 10 ticks; dark gray = between 10–20 ticks; black = more than 20 ticks).

The model including an effect of the variables “> 5 days old”, “humidity”, and random effect of the “year” was considered as the best model for the infestation rate of fawns. We did not highlight any effect of temperature (coefficient = 0.00 [−0.04; 0.04]_{95%CI}) and roe deer density (coefficient = 0.002 [−0.001; 0.005]_{95%CI}) on the instantaneous infestation rate per unit of body surface area. Moreover, all the coefficients associated with habitat types were characterized by 95% CI including 0 – they were all characterized by a point estimate comprised between −0.1 and 0.1 and by a standard error equal to 0.11, see supplementary material. The model incorporating the saturation deficit had a higher WAIC (WAIC = 1375.12, SE = 1.58) than the model with the effect of humidity only (WAIC = 1373.71, SE = 1.57). All the estimated parameters of the final model are presented in [Table 1](#).

Table 1: Estimated top parameters for the final model of the infestation of fawns by ticks in the Trois-Fontaines Forest. For each parameter, we give the notation used in the text, a short description, the point estimate (corresponding to the mean of the posterior distribution), and the 95% credible interval.

Description	Notation	Est.	95% CI
Intercept in infestation rate log-linear model	α_0	2.853	2.68 ; 3.02
	β_0	0.176	0.174 ; 0.178
	β_1	0.014	0.013 ; 0.014
Parameters of the growth model	β_2	-0.001	-0.001 ; -0.001
	σ_s	0.021	0.02 ; 0.022
Effect of >5 days old	γ_v	-17.7	-46.6 ; -2.6
Dispersion parameter of individuals random effects on the infection rate	φ	0.68	0.53 ; 0.85
Effect of humidity in infestation rate log-linear model	γ_k	0.01	-0.006 ; 0.025
	$\sigma_u^{(1992-1999)}$	0.438	0.044 ; 1.141
Standard deviation $\sigma_u^{(p)}$ of the years random effects in infestation rate log-linear model for each period p	$\sigma_u^{(2000-2009)}$	0.822	0.422 ; 1.543
	$\sigma_u^{(2010-2018)}$	0.165	0.011 ; 0.462

During the first few days of life, fawns acquire ticks as they grow. Note that the coefficient γ_v , characterizing the rate of infestation for older fawns, was particularly low: this indicates that the instantaneous risk of infestation becomes equal to zero after the first five days of life ([Fig 6](#)).

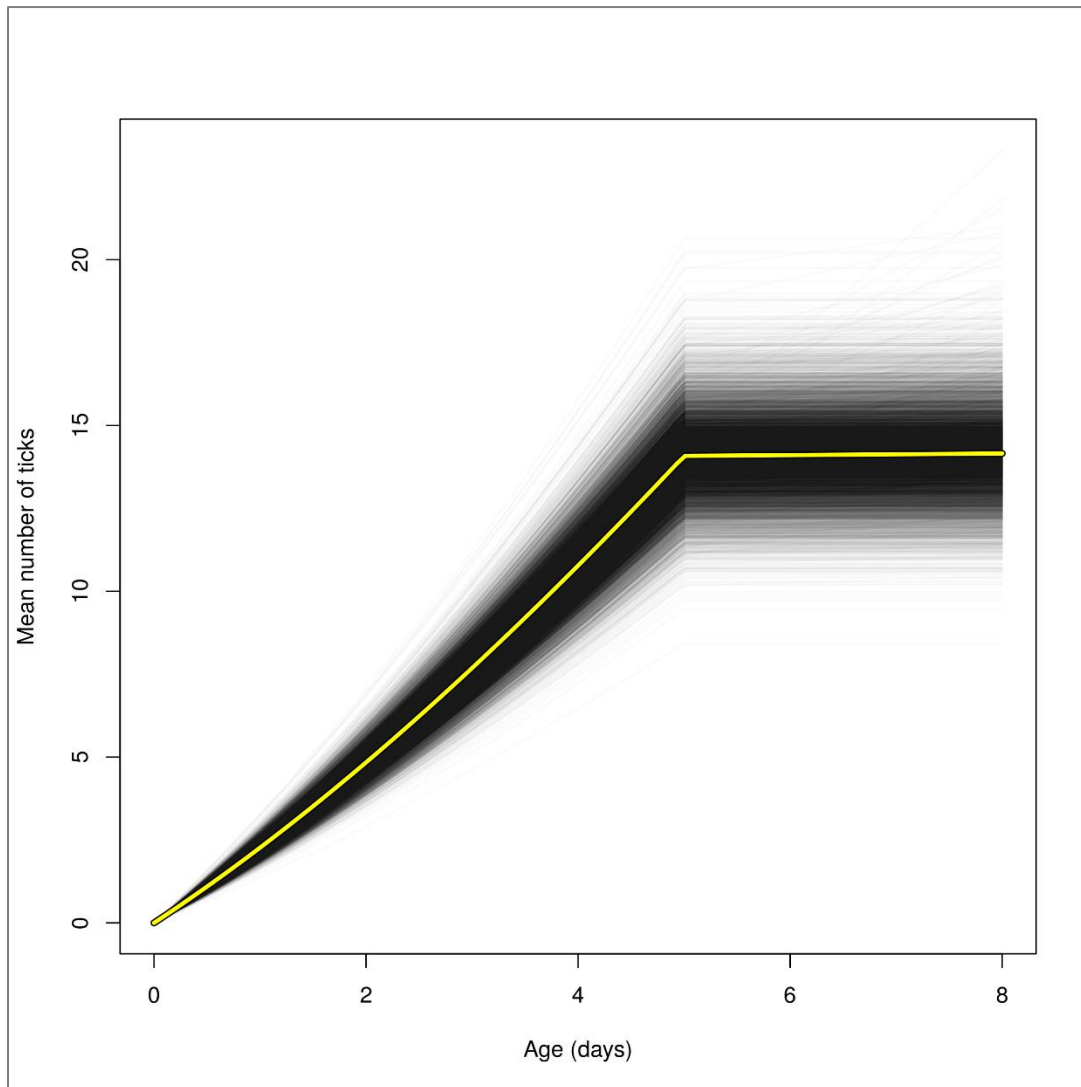


Fig 6. Mean number of ticks expected under our final model (see text) on an average sized fawn of a given age in the Trois-Fontaines Forest during an “average” year (i.e., a fictious year characterized by a random effect equal to 0). Each thin black curve corresponds to the expected number of ticks obtained for one MCMC iteration (we had 10000 iterations displayed on this plot). The yellow curve corresponds to the mean curve.

The effect of humidity seemed only marginally significant (coefficient = 0.010 [−0.006; 0.025]_{95%CI}). When we compared the model including the effect of humidity with a model excluding it, with the Watanabe–Akaike Information Criterion (WAIC; (Gelman et al. 2014)), we could not detect any significant difference between the two models (model with humidity: WAIC = 1373.8, SE = 1.57; model without humidity: WAIC = 1374.6, SE = 1.57), so that the two models were equally likely according to this criterion. We therefore decided to keep humidity in the model.

The mean infestation rate was highly variable between years during the 10 years following Hurricane Lothar. Note that this between-year variation was particularly low from 2010 to 2018, with the period prior to Hurricane Lothar being intermediate (Fig 7).

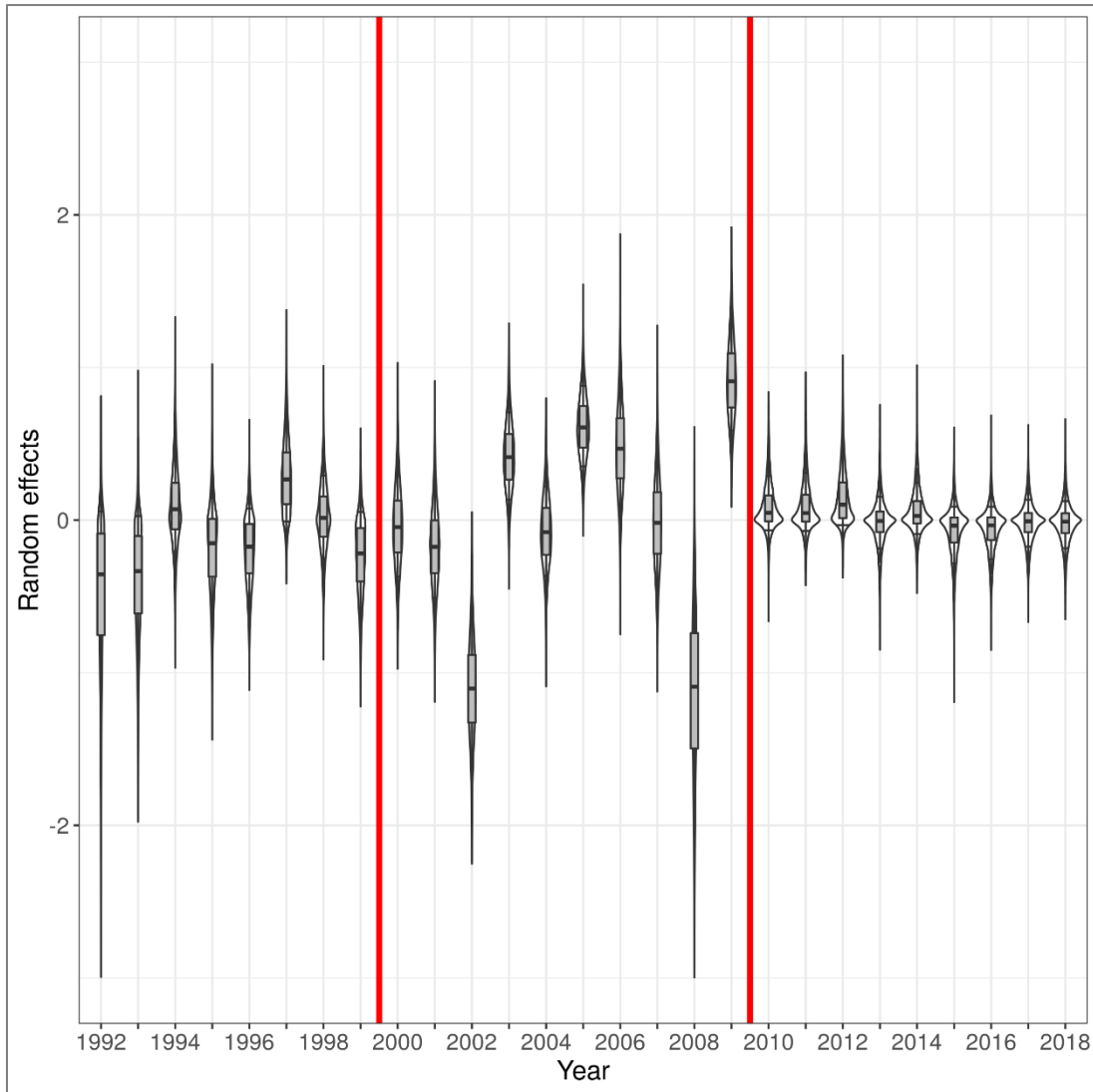


Fig 7. Posterior distribution of the (random) effects $\delta_{u(j)}$ of the year on the instantaneous infestation rate per unit of body size area of fawns by ticks in the Trois-Fontaines Forest. The vertical red lines delimit the three periods: (i) period 1 corresponded to the period before Hurricane Lothar (between 1992–1999); (ii) period 2 corresponded to the 10 years following this hurricane (between 2000–2009); (iii) period 3 corresponded to the later years (2010–2018). For a given year, the posterior distribution is represented by a boxplot superposed on a violin plot (i.e., for a given random effect, a kernel smoothing of the MCMC simulations of a random year effect was rotated and put on both sides of a vertical line, mirroring each other).

A substantial amount of variation in our data remain unexplained. Indeed, the coefficient φ , characterizing the gamma distribution of the individual random effects, was lower than one. The parameter φ is inversely related to the variance of the gamma distribution (with a mean = 1 and a variance = $1/\varphi$). A small value of φ indicates that the unexplained between-individual random differences in sensibilities are large. And indeed, the Spearman correlation coefficient between the observed dataset and the datasets simulated under our model to assess the goodness of fit of the model was rather small ($\rho = 0.17$ [0.1; 0.24]_{95%CI}), confirming that there was still a lot of unexplained variability in our data.

1.6. Discussion

The number of ticks on fawns below the age of eight days was frequently low. Only 28% of total observations ($n = 965$) had 10 ticks and more, and 72% of observations had less than nine ticks (Fig 5). The hiding strategy of roe deer fawns in their first days of life may be effective in avoiding parasites such as ticks. Indeed, to increase their chance of survival, they stay hidden in the vegetation to minimize the risk of predation (Linnell et al. 1999). As a result, they have low mobility in the first days of life, leading to a low probability of touching the vegetation where ticks are questing. From the sixth day of life, our study suggests that the level of tick burden becomes constant (Fig 6). This could be explained by the depletion of questing ticks in the habitat of fawns and the turnover of ticks feeding on fawns. Indeed, as ticks take their blood meal on hosts for a few days (i.e., on average 3 days for nymphs and larvae and 7 days for adults; Militzer et al. 2021) before falling to the ground, where they molt or lay eggs (Taylor et al. 2015), the number of ticks gained after this age is probably counterbalanced by the number of ticks that drop off the host.

Factors linked to environmental conditions therefore seem to partly drive the between-individual heterogeneity of infestation by ticks. As expected, the humidity rate was positively related to the tick number on fawns. Based on our model, a 20% increase of humidity leads to an increase of 1.2 ticks on fawns on average (i.e., a humidity coefficient equal to 0.01 which is equivalent to a mean number of ticks multiplied by $\exp(0.01 \times 20) = 1.2$). This result is in agreement with the positive influence of the relative humidity on *I. ricinus* survival and activity, which can lead to a greater presence of questing ticks in the environment (MacLeod 1935; Perret et al. 2000). Ticks need at least 70–80% humidity to survive off-host (Medlock et al. 2013). In this study, the humidity effect was only marginally significant. Our model showed that a 20% increase in humidity (which is large, since humidity varied between 57–90% in our area) leads to an increase of 20% in the number of ticks. Since there was on average between 10–15 ticks per animal (Fig 6), a 20% increase in the number of ticks corresponds to only 2–3 more ticks on average. This may explain our difficulty in clearly identifying this effect with our three broad classes of tick burden.

Tick development and questing activity are strongly temperature dependent (Bowman and Nuttall 2008; Schulz et al. 2014). Ticks do not tolerate dry and hot conditions due to the risk of desiccation, and below 1°C, they are not active and most of the time goes into wintering (MacLeod 1936; Perret et al. 2000; Schulz et al. 2014). Thus, climatic conditions are decisive for the survival, development, and activity of *I. ricinus*, and this depends on geographic locations and habitat characteristics. We therefore expected to detect an effect of temperature on infestation rate. However, no relationship was observed, which could be explained by the lack of power caused by the absence of a precise measure of the number of ticks on fawns.

We were unable to identify any effect of the habitat structure on the infestation rate of fawns in our study, and could not validate our second hypothesis. However, it is known that several factors can impact

tick abundance and distribution, including habitat structure (Bowman and Nuttall 2008). For instance, forest vegetation provides a more stable microclimate compared to open habitats, with less extreme variation in climate and mortality risk for ticks, especially when the overstory and the shrub cover are important (Estrada-Peña 2001; Lindström and Jaenson 2003). In addition, ground vegetation retains moisture and provides shade, which are very important for tick survival and their water balance. This explains why *I. ricinus* are mainly found in leaf litter and low layers of vegetation in forests (Milne 1950; Mejlou and Jaenson 1997; Medlock et al. 2013). In this study, our inability to isolate any effect of the habitat structure was probably due to the inappropriate scale of habitat measurement: we mapped the vegetation at the resolution of the forest plot, which was probably too large to identify such an effect. Actually, the characteristics at the microhabitat level, i.e., whether the vegetation structure within a few meters around the fawn provides the fawn a thermal protection (Cook et al. 2004) and low light penetration (Van Moorter et al. 2009), would be more accurate to see differences of infestation rate in terms of vegetation structure. In addition to the influence of microhabitat and microclimate on tick density, considering local density and movements of hosts could be interesting to better explain the heterogeneity of tick abundance at a fine spatial scale. In fact, ticks drop off from the host to the ground after engorgement to molt or lay eggs, creating a local “nest” of several questing larvae. They have limited abilities to move spatially on their own on the ground, and depend on the presence of hosts to complete their life cycle. Therefore, the density and movements of hosts can be strong drivers of the local density of ticks in the environment (Ruiz-Fons and Gilbert 2010).

The mean level of tick burden on fawns did not vary according to the decade of our study and it exhibited low interannual variability during the periods 1992–1999 and 2011–2018 (Fig 7). However, there was a stronger interannual variability over the period 2000–2010. We first thought that this high interannual variability in infestation rate could have been caused by variations in roe deer density (Gray 1998), since deer are major hosts of *I. ricinus* and a high variation in roe deer density occurred in Trois-Fontaines during the 2000–2010 period. However, contrary to our initial hypothesis, we did not find a link between this factor and the level of tick infestation. As stated by Carpi et al. (Carpi et al. 2008), the tick infestation of roe deer is not necessarily dependent of the roe deer density. Tick populations can be maintained with a small density of deer, and ticks in the environment do not automatically increase with the abundance of deer (Vor et al. 2010; Hofmeester et al. 2017). Furthermore, during its life cycle, *I. ricinus* can parasitize a large number of vertebrates including mammals (e.g., fox, wild boar, rabbit, squirrel) or even birds (e.g., blackbird, pheasant, harrier) (Cull et al. 2018). Thus, to better understand the effect of host density, we should, in theory, consider the density of all possible hosts of this tick species, which is difficult to monitor. Another explanation for this interannual variability in tick infestation could be linked to Hurricane Lothar, which took place in December 1999. This event has considerably changed the forest structure, by creating numerous opening

patches, modifying forest dynamics, and habitat use by roe deer (Widmer et al. 2004). Prior to the hurricane, the Trois-Fontaines Forest appeared homogeneous with no strongly different habitat types. After the hurricane, microhabitats and microclimatic conditions became more spatially heterogeneous (Pettorelli et al. 2006). Thus, fawns captured between 2000–2010 were probably found in habitats with very different characteristics and/or density of hosts, which influenced the estimated infestation rate of individuals by ticks.

In summary, the level of tick burden became constant when fawns were five days old or more. Humidity was significant but no effects of temperature, vegetation structure, or roe deer density were found on the tick burden of fawns. However, we noticed a strong heterogeneity of tick burden between years suggesting other variables could be involved, such as local density of various host species or habitat characteristics of fawns (i.e., bedding sites), which may be important for tick activity. Studies at finer scales need to be carried out to understand why some fawns are more parasitized than others. This would require additional data on ticks in the environment, at different times of the year, which would allow a more precise study to improve our understanding of tick infection in ungulate newborns.

1.7. Acknowledgments

We are grateful to the volunteers and technicians for participating in the fawn captures and data collection at TEE of Trois-Fontaines (France). We also thank Jean-Michel Gaillard for the roe deer density data at Trois-Fontaines and to the proofreaders (Proof-Reading-Service.com) who have agreed to read this manuscript. This study was conducted in the context of a PhD co-funded by the OFB and the VetAgro Sup under partnership agreement.

1.8. Supplementary material

S1 Appendix. Additional mathematical demonstrations, R code to fit the model and complementary analyses.

Contents

1	Model description	3
1.1	General model	3
1.2	Submodel of $\mu(\mathbf{x}_j)$	4
1.3	Integration of $\lambda(t)$	4
1.4	The individual random effect ζ_j	6
1.5	An ordinal response variable	6
2	Model fit	7
2.1	Fit with the package <code>nimble</code>	7
2.2	MCMC chain mixing	10
2.3	Goodness of fit	11
2.4	Estimated parameters	13
2.5	Explained variation in the response variable	16
2.6	Expected number of ticks with age	18
2.7	The years random effects	19
3	Effect of other environmental variables	20
3.1	Effect of temperature	20
3.2	Effect of roe deer density	22
3.3	Effect of habitat type	24

Introduction

This vignette serves as the supplementary material of the paper of Bariod et al. (in prep.): *Parasitized or non-parasitized, why? A study of factors influencing tick burden in roe deer neonates*. The aim of this paper is to develop a model of the tick infestation process in roe deer fawns in the forest of Trois-Fontaines (France) between 1992 and 2018. A companion package named `tickTF` contains the data and functions used for this paper, and is required to reproduce the calculations in this document. To install this package, first install the package `devtools` and use the function `install_github` to install `tickTF`:

```
## If devtools is not yet installed, type
install.packages("devtools")

## Install the package caperpyogm
devtools::install_github("ClementCalenge/tickTF", ref="main")
```

Remark: on Windows, it is required to also install the Rtools (<https://cran.r-project.org/bin/windows/Rtools/>) on your computer to have a working `devtools` package (see <https://www.r-project.org/nosvn/pandoc/devtools.html>).

It is supposed throughout this vignette that the reader is familiar with the paper of Bariod et al., and in particular with the data collected to fit the model. Nevertheless, we present a brief reminder of the dataset used to fit the model.

```
library(tickTF)

## Our dataset
head(fticks)

##   ticks year lothar age      bsa temperature humidity
## 1     1 1992     1   1 0.15874      11.740     74.700
## 2     1 1992     1   2 0.15340      17.140     64.560
## 3     1 1992     1   4 0.17424      19.340     57.300
## 4     1 1992     1   3 0.15340      17.400     54.120
## 5     1 1992     1   2 0.16915      17.400     54.120
## 6     1 1992     1   4 0.17424      17.041     62.926
##   habitat density
## 1         5     236
## 2         1     236
## 3         1     236
## 4         5     236
## 5         5     236
## 6         5     236
```

Every year from 1992 to 2018, the French organization for biodiversity (*Office français de la biodiversité*) has carried out captures of roe deer fawns from April to June, and the tick burden of each animal has been assessed by the field workers (stored in the variable `ticks` of the data.frame). Three levels of tick burden are defined:

1. less than 10 ticks
2. between 10 and 20 ticks
3. more than 20 ticks

For each captured fawn, the following basic variables have been reported:

- **age**: the age of the fawn at the time of capture (in days);
- **temperature**: the mean temperature during the 6 days preceding the capture;
- **humidity**: the mean humidity during the 6 days preceding the capture;
- **year**: the year of capture;
- **bsa**: the body surface area;
- **lothar**: the period to which the year of capture belong (defined on the basis of the forest structure following the hurricane Lothar). Three periods are defined: 1 corresponds to the year prior to the Lothar hurricane in 1999; 2 corresponds to the 10 years following the Lothar hurricane; 3 corresponds to the period 2010–2018;
- **habitat**: for animals captured from 1992 to 2014, the main habitat in the forest plot where the animal was found (1 = low scrub; 2 = high scrub; 3 = clear forest; 4 = dense and young forest; 5 = dense and older forest with continuous canopy);
- **density**: the density of the roe deer in the Trois-Fontaines Forest during the year of capture;

Our aim is to develop a model of the tick infestation process using this dataset. In a first section, we present the mathematical developments underlying the model fitted to our dataset. Then, we present how we carried out the model fit with R and the package `nimble` [VAL17] in a second section. Finally, we present alternative models that were also tested in a last section.

1 Model description

1.1 General model

We first suppose that the tick infestation process of a fawn can be described by a Poisson process: each new tick parasiting a given fawn is considered as an event, and we want to model how events occur in time. Let $\lambda_j(t)$ be the instantaneous rate of the Poisson process characterizing infestation for fawn j at age t (age is here considered as a continuous variable). The number of ticks present on the fawn j at the time of capture is the sum of all ticks acquired during its lifetime. Let a_j be the age of fawn j at the time of capture. Our Poisson process model implies that the expected number of ticks parasiting fawn j at the time of capture is equal to:

$$\Lambda_j = \int_0^{a_j} \lambda_j(t) dt \quad (1)$$

Under our model, the actual number of ticks N_j on fawn j is supposed to be drawn from a Poisson distribution with parameter Λ_j :

$$N_j \sim \mathcal{P}(\Lambda_j)$$

Now, we propose the following model of the instantaneous infestation rate $\lambda(t)$:

$$\lambda_j(t) = \zeta_j \times \mu(\mathbf{x}_j) \times s_j(t) \times (\exp(\gamma_v \times I(t > 5)) \quad (2)$$

Where:

- ζ_j is a random effect characterizing animal j . These random effects account for the different sensibilities of fawns to parasitism by ticks;
- $\mu(\mathbf{x}_j)$ is the average instantaneous infestation rate *per unit of body surface area*. This rate depends on variables \mathbf{x}_j characterizing the time of the capture of animal j (see next subsection);

For each captured fawn, the following basic variables have been reported:

- **age**: the age of the fawn at the time of capture (in days);
- **temperature**: the mean temperature during the 6 days preceding the capture;
- **humidity**: the mean humidity during the 6 days preceding the capture;
- **year**: the year of capture;
- **bsa**: the body surface area;
- **lothar**: the period to which the year of capture belong (defined on the basis of the forest structure following the hurricane Lothar). Three periods are defined: 1 corresponds to the year prior to the Lothar hurricane in 1999; 2 corresponds to the 10 years following the Lothar hurricane; 3 corresponds to the period 2010–2018;
- **habitat**: for animals captured from 1992 to 2014, the main habitat in the forest plot where the animal was found (1 = low scrub; 2 = high scrub; 3 = clear forest; 4 = dense and young forest; 5 = dense and older forest with continuous canopy);
- **density**: the density of the roe deer in the Trois-Fontaines Forest during the year of capture;

Our aim is to develop a model of the tick infestation process using this dataset. In a first section, we present the mathematical developments underlying the model fitted to our dataset. Then, we present how we carried out the model fit with R and the package `nimble` [VAL17] in a second section. Finally, we present alternative models that were also tested in a last section.

1 Model description

1.1 General model

We first suppose that the tick infestation process of a fawn can be described by a Poisson process: each new tick parasiting a given fawn is considered as an event, and we want to model how events occur in time. Let $\lambda_j(t)$ be the instantaneous rate of the Poisson process characterizing infestation for fawn j at age t (age is here considered as a continuous variable). The number of ticks present on the fawn j at the time of capture is the sum of all ticks acquired during its lifetime. Let a_j be the age of fawn j at the time of capture. Our Poisson process model implies that the expected number of ticks parasiting fawn j at the time of capture is equal to:

$$\Lambda_j = \int_0^{a_j} \lambda_j(t) dt \quad (1)$$

Under our model, the actual number of ticks N_j on fawn j is supposed to be drawn from a Poisson distribution with parameter Λ_j :

$$N_j \sim \mathcal{P}(\Lambda_j)$$

Now, we propose the following model of the instantaneous infestation rate $\lambda(t)$:

$$\lambda_j(t) = \zeta_j \times \mu(\mathbf{x}_j) \times s_j(t) \times (\exp(\gamma_v \times I(t > 5))) \quad (2)$$

Where:

- ζ_j is a random effect characterizing animal j . These random effects account for the different sensibilities of fawns to parasitism by ticks;
- $\mu(\mathbf{x}_j)$ is the average instantaneous infestation rate *per unit of body surface area*. This rate depends on variables \mathbf{x}_j characterizing the time of the capture of animal j (see next subsection);

- $s_j(t)$ is the body surface area of animal j at time t ;
- γ_v is used to alter the infestation rate of fawns by ticks after 5 days; $I(t > 5)$ takes the value 1 when t is greater than 5 and 0 otherwise. Indeed, after 5 days of engorgement, ticks start to detach themselves and fall off, leading to a decrease in the number of ticks on the animal (see paper). Thus, from the 6th day, the infestation rate starts to decrease, and γ_v accounts for this decrease.

We will need to estimate each component of this model using our dataset.

1.2 Submodel of $\mu(\mathbf{x}_j)$

As noted above, we will need a submodel of the instantaneous infestation rate $\mu(\mathbf{x}_j)$ per unit of body surface area. We noted that this rate may depend on different variables characterizing the time of capture. More precisely, we suppose:

$$\log \mu(\mathbf{x}_j) = \alpha_0 + \delta_{u(j)} + \sum_{k=1}^p \gamma_p x_{jk} \quad (3)$$

where α_0 is an intercept, $\{\delta_{u(j)}\}$ are random effects characterizing the year $u(j)$ of capture of the animal j (see below), and the $\{\gamma_p\}$ are a set of coefficients describing the effect of environmental variables x_{jk} on the instantaneous infestation rate. Actually, the final model include only one variable (the mean humidity during the 6 days preceding the capture), but we tried to test the effect of other variables in section 3 (temperature, roe deer density, habitat type).

The coefficients $\{\delta_{u(j)}\}$ are random effects describing the effect of the year $u(j)$ of the capture of fawn j . For a given year $u(j)$, we suppose that $\delta_{u(j)}$ is a Gaussian random effect:

$$\delta_{u(j)} \sim \mathcal{N}(0, \sigma_u^{(p)})$$

Here, the standard deviation of the distribution of the year random effects depends on the period (p) defined in the variable `lothar`. Preliminary versions of this model indeed revealed that this variance was greater just after the Lothar hurricane.

In a later section, we assess the effect of other variables on the infestation rate (average humidity, temperature, etc.), by adding effects of other variables to equation 3 (see section 3).

1.3 Integration of $\lambda(t)$

To calculate Λ_j , we need to integrate $\lambda(t)$ over the time (see equation 1). We therefore need to integrate the instantaneous rate $\lambda(t)$, which is defined in equation 2. For this, we need to know how the body surface area $s_j(t)$ of every fawn varies with time t from their birth until time of capture a_j . We propose to use the following quadratic regression model for this body surface area:

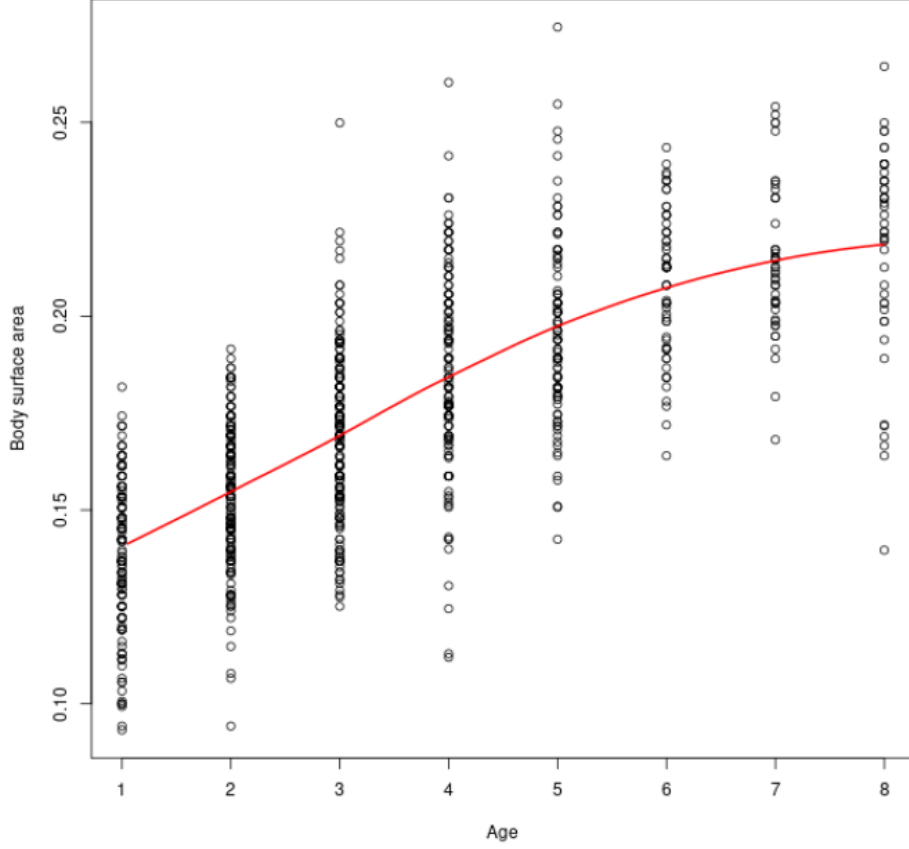
$$s_j(t) = \beta_0 + \beta_1 \times t + \beta_2 \times t^2 + \epsilon_j \quad (4)$$

With the residual ϵ_j supposed to be drawn from a Gaussian distribution:

$$\epsilon_j \sim \mathcal{N}(0, \sigma_s)$$

Indeed, we can display the relationship between age and body surface area at the time of capture in our dataset:

```
plot(fticks$age, fticks$bsa, xlab="Age", ylab="Body surface area")
ag <- seq(0,8,length=100)
lines(ag, predict(loess(bsa~age, data=fticks),
                  newdata=data.frame(age=ag)), col="red", lwd=2)
```

A loess smoothing suggest that the proposed quadratic model is reasonable, and that the hypothesis of homoscedasticity (variance of residuals which does not depend on age) is also satisfied.

Under this model, we can develop the equation 1 and develop the integration:

$$\begin{aligned}
 \Lambda_j &= \int_0^{a_j} \lambda_j(t) dt \\
 &= \int_0^{a_j} \zeta_j \times \mu(\mathbf{x}_j) \times s_j(t) \times (\exp(\gamma_v \times I(t > 5))) dt \\
 &= \zeta_j \times \mu(\mathbf{x}_j) \int_0^{a_j} s_j(t) \times \exp(\gamma_v \times I(t > 5)) dt
 \end{aligned}$$

Therefore, to calculate Λ_j , we need to calculate the expression E_j :

$$E_j = \int_0^{a_j} s_j(t) \times \exp(\gamma_v \times I(t > 5)) dt$$

We need to distinguish two cases:

- Either the fawn j is captured before he reaches the age of 6 days, in which case:

$$E_j = \int_0^{a_j} s_j(t)$$

- Or the captured fawn is older than 5 days and we need to account for the decrease in the infestation rate after 5 days:

$$E_j = \int_0^5 s_j(t) + \exp(\gamma_v) \times \int_5^{a_j} s_j(t)$$

In both cases, to calculate E_j , we need to integrate $s_j(t)$ (though on different intervals). We therefore need to find the antiderivative of $s_j(t)$. The function $s_j(t)$ is given by equation 4, so that the antiderivative $S_j(t)$ of $s_j(t)$ is:

$$S_j(t) = \beta_0 \times t + \frac{\beta_1}{2} \times t^2 - \frac{\beta_2}{3} \times t^3 + \epsilon_j \times t$$

We can now estimate the expected number of ticks on fawn j :

- for fawn of 5 days or less:

$$\Lambda_j = \zeta_j \times \mu(\mathbf{x}_j) \times \left(\beta_0 \times a_j + \frac{\beta_1}{2} \times a_j^2 + \frac{\beta_2}{3} \times a_j^3 + \epsilon_j \times a_j \right)$$

- for older fawns:

$$\Lambda_j = \zeta_j \times \mu(\mathbf{x}_j) \times \left\{ \left(5\beta_0 + 12.5\beta_1 + \frac{125}{3}\beta_2 + 5\epsilon_j \right) + \exp(\gamma_v) \times \left(\beta_0 \times a_j + \frac{\beta_1}{2} \times a_j^2 + \frac{\beta_2}{3} \times a_j^3 + \epsilon_j \times a_j - (5\beta_0 + 12.5\beta_1 + \frac{125}{3}\beta_2 + 5\epsilon_j) \right) \right\} \quad (5)$$

1.4 The individual random effect ζ_j

To summarize, the number of ticks found on the fawn j is the result of progressive accumulation of ticks from birth until capture. The average instantaneous infestation rate is the product of an instantaneous infestation rate – which, (i) depends on whether the animal is older than 5 days or not, and (ii) accounts for the body surface area of the fawn – and of a random individual effect ζ_j , which characterizes each animal j (see equation 2).

Now, let us consider this random effect ζ_j . We suppose that this random effect is drawn from a Gamma distribution with parameters:

$$\zeta_j \sim \mathcal{G}(1/\phi, \phi)$$

Here, the parameter ϕ controls the variance of individual random effects (the variance of these random effects will be large if ϕ is small). It is well known that if the number of ticks N_j on a fawn j follows a Poisson distribution with a parameter Λ_j randomly drawn from a gamma distribution, then the distribution of N_j is negative binomial with parameters:

$$N_j \sim \mathcal{NB}(\Omega_j, \phi)$$

with $\zeta_j \times \Omega_j = \Lambda_j$ (see [VEN02]).

1.5 An ordinal response variable

The model developed in the previous subsections uses the number of ticks N_j detected on a captured fawn as a response variable. Actually, we do not know the exact value of N_j , as the response variable was a class of abundance of ticks was reported for each one (see introduction). Let Y_j be a variable defined by:

- $Y_j = 1$ when $N_j < 10$
- $Y_j = 2$ when $10 \leq N_j \leq 20$
- $Y_j = 3$ when $N_j > 20$

In our data, this variable corresponds to the column `ticks` of the data.frame `fticks`. This is our actual response variable.

Now, let $F(N; \Omega_j, \phi)$ be the cumulative distribution function of a variable N following the negative binomial distribution with parameters Ω_j and ϕ . Then:

$$\begin{aligned} P(Y_j = 1) &= F(9; \Omega_j) \\ P(Y_j = 2) &= F(20, \Omega_j) - F(9, \Omega_j) \\ P(Y_j = 3) &= 1 - F(20, \Omega_j) \end{aligned}$$

We programmed this distribution for the package `nimble` to allow the model fit. We describe this fit in the following section.

2 Model fit

2.1 Fit with the package `nimble`

We fitted this model with the package `nimble` for the R software. We used MCMC to fit this model using the following prior distributions for the parameters:

$$\begin{aligned} \alpha_0 &\sim \mathcal{N}(0, 20) \\ \beta_0 &\sim \mathcal{N}(0, 20) \\ \beta_1 &\sim \mathcal{U}(0, 1) \\ \beta_2 &\sim \mathcal{N}(0, 20) \\ \gamma_v &\sim \mathcal{N}(0, 20) \\ \sigma_u^{(p)} &\sim \mathcal{U}(0, 100) \\ \sigma_s &\sim \mathcal{U}(0, 100) \\ \phi &\sim \mathcal{U}(0, 100) \end{aligned}$$

As noted in the previous section, the probability distribution for the variable Y_j is not available in the package `nimble`. We therefore programmed it using the functions of this package (see [VAL21] for a description of how to add a distribution to the package `nimble`). The code used to add the distribution of Y_j for MCMC sampling is displayed below:

```
library(nimble)

## Function giving the probability of Y_j (here passed as argument x)
## given the value of Omega (here passed as argument lambda) and phi

dticks <- nimbleFunction(
  run=function(x=integer(0), lambda=double(0, default=1),
              phi=double(0, default=1),
              log = integer(0, default = 0)) {
    returnType(double(0))
    proba <- phi/(phi+lambda)
    p1 <- pnbinom(9, size=phi, prob=proba,
                 lower.tail = TRUE, log.p = TRUE)
    p3 <- pnbinom(20, size=phi, prob=proba,
                 lower.tail = FALSE, log.p = TRUE)
    p2 <- log(0.0000001+
              pnbinom(20, size=phi, prob=proba,
                      lower.tail = TRUE, log.p = FALSE)-
              pnbinom(9, size=phi, prob=proba,
                      lower.tail = TRUE, log.p = FALSE))
    lpro <- (c(p1,p2,p3)[x])
    if (log) return(lpro)
```

```

    else return(exp(lpro))
  })

## Function needed to simulate random values from the probability distribution
## of Y_j, as a function of Omega (here passed as lambda) and phi.
rticks <- nimbleFunction(
  run = function(n = integer(0), lambda=double(0, default=1),
                phi=double(0, default=1)) {
    returnType(double(0))
    if(n != 1) print("rtiques only allows n = 1; using n = 1.")
    u <- rnbinom(1, size=phi, prob=phi/(phi+lambda))
    if (u<10) {
      return(1)
    }
    if(u<21) {
      return(2)
    }
    return(3)
  })

```

We then programmed the model described in the following sections for `nimble`, and prepared the data for the fit:

```

codePaperModel <- nimbleCode({
  ## Priors
  intercept ~ dnorm(0, sd=20)
  gammah ~ dnorm(0, sd=20)
  gammav ~ dnorm(0, sd=20)
  beta0p ~ dnorm(0, sd=20)
  beta1p ~ dnorm(0, sd=20)
  beta2p ~ dnorm(0, sd=20)
  for (i in 1:3) {
    sigma_u[i]~dunif(0,100)
  }
  sigma_s~dunif(0,100)
  phi~dunif(0,100);

  ## Year random effects
  for (i in 1:years) {
    delta_u[i] ~ dnorm(intercept, sd=sigma_u[pery[i]]);
  }

  ## Because we work on centred data for body surface area
  ## (for better mixing)
  beta0 <- beta0p - beta1p*xbar + beta2p*pow(xbar,2.0)
  beta1 <- beta1p - 2*beta2p*xbar
  beta2 <- beta2p

  ## Integration of body surface area
  for (i in 1:nobs) {

    ## Expected bsa
    yhat[i] <- beta0p + beta1p*AGEc[i] + beta2p*pow(AGEc[i],2.0)
  }

```

```

SURFACE[i] ~ dnorm(yhat[i], sd=sigma_s)
epsilon[i] <- SURFACE[i] - yhat[i]

## Integration
Ej[i] <- step(5-AGE[i])*(beta0*AGE[i] + (beta1/2.0)*pow(AGE[i],2.0) +
  (beta2/3.0)*pow(AGE[i],3.0) +
  epsilon[i]*AGE[i]) +
  (1-step(5-AGE[i]))*((5.0*beta0 + 12.5*beta1 + (125.0/3.0)*beta2 + 5.0*epsilon
  exp(gammav)*(beta0*AGE[i] + (beta1/2.0)*pow(AGE[i],2.0)
  (beta2/3.0)*pow(AGE[i],3.0) +
  epsilon[i]*AGE[i]) -
  exp(gammav)*(5.0*beta0 + 12.5*beta1 +
  (125.0/3.0)*beta2 + 5.0*epsilon[i]))

## Expectation
Lambdaj[i] <- Ej[i] * exp(delta_u[YEAR[i]]+gammah*HUMIDITY[i])

## Likelihood
TICK_CLASS[i]~dticks(Lambdaj[i], phi)
}
})

## Year as an integer variable
int_year <- as.integer(fticks$year-(min(fticks$year)-1))

## period for each year
yl <- unique(fticks[,c("year","lothar")])
pery <- yl$lothar[order(yl$year)]

## Constants
TicksConst <- list(nobs=nrow(fticks), nyears=max(int_year), YEAR=int_year, pery=pery)

## Data
TicksData <- list(TICK_CLASS=as.integer(fticks$ticks),
  AGE=fticks$age,
  xbar=mean(fticks$age),
  AGEc=fticks$age-mean(fticks$age),
  SURFACE=fticks$bsa,
  HUMIDITY=fticks$humidity-mean(fticks$humidity))

## Starting values
inits <- list(beta0p = 0.17, beta1p = 0.01, beta2p = -0.0007,
  gammav = -0.8, gammah=0, intercept = 2.8, phi = 0.79,
  sigma_u = c(0.64, 0.64, 0.64), sigma_s = 0.02,
  delta_u = c(2.07, 2.91, 2.79,
    2.82, 2.57, 3.47, 2.85, 2.77, 2.59, 2.4, 1.45, 3.01, 2.5,
    2.68, 2.76, 2.76, 2.71, 3.41, 2.43, 2.4, 2.59, 2.19, 2.63,
    1.72, 2.12, 2.59, 2.19))

## We use the same for the 4 chains
linites <- list(inits,inits,inits,inits)

```

Finally, we used the function `nimbleMCMC` to fit the model. We used 4 chains of 50000 iterations after a burn-in period of 1000 samples. To save some memory space, we thinned the chains by selecting one

sample every 20 iterations. WARNING: THIS CALCULATION TAKES A VERY LONG TIME (more than one hour) !!!! Note that we have included the results of this calculation as a dataset of the package, so that the reader does not need to launch this function to reproduce the other calculations:

```
set.seed(123)
resultsModel <-
  nimbleMCMC(code = codePaperModel, constants = TicksConst,
             data = TicksData, inits = linit,
             nchains = 4, niter = 51000, nburnin=1000, thin=20,
             summary = TRUE, samplesAsCodaMCMC=TRUE,
             monitors = c("delta_u", "gammav", "gammah", "sigma_u",
                          "intercept",
                          "phi", "sigma_s", "beta0p", "beta1p", "beta2p"))
```

2.2 MCMC chain mixing

Once the MCMC samples have been obtained, we can plot the chain for a visual examination of the mixing for the top parameters:

```
library(bayesplot)
mcmc_trace(resultsModel$samples,
           regex_pars=c("intercept", "phi", "sigma_s", "sigma_u", "gammav", "gammah",
                       "beta0p", "beta1p", "beta2p"))
```

We also calculate the diagnostic of Gelman & Rubin (see [GEL92]) to assess the mixing properties:

```
library(coda)
gelman.diag(resultsModel$samples)

## Potential scale reduction factors:
##
##          Point est. Upper C.I.
## beta0p          1      1.01
## beta1p          1      1.00
## beta2p          1      1.01
## delta_u[1]      1      1.00
## delta_u[2]      1      1.00
## delta_u[3]      1      1.00
## delta_u[4]      1      1.00
## delta_u[5]      1      1.00
## delta_u[6]      1      1.00
## delta_u[7]      1      1.00
## delta_u[8]      1      1.00
## delta_u[9]      1      1.00
## delta_u[10]     1      1.00
## delta_u[11]     1      1.00
## delta_u[12]     1      1.00
## delta_u[13]     1      1.00
## delta_u[14]     1      1.00
## delta_u[15]     1      1.00
## delta_u[16]     1      1.00
## delta_u[17]     1      1.00
## delta_u[18]     1      1.00
## delta_u[19]     1      1.00
## delta_u[20]     1      1.00
```



```
## delta_u[21]      1      1.01
## delta_u[22]      1      1.00
## delta_u[23]      1      1.00
## delta_u[24]      1      1.00
## delta_u[25]      1      1.00
## delta_u[26]      1      1.00
## delta_u[27]      1      1.00
## gammah          1      1.00
## gammav          1      1.00
## intercept       1      1.00
## phi             1      1.00
## sigma_s         1      1.00
## sigma_u[1]      1      1.01
## sigma_u[2]      1      1.00
## sigma_u[3]      1      1.01
##
## Multivariate psrf
##
## 1.01
```

Mixing properties are excellent here (the visual examination of the chains show a good mixing, and the diagnostic of Gelman and Rubin is never above 1.02).

2.3 Goodness of fit

We then check the goodness of fit of the model. As for the count model, we simulate M virtual datasets (one per MCMC sample) and consider several summary statistics (see below). For each statistic, we compare the observed value (calculated on the actual dataset) with the distribution of values calculated on the simulated datasets. We first use the function `simulatePaperModel` to simulate the datasets using the MCMC samples (see the help page of this function):

```
simulatedData <- simulatePaperModel(resultsModel$samples, TicksData, TicksConst)
```

We first calculated the proportion of fawns belonging to the three classes of ticks ($Y_j = 1, 2$ or 3) in the observed dataset as well as in each simulated dataset. We used the distribution of simulated proportion of fawns in the three classes to derive a 95% credible interval on these proportions:

```
## Observed:
sapply(1:3,function(i) mean(TicksData$TICK_CLASS==i))

## [1] 0.7212435 0.1730570 0.1056995

## Simulated credible intervals
sapply(1:3, function(i) {quantile(rowMeans(simulatedData==i),c(0.025, 0.975))})

##           [,1]      [,2]      [,3]
## 2.5%  0.6922280 0.1233161 0.09740933
## 97.5% 0.7637306 0.1782383 0.14715026
```

The observed values are within the limits of the credible intervals for all classes.

We also calculated, for each possible age from 1 day old to 8 days old, the proportion of fawns in each class of ticks in our dataset, as well as the 95% credible interval on this proportion derived from our simulated datasets:

```

## Class 1: are all the observed proportion within the limits of the 95% CI?
observed <- (tapply(TicksData$TICK_CLASS==1, TicksData$AGE, mean))
sim <- apply(simulatedData,1,function(x) tapply(x==1, TicksData$AGE, mean))
qs <- apply(sim,1,function(x) quantile(x, c(0.025,0.975)))
(observed>=qs[1,]&observed<=qs[2,])

##      1      2      3      4      5      6      7      8
## TRUE TRUE TRUE TRUE TRUE TRUE TRUE TRUE

## Class 2: are all the observed proportion within the limits of the 95% CI?
observed <- (tapply(TicksData$TICK_CLASS==2, TicksData$AGE, mean))
sim <- apply(simulatedData,1,function(x) tapply(x==2, TicksData$AGE, mean))
qs <- apply(sim,1,function(x) quantile(x, c(0.025,0.975)))
(observed>=qs[1,]&observed<=qs[2,])

##      1      2      3      4      5      6      7      8
## TRUE TRUE TRUE TRUE TRUE TRUE TRUE FALSE

## Class 3: are all the observed proportion within the limits of the 95% CI?
observed <- (tapply(TicksData$TICK_CLASS==3, TicksData$AGE, mean))
sim <- apply(simulatedData,1,function(x) tapply(x==3, TicksData$AGE, mean))
qs <- apply(sim,1,function(x) quantile(x, c(0.025,0.975)))
(observed>=qs[1,]&observed<=qs[2,])

##      1      2      3      4      5      6      7      8
## TRUE TRUE TRUE TRUE TRUE TRUE TRUE TRUE

```

The observed proportion is, in all cases but one, within the limits of the 95% credible interval.

We also calculated the proportion of animals in each class for each year of our dataset, and we derived a 95% credible interval for each proportion from the distribution of our simulated datasets. For each class, we calculated the proportion of credible intervals including the observed value:

```

## Class 1
ry <- apply(simulatedData, 1, function(x) tapply(x, TicksConst$YEAR, function(y) mean(y==1)))
rg <- apply(ry,1,quantile,c(0.025,0.975))
ta <- tapply(TicksData$TICK_CLASS, TicksConst$YEAR, function(y) mean(y==1))
mean(ta>=rg[1,]&ta<=rg[2,])

## [1] 1

## Class 2
ry <- apply(simulatedData, 1, function(x) tapply(x, TicksConst$YEAR, function(y) mean(y==2)))
rg <- apply(ry,1,quantile,c(0.025,0.975))
ta <- tapply(TicksData$TICK_CLASS, TicksConst$YEAR, function(y) mean(y==2))
mean(ta>=rg[1,]&ta<=rg[2,])

## [1] 0.9259259

## Class 3
ry <- apply(simulatedData, 1, function(x) tapply(x, TicksConst$YEAR, function(y) mean(y==3)))
rg <- apply(ry,1,quantile,c(0.025,0.975))
ta <- tapply(TicksData$TICK_CLASS, TicksConst$YEAR, function(y) mean(y==3))
mean(ta>=rg[1,]&ta<=rg[2,])

```



```
## [1] 1
```

Therefore, all the tests indicate a good fit of our model.

2.4 Estimated parameters

We present the estimated coefficients of the model below:

```
ro <- round(resultsModel$summary$all.chains,3)
ro[-grep("delta",rownames(ro)),]

##           Mean  Median St.Dev. 95%CI_low 95%CI_upp
## beta0p    0.176  0.176  0.001    0.174    0.178
## beta1p    0.014  0.014  0.000    0.013    0.014
## beta2p   -0.001 -0.001  0.000   -0.001   -0.001
## gammah    0.010  0.010  0.008   -0.006    0.025
## gammav  -17.647 -15.068 11.850  -46.606  -2.598
## intercept 2.853  2.855  0.085    2.675    3.019
## phi       0.676  0.672  0.082    0.529    0.846
## sigma_s   0.021  0.021  0.000    0.020    0.022
## sigma_u[1] 0.438  0.392  0.281    0.044    1.141
## sigma_u[2] 0.822  0.769  0.297    0.422    1.543
## sigma_u[3] 0.165  0.140  0.124    0.011    0.462
```

For clarity, the 27 year random effects have been removed from this table. We note that the effect of humidity (`gammah`) is not far from being significantly different from 0 at the level 5%. We tried to fit this model again after removal of the effect of humidity, to allow a comparison of the WAIC of the two models. We first programmed this model:

```
codePaperModel0 <- nimbleCode({

  ## Priors
  intercept ~ dnorm(0,sd=20)
  gammav ~ dnorm(0,sd=20)
  beta0p ~ dnorm(0,sd=20)
  beta1p ~ dnorm(0,sd=20)
  beta2p ~ dnorm(0,sd=20)
  for (i in 1:3) {
    sigma_u[i]~dunif(0,100)
  }
  sigma_s~dunif(0,100)
  phi~dunif(0,100);

  ## Year random effects
  for (i in 1:nyears) {
    delta_u[i] ~ dnorm(intercept, sd=sigma_u[pery[i]]);
  }

  ## Because we work on centred data for body surface area
  ## (for better mixing)
  beta0 <- beta0p - beta1p*xbar + beta2p*pow(xbar,2.0)
  beta1 <- beta1p - 2*beta2p*xbar
  beta2 <- beta2p
```

```

## Integration of body surface area
for (i in 1:nobs) {

  ## Expected bsa
  yhat[i] <- beta0p + beta1p*AGEc[i] + beta2p*pow(AGEc[i],2.0)
  SURFACE[i] ~ dnorm(yhat[i], sd=sigma_s)
  epsilon[i] <- SURFACE[i] - yhat[i]

  ## Integration
  Ej[i] <- step(5-AGE[i])*(beta0*AGE[i] + (beta1/2.0)*pow(AGE[i],2.0) +
                        (beta2/3.0)*pow(AGE[i],3.0) +
                        epsilon[i]*AGE[i]) +
    (1-step(5-AGE[i]))*((5.0*beta0 + 12.5*beta1 + (125.0/3.0)*beta2 + 5.0*epsilon[i]) +
                      exp(gammav)*(beta0*AGE[i] + (beta1/2.0)*pow(AGE[i],2.0) +
                                (beta2/3.0)*pow(AGE[i],3.0) +
                                epsilon[i]*AGE[i]) -
                      exp(gammav)*(5.0*beta0 + 12.5*beta1 +
                                (125.0/3.0)*beta2 + 5.0*epsilon[i]))

  ## Expectation
  Lambdaj[i] <- Ej[i] * exp(delta_u[YEAR[i]])

  ## Likelihood
  TICK_CLASS[i]~dticks(Lambdaj[i], phi)
}
})

TicksData0 <- TicksData
TicksData0$HUMIDITY <- NULL

## Starting values
inits <- list(beta0p = 0.17, beta1p = 0.01, beta2p = -0.0007,
             gammav = -0.8, intercept = 2.8, phi = 0.79,
             sigma_u = c(0.64, 0.64, 0.64), sigma_s = 0.02,
             delta_u = c(2.07, 2.91, 2.79,
                       2.82, 2.57, 3.47, 2.85, 2.77, 2.59, 2.4, 1.45, 3.01, 2.5,
                       2.68, 2.76, 2.76, 2.71, 3.41, 2.43, 2.4, 2.59, 2.19, 2.63,
                       1.72, 2.12, 2.59, 2.19))

## We use the same for the 4 chains
linitis <- list(inits,inits,inits,inits)

```

And we then fitted the model with `nimble`. WARNING: THIS CALCULATION TAKES A VERY LONG TIME (more than one hour) !!!! Note that, as for the previous model, we also have included the results of this calculation as the dataset `resultsModel0` of the package, so that the reader does not need to launch this function to reproduce later calculations:

```

set.seed(123)
resultsModel0 <-
  nimbleMCMC(code = codePaperModel0, constants = TicksConst,
            data = TicksData0, inits = linitis,
            nchains = 4, niter = 51000, nburnin=1000, thin=20,
            summary = TRUE, samplesAsCodaMCMC=TRUE,
            monitors = c("delta_u","gammav", "sigma_u",

```

```
"intercept",  
"phi","sigma_s","beta0p","beta1p","beta2p"))
```

Then, we calculated the WAIC criterion for the two models (with and without humidity), using the function `waicTicks` of the package (see the help page of this function – Warning, this calculation can last > 10 seconds):

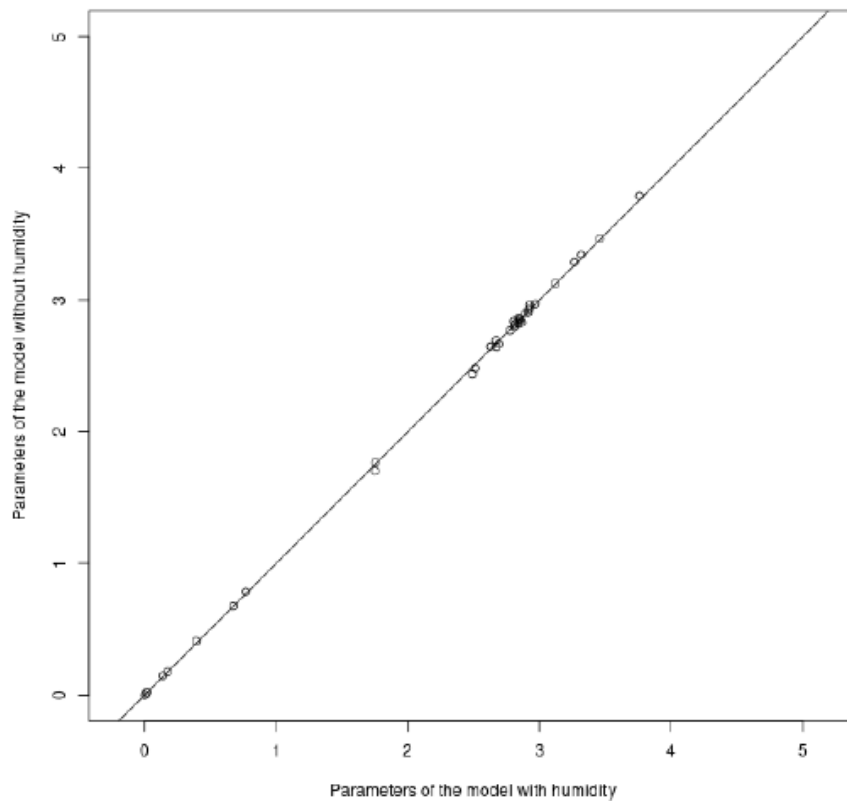
```
withHumidity <- waicTicks(resultsModel$samples, TicksData, TicksConst)  
withoutHumidity <- waicTicks(resultsModel0$samples, TicksData0, TicksConst)
```

We compare the two WAIC:

```
withHumidity$waic  
  
##          WAIC          SE  
## 1374.659224    1.574346  
  
withoutHumidity$waic  
  
##          WAIC          SE  
## 1373.883494    1.574182
```

They are sensibly identical: both models predict the data with the same efficiency: a positive effect of the humidity is likely but cannot be ascertained (see discussion in the paper). Note moreover that all other model parameters are sensibly identical:

```
plot(resultsModel$summary$all.chains[-31,2],  
      resultsModel0$summary$all.chains[,2],  
      xlim=c(0,5), ylim=c(0,5), asp=1,  
      xlab="Parameters of the model with humidity",  
      ylab="Parameters of the model without humidity")  
abline(0,1)
```

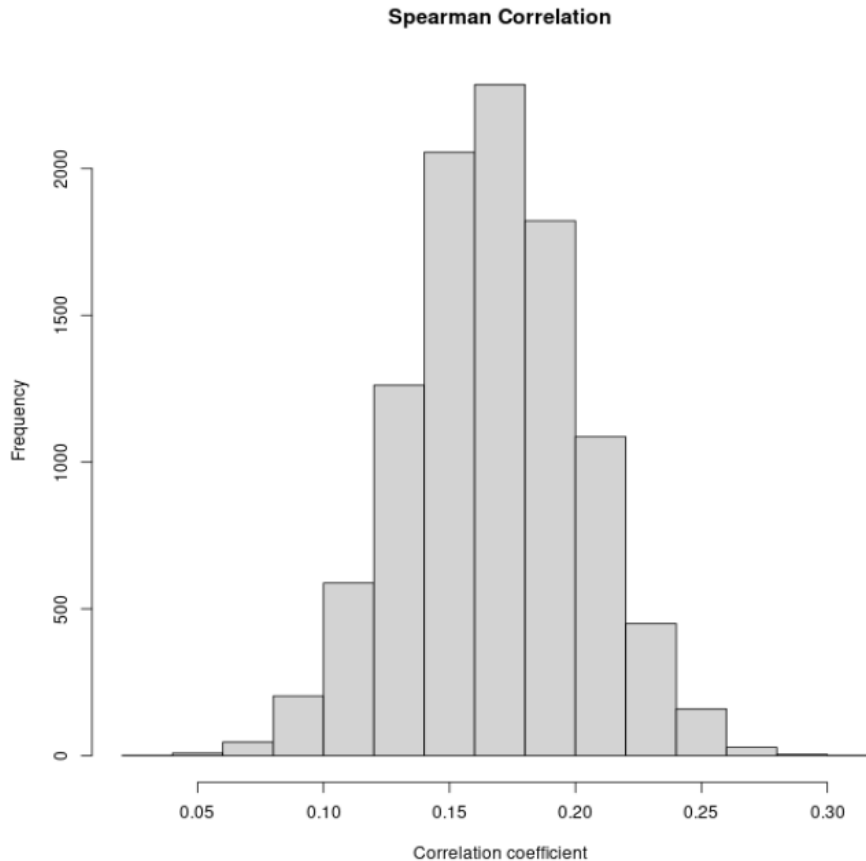


In other words, the inclusion of the effect of humidity on the instantaneous infestation rate does not affect other parameters.

2.5 Explained variation in the response variable

We used the datasets simulated in the section 2.3 to calculate the distribution of Spearman rank correlation between predicted tick burden class (taken as an ordinal variable with values from 1 to 3) and the observed tick burden class:

```
hist(apply(simulatedData,1,function(x) cor(x, TicksData$TICK_CLASS)),
      main="Spearman Correlation",
      xlab="Correlation coefficient")
```



The correlation coefficients are ≈ 0.17 . There is a lot of unexplained variation left in our dataset. Another interesting criterion to assess the proportion of explained variation, is the proportion of observed fawns predicted by the model to be in the correct tick burden class. For each observed class of fawns, we calculate the mean proportion of fawns for which the class was correctly predicted by the model in our simulated dataset (SE in parenthesis), and we compare this proportion to the mean proportion of fawns that would be obtained by randomly allocating the classes to fawns – keeping the frequency of the fawns constant in the datasets (SE of this distribution under random hypothesis in parentheses):

```

rand <- t(sapply(1:999, function(i) {
  x <- sample(TicksData$TICK_CLASS)
  c(mean(x[TicksData$TICK_CLASS==1]==1),
    mean(x[TicksData$TICK_CLASS>2]>2),
    mean(x[TicksData$TICK_CLASS==3]==3))
}))

obe <- t(apply(simulatedData,1,function(x) {
  c(mean(x[TicksData$TICK_CLASS==1]==1),
    mean(x[TicksData$TICK_CLASS>2]>2),
    mean(x[TicksData$TICK_CLASS==3]==3))
}))

sran <- apply(round(rand,2),2,
  function(x)
  paste0(round(mean(x),2), " (SE = ",
    round(sd(x),2), ")"))

sobc <- apply(round(obe,2),2,

```

```

function(x)
  paste0(round(mean(x),2), " (SE = ",
         round(sd(x),2), ")")
data.frame(Class=1:3,
           observed=sobe,
           UnderRandomAssumption=sran)

##   Class      observed UnderRandomAssumption
## 1     1 0.77 (SE = 0.02)      0.72 (SE = 0.01)
## 2     2 0.23 (SE = 0.04)      0.11 (SE = 0.03)
## 3     3 0.23 (SE = 0.04)      0.11 (SE = 0.03)

```

This confirms the results obtained with the Spearman correlation coefficient: our model is slightly better a random allocation, but a lot of unexplained variation remains in our data. This is also confirmed by the value of the parameter ϕ (see previously: $\phi \approx 0.7$): indeed, the variance of a negative binomial distribution is $\mu + \mu^2/\phi$ – where μ is the mean of the distribution. When ϕ is very large, the binomial distribution converges toward a Poisson distribution. Here, $\phi < 1$, indicating that the between-individual variance is very large: there is a lot of noise in the data.

2.6 Expected number of ticks with age

We now use the function `predictEN` from the package to calculate, for each MCMC iteration, the expected number of ticks on the “average-sized” fawn of a given age, at average humidity, during an average year:

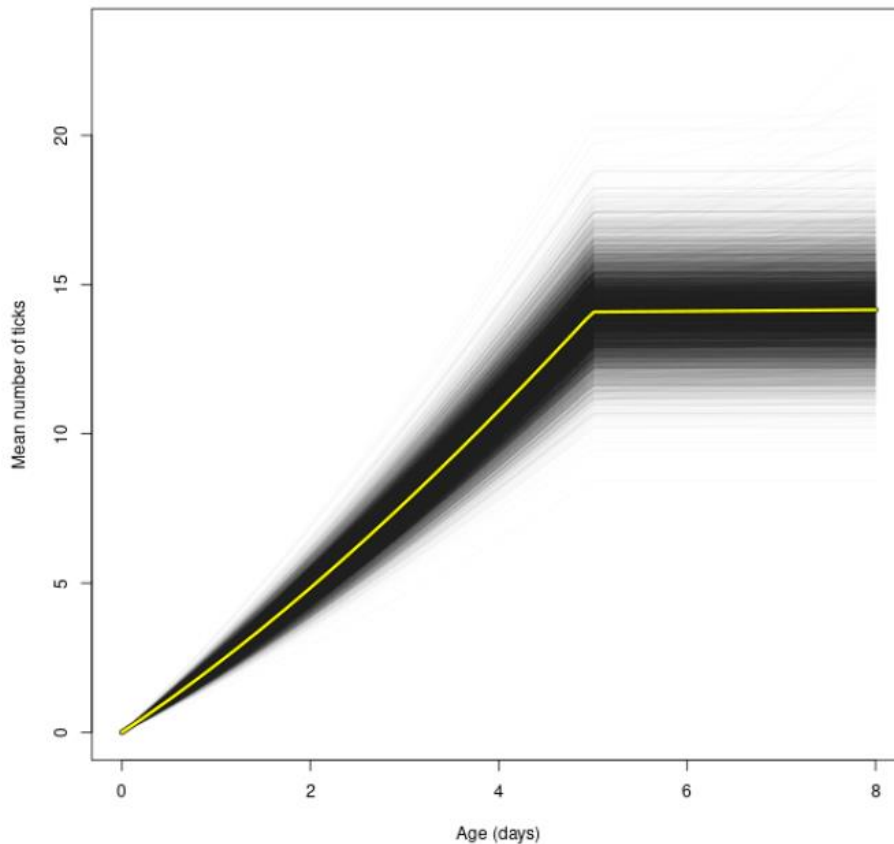
```
en <- predictEN(resultsModel$samples, TicksData, TicksConst)
```

We can plot the results:

```

lam <- en$EN
lr <- range(unlist(lam))
age <- en$age
plot(age, lam[1,], ty="n", ylim=lr, xlab="Age (days)", ylab="Mean number of ticks")
tmp <- lapply(1:nrow(lam), function(i) lines(age, lam[i,], col=rgb(0.1,0.1,0.1, 0.02)))
mo <- apply(lam,2,mean)
lines(age, mo, lwd=5)
lines(age, mo, lwd=3, col="yellow")

```



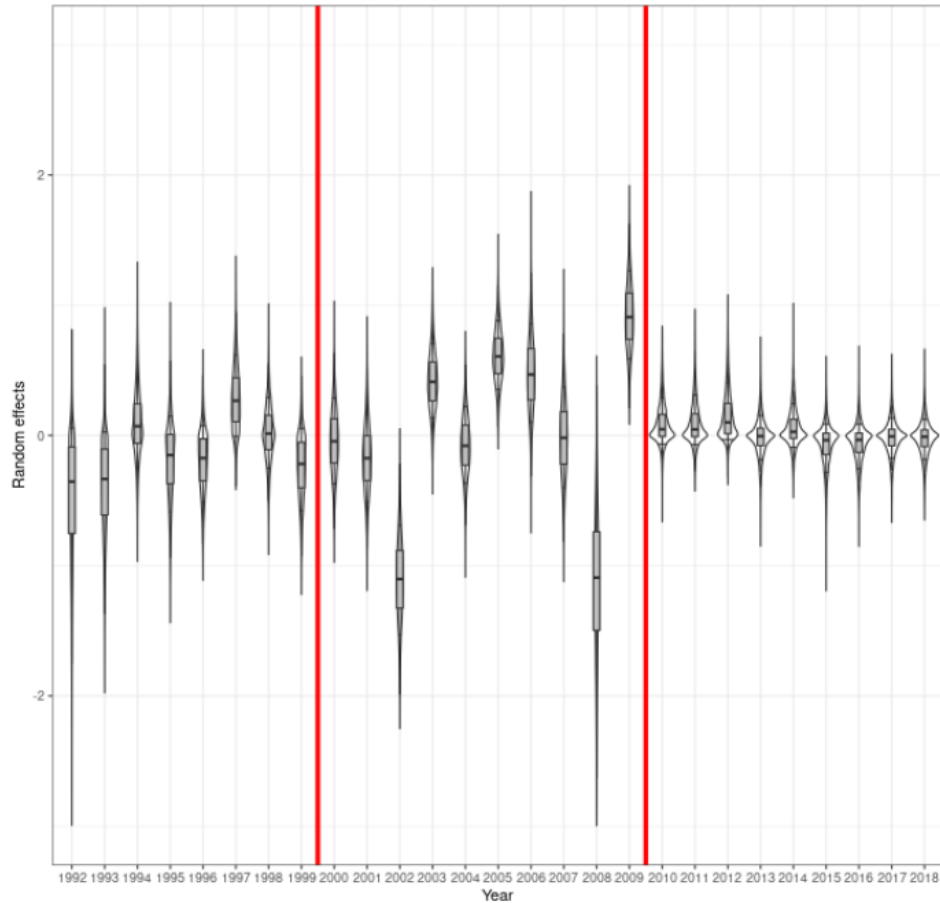
2.7 The years random effects

Finally, we present below the posterior distribution for each year random effect, using boxplots superposed to violin plots. The red lines separate the three periods. The difference of variance of random effects between the periods appears clearly on this plot:

```
library(ggplot2)
sam <- do.call(rbind,resultsModel$samples)
delt <- apply(sam[,grep("delta",colnames(sam))],2,function(x) x-sam[,"intercept"])
dfdel <- data.frame(x=factor(rep(1992:(1992+26), each=nrow(delt))), y=as.vector(delt))

plo <- ggplot(dfdel, ggplot2::aes(y = y,
                                x = x)) +
  geom_violin(draw_quantiles = c(0.1,0.9),trim=TRUE) +
  geom_boxplot(width = 0.2, fill = "grey",
              outlier.shape = NA)+ggplot2::ylim(c(-3,3))+
  ylab("Random effects") +
  xlab("Year")+
  geom_vline(xintercept=c(8.5,18.5),col="red", lwd=1.5)+theme_bw()

suppressWarnings(print(plo))
```



3 Effect of other environmental variables

We also tested the effect of other environmental variables, none of which had a significant effect. We give in this section the R code used for these tests.

3.1 Effect of temperature

We first test the effect of the mean temperature on the instantaneous infestation rate, by adding a term in the equation 3. We code the model allowing an additional variable in the model below:

```
codePaperModelP1 <- nimbleCode({
  ## Priors
  intercept ~ dnorm(0,sd=20)
  gammah ~ dnorm(0,sd=20)
  gammav ~ dnorm(0,sd=20)
  gamman ~ dnorm(0,sd=20)
  beta0p ~ dnorm(0,sd=20)
  beta1p ~ dnorm(0,sd=20)
  beta2p ~ dnorm(0,sd=20)
  for (i in 1:3) {
    sigma_u[i]~dunif(0,100)
  }
  sigma_s~dunif(0,100)
})
```



```

phi~dunif(0,100);

## Year random effects
for (i in 1:nyears) {
  delta_u[i] ~ dnorm(intercept, sd=sigma_u[pery[i]]);
}

## Because we work on centred data for body surface area
## (for better mixing)
beta0 <- beta0p - beta1p*xbar + beta2p*pow(xbar,2.0)
beta1 <- beta1p - 2*beta2p*xbar
beta2 <- beta2p

## Integration of body surface area
for (i in 1:nobs) {

  ## Expected bsa
  yhat[i] <- beta0p + beta1p*AGEc[i] + beta2p*pow(AGEc[i],2.0)
  SURFACE[i] ~ dnorm(yhat[i], sd=sigma_s)
  epsilon[i] <- SURFACE[i] - yhat[i]

  ## Integration
  Ej[i] <- step(5-AGE[i])*(beta0*AGE[i] + (beta1/2.0)*pow(AGE[i],2.0) +
    (beta2/3.0)*pow(AGE[i],3.0) +
    epsilon[i]*AGE[i]) +
    (1-step(5-AGE[i]))*((5.0*beta0 + 12.5*beta1 + (125.0/3.0)*beta2 + 5.0*epsilon[i]) +
    exp(gammav)*(beta0*AGE[i] + (beta1/2.0)*pow(AGE[i],2.0) +
    (beta2/3.0)*pow(AGE[i],3.0) +
    epsilon[i]*AGE[i]) -
    exp(gammav)*(5.0*beta0 + 12.5*beta1 +
    (125.0/3.0)*beta2 + 5.0*epsilon[i]))

  ## Expectation
  Lambdaj[i] <- Ej[i] * exp(delta_u[YEAR[i]]+gammah*HUMIDITY[i]+gamman*VARIABLES[i])

  ## Likelihood
  TICK_CLASS[i]~dticks(Lambdaj[i], phi)
}

## Data
TicksDataP1 <- TicksData
TicksDataP1$VARIABLES <- fticks$temperature-mean(fticks$temperature)

## Starting values
inits$gammah <- 0
inits$gamman <- 0

## We use the same for the 4 chains
linits <- list(inits,inits,inits,inits)

```

We then fit the model with nimble. WARNING: THIS CALCULATION TAKES A VERY LONG TIME

(more than one hour) !!!! Note that, as for the previous model, we also have included the results of this calculation as the dataset `resultsModelTemperature` of the package, so that the reader does not need to launch this function to reproduce later calculations:

```
set.seed(123)
resultsModelTemperature <-
  nimbleMCMC(code = codePaperModelP1, constants = TicksConst,
            data = TicksDataP1, inits = linit,
            nchains = 4, niter = 51000, nburnin=1000, thin=20,
            summary = TRUE, samplesAsCodaMCMC=TRUE,
            monitors = c("delta_u", "gammav", "sigma_u", "gamman", "gammah",
                          "intercept", "phi", "sigma_s", "beta0p",
                          "beta1p", "beta2p"))
```

The estimated parameter for the temperature is displayed below:

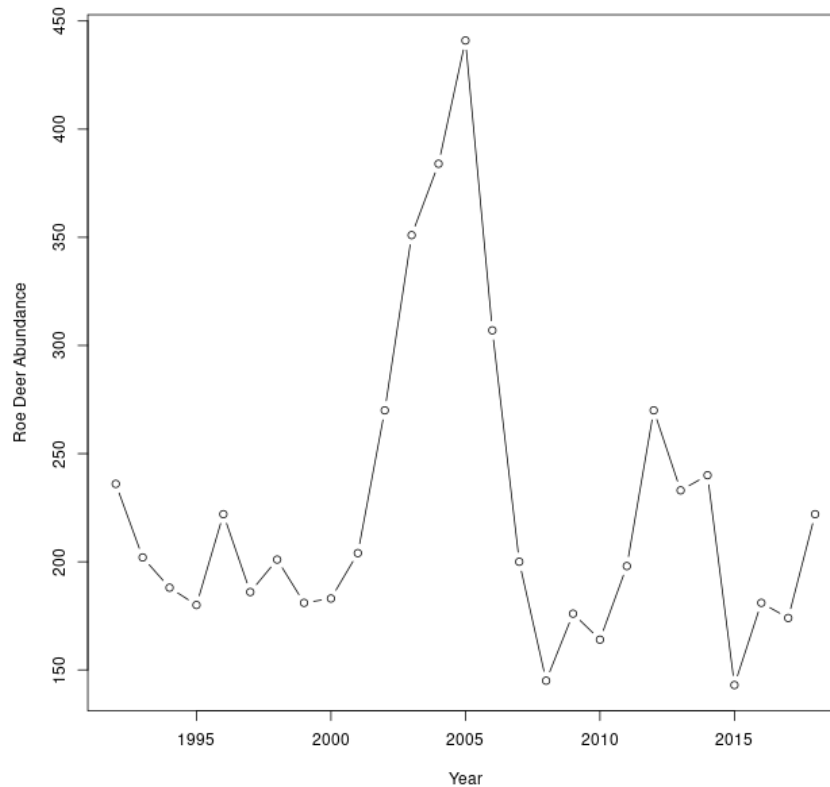
```
round(resultsModelTemperature$summary$all.chains["gamman"], 3)
```

##	Mean	Median	St.Dev.	95%CI_low	95%CI_upp
##	0.000	0.000	0.021	-0.041	0.040

Our data do not allow to demonstrate an effect of the temperature on the infestation rate.

3.2 Effect of roe deer density

We also tested the effect of the roe deer density on the infestation rate. Indeed, this density varied a lot during the study period, as demonstrated on the plot below:



We used the same model code as in the previous section, but we replaced the additional variable with the density. Again, we fit the model with `nimble`. WARNING: THIS CALCULATION TAKES A VERY LONG TIME (more than one hour) !!!! Note that, as for the previous model, we also have included the results of this calculation as the dataset `resultsModelDensity` of the package, so that the reader does not need to launch this function to reproduce later calculations:

```
TicksDataP2 <- TicksData
TicksDataP2$VARIABLES <- fticks$density-mean(fticks$density)

set.seed(123)
resultsModelDensity <-
  nimbleMCMC(code = codePaperModelP1, constants = TicksConst,
             data = TicksDataP2, inits = limits,
             nchains = 4, niter = 51000, nburnin=1000, thin=20,
             summary = TRUE, samplesAsCodaMCMC=TRUE,
             monitors = c("delta_u","gammav", "sigma_u","gamman",
                          "intercept","phi","sigma_s","beta0p",
                          "beta1p","beta2p"))
```

The estimated parameter for the density is displayed below:

```
resultsModelDensity$summary$all.chains["gamman",]

##           Mean           Median           St.Dev.           95%CI_low
## 0.002176036 0.002184846 0.001681571 -0.001105672
##           95%CI_upp
## 0.005545895
```

Our data do not allow to demonstrate an effect of the density on the infestation rate.

3.3 Effect of habitat type

Finally, we assessed the effect of habitat on the instantaneous infestation rate, by adding random habitat effects in equation 3. We programmed the model below, and prepared the data for the fit. Note that only animals captured from 1992 to 2014 have habitat data reported (habitat is unknown for animals captured later).

```
codePaperModelHab <- nimbleCode({

  ## Priors
  intercept ~ dnorm(0,sd=20)
  gammah ~ dnorm(0,sd=20)
  gammav ~ dnorm(0,sd=20)
  beta0p ~ dnorm(0,sd=20)
  beta1p ~ dnorm(0,sd=20)
  beta2p ~ dnorm(0,sd=20)
  for (i in 1:3) {
    sigma_u[i]~dunif(0,100)
  }
  for (h in 1:5) {
    gammahab[h]~dnorm(0,sigma_hab)
  }
  sigma_s~dunif(0,100)
  sigma_hab~dunif(0,100)
  phi~dunif(0,100);

  ## Year random effects
  for (i in 1:nyears) {
    delta_u[i] ~ dnorm(intercept, sd=sigma_u[pery[i]]);
  }

  ## Because we work on centred data for body surface area
  ## (for better mixing)
  beta0 <- beta0p - beta1p*xbar + beta2p*pow(xbar,2.0)
  beta1 <- beta1p - 2*beta2p*xbar
  beta2 <- beta2p

  ## Integration of body surface area
  for (i in 1:nobs) {

    ## Expected bsa
    yhat[i] <- beta0p + beta1p*AGEc[i] + beta2p*pow(AGEc[i],2.0)
    SURFACE[i] ~ dnorm(yhat[i], sd=sigma_s)
    epsilon[i] <- SURFACE[i] - yhat[i]

    ## Integration
    Ej[i] <- step(5-AGE[i])*(beta0*AGE[i] + (beta1/2.0)*pow(AGE[i],2.0) +
      (beta2/3.0)*pow(AGE[i],3.0) +
      epsilon[i]*AGE[i]) +
      (1-step(5-AGE[i]))*((5.0*beta0 + 12.5*beta1 + (125.0/3.0)*beta2 + 5.0*epsilon[i]) +
      exp(gammav)*(beta0*AGE[i] + (beta1/2.0)*pow(AGE[i],2.0) +
      (beta2/3.0)*pow(AGE[i],3.0) +
      epsilon[i]*AGE[i]) -
```

```

                                exp(gammav)*(5.0*beta0 + 12.5*beta1 +
                                        (125.0/3.0)*beta2 + 5.0*epsilon[i]))

  ## Expectation
  Lambdaj[i] <- Ej[i] * exp(delta_u[YEAR[i]]+gammah*HUMIDITY[i]+gammahab[HABITAT[i]])

  ## Likelihood
  TICK_CLASS[i]~dticks(Lambdaj[i], phi)
}
})

fticksh <- fticks[!is.na(fticks$habitat),]

## Year as an integer variable
int_yearh <- as.integer(fticksh$year-(min(fticksh$year)-1))

## period for each year
ylh <- unique(fticksh[,c("year","lothar")])
peryh <- ylh$lothar[order(ylh$year)]

## Constants
TicksConsth <- list(nobs=nrow(fticksh), nyears=max(int_yearh), YEAR=int_yearh, pery=peryh,
                    HABITAT=as.integer(fticksh$habitat))

## Data
TicksDatah <- list(TICK_CLASS=as.integer(fticksh$ticks),
                  AGE=fticksh$age,
                  xbar=mean(fticksh$age),
                  AGEc=fticksh$age-mean(fticksh$age),
                  SURFACE=fticksh$bsa,
                  HUMIDITY=fticksh$humidity-mean(fticksh$humidity))

## Starting values
inits <- list(beta0p = 0.17, beta1p = 0.01, beta2p = -0.0007, gammahab=rep(0,5),
             gammav = -0.8, gammah=0, intercept = 2.8, phi = 0.79,
             sigma_u = c(0.64, 0.64, 0.64), sigma_s = 0.02,
             delta_u = c(2.07, 2.91, 2.79,
                        2.82, 2.57, 3.47, 2.85, 2.77, 2.59, 2.4, 1.45, 3.01, 2.5,
                        2.68, 2.76, 2.76, 2.71, 3.41, 2.43, 2.4, 2.59, 2.19, 2.63,
                        1.72, 2.12, 2.59, 2.19)[1:23])

## We use the same for the 4 chains
linitis <- list(inits,inits,inits,inits)

```

Again, we fit the model with `nimble`. WARNING: THIS CALCULATION TAKES A VERY LONG TIME (more than one hour) !!!! Note that, as for the previous model, we also have included the results of this calculation as the dataset `resultsModelHabitat` of the package, so that the reader does not need to launch this function to reproduce later calculations:

```

set.seed(123)
resultsModelHabitat <-
  nimbleMCMC(code = codePaperModelHab, constants = TicksConsth,
            data = TicksDatah, inits = linitis,

```

```
nchains = 4, niter = 51000, nburnin=1000, thin=20,
summary = TRUE, samplesAsCodaMCMC=TRUE,
monitors = c("delta_u", "gammav", "sigma_u", "gammahab",
             "intercept", "phi", "sigma_s", "beta0p",
             "beta1p", "beta2p"))
```

We present the estimated habitat parameters below:

```
re <- resultsModelHabitat$summary$all.chains
round(re[grep("gammahab", rownames(re)), ], 2)
```

##		Mean	Median	St.Dev.	95%CI_low	95%CI_upp
##	gammahab[1]	-0.05	-0.05	0.11	-0.28	0.16
##	gammahab[2]	0.06	0.06	0.11	-0.15	0.29
##	gammahab[3]	-0.09	-0.08	0.11	-0.31	0.12
##	gammahab[4]	0.10	0.10	0.12	-0.12	0.36
##	gammahab[5]	-0.01	-0.01	0.11	-0.22	0.21

None of the parameters are significantly different from 0. Our data do not allow to demonstrate the effect of the habitat on the infestation rate.

References

- [GEL92] Gelman, A. and Rubin, D. B. 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Statistical Science*, 7, 457–472.
- [VAL17] de Valpine, P., D. Turek, C.J. Paciorek, C. Anderson-Bergman, D. Temple Lang, and R. Bodik. 2017. Programming with models: writing statistical algorithms for general model structures with NIMBLE. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 26: 403-413.
- [VAL21] de Valpine P, Paciorek C, Turek D, Michaud N, Anderson-Bergman C, Obermeyer F, Wehrhahn Cortes C, Rodriguez A, Temple Lang D, Paganin S (2021). *NIMBLE User Manual*. doi: 10.5281/zenodo.1211190 (URL: <https://doi.org/10.5281/zenodo.1211190>), R package manual version 0.11.1, <https://r-nimble.org>.
- [VEN02] Venables, W. N., and Ripley, B. D. 2002 Modern applied statistics with S-Plus. Fourth Edition. Springer: Berlin.

CHAPITRE 6 : DISCUSSION GÉNÉRALE & PERSPECTIVES



L'objectif de cette thèse était donc d'**identifier les déterminants de l'hétérogénéité spatio-temporelle des infestations parasitaires dans plusieurs populations d'hôtes sauvages**. Dans les chapitres précédents, nous avons pu voir que ces déterminants sont difficiles à mettre en avant avec une vraie relation de causalité, et il est important de reconnaître qu'une certaine part de la variabilité de l'infestation restent inexpliquée. Néanmoins, nous avons apporté de précieuses informations au sujet de points encore pas assez étudié : le rôle des oligo-éléments essentiels comme déterminant de l'infestation, l'importance de l'échelle spatiale pour étudier l'infestation, et les infestations par les tiques qui ne semblent pas suivre les mêmes modèles d'infestation que les parasites internes avec notamment l'environnement qui a plus d'impact sur la dynamique de ses parasites.

1. Synthèse des principaux résultats

Dans le [Chapitre 3](#) de ma thèse, l'[article 1](#) décrit les valeurs observées en éléments minéraux dans différentes populations naturelles de chevreuils pour constituer une base de valeurs de référence, puis dans un second article, nous avons regardé de manière globale les relations que ces éléments avaient avec les charges parasitaires et les paramètres immunitaires ([Article 2](#)). En effet, l'hétérogénéité d'infestation parasitaire (parasite interne) chez un ruminant sauvage comme le chevreuil, peut probablement s'expliquer par des concentrations inadéquates en éléments essentiels chez certains individus, modifiant leur capacité à se défendre contre les parasites (McClure 2003). Les études sur le sujet en milieu naturel sont très rares, mon travail a ainsi permis d'améliorer les connaissances générales sur les éléments minéraux d'un ongulé sauvage et leur lien avec le parasitisme et l'immunité.

Nos résultats montrent dans un premier temps que les concentrations en éléments minéraux des chevreuils sont propres à la population étudiée. En effet, non seulement nous avons noté des différences inter-populationnelles dans nos articles, mais nous avons également mis en avant que nos individus issus des populations françaises avaient généralement des concentrations plus faibles en éléments, essentiels (ex : Cr, Ni, Se) ou non-essentiels (ex : Al, As), que les populations de chevreuils d'autres pays d'Europe (Pologne, Cygan-Szczegielniak & Stasiak 2022 ; Italie, Draghi et al. 2023), chez d'autres ongulés sauvages (*Odocoileus hemionus*, Roug et al. 2015 ; *Cervus elaphus*, Cygan-Szczegielniak et al. 2018 ; *Rangifer tarandus caribou*, Jutha et al. 2022) ou domestiques (*Ovis aries*, Gebel et al. 1996; Rashed & Soltan 2005; Patkowska-Sokoła et al. 2009). Néanmoins, pour certains éléments comme le Cu ou le Zn, les différences étaient moins évidentes, retrouvant parfois des concentrations similaires dans certaines populations (en zones urbanisée et rurale d'Italie, Draghi et al. 2023). Comme nous l'avons déjà évoqué, les éléments minéraux ne peuvent pas être directement fabriqués par l'organisme, et sont apportés principalement par l'alimentation des individus (Paul & Dey 2015). Hors, la biodisponibilité des éléments dans l'habitat dépend

principalement des conditions environnementales du milieu, notamment de la qualité du sol (Chen & Barak 1982; Jenny 1994) et de celle des ressources alimentaires présentes (Ammerman & Goodrich 1983; Coop & Holmes 1996; Coop & Kyriazakis 2001). De ce fait, nos résultats montrent l'importance du milieu où évoluent les chevreuils, leurs rapports avec celui-ci et l'exploitation des ressources alimentaires, ce qui détermine probablement les profils en éléments minéraux des populations étudiées.

Par ailleurs, indépendamment de la population étudiée, nous avons pu mettre en évidence qu'un chevreuil parasité semble sélectionner une nourriture plus riche en oligo-éléments essentiels, peut-être pour améliorer sa résistance et combattre l'infection parasitaire. En effet, l'[article 2](#) a montré que des concentrations de plusieurs oligo-éléments essentiels étaient positivement reliées à la charge de tous les parasites, et à certains paramètres immunitaires comme les globulines et la présence de basophiles. Cette tendance a été retrouvée dans les deux populations de chevreuils de Trois-Fontaines et de Chizé. C'est un résultat étonnant par rapport à l'hypothèse de départ et à nos prédictions, étant donné que nous nous attendions à trouver l'effet inverse avec la charge parasitaire, ou alors à ne pas trouver de relations si le chevreuil n'avait pas de réelles carences comme nous pouvons l'observer en milieu domestique. L'explication se trouve probablement à l'échelle individuelle, supposant qu'un individu va modifier son utilisation des ressources alimentaires en fonction de son statut parasitaire, afin d'améliorer son système immunitaire et mieux se défendre pour éliminer le parasite.

Par la suite, en ayant toujours à l'esprit que la disponibilité et la qualité des ressources alimentaires joue un rôle sur la capacité des hôtes à éviter ou se défendre contre les parasites, nous nous sommes intéressés à la répartition spatiale des infestations parasitaires ([Chapitre 4 – Article 3](#)). Nous avons évalué cette structure spatiale au sein du site de Chizé, qualifié d'hétérogène en terme de qualité d'habitat, avec une typologie forestière subdivisée en 3 grands ensembles : chênaie-charmaie, chênaie-érablaie et hêtraie. Le secteur du site qui est catégorisé comme le plus riche pour les chevreuils est la chênaie-charmaie (secteur R) avec une nourriture plus abondante et de meilleure qualité (Pettorelli et al. 2005). Cette zone à Chizé concentre également le plus de données sur le chevreuil, d'où la comparaison de ce secteur R avec l'autre partie du site d'étude (secteur P). Des habitats pauvres en termes de qualité et de quantité de ressources sont susceptibles de diminuer les concentrations de paramètres immunitaires des hôtes (Dhabhar et al. 1994, 1995), les rendant possiblement plus vulnérables aux parasites. Cette observation est confortée par les résultats de l'[article 3](#), qui montrent qu'il y avait plus d'individus parasités dans le secteur le plus pauvre. Une hétérogénéité du risque d'infection est donc bien présente et semble provenir de la différence de qualité de l'habitat retrouvée à Chizé.

Enfin, contrairement aux deux précédents chapitres qui se concentraient sur l'étude de parasites internes du chevreuil, le [Chapitre 5](#) s'intéresse à l'étude des infestations par des parasites externes, les tiques. L'[article 4](#) met en avant une nouvelle approche statistique Bayésienne, développée avec l'aide d'un

biostatisticien, permettant d'évaluer le processus d'infestation parasitaire des faons et qui pourra être utilisée dans de futures études utilisant notamment des données qualitatives de charge parasitaire (i.e. 3 classes de charges parasitaires dans l'étude). À partir des données de la charge en tiques (*Ixodes ricinus*) des faons nouveaux-nés de chevreuil récoltées durant la période 1992-2018, cette méthode a permis de montrer que la charge en tiques augmente plus rapidement au cours des premiers jours de vie des faons et devient constante lorsque les faons ont cinq jours et plus, ce qui pourrait s'expliquer par l'épuisement des tiques en quête ou le renouvellement des tiques se nourrissant des faons. De plus, malgré l'influence positive connue de l'humidité sur l'activité des tiques, la charge de tiques était faiblement liée à ce paramètre. Aucun effet de la température et de la densité de population n'a été trouvé sur la charge en tiques, ce qui était plutôt étonnant à la vue de la littérature présente sur l'influence de ces facteurs. Il a également été montré que l'infestation était très variable selon les années, en particulier entre 2000 et 2009 suite à la tempête Lothar de 1999. Cet évènement climatique extrême a modifié considérablement la forêt, en créant des ouvertures de milieux, des friches et donc en transformant l'habitat du chevreuil (Widmer et al. 2004) mais aussi potentiellement celui des parasites qui ont une phase importante de leur vie dans l'environnement. Modifier un habitat, c'est modifier la disponibilité spatio-temporelle des ressources alimentaires clés pour les animaux, ce qui entraîne des conséquences sur le cycle biologique de ces organismes, hôte ou parasite (Navarro-Castilla et al. 2014). De plus, *Ixodes ricinus* passe la majorité de sa vie dans l'environnement, en quête d'un hôte et est donc très dépendante des conditions environnementales (Estrada-Peña 2001). Néanmoins, en tenant compte des relevés de structure de la végétation sur plusieurs années à Trois-Fontaines, site considéré comme homogène en termes de qualité de l'habitat (Gaudry et al. 2018), nous n'avons pas pu mettre en évidence un effet de cette variable sur la charge en tiques des faons. L'explication de ce résultat semble être liée à l'échelle d'étude qui n'était pas assez fine (habitat considéré à l'échelle de la parcelle forestière), et aussi car nous n'avons qu'une vision partielle du cycle de vie de la tique, avec pour seuls hôtes les faons qui ne sont pas très mobiles au début de leur vie. Nous n'avons pas de preuves empiriques permettant de conclure à un réel effet de la végétation sur cette variabilité dans l'infestation. Nous pouvons seulement supposer que la modification de la typologie forestière suite à la tempête Lothar a pu influencer la distribution des tiques, et donc modifier le risque d'infestation des individus.

2. Méthodologie des études sur la faune sauvage & limites

Travailler sur la faune sauvage implique des contraintes fortes, notamment techniques (ex : coûts, mesures indirectes, temps de manipulation des animaux restreint, etc.) et éthiques (prise en compte du bien-être animal, euthanasie, etc.) dont nous devons tenir compte.

Au cours de chaque étude de ma thèse, nous avons utilisé des mesures indirectes du parasitisme. Pour la charge en endoparasites (analyses coproscopiques), l'estimation de l'abondance parasitaire s'est effectuée à partir d'observations au microscope des œufs/oocystes ou des larves dans une solution diluée de fèces. La charge parasitaire observée a pu être sous-estimée du fait d'une excrétion d'œufs irrégulière dans le temps, qui peut notamment dépendre de la saison de récolte des fèces, des espèces de parasites ou encore de la résistance de l'hôte. De plus, les captures de chevreuils se font en période hivernale, période la moins propice pour l'étude de ces parasites. En effet, comme évoqué en introduction, les parasites internes sont dépendants des conditions météorologiques, leur survie étant fortement influencée par la température, l'humidité ou l'exposition aux UV (Gibbs 1982; Lindgren et al. 2000; Schulz et al. 2014). À cette période de l'année, les parasites internes entrent souvent en hypobiose du fait des conditions thermiques trop froides, diminuant leur activité métabolique afin que les formes larvaires persistent dans l'hôte avant de retrouver des conditions de vie plus favorables (Gibbs 1986; Kuzmina et al. 2006).

Pour la charge en ectoparasites, la mesure se fait à partir d'une observation visuelle du nombre de tiques sur une partie du chevreuil seulement, la tête par exemple (Protocole des expérimentations en [Annexe 1](#)). Nous ne détectons probablement que les tiques les plus grosses, laissant de côté les tiques non gorgées ou plus petites (larves/nymphes) qui sont moins évidentes à observer. La sensibilité à la détection est également différente selon les observateurs. Il reste donc difficile d'avoir une mesure précise de la charge en tiques d'un individu car cela demanderait beaucoup de temps pour inspecter chaque individu en entier, le dérangement serait trop important et nous passerions trop de temps pour effectuer la manipulation. Bien souvent, les mesures en ectoparasites sont qualitatives, rangées par classe d'abondance, c'est-à-dire pour le protocole sur le chevreuil : pas parasité (0 tiques sur l'animal), peu parasité (1-10 tiques), moyennement parasité (11-20 tiques) et fortement parasité (+ de 20 tiques). Il est donc plus compliqué de mettre en évidence l'effet d'un facteur sur cette mesure car elle est catégorielle et a moins de puissance qu'une mesure quantitative. Par exemple, pour notre étude sur la charge en tiques des faons ([Article 4](#)), l'hétérogénéité de la mesure parasitaire n'était pas d'une grande amplitude donc il devenait difficile d'estimer l'effet d'un facteur comme les conditions météorologiques.

Toutefois, ces mesures indirectes restent les méthodes les plus faciles à mettre en œuvre sur des animaux vivants devant être manipulés sur un laps de temps court. Elles permettent d'avoir une première idée de l'état sanitaire des populations sauvages et des facteurs qui peuvent l'influencer.

Un autre point méthodologique important de ma thèse est l'utilisation des poils pour évaluer le statut en éléments minéraux des chevreuils (Fig. 32) dans un but d'étudier le lien avec le parasitisme et l'immunité.

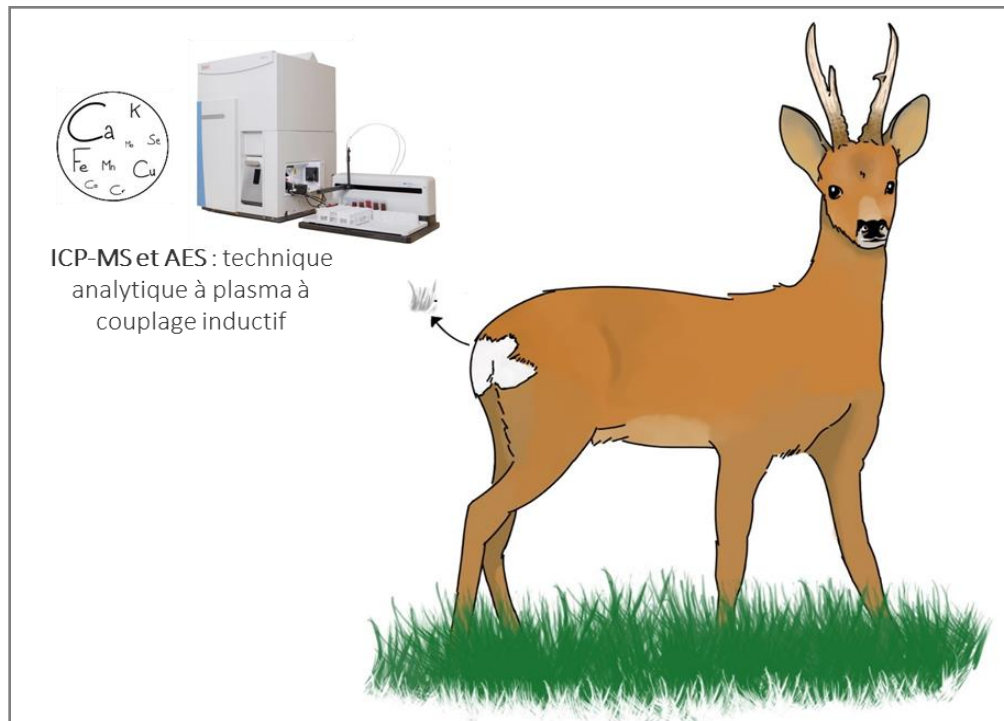


Figure 32 : Utilisation des poils du miroir (zone de poils blancs) des chevreuils pour doser les éléments minéraux à l'aide des techniques ICP-MS et ICP-AES.

C'est une méthode qui est de plus en plus utilisée pour évaluer les antécédents alimentaires (Cerling et al. 2006), l'identification génétique (Phoebus et al. 2020), les niveaux de stress (Di Francesco et al. 2017), ainsi que pour obtenir des connaissances sur l'exposition de la faune aux contaminants environnementaux (Dietz et al. 2006; Kempson & Lombi 2011). L'utilisation des poils pour évaluer les concentrations en éléments minéraux permet de mesurer l'exposition à long-terme d'un individu aux éléments depuis sa dernière mue (Patra et al. 2006; Roug et al. 2015; Mosbacher et al. 2022; Draghi et al. 2023). En effet, il s'agit d'une mesure de l'accumulation des éléments minéraux durant toute la pousse du poil, fournissant une information sur la condition d'un individu. Il existe cependant certaines limites à son utilisation dont il faut tenir compte, notamment que la concentration en oligo-éléments dépend de l'âge, du sexe, de la couleur des poils, de la contamination, ou encore de la saison (Combs 1987), et qu'il subsiste encore un manque de corrélation et de comparaison avec les concentrations dans le sang ou les organes, comme le foie. Il serait donc nécessaire d'évaluer le transfert d'éléments minéraux entre les tissus animaux (notamment le sang, le foie, les reins, et les poils). Néanmoins, cela reste l'une des matrices les plus importantes pour la surveillance biologique dans le Système mondial de surveillance de l'environnement au vue de l'efficacité de cette mesure (Rashed & Soltan 2005). Par ailleurs, les poils sont facilement disponibles, par exemple lors des captures mais peuvent également être obtenus à partir d'animaux sauvages morts accidentellement ou à la

chasse, ou via des prélèvements sur piège à poils (ex : lors des études sur les grands prédateurs) ou encore par le biais d'archives de poils récoltés dans le passé (métaboliquement inactifs, ne se dégradent pas facilement). Tout comme l'utilisation des plumes (Burger & Gochfeld 1992), l'utilisation des poils est une méthode non invasive et reproductible pour la bio surveillance des niveaux d'oligo-éléments chez les animaux et leurs écosystèmes, et semble pertinente dans la prise en compte du bien-être animal. C'est une méthode en devenir pour les études sur le long terme, qui a toute sa place dans la réglementation sur l'expérimentation animale de la faune sauvage non-captive.

Plus largement, dans un contexte « One Health » (cf. [Chapitre 1](#)), la surveillance de la santé des populations animales sauvages est une composante essentielle d'une gestion et d'une conservation éclairées et peut servir d'indicateur précoce de la réponse de l'écosystème à un changement environnemental rapide (Tegler et al. 2001). L'identification d'indicateurs de santé fiables comme les concentrations en éléments minéraux dans les poils peut constituer une alternative pratique, car l'état de santé des animaux est étroitement lié à la démographie de leur population (Gaillard et al. 2000). Nous pouvons également mettre l'accent sur l'étude des oligo-éléments essentiels qui ont un lien étroit avec la santé et la survie des individus, et en particulier avec le développement foetal, la lactation, la croissance, la compétence (Underwood 2012), et plus globalement avec la démographie de la population (Flueck 1994; O'Hara et al. 2001). Il existe un réel intérêt à développer les connaissances sur ces éléments chez d'autres populations de chevreuils à l'échelle Européenne, notamment parce que c'est une espèce largement répandue sur le continent qui rencontre des conditions environnementales contrastées (cf. [Chapitre 2](#)). Cela permettrait d'augmenter le nombre de contextes environnementaux différents (zones biogéographiques distinctes, paysages et/ou climats divers, sources de stress différentes comme le risque de prédation ou la distribution des ressources, etc.), car ils semblent avoir une influence majeure sur le statut de chaque population étudiée ([Article 1](#)). En effet, comme nous l'avons vu, la comparaison avec d'autres études (Cygan-Szczegieliak & Stasiak 2022; Draghi et al. 2023) effectuée dans des milieux très différents (zone polluée à proximité des activités humaines, plaine) et la simple comparaison de nos cinq populations, met en avant le besoin de faire une étude plus globale, pour affiner les intervalles de référence à l'échelle de l'espèce. Plus largement, ils pourraient être estimés pour d'autres espèces animales, par exemple des espèces à enjeux. Évaluer régulièrement les profils d'éléments des populations permettrait d'éclairer les initiatives de gestion et de conservation, et l'utilisation de poils serait d'autant plus pratique pour estimer la santé de populations éloignées, ou en voie de disparition.

Faire état de la santé des populations sauvages est un défi, en raison de l'accès limité aux animaux, de l'impossibilité de les observer pendant de longues périodes et du stress induit par la capture. L'amélioration des méthodes d'échantillonnage et d'analyses devrait être une composante intégrée de la conservation et de la gestion de la faune, permettant potentiellement une détection rapide des changements

dans la santé animale et dans l'état des populations. De plus, cela permettrait d'améliorer la compréhension des relations hôte-parasite-environnement, et de prédire l'émergence, la propagation et l'évolution des parasites au sein et parmi les populations hôtes.

Comme nous avons pu le voir au cours de nos études, il est difficile de comprendre précisément pourquoi nous observons une hétérogénéité des infestations parasitaires dans les populations d'hôtes sauvages car nous nous plaçons dans un environnement non contrôlé avec des informations manquantes sur ces systèmes. La corrélation ne prouve pas la causalité, c'est pourquoi ce travail de thèse doit être vu comme la première étape clé qui va orienter les futures recherches sur les relations environnement-hôte-parasite, notamment en incluant davantage de données sur l'environnement et son rôle sur le système hôte-parasite (Fig. 33).

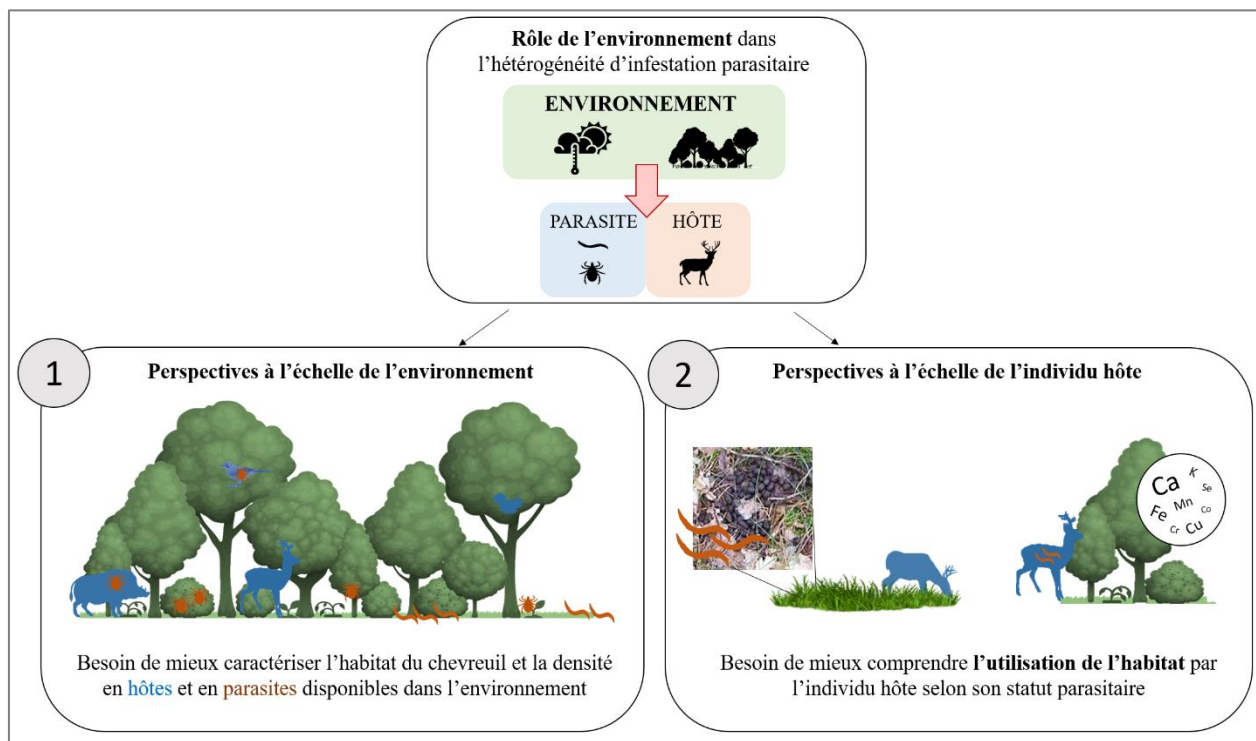


Figure 33 : Illustration des perspectives. Elles sont visibles dans les deux encadrés du bas (en orange : parasites, tiques et larves de nématodes ; en bleu, les hôtes disponibles pour ces parasites).

Les études futures sur ces populations de chevreuils devront orienter leurs efforts vers l'amélioration de la description des habitats où évoluent les systèmes hôte-parasite, par l'évaluation des caractéristiques végétales à plus fines échelles ou par l'estimation des densités en hôtes disponibles ou en parasites au stade infectieux (point 1, Fig. 33). En effet, il est nécessaire, lorsqu'on étudie l'infestation parasitaire, d'avoir une vision d'ensemble incluant l'environnement dans lequel un hôte se fait infecter, avec le spectre d'hôtes disponibles (Combes et al. 2018) et la structure de l'habitat qui peut influencer le risque d'infection. Ce dernier point est particulièrement important pour l'étude des infestations par les tiques, qui passent une

grande partie de leur vie dans l'environnement (Estrada-Peña 2001), mais il le serait également pour les parasites internes qui ont un cycle de vie indirect et qui sont aussi soumis aux conditions extérieures en dehors de l'hôte (O'Connor et al. 2006). Ensuite, il serait nécessaire de s'intéresser à l'utilisation de cet habitat par l'hôte lui-même, selon son statut parasitaire (point 2, [Fig. 33](#)), en incluant cette fois-ci des données sur le régime alimentaire, en testant si le comportement alimentaire diffère selon son statut parasitaire. Les futures recherches devront porter sur des expériences contrôlées pour mieux comprendre, par exemple, les besoins des hôtes en oligo-éléments et plus largement en composés alimentaires, et leurs implications dans la défense immunitaire.

3. Les perspectives de ce travail

3.1. Caractéristiques environnementales de l'habitat du système hôte-parasite

a. Estimer la densité en hôtes disponibles et en parasites dans l'environnement

La compréhension des relations hôte-parasite-environnement pourraient être améliorées en intégrant des paramètres supplémentaires dans les modèles de transmission de parasite, tels que des données liées aux interactions multi-hôtes. En effet, la plupart des études du système hôte-parasite se focalisent sur un seul hôte et un seul parasite, alors qu'une grande partie des parasites peuvent infecter plusieurs hôtes (généralistes) (Walker et al. 2017). La majorité des espèces de nématodes infectant les ongulés par exemple, sont généralistes (Walker & Morgan 2014). Néanmoins, dans notre cas, il n'y a qu'une autre espèce d'ongulés sur les sites de Chizé et de Trois-Fontaines, le sanglier (*Sus scrofa*). Les espèces de parasites partagées entre ces 2 espèces sont rares, et actuellement, aucune étude ne s'est penchée sur le parasitisme interne du sanglier sur nos 2 sites. Nous nous sommes donc concentrés sur les tiques, et notamment *Ixodes ricinus*, pour laquelle il est bien connu que de nombreuses espèces d'hôtes sont impliquées dans son cycle de vie (Gray 1998). Les trois stades biologiques d'alimentation d'une tique montrent un certain niveau de discrimination des espèces hôtes les plus fréquemment et intensément infestées : les larves se nourrissent principalement de petits mammifères, les nymphes de reptiles, de mammifères et d'oiseaux de taille moyenne, et les femelles adultes de mammifères de grande et moyenne tailles ([Fig. 34](#) ; Hofmeister et al. 2017). Par conséquent, estimer la charge en tiques d'une seule espèce hôte donne des informations très partielles sur la dynamique de ce parasite, limitant les possibilités de mieux comprendre l'hétérogénéité d'infestation parasitaire. Dans l'[article 4](#) de ma thèse, nous n'avons d'ailleurs pas trouvé d'effet de la densité de chevreuils sur la charge en tiques des faons, probablement du fait que la densité en hôte était

sous-estimée en ne se focalisant que sur les chevreuils adultes, sans avoir aucune information sur les variations de densité de tous les autres hôtes potentiels des différents stades de tiques.

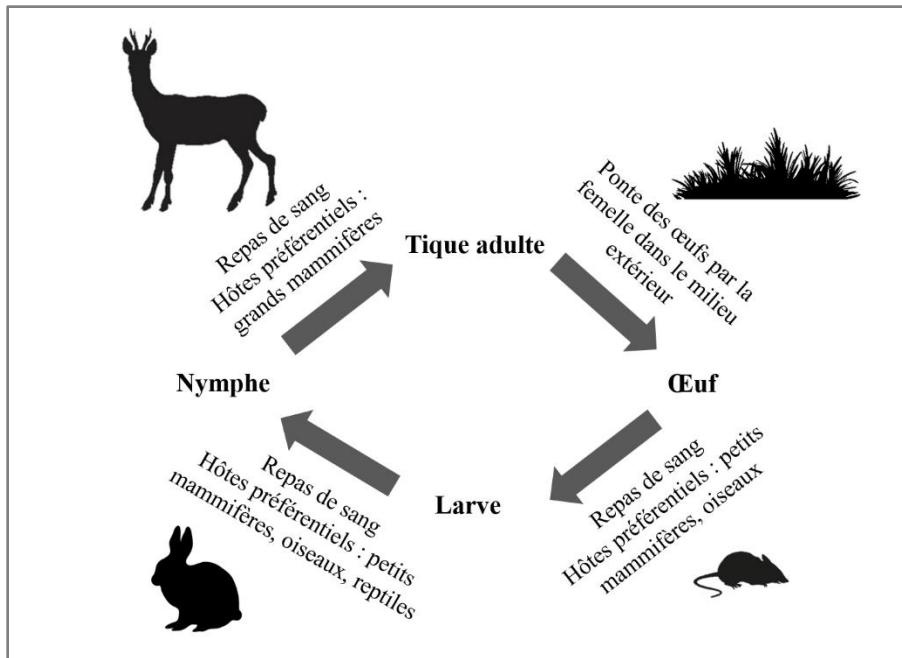


Figure 34 : Cycle de vie de la tique *Ixodes ricinus*. D'après Bowman & Nuttall 2008.

Les études à l'échelle inter-espèces sont compliquées dans la faune sauvage, car toutes ces espèces ne sont pas toujours étudiées dans le cadre de projets scientifiques, il est donc difficile de connaître leur rôle dans la transmission de parasites. En revanche, nous pourrions dans un premier temps nous servir de suivis déjà établis sur d'autres espèces comme le sanglier (*Sus scrofa*) ou le geai des chênes (*Garrulus glandarius*) (projet Forêt de Chizé, OFB-VetAgroSup-CEBC-LBBE-ONF), deux hôtes potentiels, et inclure dans ces programmes scientifiques des estimations de la charge en tiques. Connaître cette dernière et la densité annuelle de population permettrait dans un premier temps de délier ces aspects multi-hôtes. En s'inspirant des concepts de l'écologie des communautés (Pilosof et al. 2015), nous pourrions imaginer des interactions hôte-parasite représentées comme un réseau dans lequel les hôtes sont connectés via des parasites partagés comme *Ixodes ricinus*.

Par ailleurs, dans l'élaboration de ce schéma multi-hôtes des infestations par *Ixodes ricinus*, il serait également intéressant d'inclure une information sur la densité en tiques libres dans l'habitat naturel des hôtes. En effet, la tique passe la plus grande partie de son temps dans l'environnement, ce qui rend ce paramètre incontournable pour mieux comprendre l'hétérogénéité d'infestation, notamment au niveau spatial. Il existe des méthodes bien connues pour échantillonner les tiques dans l'environnement : i) les collecter à l'aide d'un tissu (méthode dite « du drapeau ») (Rulison et al. 2013) et ii) l'utilisation de piège à CO₂ pour attirer les tiques en quête d'un hôte (Gray 1985). Il est intéressant d'échantillonner matin et soir, en utilisant les 2 méthodes, étant donné l'activité journalière importante des tiques dans l'environnement.

Ces méthodes permettraient de mieux connaître l'abondance et la communauté de tiques (même si nous retrouvons principalement *Ixodes ricinus*), mais également d'estimer une densité de parasites pour chaque stade de développement de la tique, ce qui est intéressant lorsqu'on sait que chaque stade a des préférences particulières en termes d'hôte.

Ces premières perspectives mettent en avant le besoin de fournir de nouvelles informations sur le potentiel de transmission entre hôtes au sein d'une communauté écologique. Il incite à repenser les études sur les parasites généralistes en considérant leur cycle de vie complet, à savoir des informations sur tous les hôtes potentiels et sur leur passage dans l'environnement. Par ailleurs, la structure du paysage, notamment de la végétation, peut également avoir une influence directe sur le développement, la survie et la dispersion des parasites (Rose 1961; Estrada-Peña 2001; Dijk & Morgan 2011; Santos et al. 2012; Morgan & Dijk 2012; Khadijah et al. 2013), et donc sur l'infestation des animaux.

b. L'importance de caractériser la structure de l'habitat du système hôte-parasite

Dans l'[article 4](#) de ma thèse, aucun effet de la structure de l'habitat (étudié à l'échelle de la parcelle forestière) n'a été trouvé sur l'infestation des faons par les tiques à Trois-Fontaines. De plus, aucune structure spatiale du parasitisme par les tiques n'a été identifiée à l'échelle du site d'étude. Outre les limites liées à l'évaluation de la charge en parasite (cf. section « [Méthodologie des études sur la faune sauvage & limites](#) »), l'absence d'effets peut probablement s'expliquer par l'échelle d'étude trop large et par le milieu qui est relativement homogène à Trois-Fontaines. Pourtant, les tiques ont une vie majoritairement soumise aux conditions environnementales, et notamment aux caractéristiques végétales pour assurer leur quête d'un hôte (Estrada-Peña 2001), par exemple en grim pant après la végétation. Elles ont également besoin de beaucoup d'humidité, notamment *Ixodes ricinus*, et sont donc plus fréquemment observées dans des micro-habitats gardant une humidité élevée. Étudier les caractéristiques au niveau du micro-habitat serait donc plus juste, et permettrait par exemple de voir des différences en termes d'espèces de végétaux ou d'une structure végétale préférée par les tiques. À la suite du travail de l'[article 4](#), un stage de Master 1^{ère} année a été réalisé afin d'étudier les caractéristiques paysagères des sites de repos des faons (lieu de capture). Cependant, peu de données ont pu être récoltées cette année avec seulement 22 faons capturés sur leur site de repos. Les variables écologiques étudiées étaient : la visibilité, le recouvrement de la végétation pour quatre strates végétales (herbacée, arbustive basse, arbustive haute, arborescente), la lumière au sol et la végétation. Il serait intéressant de poursuivre ce projet afin d'acquérir davantage de données et d'étudier l'influence de la structure du micro-habitat sur la charge en tiques des individus, en ajoutant si possible des informations du microclimat local (humidité relative du site de repos). Cela fournirait des informations précieuses sur ce schéma d'infestation à une échelle spatiale fine en milieu naturel.

Pour les parasites internes comme les nématodes, leurs déplacements sont moins importants que ceux des tiques, mais leurs stades libres sont également très dépendants de l'humidité et de la température (O'Connor et al. 2006). Pour que le développement de l'œuf conduise au stade larvaire infectieux, un apport d'humidité est généralement nécessaire, et la durée du cycle de développement dépend grandement de la température. De ce fait, du point de vue de l'habitat des stades libres, l'effet global de la température, de l'humidité est en partie lié au type de communautés végétales. Nos résultats de l'[article 3](#) montrant un effet secteur sur la prévalence de parasites internes chez les chevreuils de Chizé, pourraient donc s'expliquer par une différence habitat (structure de la végétation) au sein de ce site. Par ailleurs, des cartes de la prévalence parasitaire ont été réalisées pour évaluer si l'infestation parasitaire se traduisait plutôt par des points chauds de parasitisme dans un endroit précis du site ou si la répartition par secteur était plutôt homogène. Nous avons également regardé pour les strongles digestifs et *Trichuris* sp. (les deux parasites les plus retrouvés chez les individus de Chizé) si, en faisant quatre classes d'abondance parasitaire, les individus les plus infestés étaient présents à un endroit précis de la carte. Nous observons (voir carte en [Annexe 6](#)) une répartition plutôt hétérogène de ce risque d'infestation, qui peut s'expliquer par une influence de la végétation sur le micro-habitat et le microclimat où vivent les parasites, et *in fine* sur le risque d'infestation des chevreuils. Par exemple, plusieurs études portant sur différents habitats forestiers à travers le monde ont révélé que la végétation diffère en fonction de la proximité de la lisière (Laurance 1991; Chen et al. 1992; Nelson & Halpern 2005; Andriatsitohaina et al. 2020). Des différences comme la densité des tiges d'arbres (plus faible à proximité de la lisière qu'à l'intérieur de la forêt ; Malcolm et al. 2017) peuvent modifier les niveaux de protection contre les influences météorologiques comme le rayonnement solaire ou le vent (Foggo et al. 2001). Ces effets tampons environnementaux peuvent alors limiter ou faciliter la survie ou la reproduction des parasites (Gehlhausen et al. 2000). Une étude de Kiene et collaborateurs en 2021, sur le parasitisme chez des espèces de makis et de rongeurs, a par ailleurs montré que les parasites du genre *Strongyloides* sont les plus sensibles à la fragmentation de l'habitat, ce qui prouve donc le besoin de faire des études multi-échelles, et notamment à des échelles plus fines, en caractérisant le micro-habitat selon différentes variables écologiques (ex : lumière au sol, humidité locale, végétation, etc.).

Enfin, au niveau de l'hôte, la structure de l'habitat, notamment la présence de ressources alimentaires, peut aussi avoir une influence directe sur sa répartition spatiale. Une étude précédant celle de Kiene et ses collaborateurs (2021) a montré que les quatre espèces hôtes (makis et rongeurs) n'ont pas la même utilisation de l'habitat. Ils ne réagissent pas de la même manière à la structure de leur habitat, selon différents paramètres comme la distance à la lisière de la forêt, ou le pourcentage de l'habitat de lisière qui peut jouer sur la disponibilité de la nourriture (Andriatsitohaina et al. 2020). Les observations d'une prévalence et d'une intensité parasitaire réparties plutôt de manière hétérogène à Chizé pourraient témoigner de cet effet de structuration ([Annexe 6](#)). Il a été établi, notamment sur ce site, que pour un type de l'habitat

donné, la quantité et la qualité des ressources alimentaires pour le chevreuil sont très variables selon les zones d'étude, probablement en réponse aussi à la variation des conditions environnementales locales (Pellerin et al. 2010; Gaudry et al. 2018). La qualité des ressources, par exemple, pourrait dépendre en grande partie de la composition du sol, étant donné que les végétaux y puisent des éléments nutritifs comme les éléments essentiels et non-essentiels ([Article 1](#)). Le sol est un déterminant majeur de la structure des communautés végétales et des propriétés des écosystèmes (Freschet et al. 2018). Un sol fertile, par exemple, favorise la croissance des plantes car il leur fournit des nutriments, fait office de réservoir d'eau et leur sert de support pour s'y enraciner (Bañuelos & Ajwa 1999). Par conséquent, l'intérêt d'avoir des relevés de végétation et de composition du sol est évident pour mieux comprendre le rôle du contexte environnemental dans les systèmes hôte-parasite.

En résumé, l'habitat va jouer un rôle direct et indirect important dans la dynamique des infestations parasitaires via ses caractéristiques structurelles (disponibilités en hôte, en parasites libres, type et structure de végétation et de sol) ([Fig. 35](#)).

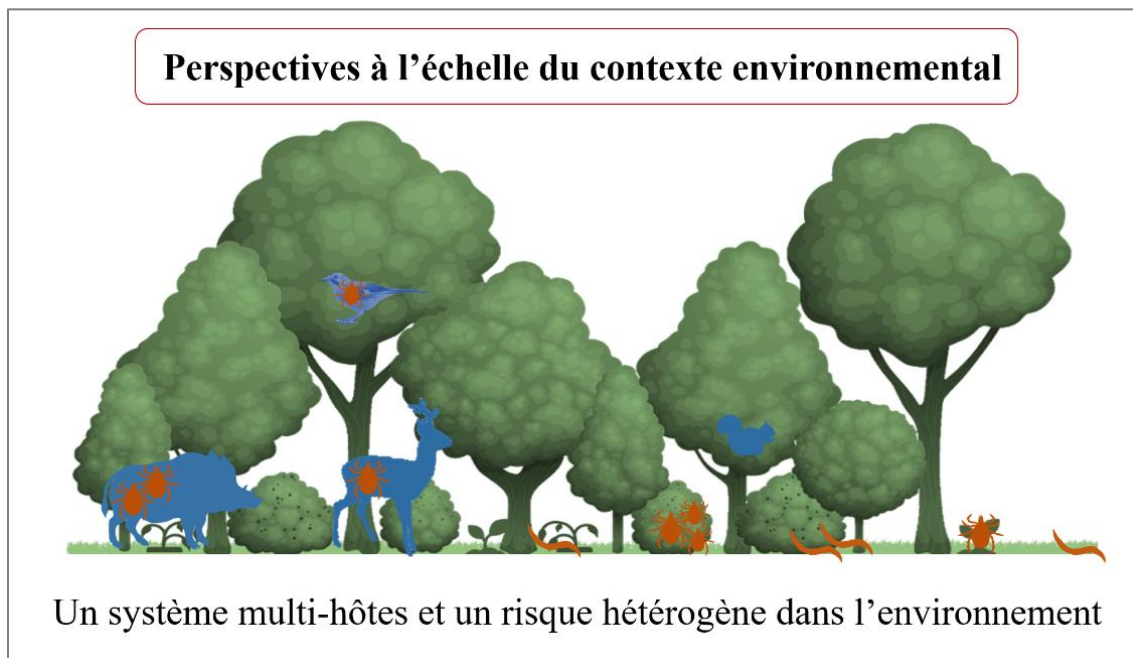


Figure 35 : Résumé graphique de la perspective à l'échelle du contexte environnemental, exposant la nécessité d'avoir une approche multi-hôtes, mais également de connaître la densité en parasites libres dans l'environnement ainsi que les caractéristiques de l'habitat où évolue le système hôte-parasite. En orange : parasite interne. En bleu : l'hôte.

Par ailleurs, la structure de l'habitat ainsi que sa qualité peuvent également avoir une influence directe sur la capacité de l'hôte à se défendre contre un agent pathogène. Une meilleure qualité de l'habitat peut par exemple, fournir suffisamment d'énergie et de nutriments à l'hôte pour soutenir le coût de la réponse immunitaire innée et combattre l'infection parasitaire (Gilot-Fromont et al. 2012; Strandin et al. 2018). La

répartition de l'infestation parasitaire au sein d'une population pourrait donc s'expliquer par une variabilité individuelle dans l'utilisation de l'habitat des hôtes selon leur charge parasitaire.

3.2. À l'échelle individuelle

Les risques et les conséquences de l'infection varient au niveau inter-individuel mais aussi tout au long de la vie d'un individu. Le type de comportement d'un individu peut, par ailleurs, influencer le danger d'acquisition de parasites (Barber & Dingemanse 2010). Mieux comprendre l'hétérogénéité d'infestations inter-individuelles pourrait donc nécessiter une meilleure compréhension des différentes réactions comportementales et physiologiques selon le risque parasitaire, comme des comportements d'évitement des zones infestées, ou une sélection de nourriture plus riche en nutriments pour améliorer son système immunitaire et combattre l'infection.

a. Réactions de l'hôte et parasitisme

Risque d'infestation et comportement d'alimentation

Un animal qui occupe ou visite un espace va se familiariser progressivement avec celui-ci en apprenant à connaître ses caractéristiques locales. Cette familiarité spatiale ou environnementale amène l'individu à accumuler des connaissances sur la distribution spatiale et temporelle des ressources clés, à lui faciliter l'évaluation des risques comme la prédation, ou encore à identifier une zone de refuge potentielle (Piper 2011). Chez beaucoup d'espèces hôtes, l'infection par des parasites intervient lors de leurs activités, comme par exemple le moment de la prise alimentaire (Thomas et al. 2012), un moment risqué qui représente une voie majeure d'infection. Parfois, il se peut que les individus hôtes développent des comportements préventifs, leur permettant de réduire l'exposition aux parasites, ce sont des comportements d'évitement (Hutchings et al. 2001, 2006 ; cf. [Chapitre 1](#)).

La mise en place d'une réponse immunitaire chez les individus parasités demande de l'énergie (Thomas et al. 2012). Ils ont également des besoins qualitatifs en termes de nutriments, comme les oligo-éléments essentiels, car des contraintes nutritives fortes peuvent altérer les capacités des individus à combattre les infections parasitaires. Un hôte parasité peut limiter le développement et la prolifération des parasites en ingérant certaines plantes contenant des substances toxiques (ex : tanins dans l'écorce des chênes, des conifères, dans des plantes fourragères comme le sainfoin ; Jean-Antoine 2017) modifiant le milieu de vie de l'agent pathogène (pH, biodisponibilité d'éléments nutritifs) ou en mangeant des plantes plus riches en nutriments (oligo-éléments essentiels) stimulant le système immunitaire (Hart 1990). En plus des éléments minéraux, les caroténoïdes sont des nutriments qui peuvent affecter directement l'immunité

des individus (Chew and Park 2004). Ces besoins les rendent alors tributaires de l'environnement dans lequel ils vivent. Les résultats de ma thèse montrent une relation positive entre concentration en oligo-éléments-essentiels et charge parasitaire (cf. [Chapitre 3](#)), ainsi qu'une prévalence parasitaire plus élevée dans le secteur le moins riche en ressources alimentaires de Chizé. Comme explications, nous supposons donc que des individus vivant dans un habitat pauvre ont moins de ressources afin de subvenir aux besoins en énergie pour combattre l'infection d'où le résultat de l'[article 3](#). De plus, nous avons montré que les chevreuils parasités semblaient sélectionner une alimentation plus riche en oligo-éléments essentiels tels que le calcium, le fer, le cuivre et le manganèse ([Article 2](#)) afin de combattre l'infection. Par ailleurs, cette hypothèse de sélection de ressources spécifiques pourrait soulever d'autres questions. En effet, une attractivité accrue des ressources plus riches en oligo-éléments essentiels pourrait favoriser la transmission de parasites en augmentant les contacts au sein des populations d'hôtes (Sorensen et al. 2014; Oja et al. 2017). Un individu peut étendre son domaine vital pour trouver davantage de nourriture, mais ce comportement peut augmenter les rencontres avec les stades de transmission des parasites libres dans l'environnement (Harestad and Bunnell 1979). Ce regroupement dans des petits espaces peut induire des réactions de stress, susceptibles de réduire les fonctions immunitaires et d'augmenter la susceptibilité aux maladies (Forristal et al. 2012). On serait alors dans un cercle vicieux dans lequel les individus parasités sélectionnent des aliments pour combattre l'infection, mais se retrouvent dans des zones où la densité locale de population augmente et entraîne un risque de contamination plus élevé.

Nos résultats suggèrent de s'intéresser davantage à l'utilisation de l'habitat par les individus via l'étude de leurs déplacements, de leur comportement d'alimentation mais également de leur régime alimentaire (type de végétation ingérée, qualité nutritive). Au cours de ma thèse, nous n'avons pas pu étudier le comportement spatial des individus, par manque de temps. Cependant, sur les sites de Trois-Fontaines et Chizé, des individus sont équipés de colliers GPS fournissant leurs localisations régulières, ce qui nous informe sur la taille de leurs domaines vitaux, leurs utilisations de l'habitat ainsi que leurs rythmes d'activités (capteurs de mouvements), tout au long de l'année. En effet, grâce aux progrès récents de la surveillance GPS, des capteurs « bio-logging » et des capacités de traitements informatiques de ce type de données, les chercheurs sont désormais en mesure de suivre et d'analyser les mouvements fins des animaux (Kays et al. 2015), afin de mieux comprendre quand, où, comment et pourquoi ils se déplacent (Nathan et al. 2008). Enfin, étant donné la familiarité de l'animal avec son domaine vital (Piper 2011), on peut s'attendre à ce que les chevreuils identifient les zones de défécation qui représentent pour eux des zones à risque de contamination (Ezenwa 2004; Hart & Hart 2018).

Une première étape de ce futur travail serait de comparer la sélection des caractéristiques de l'habitat (structure de la forêt, présences de marre, de lisière, de prairies...) et des ressources présentes au sein du

domaine vital (DV) des individus parasités *versus* ceux peu ou non parasités, et notamment en comparant les deux secteurs de Chizé (qui présentent par ailleurs une densité locale différente, avec plus d'individus dans le secteur R ; Pettorelli et al. 2001) pour mieux comprendre d'où provient l'hétérogénéité de l'infestation. Cela permettrait de donner un premier aperçu des différences, s'il y en a, selon une qualité de l'habitat et un risque parasitaire différents. Ensuite, il serait intéressant d'étudier les déplacements des individus selon leur charge parasitaire, d'une année à l'autre. En effet, l'avantage du suivi longitudinal est d'avoir des données GPS (localisation toutes les 2h) et de charge parasitaire sur les mêmes individus plusieurs années de suite. Nous pourrions alors étudier si le comportement spatial d'un même individu d'une année à l'autre est modifié par le statut parasitaire. Par exemple, si un individu est peu parasité l'année t et fortement infesté l'année t+1, nous pouvons penser qu'au lieu de s'alimenter « aléatoirement » dans son habitat, il va cibler cette année t+1 une zone pour sélectionner des ressources plus riches en oligo-éléments essentiels afin d'améliorer sa compétence immunitaire pour éliminer les parasites. Cela nécessiterait d'avoir connaissance des différentes ressources alimentaires présentes dans le DV des individus.

Une étape supplémentaire serait d'inclure des données de régime alimentaire, notamment sa composition, sa qualité avec la teneur en oligo-éléments essentiels et sa valeur nutritive. Néanmoins, il paraît difficile d'extraire ces informations à partir des fèces des individus, étant donné qu'une partie des éléments a été absorbée. Par conséquent, la meilleure solution serait d'effectuer ces analyses sur le contenu alimentaire de panses de chevreuils tués lors des saisons de chasse. Actuellement, des analyses de la composition du régime alimentaire (analyse dite par points pour déterminer les végétaux présents ; Chamrad and Box 1964) et de sa qualité (évaluation des teneurs en carbone, azote, fibres végétales par la méthode de spectrophotométrie dans le proche infrarouge (SPIR) ; Convention R&D entre le CIRAD et l'OFB) sont déjà effectuées sur animaux morts dans certaines populations de chevreuils (Châteauvillain, Trois-Fontaines). Il serait d'une part intéressant de relier ces données à la charge parasitaire des individus, en ajoutant au protocole d'échantillonnage le relevé de fèces pour effectuer des analyses coproscopiques. D'autre part, il faudrait ajouter à ces analyses de contenus des panses, le dosage des oligo-éléments essentiels à l'aide de la SPIR, afin de délier les relations entre nutrition et parasitisme. Cette technique est couramment utilisée pour analyser les rejets d'azote, de phosphore, de potassium ou encore d'oligo-éléments des contenus de panses des animaux d'élevage (Bastianelli et al. 2015).

Étudier l'utilisation de l'habitat et des ressources alimentaires par l'individu en lien avec son statut parasitaire est donc une piste évidente pour poursuivre ces travaux de thèse. Néanmoins, cela soulève des questions d'un point de vue métabolique, par exemple quels sont les rôles précis des éléments dans la réponse immunitaire.

Comprendre les réactions métaboliques impliquées

Comprendre les mécanismes physiologiques qui sont impliqués dans le développement de la réponse immunitaire et dans la défense contre les parasites n'est pas évident, surtout en milieu naturel où des contraintes logistiques et éthiques peuvent intervenir. La plupart des connaissances sur la fonction et la dynamique des réponses immunitaires proviennent d'études en laboratoire réalisées sur des souris consanguines dans des environnements hautement contrôlés avec une exposition limitée à l'infection. Les chercheurs utilisent des approches modifiant expérimentalement l'exposition avec l'utilisation d'un élément mimant une agression parasitaire auquel peut répondre le système immunitaire. Ce n'est pas le même contexte qu'en milieu naturel, car les populations d'animaux sauvages et de parasites présentent une grande diversité génétique et environnementale (Pedersen & Babayan 2011).

Dans notre étude sur les relations entre éléments minéraux et parasitisme/immunité, nous avons voulu garder une approche globale en regardant le lien entre chaque groupe de paramètres ([Article 2](#)). Nous nous sommes alors orientés vers le rôle des oligo-éléments essentiels en situation de carences, et pas sur l'effet toxique des éléments minéraux (notamment non-essentiels). Pourtant, la toxicité des éléments minéraux est connue pour impacter la santé des individus (Vázquez et al. 2015), et pourrait entraîner une défense immunitaire réduite et un parasitisme plus important. De ce fait, la poursuite de ces travaux conduirait dans un premier temps à regarder le lien entre les éléments non-essentiels et le parasitisme ou l'immunité, comme nous l'avons fait dans l'[article 2](#), pour voir s'il existe également une tendance globale entre ces paramètres. Il serait par ailleurs intéressant d'inclure d'autres populations plus exposées aux éléments non-essentiels, car les concentrations de ces derniers sont relativement faibles sur les sites de Trois-Fontaines et de Chizé.

De plus, nous savons que chaque oligo-élément essentiel a un rôle particulier dans l'organisme et que l'effet sur les fonctions physiologiques comme l'immunité, n'est pas le même selon le type d'élément que l'action n'est pas localisée au même endroit non plus (McClure 2008). Par exemple, l'apport de sélénium peut affecter la plasticité des cellules immunitaires lors des réponses immunitaires aux infections parasitaires helminthiques (Avery & Hoffmann 2018). En effet, une étude chez des souris infectées par *Nippostrongylus brasiliensis*, un parasite nématode gastro-intestinal, a montré que des niveaux plus élevés de sélénium alimentaire conduisaient à la production de substance cruciales pour l'élimination de l'infection (Nelson et al. 2016). Une étude qui prendrait en compte l'effet d'un élément particulier sur un parasite ou un paramètre immunitaire particulier permettrait de mieux comprendre leur implication dans les interactions hôte-parasite. Cependant, il serait judicieux d'inclure des mesures de concentration en éléments minéraux à la même échelle de temps que les mesures de concentrations en paramètres immunitaires et de charge parasitaire, ce qui permettrait d'étudier l'implication des éléments à un instant précis (quelques jours à

quelques semaines). Ces dosages pourraient se faire dans le sang par exemple, même matrice que la mesure des paramètres immunologiques déjà fait chez le chevreuil, et être mis en lien avec la mesure dans les poils qui pourrait être vue comme un proxy de la condition de l'individu avant l'infection parasitaire. Cela permettrait d'en apprendre davantage sur le rôle de ces éléments au niveau individuel. Lors de l'interprétation des résultats, il faudrait également garder à l'esprit que certains éléments peuvent avoir des effets liés (Cygan-Szczegielniak et al. 2014, 2018; Cygan-Szczegielniak 2021), qu'ils soient antagonistes ou synergiques, le degré de co-variation a par ailleurs été étudié dans l'[article 1](#).

Ainsi, nous venons de voir que l'existence d'une variabilité interindividuelle de la réponse face au parasitisme est claire, mais ses causes et conséquences ne sont pas évidentes à étudier. Nous avons proposé ici des pistes pour améliorer la connaissance sur les compromis qu'il peut exister entre parasitisme et nutrition, et plus précisément sur des mécanismes physiologiques de la réponse des hôtes face aux parasites ([Fig. 36](#)).

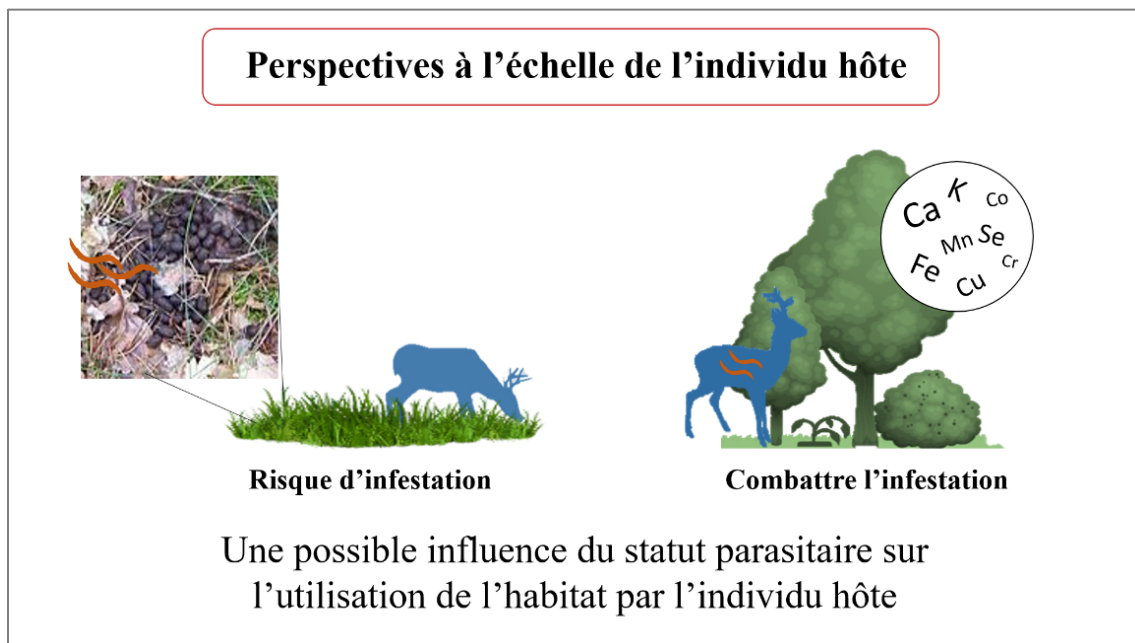


Figure 36 : Résumé graphique de la perspective à l'échelle de l'individu, exposant la nécessité d'étudier les réactions comportementales et physiologiques de l'hôte. En orange : parasite interne. En bleu : l'hôte.

Dans ce domaine de l'éco-épidémiologie, ce n'est cependant qu'un minuscule pas vers une compréhension globale de la variabilité du système immunitaire de l'individu hôte, car il existe de nombreux autres mécanismes physiologiques et même moléculaires qui pourraient avoir une influence sur et l'immunité et le parasitisme (ex : génétique, effets maternels/cohorte; [Annexe 7](#)).

4. Conclusion générale

L'objectif général de cette thèse était d'identifier les déterminants de l'hétérogénéité spatio-temporelle des infestations parasitaires dans plusieurs populations d'hôtes sauvages, en prenant le chevreuil comme exemple. Mes résultats ont montré que la charge parasitaire des individus peut aussi bien être influencée par des facteurs liés à l'environnement ou l'hôte, et que bien souvent ces facteurs sont dépendants les uns des autres dans la compréhension de l'infestation parasitaire. Les systèmes hôte-parasite sont des systèmes co-évolutifs, avec des hôtes qui investissent dans des mécanismes de défense et des parasites qui peuvent modifier certains de leurs traits d'histoire de vie comme leur mécanismes d'échappement aux réponses de l'hôte (Thomas et al. 2012). Les parasites introduisent dans chaque écosystème de l'hétérogénéité, de la diversité, de l'imprévu. Le compartiment environnemental n'est pas à mettre de côté, car il se situe en amont de toutes les chaînes de causalité, comme nous avons pu le voir, de ces interactions hôte-parasite. L'intérêt d'étudier tous ces facteurs est d'autant plus important dans le contexte actuel de changements globaux, qui incluent le changement climatique avec la multiplication des événements climatiques extrêmes (ex : périodes de sécheresse sévère, tempête avec des ouvertures de milieux), et des changements dans le paysage, l'utilisation des terres et la fragmentation de l'habitat en raison des activités humaines (Hooke et al. 2012). Les animaux sauvages sont de plus en plus exposés à des variations imprévisibles de leur environnement (Romero & Wingfield 2015), à des facteurs de stress qui vont agir sur leur immunité (Martin 2009) et leurs interactions avec les parasites (Cable et al. 2017). Les perspectives d'études que nous avons développées mettent en avant la nécessité de développer des recherches transversales favorisant l'interdisciplinarité et les échanges d'idées, confrontant des approches à plus larges échelles (ex : biologie des populations) aux approches à fines échelles (ex : moléculaires). Une approche plus intégrée pour étudier la dynamique de l'infestation et ses complexités, utilisant de nouvelles technologies pour la capture et la surveillance des animaux sauvages, est nécessaire dans un monde en constante évolution.

RÉFÉRENCES



© Paul Bienvenu

- Aboshady HM, Stear MJ, Johansson A, et al (2020) Immunoglobulins as biomarkers for gastrointestinal nematodes resistance in small ruminants: A systematic review. *Sci Rep* 10:7765. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64775-x>
- Adogwa A, Mutani A, Ramnanan A, Ezeokoli C (2005) The effect of gastrointestinal parasitism on blood copper and hemoglobin levels in sheep. *Can Vet J* 46:1017–1021
- Agusa T, Kunito T, Yasunaga G, et al (2005) Concentrations of trace elements in marine fish and its risk assessment in Malaysia. *Marine Pollution Bulletin* 51:896–911. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.06.007>
- Ahmad S, Sajid MS, Khan MK, et al (2020) Effect of trace element supplementation on the gastrointestinal parasites of grazing sheep. *JAPS, J Anim Plant Sci* 30:72–80. <https://doi.org/10.36899/JAPS.2020.1.0009>
- Albery GF, Becker DJ, Kenyon F, et al (2019) the fine-scale landscape of immunity and parasitism in a wild ungulate population. *Integr Comp Biol* 59:1165–1175. <https://doi.org/10.1093/icb/icz016>
- Albery GF, Morris A, Morris S, et al (2020a) Spatial point locations explain a range of social network positions in a wild ungulate. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.06.04.135467>
- Albery GF, Watt KA, Keith R, et al (2020b) Reproduction has different costs for immunity and parasitism in a wild mammal. *Funct Ecol* 34:229–239. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13475>
- Albon SD, Stien A, Irvine RJ, et al (2002) The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. *Proc Royal Soc B* 269:1625–1632. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2064>
- Aleuy OA, Ruckstuhl K, Hoberg EP, et al (2018) Diversity of gastrointestinal helminths in Dall’s sheep and the negative association of the abomasal nematode, *Marshallagia marshalli*, with fitness indicators. *PLoS One* 13:e0192825. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192825>
- Aleuy OA, Serrano E, Ruckstuhl KE, et al (2020) Parasite intensity drives fetal development and sex allocation in a wild ungulate. *Sci Rep* 10:15626. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72376-x>
- Alkishe AA, Peterson AT, Samy AM (2017) Climate change influences on the potential geographic distribution of the disease vector tick *Ixodes ricinus*. *PLoS One* 12:e0189092. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189092>
- Altizer S, Nunn CL, Thrall PH, et al (2003) Social organization and parasite risk in mammals: integrating theory and empirical studies. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34:517–547. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.030102.151725>
- Amaral AFS, Arruda M, Cabral S, et al (2008) Essential and non-essential trace metals in scalp hair of men chronically exposed to volcanogenic metals in the Azores, Portugal. *Environ Int* 34:1104–1108. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.03.013>
- Ammerman CB, Goodrich RD (1983) Advances in mineral nutrition in ruminants. *J Anim Sci* 57:519–533. https://doi.org/10.2527/animalsci1983.57Supplement_2519x
- Andersen R, Duncan P, Linnell J (1998) *The European roe deer: The Biology of Success*

- Andersen R, Gaillard J-M, Linnell JDC, Duncan P (2000) Factors affecting maternal care in an income breeder, the European roe deer. *J Anim Ecol* 69:672–682. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2000.00425.x>
- Anderson RM, May RM (1978) Regulation and stability of host-parasite population interactions: I. Regulatory processes. *J Anim Ecol* 47:219–247. <https://doi.org/10.2307/3933>
- Andriatsitohaina B, Ramsay MS, Kiene F, et al (2020) Ecological fragmentation effects in mouse lemurs and small mammals in northwestern Madagascar. *Am J Primatol* 82:e23059. <https://doi.org/10.1002/ajp.23059>
- Angot J-L (2022) Livre blanc/36 actions à metre en place pour une politique française ambitieuse “Une seule santé”
- Arneberg P, Skorping A, Grenfell B, Read AF (1998) Host densities as determinants of abundance in parasite communities. *Proc Royal Soc B* 265:1283–1289. <https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0431>
- Asano R, Suzuki K, Otsuka T, et al (2002) Concentrations of toxic metals and essential minerals in the mane hair of healthy racing horses and their relation to age. *J Vet Med Sci* 64:607–610. <https://doi.org/10.1292/jvms.64.607>
- Atiba EM, Zewei S, Qingzhen Z (2020) Influence of metabolizable protein and minerals supplementation on detrimental effects of endoparasitic nematodes infection in small ruminants. *Trop Anim Health Prod* 52:2213–2219. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02275-w>
- Avery JC, Hoffmann PR (2018) Selenium, selenoproteins, and immunity. *Nutrients* 10:1203. <https://doi.org/10.3390/nu10091203>
- Baddeley A, Rubak E, Turner R (2015) *Spatial point patterns: methodology and applications with R*. CRC Press
- Baddeley A, Turner R (2005) spatstat: An R package for analyzing spatial point patterns. *J Stat Soft* 12:1–42. <https://doi.org/10.18637/jss.v012.i06>
- Baermann G (1917) Eine einfache methode zur auffindung von ancylostomum (Nematoden) larven in erdproben. *Geneeskd Tijdschr Ned Indie* 57:131–137
- Bañuelos GS, Ajwa HA (1999) Trace elements in soils and plants: An overview. *J Environ Sci Health A* 34:951–974. <https://doi.org/10.1080/10934529909376875>
- Banville N, Browne N, Kavanagh K (2012) Effect of nutrient deprivation on the susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to infection. *Virulence* 3:497-503. <https://doi.org/10.4161/viru.21972>
- Barber I, Dingemanse NJ (2010) Parasitism and the evolutionary ecology of animal personality. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365:4077–4088. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0182>
- Bariod L, Saïd S, Calenge C, et al (2022) Parasitized or non-parasitized, why? A study of factors influencing tick burden in roe deer neonates. *PLoS One* 17:e0262973. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262973>

- Barrere J (2021) Interactions entre chêne et cervidés durant le processus de renouvellement-cas des peuplements forestiers tempérés de plaine (*Quercus robur* et *Q. petraea*) (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Barreto ML, Teixeira MG, Carmo EH (2006) Infectious diseases epidemiology. *J Epidemiol Community Health* 60:192–195. <https://doi.org/10.1136/jech.2003.011593>
- Bartoń K (2019) MuMIn: Multi-Model Inference
- Bass D, Christison KW, Stentiford GD, et al (2023) Environmental DNA/RNA for pathogen and parasite detection, surveillance, and ecology. *Trends Parasitol*. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2022.12.010>
- Bass D, Stentiford GD, Littlewood DTJ, Hartikainen H (2015) Diverse Applications of Environmental DNA Methods in Parasitology. *Trends Parasitol* 31:499-513. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.06.013>
- Bastianelli D, Hogrel P, Gady C (2015) La SPIR, un outil pour l'alimentation de précision, de l'usine à l'élevage. In: 11. Journées de la Recherche Avicole et des Palmipèdes à Foie Gras. Comité Interprofessionnel des Palmipèdes à Foie Gras (CIFOG), Tours, France, p 1241 p.
- Beaumelle C, Redman E, Verheyden H, et al (2022) Generalist nematodes dominate the nemabiome of roe deer in sympatry with sheep at a regional level. *Int J Parasitol* 52:751–761. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2022.07.005>
- Becker DJ, Streicker DG, Altizer S (2015) Linking anthropogenic resources to wildlife–pathogen dynamics: a review and meta-analysis. *Ecol* 18:483–495. <https://doi.org/10.1111/ele.12428>
- Begon M, Townsend CR (2020) Ecology: from individuals to ecosystems. John Wiley & Sons
- Beguín J, Tremblay J-P, Thiffault N, et al (2016) Management of forest regeneration in boreal and temperate deer–forest systems: challenges, guidelines, and research gaps. *Ecosphere* 7:e01488. <https://doi.org/10.1002/ecs2.1488>
- Beldomenico PM, Begon M (2010) Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles? *Trends Ecol Evol* 25:21–27. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.06.015>
- Beldomenico PM, Telfer S, Gebert S, et al (2008) Poor condition and infection: a vicious circle in natural populations. *Proc Royal Soc B* 275:1753–1759. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0147>
- Benavides MV, Sonstegard TS, Van Tassell C (2016) Genomic regions associated with sheep resistance to gastrointestinal nematodes. *Trends Parasitol* 32:470–480. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.03.007>
- Beraldi D, McRae AF, Gratten J, Pilkington JG, Slate J, Visscher PM, Pemberton J (2007) Quantitative trait loci (QTL) mapping of resistance to strongyles and coccidia in the freelifving Soay sheep (*Ovis aries*). *Int J Parasitol* 37:121–129. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2006.09.007>
- Body G, Ferté H, Gaillard J-M, et al (2011) Population density and phenotypic attributes influence the level of nematode parasitism in roe deer. *Oecologia* 167:635–646. <https://doi.org/10.1007/s00442-011-2018-9>
- Boitani L, Linnell JD (2015) Bringing large mammals back: large carnivores in Europe. Springer

- Bolan N, Adriano D, Mahimairaja S (2004) Distribution and bioavailability of trace elements in livestock and poultry manure by-products. *Crit Rev Environ Sci Technol* 34:291–338. <https://doi.org/10.1080/10643380490434128>
- Bonnet S, Jouglin M, L'Hostis M, Chauvin A (2007) *Babesia* sp. EU1 from roe deer and transmission within *Ixodes ricinus*. *Emerg Infect Dis* 13:1208–1210. <https://doi.org/10.3201/eid1308.061560>
- Bonnot N, Morellet N, Verheyden H, et al (2013) Habitat use under predation risk: hunting, roads and human dwellings influence the spatial behaviour of roe deer. *Eur J Wildl Res* 59:185–193. <https://doi.org/10.1007/s10344-012-0665-8>
- Bordes F, Morand S (2011) The impact of multiple infections on wild animal hosts: a review. *Infection Ecology & Epidemiology* 1:7346. <https://doi.org/10.3402/iee.v1i0.7346>
- Borham, M., Oreiby, A., El-Gedawy, A., Hegazy, Y., Khalifa, H. O., Al-Gaabary, M., & Matsumoto, T. (2022). Review on bovine tuberculosis: An emerging disease associated with multidrug-resistant *Mycobacterium* species. *Pathogens*, 11(7), 715. <https://doi.org/10.3390/pathogens11070715>
- Born E, Dietz K (1989) Parasite population dynamics within a dynamic host population. *Probability Theory and Related Fields* 83:67–85. <https://doi.org/10.1007/BF00333144>
- Bossart GD (2011) Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. *Vet Pathol* 48:676–690. <https://doi.org/10.1177/0300985810388525>
- Bourgoin G, Portanier E, Poirel M-T, et al (2021) Reproductive females and young mouflon (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.) in poor body condition are the main spreaders of gastrointestinal parasites. *Parasitol* 148:809–818. <https://doi.org/10.1017/S0031182021000329>
- Box GEP, Cox DR (1964) An analysis of transformations. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol* 26:211–243. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1964.tb00553.x>
- Bowman AS, Coons LB, Needham GR, Sauer JR (1997) Tick saliva: recent advances and implications for vector competence. *Med Vet Entomol* 11:277–285. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.1997.tb00407.x>
- Bowman AS, Nuttall PA (eds) (2008) *Ticks: biology, disease and control*. Cambridge University Press, Cambridge, UK ; New York
- Brossard M, Girardin P (1979) Passive transfer of resistance in rabbits infested with adult *Ixodes ricinus* L.: Humoral factors influence feeding and egg laying. *Experientia* 35:1395–1397. <https://doi.org/10.1007/BF01964030>
- Brown TL, Airs PM, Porter S, et al (2022) Understanding the role of wild ruminants in anthelmintic resistance in livestock. *Biol Lett* 18:20220057. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2022.0057>
- Brunner FS, Eizaguirre C (2016) Can environmental change affect host/parasite-mediated speciation? *Zoology* 119:384–394. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2016.04.001>
- Budischak SA, O'Neal D, Jolles AE, Ezenwa VO (2018) Differential host responses to parasitism shape divergent fitness costs of infection. *Funct Ecol* 32:324–333. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12951>

- Burger J (2007) A framework and methods for incorporating gender-related issues in wildlife risk assessment: Gender-related differences in metal levels and other contaminants as a case study. *Environ Res* 104:153–162. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.08.001>
- BRGM (2023) Service géologique national. <https://www.brgm.fr/fr>. Accessed 20 Jun 2023
- Burger J, Gochfeld M (1992) Trace element distribution in growing feathers: Additional excretion in feather sheaths. *Arch Environ Contam Toxicol* 23:105–108. <https://doi.org/10.1007/BF00226002>
- Burger J (2007) A framework and methods for incorporating gender-related issues in wildlife risk assessment: Gender-related differences in metal levels and other contaminants as a case study. *Environ Res* 104:153–162. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.08.001>
- Burnham KP, Anderson DR (2002) Model selection and multimodel inference: a practical information theoretic approach, 2nd ed. 2002. Corr. 3rd printing 2003. Springer-Verlag New York Inc., New York
- Burt WH (1943) Territoriality and home range concepts as applied to mammals. *J Mammal* 24:346–352
- Bush AO (2001) Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites. Cambridge University Press
- Cabaret J, Gasnier N, Jacquet P (1998) Faecal egg counts are representative of digestive-tract strongyle worm burdens in sheep and goats. *Parasite* 5:137–142. <https://doi.org/10.1051/parasite/1998052137>
- Cable J, Barber I, Boag B, et al (2017) Global change, parasite transmission and disease control: lessons from ecology. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 372:20160088. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0088>
- Cacard B (2004) La mortalité du chevreuil (*Capreolus capreolus*) en France.
- Calder, P. C., & Kulkarni, A. D. (Eds.). (2017). *Nutrition, immunity, and infection*. CRC Press.
- Cappelli J, Frasca I, García A, et al (2020) Roe deer as a bioindicator: preliminary data on the impact of the geothermal power plants on the mineral profile in internal and bone tissues in Tuscany (Italy). *Environ Sci Pollut Res* 27:36121–36131. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09708-x>
- Carl GR, Robbins CT (1988) The energetic cost of predator avoidance in neonatal ungulates: hiding versus following. *Can J Zool* 66:239–246. <https://doi.org/10.1139/z88-034>
- Carpi G, Cagnacci F, Neteler M, Rizzoli A (2008) Tick infestation on roe deer in relation to geographic and remotely sensed climatic variables in a tick-borne encephalitis endemic area. *Epidemiol Infect* 136:1416–1424. <https://doi.org/10.1017/S0950268807000039>
- Casadevall A, Pirofski L (2014) Microbiology: ditch the term pathogen. *Nature* 516:165–166. <https://doi.org/10.1038/516165a>
- Cerling TE, Wittemyer G, Rasmussen HB, et al (2006) Stable isotopes in elephant hair document migration patterns and diet changes. *Proc Natl Acad Sci* 103:371–373. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509606102>

- Cerone S, Sansinanea A, Auza N (1995) Copper deficiency alters the immune response of bovine. *Nutr Res* 15:1333-1341. [https://doi.org/10.1016/0271-5317\(95\)02008-J](https://doi.org/10.1016/0271-5317(95)02008-J)
- Chamrad AD, Box TW (1964) A point frame for sampling rumen contents. *J Wild Manag* 28:473–477. <https://doi.org/10.2307/3798199>
- Chapman JM, Marcogliese DJ, Suski CD, Cooke SJ (2015) Variation in parasite communities and health indices of juvenile *Lepomis gibbosus* across a gradient of watershed land-use and habitat quality. *Ecol Indic* 57:564–572. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.05.013>
- Chatenoud L (2002) Immunité innée et immunité adaptative : un flirt bénéfique? *Med Sci (Paris)* 18:1183–1184. <https://doi.org/10.1051/medsci/200218121183>
- Chen J, Franklin JF, Spies TA (1992) Vegetation responses to edge environments in old-growth douglas-fir forests. *Ecological Applications* 2:387–396. <https://doi.org/10.2307/1941873>
- Chen J, Xue X, Li M (2022) Trace elements in the environment: Biogeochemical cycles and bioremediation. *Front Microbiol* 13:1056528. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1056528>
- Chen Y, Barak P (1982) Iron nutrition of plants in calcareous soils. In: Brady NC (ed) *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp 217–240
- Chew BP, Park JS (2004) Carotenoid action on the immune response1. *J Nutr* 134:257S,258S,259S,260S,261S
- Cheyne L, Lemaître J-F, Gaillard J-M, et al (2017) Immunosenescence patterns differ between populations but not between sexes in a long-lived mammal. *Sci Rep* 7:13700. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13686-5>
- Chomel BB, Belotto A, Meslin F-X (2007) Wildlife, exotic pets, and emerging zoonoses. *Emerg Infect Dis* 13:6–11. <https://doi.org/10.3201/eid1301.060480>
- Chua KB (2003) Nipah virus outbreak in Malaysia. *J Clin Virol* 26:265–275. [https://doi.org/10.1016/S1386-6532\(02\)00268-8](https://doi.org/10.1016/S1386-6532(02)00268-8)
- Cibien C, Bideau E, Boisaubert B, Maublanc ML (1989) Influence of habitat characteristic on winter social organization in field roe deer. *Acta Theriologica* 34:219-226
- Cibien C, Sempere A (1989) Food availability as a factor in habitat use by roe deer. *Acta Theriologica* 34:11-123
- Cimino L, Lovari S (2003) The effects of food or cover removal on spacing patterns and habitat use in roe deer (*Capreolus capreolus*). *J Zool* 261:299–305. <https://doi.org/10.1017/S0952836903004229>
- Cizauskas CA, Turner WC, Pitts N, Getz WM (2015) Seasonal patterns of hormones, macroparasites, and microparasites in wild african ungulates: the interplay among stress, reproduction, and disease. *PLoS One* 10:e0120800. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120800>
- Cizauskas CA, Turner WC, Wagner B, et al (2014) Gastrointestinal helminths may affect host susceptibility to anthrax through seasonal immune trade-offs. *BMC Ecol* 14:1–15. <https://doi.org/10.1186/s12898-014-0027-3>

- Cleaveland S, Hess G, Dobson A, et al (2002) The role of pathogens in biological conservation. The ecology of wildlife diseases
- Čobanová K, Váradyová Z, Grešáková Ľ, et al (2020) Does herbal and/or zinc dietary supplementation improve the antioxidant and mineral status of lambs with parasite infection? *Antioxidants* 9:1172. <https://doi.org/10.3390/antiox9121172>
- Cody ML (1966) A general theory of clutch size. *Evolution* 20:174–184. <https://doi.org/10.2307/2406571>
- Combes C (1995) Long-lasting interactions: ecology and evolution of parasitism.
- Combes C (2001) Parasitism: the ecology and evolution of intimate interactions. University of Chicago Press
- Combes C (1996) Parasites, biodiversity and ecosystem stability. *Biodivers Conserv* 5:953–962. <https://doi.org/10.1007/BF00054413>
- Combes C, Gavotte L, Moulia C, Sicard M (2018) Parasitisme - Ecologie et évolution des interactions durables. Dunod, Malakoff
- Combs DK (1987) Hair analysis as an indicator of mineral status of livestock. *J Anim Sci* 65:1753–1758. <https://doi.org/10.2527/jas1987.6561753x>
- Combs DK, Goodrich RD, Meiske JC (1982) Mineral concentrations in hair as indicators of mineral status: a Review. *J Anim Sci* 54:391–398. <https://doi.org/10.2527/jas1982.542391x>
- Cook JG, Irwin LL, Bryant LD, et al (2004) Thermal cover needs of large ungulates: a review of hypothesis tests. In: Transactions of the 69th North American Wildlife and Natural Resources Conference: 708-726
- Coop RL, Holmes PH (1996) Nutrition and parasite interaction. *Int j Parasitol* 26:951–962. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(96\)80070-1](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(96)80070-1)
- Coop RL, Kyriazakis I (1999) Nutrition-parasite interaction. *Vet Parasitol* 84:187–204. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(99\)00070-9](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(99)00070-9)
- Coop RL, Kyriazakis I (2001) Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. *Trends Parasitol* 17:325–330. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(01\)01900-6](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(01)01900-6)
- Cooper J (1996) The behavioural control of helminth infection by sheep. Ph.D., University of Aberdeen
- Cooper J, Gordon IJ, Pike AW (2000) Strategies for the avoidance of faeces by grazing sheep. *Appl Anim Behav Sci* 69:15–33. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(00\)00116-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(00)00116-7)
- Corlatti L, Zachos FE (2022) Terrestrial Cetartiodactyla. Springer Nature
- Cornet S, Franceschi N, Bollache L, et al (2009) Variation and covariation in infectivity, virulence and immunodepression in the host–parasite association *Gammarus pulex*–*Pomphorhynchus laevis*. *Proc Royal Soc B*. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1299>

- Corrigan W, Coutts AG, Watt CF, et al (1982) Experimental infections with *Dictyocaulus viviparus* in vaccinated and unvaccinated red deer. *Vet Rec* 111 :179–184. <https://doi.org/10.1136/vr.111.9.179>
- Cosson J-F (2019) Écologie de la maladie de Lyme. *Santé Publique* S1:73–87. <https://doi.org/10.3917/spub.190.0073>
- Costamagna AC, Menalled FD, Landis DA (2004) Host density influences parasitism of the armyworm *Pseudaletia unipuncta* in agricultural landscapes. *Basic Appl Ecol* 5:347–355. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2004.04.009>
- Côté SD, Rooney TP, Tremblay J-P, et al (2004) Ecological impacts of deer overabundance. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 35:113–147. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.35.021103.105725>
- Cotter SC, Al Shareefi E (2022) Nutritional ecology, infection and immune defence—exploring the mechanisms. *Curr Opin Insect Sci* 50:100862. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2021.12.002>
- Cressler CE, Nelson WA, Day T, McCauley E (2014) Disentangling the interaction among host resources, the immune system and pathogens. *Ecol* 17:284–293. <https://doi.org/10.1111/ele.12229>
- Crofton HD (1971) A quantitative approach to parasitism. *Parasitol* 62:179–193. <https://doi.org/10.1017/S0031182000071420>
- Cull B, Pietzsch ME, Hansford KM, et al (2018) Surveillance of British ticks: An overview of species records, host associations, and new records of *Ixodes ricinus* distribution. *Ticks Tick Borne Dis* 9:605–614. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.01.011>
- Cygan-Szczegielniak D (2021) The levels of mineral elements and toxic metals in the longissimus lumborum muscle, hair and selected organs of red deer (*Cervus elaphus* L.) in Poland. *Animals* 11:1231. <https://doi.org/10.3390/ani11051231>
- Cygan-Szczegielniak D, Stanek M, Giernatowska E, Janicki B (2014) Impact of breeding region and season on the content of some trace elements and heavy metals in the hair of cows. *Folia Biol* 62:164–170. https://doi.org/10.3409/fb62_3.163
- Cygan-Szczegielniak D, Stanek M, Stasiak K, et al (2018) The content of mineral elements and heavy metals in the hair of red deer (*Cervus elaphus* L.) from selected regions of Poland. *Folia Biol* 66:133–142. https://doi.org/10.3409/fb_66-3.14
- Cygan-Szczegielniak D, Stasiak K (2022) Effects of age and sex on the content of heavy metals in the hair, liver and the longissimus lumborum muscle of roe deer *Capreolus capreolus* L. *Environ Sci Pollut Res* 29:10782–10790. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16425-6>
- Danchin É, Cézilly F (2021) Chapitre 9. La sélection sexuelle : un autre processus évolutif. In: *Écologie comportementale*. Dunod, pp 235–298
- Daniilkin A (1995) *Behavioural Ecology of Siberian and European Roe Deer*, 1995e édition. Chapman and Hall, London
- Daszak P, Cunningham AA, Hyatt AD (2000) Emerging infectious diseases of wildlife--threats to biodiversity and human health. *Science* 287:443–449. <https://doi.org/10.1126/science.287.5452.443>

- Dautremepuits C, Paris-Palacios S, Betoulle S, Vernet G (2004) Modulation in hepatic and head kidney parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.) induced by copper and chitosan. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 137:325–333. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.03.005>
- Davidson RK, Ličina T, Gorini L, Milner JM (2015) Endoparasites in a Norwegian moose (*Alces alces*) population – Faunal diversity, abundance and body condition. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 4:29–36. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.12.005>
- de la Fuente J, Estrada-Pena A, Venzal JM, et al (2008) Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Front Biosci* 13:6938–6946. <https://doi.org/10.2741/3200>
- de la Fuente J, Merino O (2013) Vaccinomics, the new road to tick vaccines. *Vaccine* 31:5923–5929. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.10.049>
- de Valpine P, Turek D, Paciorek CJ, et al (2017) Programming with models: writing statistical algorithms for general model structures With NIMBLE. *J Comput Graph Stat* 26:403–413. <https://doi.org/10.1080/10618600.2016.1172487>
- Debeffe L, Mcloughlin PD, Medill SA, et al (2016) Negative covariance between parasite load and body condition in a population of feral horses. *Parasitol* 143:983–997. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000408>
- Debré P (2020) Épidémies: Leçons d’Histoire. *Med Sci (Paris)* 36:642–646. <https://doi.org/10.1051/medsci/2020111>
- Decker D, Smith C, Forstchen A, et al (2016) Governance principles for wildlife conservation in the 21st century. *Conserv Lett* 9:290–295. <https://doi.org/10.1111/conl.12211>
- Deem SL, Karesh WB, Weisman W (2001) Putting theory into practice: Wildlife health in conservation. *Conserv Biol* 15:1224–1233. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2001.00336.x>
- Defolie C, Merkling T, Fichtel C (2020) Patterns and variation in the mammal parasite–glucocorticoid relationship. *Biol Rev* 95:74–93. <https://doi.org/10.1111/brv.12555>
- Degen AA (2008) Effects of macroparasites on the energy allocation of reproducing small mammals. *Front Biol* 3:123–130. <https://doi.org/10.1007/s11515-008-0034-x>
- Delahay RJ, Speakman JR, Moss R (1995) The energetic consequences of parasitism: effects of a developing infection of *Trichostrongylus tenuis* (Nematoda) on red grouse (*Lagopus lagopus scoticus*) energy balance, body weight and condition. *Parasitology* 110:473–482. <https://doi.org/10.1017/S0031182000064817>
- Delignette-Muller M-L, Dutang C, Pouillot R, et al (2023) fitdistrplus: Help to Fit of a Parametric Distribution to Non-Censored or Censored Data
- Delorme D., Van Laere G., Gaillard J.-M., & Klein F. (2007), La phase juvénile chez le chevreuil, un élément déterminant pour orienter la gestion de l’espèce. *Faune sauvage* 275 :15-22.
- Demesko, J, Markowski, J, Demesko, E, et al (2019). Ecotype variation in trace element content of hard tissues in the European roe deer (*Capreolus capreolus*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 76, 76–86.

- Denwood MJ, Love S, Innocent GT, et al (2012) Quantifying the sources of variability in equine faecal egg counts: implications for improving the utility of the method. *Vet Parasitol* 188:120-126.
- Dhabhar FS, Miller AH, McEwen BS, Spencer RL (1995) Effects of stress on immune cell distribution. Dynamics and hormonal mechanisms. *J Immunol* 154:5511–5527. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.154.10.5511>
- Dhabhar FS, Miller AH, Stein M, et al (1994) Diurnal and acute stress-induced changes in distribution of peripheral blood leukocyte subpopulations. *Bran Behav Immun* 8:66–79. <https://doi.org/10.1006/brbi.1994.1006>
- D’Havé H, Scheirs J, Mubiana VK, et al (2006) Non-destructive pollution exposure assessment in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*): II. Hair and spines as indicators of endogenous metal and As concentrations. *Environ Pollut* 142:438–448. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.10.021>
- Di Francesco J, Navarro-Gonzalez N, Wynne-Edwards K, et al (2017) Qiviut cortisol in muskoxen as a potential tool for informing conservation strategies. *Conserv Physiol* 5:cox052. <https://doi.org/10.1093/conphys/cox052>
- Dietz R, Riget F, Born EW, et al (2006) Trends in mercury in hair of greenlandic polar bears (*Ursus maritimus*) during 1892–2001. *Environ Sci Technol* 40:1120–1125. <https://doi.org/10.1021/es051636z>
- Dijk J van, Morgan ER (2011) The influence of water on the migration of infective trichostrongyloid larvae onto grass. *Parasitol* 138:780–788. <https://doi.org/10.1017/S0031182011000308>
- Dinno A (2009) Implementing Horn’s parallel analysis for principal component analysis and factor analysis. *Stata J* 9:291–298. <https://doi.org/10.1177/1536867X0900900207>
- Dixon LK, Sun H, Roberts H (2019) African swine fever. *Antiv Res* 165:34–41. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.02.018>
- Dolédec S, Chessel D (2006) Co-inertia analysis: an alternative method for studying species-environment relationships. *Freshw Biol* 31:277–294. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1994.tb01741.x>
- Douhard F, Gaillard J-M, Pellerin M, et al (2017) The cost of growing large: costs of post-weaning growth on body mass senescence in a wild mammal. *Oikos* 126:1329–1338. <https://doi.org/10.1111/oik.04421>
- Draghi S, Agradi S, Riva F, et al (2023) Roe deer (*Capreolus capreolus*) hair as a bioindicator for the environmental presence of toxic and trace elements. *Toxics* 11:49. <https://doi.org/10.3390/toxics11010049>
- Dray S, Saïd S, Débias F (2008) Spatial ordination of vegetation data using a generalization of Wartenberg’s multivariate spatial correlation. *J Veg Sci* 19:45–56. <https://doi.org/10.3170/2007-8-18312>
- Droke EA, Spears JW (1993) In vitro and in vivo immunological measurements in growing lambs fed diets deficient, marginal or adequate in zinc. *J Nutr Immunol* 2:71–90. https://doi.org/10.1300/J053v02n01_08
- Dufour B (2017) Les causes de l’émergence des maladies infectieuses. *Bulletin de l’Académie Nationale de Médecine* 201:1189–1195. [https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)30410-8](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)30410-8)

- Duncan P, Tixier H, Hofmann RR, Lechner-Doll M (1998) Feeding strategies and the physiology of digestion in roe deer. *The European Roe Deer: the biology of success* 91–116
- Dunn OJ (1964) Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics* 6:241–252. <https://doi.org/10.1080/00401706.1964.10490181>
- Durand Y, Brun E, Merindol L, et al (1993) A meteorological estimation of relevant parameters for snow models. *Ann Glaciol* 18:65–71. <https://doi.org/10.3189/S0260305500011277>
- Durand Y, Giraud G, Laternser M, et al (2009) Reanalysis of 47 years of climate in the french alps (1958–2005): climatology and trends for snow cover. *J Appl Meteorol Climatol* 48:2487–2512. <https://doi.org/10.1175/2009JAMC1810.1>
- Durkalec M, Nawrocka A, Krzysiak M, et al (2018) Trace elements in the liver of captive and free-ranging European bison (*Bison bonasus* L.). *Chemosphere* 193:454–463. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.050>
- Durkalec M, Szkoda J, Kolacz R, et al (2015) Bioaccumulation of lead, cadmium and mercury in roe deer and wild boars from areas with different levels of toxic metal pollution. *Int J Environ Res* 9:205–212
- Enderlein C (2002) L'immunité au cours des strongyloses gastro-intestinales des ruminants : étude bibliographique.
- Engering A, Hogerwerf L, Slingenbergh J (2013) Pathogen–host–environment interplay and disease emergence. *Emerg microbes & infect* 2:1–7. <https://doi.org/10.1038/emi.2013.5>
- Engwa GA, Ferdinand PU, Nwalo FN, et al (2019) Mechanism and health effects of heavy metal toxicity in humans. *IntechOpen*
- Estrada-Peña A (2001) Distribution, abundance, and habitat preferences of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in Northern Spain. *J Med Entomol* 38:361–370. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.3.361>
- Estrada-Peña A (2001) Forecasting habitat suitability for ticks and prevention of tick-borne diseases. *Vet Parasitol* 98:111–132. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00426-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00426-5)
- Estrada-Peña A, Fuente J de la (2014) The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.05.016>
- Euzéby J, Bourdoiseau G, Chauve C-M (2005) *Dictionnaire de parasitologie médicale et vétérinaire*. Tec & Doc Lavoisier
- Euzet L, Combes C (1980) Les problèmes de l'espèce chez les animaux parasites. *Les problèmes de l'espèce chez les animaux parasites*
- Ezenwa VO (2004) Selective defecation and selective foraging: antiparasite behavior in wild ungulates? *Ethol* 110:851–862. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2004.01013.x>
- Ezenwa VO (2016) Helminth–microparasite co-infection in wildlife: lessons from ruminants, rodents and rabbits. *Parasite Immunol* 38:527–534. <https://doi.org/10.1111/pim.12348>

- Fankhauser R, Galeffi C, Suter W (2008) Dung avoidance as a possible mechanism in competition between wild and domestic ungulates: two experiments with chamois *Rupicapra rupicapra*. *Eur J Wildl Res* 54:88–94. <https://doi.org/10.1007/s10344-007-0115-1>
- Feldhamer GA, Merritt JF, Krajewski C, et al (2020) *Mammalogy: Adaptation, Diversity, Ecology*. JHU Press
- Feng J, Chen J, Xing C, et al (2020) Molybdenum induces mitochondrial oxidative damage in kidney of goats. *Biol Trace Elem Res* 197:167–174. <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01991-1>
- Festa-Bianchet M (1991) Numbers of lungworm larvae in feces of bighorn sheep: yearly changes, influence of host sex, and effects on host survival. *Can J Zool* 69:547–554. <https://doi.org/10.1139/z91-082>
- Finnegan D (2022) Reference Intervals. <https://CRAN.R-project.org/package=referenceIntervals>
- Flueck WT (1994) Effect of trace elements on population dynamics: selenium deficiency in free-ranging black-tailed deer. *Ecology* 75:807–812. <https://doi.org/10.2307/1941736>
- Foggo A, Ozanne CMP, Speight MR, Hambler C (2001) Edge effects and tropical forest canopy invertebrates. In: Linsenmair KE, Davis AJ, Fiala B, Speight MR (eds) *Tropical Forest Canopies: Ecology and Management: Proceedings of ESF Conference, Oxford University, 12–16 December 1998*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 347–359
- Forbes AB, Huckle CA, Gibb MJ, et al (2000) Evaluation of the effects of nematode parasitism on grazing behaviour, herbage intake and growth in young grazing cattle. *Vet Parasitol* 90:111–118. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00218-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00218-1)
- Forbes, J. M. (2007). A personal view of how ruminant animals control their intake and choice of food: minimal total discomfort. *Nutr Res Rev* 20:132-146.
- Forristal VE, Creel S, Taper ML, et al (2012) Effects of supplemental feeding and aggregation on fecal glucocorticoid metabolite concentrations in elk. *The Journal of Wildlife Management* 76:694–702. <https://doi.org/10.1002/jwmg.312>
- Fox MT (1997) Pathophysiology of infection with gastrointestinal nematodes in domestic ruminants: recent developments. *Veterinary parasitology* 72:285-308.
- Fraga CG (2005) Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol Aspects Med* 26:235–244. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.013>
- Frank R (2002) High-density synthetic peptide microarrays: emerging tools for functional genomics and proteomics. *combinatorial chemistry & high throughput screening* 5:429–440. <https://doi.org/10.2174/1386207023330165>
- Frank A (2004) A review of the “mysterious” wasting disease in swedish moose (*Alces alces* L.) related to molybdenosis and disturbances in copper metabolism. *Biol Trace Elem Res* 102:143–159. <https://doi.org/10.1385/BTER:102:1-3:143>
- Frazzoli C, Bocca B, Mantovani A (2015) The one health perspective in trace elements biomonitoring. *J Toxicol Environ Health B* 18:344–370. <https://doi.org/10.1080/10937404.2015.1085473>

- French AS, Shaw D, Gibb SW, Taggart MA (2017) Geochemical landscapes as drivers of trace and toxic element profiles in wild red deer (*Cervus elaphus*). *Sci Total Environ* 601–602:1606–1618. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.210>
- Freschet GT, Violle C, Roumet C, Garnier E (2018) Interactions entre le sol et la végétation : structure des communautés de plantes et fonctionnement du sol. In: Blouin PL& M (ed) *Les sols au coeur de la zone critique 6: écologie*. ISTE editions, pp 83–99
- Fritsch C, Appenzeller B, Burkart L, et al (2022) Pervasive exposure of wild small mammals to legacy and currently used pesticide mixtures in arable landscapes. *Sci Rep* 12:15904. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19959-y>
- Fthenakis GC, Mavrogianni VS, Gallidis E, Papadopoulos E (2015) Interactions between parasitic infections and reproductive efficiency in sheep. *Vet Parasitol* 208:56–66. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.12.017>
- Fthenakis GC, Papadopoulos E (2018) Impact of parasitism in goat production. *Small Rumin Res* 163:21–23. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.04.001>
- Gaillard J-M, Delorme D, Boutin J-M, et al (1996) Body mass of roe deer fawns during winter in 2 contrasting populations. *J Wild Manag* 29-36. <https://doi.org/10.2307/3802036>
- Gaillard J-M, Delorme D, Boutin J-M, et al (1993a) Roe deer survival patterns: a comparative analysis of contrasting populations. *J Anim Ecol* 62:778–791
- Gaillard J-M, Delorme D, Jullien J-M, Tatin D (1993b) Timing and synchrony of births in roe deer. *J Mammal* 74:738–744
- Gaillard J-M, Duncan P, Delorme D, et al (2003) Effects of hurricane Lothar on the population dynamics of European roe deer. *J Wild Manag* 67:767. <https://doi.org/10.2307/3802684>
- Gaillard J-M, Festa-Bianchet M, Delorme D, Jorgenson J (2000) Body mass and individual fitness in female ungulates: bigger is not always better. *Proc Royal Soc B* 267:471–477. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1024>
- Gaillard J-M, Festa-Bianchet M, Yoccoz NG, et al (2000) Temporal variation in fitness components and population dynamics of large herbivores. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 31:367-393.
- Gaillard J-M, Hebblewhite M, Loison A, et al (2010) Habitat-performance relationships : finding the right metric at a given spatial scale. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365:2255–2265.
- García MHM, Moreno DH, Rodríguez FS, et al (2011) Sex- and age-dependent accumulation of heavy metals (Cd, Pb and Zn) in liver, kidney and muscle of roe deer (*Capreolus capreolus*) from NW Spain. *J Environ Sci Health A* 46:109-116. <https://doi.org/10.1080/10934529.2011.532422>
- Gasparik J, Dobias M, Capcarova M, et al (2012) Concentration of cadmium, mercury, zinc, copper and cobalt in the tissues of wild boar (*Sus scrofa*) hunted in the western Slovakia. *J Environ Sci Health A* 47:1212–1216. <https://doi.org/10.1080/10934529.2012.672065>
- Gaudry W (2015) Utilisation de l’habitat par le chevreuil (*Capreolus capreolus*) dans des environnements variables et contrastés. Phdthesis, Université Claude Bernard - Lyon I

- Gaudry W, Gaillard J-M, Saïd S, et al (2018) Same habitat types but different use: evidence of context-dependent habitat selection in roe deer across populations. *Sci Rep* 8:5102. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23111-0>
- Gebel T, Kevekordes S, Schaefer J, et al (1996) Assessment of a possible genotoxic environmental risk in sheep bred on grounds with strongly elevated contents of mercury, arsenic and antimony. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 368:267–274. [https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(96\)90068-3](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(96)90068-3)
- Gehlhausen SM, Schwartz MW, Augspurger CK (2000) Vegetation and microclimatic edge effects in two mixed-mesophytic forest fragments. *Plant Ecol* 147:21–35. <https://doi.org/10.1023/A:1009846507652>
- Gelman A, Hwang J, Vehtari A (2014) Understanding predictive information criteria for Bayesian models. *Stat Comput* 24:997–1016. <https://doi.org/10.1007/s11222-013-9416-2>
- Gelman A, Meng X-L, Stern H (1996) Posterior predictive assessment of model fitness via realized discrepancies. *Statistica Sinica* 6:733–760
- Gelman A, Rubin DB (1992) Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Stat Sci* 7:457–472. <https://doi.org/10.1214/ss/1177011136>
- Gervasi V, Nilsen EB, Sand H, et al (2012) Predicting the potential demographic impact of predators on their prey: a comparative analysis of two carnivore-ungulate systems in Scandinavia. *J Anim Ecol* 81:443–454. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2011.01928.x>
- Gerofke A, Martin A, Schlichting D, et al (2018) Heavy metals in game meat. In: *Chemical Hazards in Foods of Animal Origin*. Wageningen Academic Publishers, pp 585–609. <https://doi.org/10.3920/978-90-8686-877-3>
- Gibbs HC (1982) Mechanisms of survival of nematode parasites with emphasis on hypobiosis. *Vet Parasitol* 11:25–48. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(82\)90119-4](https://doi.org/10.1016/0304-4017(82)90119-4)
- Gibbs HC (1986) Hypobiosis in parasitic nematodes—An Update. In: Baker JR, Muller R (eds) *Advances in Parasitology*. Academic Press, pp 129–174
- Gilot-Fromont E, Jégo M, Bonenfant C, et al (2012) Immune phenotype and body condition in roe deer: individuals with high body condition have different, not stronger immunity. *PLoS One* 7:e45576. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045576>
- Giraudeau P (2023) One Health (une seule santé): concept nouveau en maturation ou vieille histoire?. In *Médecine et Santé un lien évident?*.
- Goater TM, Goater CP, Esch GW (2013) *Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites*, 2e édition. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom ; New York
- Gortázar C, Acevedo P, Ruiz-Fons F, Vicente J (2006) Disease risks and overabundance of game species. *Eur J Wildl Res* 52:81–87. <https://doi.org/10.1007/s10344-005-0022-2>
- Gortázar C, Ferroglio E, Höfle U, et al (2007) Diseases shared between wildlife and livestock: a European perspective. *Eur J Wildl Res* 53:241. <https://doi.org/10.1007/s10344-007-0098-y>

- Govind P (2014) Heavy metals causing toxicity in animals and fishes. *Res J Animal, Veterinary and Fishery Sci* 2:17–23
- Grace N, Wilson P (2002) Trace element metabolism, dietary requirements, diagnosis and prevention of deficiencies in deer. *N Z Vet J* 50:252–259. <https://doi.org/10.1080/00480169.2002.36321>
- Gradé JT, Tabuti JRS, Van Damme P (2008) Four footed pharmacists: indications of self-medicating livestock in Karamoja, Uganda. *Econ Bot* 63:29. <https://doi.org/10.1007/s12231-008-9058-z>
- Graveland J, Van der Wal R (1996) Decline in snail abundance due to soil acidification causes eggshell defects in forest passerines. *Oecologia* 105:351–360.
- Gray JS (1985) A carbon dioxide trap for prolonged sampling of *Ixodes ricinus* L. populations. *Exp Appl Acarol* 1:35–44. <https://doi.org/10.1007/BF01262198>
- Gray JS (1998) Review The ecology of ticks transmitting Lyme borreliosis. *Exp Appl Acarol* 22:249–258. <https://doi.org/10.1023/A:1006070416135>
- Gray JS, Dautel H, Estrada-Peña A, et al (2009) Effects of Climate Change on Ticks and Tick-Borne Diseases in Europe. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2009:1–12. <https://doi.org/10.1155/2009/593232>
- Grenfell BT, Gulland FMD (1995) Introduction: Ecological impact of parasitism on wildlife host populations. *Parasitol* 111:S3–S14. <https://doi.org/10.1017/S0031182000075788>
- Gulland FMD (1992) The role of nematode parasites in Soay sheep (*Ovis aries* L.) mortality during a population crash. *Parasitol* 105:493–503. <https://doi.org/10.1017/S0031182000074679>
- Gupta PK (2021) Minerals play role in reproduction of animals and their deficiency diseases in animals: A review article. *J Entomol Zool Stud* 9:534–536
- Gupta UC, Gupta SC (1998) Trace element toxicity relationships to crop production and livestock and human health: implications for management. *Commun Soil Sci Plant Anal* 29:1491–1522. <https://doi.org/10.1080/00103629809370045>
- Habig B, Doellman MM, Woods K, et al (2018) Social status and parasitism in male and female vertebrates: a meta-analysis. *Sci Rep* 8:3629. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21994-7>
- Hall LS, Krausman PR, Morrison ML (1997) The habitat concept and a plea for standard terminology. *Wild Soc Bull* 25:173–182.
- Hakkarainen H, Huhta E, Koskela E, et al (2007) *Eimeria*-parasites are associated with a lowered mother's and offspring's body condition in island and mainland populations of the bank vole. *Parasitol* 134:23–31. <https://doi.org/10.1017/S0031182006001120>
- Hamilton WD, Zuk M (1982) Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science* 218:384–387. <https://doi.org/10.1126/science.7123238>
- Han BA, Altizer S (2013) Diseases, Conservation and. In: Levin SA (ed) *Encyclopedia of Biodiversity* (Second Edition). Academic Press, Waltham, pp 523–538

- Han BA, Ostfeld RS (2019) Topic modeling of major research themes in disease ecology of mammals. *J Mammal* 100:1008-1018. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyy174>
- Harestad AS, Bunnell FL (1979) Home range and body weight—a reevaluation. *Ecology* 60:389–402. <https://doi.org/10.2307/1937667>
- Hart BL (1990) Behavioral adaptations to pathogens and parasites: Five strategies. *Neurosci Biobehav Rev* 14:273–294. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(05\)80038-7](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(05)80038-7)
- Hart BL, Hart LA (2018) How mammals stay healthy in nature: the evolution of behaviours to avoid parasites and pathogens. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 373:20170205. <https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0205>
- Hart BL, Hart LA, Mooring MS, Olubayo R (1992) Biological basis of grooming behaviour in antelope: the body-size, vigilance and habitat principles. *Anim Behav* 44:615–631. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(05\)80290-8](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80290-8)
- Hasselquist D, Nilsson J-Å (2009) Maternal transfer of antibodies in vertebrates: trans-generational effects on offspring immunity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364:51–60. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0137>
- Hawkins BA (2012) Eight (and a half) deadly sins of spatial analysis. *J Biogeogr* 39:1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02637.x>
- Haydon D, Cleaveland S, Taylor L, Laurenson M (2003) Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. *Emerg Infect Dis* 8:1468–73. <https://doi.org/10.3201/eid0812.010317>
- He ZL, Yang XE, Stoffella PJ (2005) Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *J Trace Elem Med Biol* 19:125–140. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.02.010>
- Hersh MH, Tibbetts M, Strauss M, et al (2012) Reservoir competence of wildlife host species for *Babesia microti*. *Emerg Infect Dis* 18:1951–1957. <https://doi.org/10.3201/eid1812.111392>
- Hewison AJ, Vincent JP, Joachim J, et al (2001) The effects of woodland fragmentation and human activity on roe deer distribution in agricultural landscapes. *Can J Zool* 79:679–689. <https://doi.org/10.1139/z01-032>
- Hidiroglou M (1979) Trace element deficiencies and fertility in ruminants: A review. *J Dairy Sci* 62:1195–1206. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(79\)83400-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(79)83400-1)
- Hinchliffe S (2015) More than one world, more than one health: Re-configuring interspecies health. *Soc Sci Med* 129:28–35. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2014.07.007>
- Hofmeester TR, Sprong H, Jansen PA, et al (2017) Deer presence rather than abundance determines the population density of the sheep tick, *Ixodes ricinus*, in Dutch forests. *Parasites Vectors* 10:433. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2370-7>
- Holm S (1979) A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scand J Stat* 6:65–70
- Hooke RL, Martín Duque JF, Pedraza Gilsanz J de (2012) Land transformation by humans: A review. *GSA Today* 22:4-10. <https://doi.org/10.1130/GSAT151A.1>

- Horcajada-Sánchez F, Navarro-Castilla Á, Boadella M, Barja I (2018) Influence of livestock, habitat type, and density of roe deer (*Capreolus capreolus*) on parasitic larvae abundance and infection seroprevalence in wild populations of roe deer from central Iberian Peninsula. *Mamm Res* 63:213–222. <https://doi.org/10.1007/s13364-018-0354-4>
- Horn JL (1965) A rationale and test for the number of factors in factor analysis. *Psychometrika* 30:179–185. <https://doi.org/10.1007/BF02289447>
- Horn PS, Feng L, Li Y, Pesce AJ (2001) Effect of outliers and nonhealthy individuals on reference interval estimation. *Clin Chem* 47:2137–2145
- Hoste H, Cabaret J, Grosmond G, Guitard JP (2009) Alternatives aux traitements anthelminthiques en élevage biologique des ruminants. *INRA Prod Anim* 22:245–254. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2009.22.3.3351>
- Hoste H, Martinez-Ortiz-De-Montellano C, Manolaraki F, et al (2012) Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. *Vet Parasitol* 186:18–27. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.042>
- Hoste H, Torres-Acosta JFJ, Aguilar-Caballero AJ (2008) Nutrition-parasite interactions in goats: is immunoregulation involved in the control of gastrointestinal nematodes? *Parasite Immunol* 30:79–88. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2007.00987.x>
- Hostetler CE, Kincaid RL, Mirando MA (2003) The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. *Vet J* 166:125–139. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(02\)00310-6](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(02)00310-6)
- Houwen B (2001) The differential count. *Lab Hematol* 7:89–100
- Hubálek Z, Rudolf I (2012) Tick-borne viruses in Europe. *Parasitol Res* 111:9–36. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-2910-1>
- Hughes S, Kelly P (2006) Interactions of malnutrition and immune impairment, with specific reference to immunity against parasites. *Parasite Immunol* 28:577–588. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2006.00897.x>
- Hurlbert SH (1984) Pseudoreplication and the Design of Ecological Field Experiments. *Ecol Monogr* 54:187–211. <https://doi.org/10.2307/1942661>
- Hutchings MR, Athanasiadou S, Kyriazakis I et al (2003) Can animals use foraging behaviour to combat parasites?. *Proc Nutr Soc* 62: 361-370. <https://doi.org/10.1079/PNS2003243>
- Hutchings MR, Gordon IJ, Kyriazakis I, Jackson F (2001) Sheep avoidance of faeces-contaminated patches leads to a trade-off between intake rate of forage and parasitism in subsequent foraging decisions. *Anim Behav* 62:955–964. <https://doi.org/10.1006/anbe.2001.1837>
- Hutchings MR, Judge J, Gordon IJ, et al (2006) Use of trade-off theory to advance understanding of herbivore–parasite interactions. *Mamm Rev* 36:1–16. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2006.00080.x>
- Hutto RL (1985) Habitat selection by nonbreeding, migratory land birds. Dans : ML Cody (ed.), *Habitat selection in birds*, Academic Press San Diego, California, USA, 455–476.

- Irvine RJ (2006) Parasites and the dynamics of wild mammal populations. *Anim Sci* 82:775–781. <https://doi.org/10.1017/ASC2006106>
- Jean-Antoine A (2017) Consommation de tanins par le chevreuil et niveau d'infestation par des strongles gastro-intestinaux.
- Jedrzejewska B, W J, A.n B, et al (1997) Factors shaping population densities and increase rates of ungulates in Bialowieza Primeval Forest (Poland and Belarus) in the 19th and 20th centuries. *Acta Theriolog* 42:399-451.
- Jégo M, Ferté H, Gaillard JM, et al (2014) A comparison of the physiological status in parasitized roe deer (*Capreolus capreolus*) from two different populations. *Vet Parasitol* 205:717–720. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.09.016>
- Jennewein MF, Abu-Raya B, Jiang Y, et al (2017) Transfer of maternal immunity and programming of the newborn immune system. *Semin Immunopathol* 39:605–613. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0653-x>
- Jenny H (1994) Factors of soil formation: a system of quantitative pedology. Courier Corporation
- Jiang Z, Liu H, Wang H, et al (2020) Bedrock geochemistry influences vegetation growth by regulating the regolith water holding capacity. *Nat Commun* 11:1–9. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16156-1>
- Johnson DH (1980) The comparison of usage and availability measurements for evaluating resource preference. *Ecology* 61:65–71.
- Johnson E, Hornby J (1975) Seasonal changes of pelage in the roe deer *Capreolus capreolus* and its role in thermoregulation. *J Nat Hist* 9:619–628. <https://doi.org/10.1080/00222937500770511>
- Johnson MD (2007) Measuring habitat quality: A review. *The Condor* 109:489–504. <https://doi.org/10.1093/condor/109.3.489>
- Jolles AE, Beechler BR, Dolan BP (2015) Beyond mice and men: environmental change, immunity and infections in wild ungulates. *Parasite Immunol* 37:255–266. <https://doi.org/10.1111/pim.12153>
- Joly K, Couriot O, Cameron MD, Gurarie E (2020) Behavioral, physiological, demographic and ecological impacts of hematophagous and endoparasitic insects on an arctic ungulate. *Toxins* 12:334. <https://doi.org/10.3390/toxins12050334>
- Jones KE, Patel NG, Levy MA, et al (2008) Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 451:990–993. <https://doi.org/10.1038/nature06536>
- Jore S, Vanwambeke SO, Viljugrein H, et al (2014) Climate and environmental change drives *Ixodes ricinus* geographical expansion at the northern range margin. *Parasit Vectors* 7:11. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-11>
- Jullien J, Delorme D, Gaillard J (1992) Détermination de l'âge chez le faon de chevreuil (*Capreolus capreolus*) dans son premier mois de vie. <https://doi.org/10.1515/MAMM-1992-0221>

- Jutha N, Jardine C, Schwantje H, et al (2022) Evaluating the use of hair as a non-invasive indicator of trace mineral status in woodland caribou (*Rangifer tarandus caribou*). PLoS One 17:e0269441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269441>
- Kabata-Pendias A (2000) Trace Elements in Soils and Plants, 3rd edn. CRC Press, Boca Raton. <https://doi.org/10.1201/9781420039900>
- Kabata-Pendias A, Szteke B (2015) Trace elements in abiotic and biotic environments. CRC press, Boca Raton (Fla.)
- Kaspari M, Joern A (1993) Prey choice by three insectivorous grassland birds: reevaluating opportunism. Oikos 414-430. <https://doi.org/10.2307/3544909>
- Katz SA, Chatt A (1994) The use of hair as a biopsy tissue for mineral elements in the human body (No. NAHRES--22).
- Kaushik M, Lamberton PHL, Webster JP (2012) The role of parasites and pathogens in influencing generalised anxiety and predation-related fear in the mammalian central nervous system. Horm Behav 62:191–201. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2012.04.002>
- Kays R, Crofoot MC, Jetz W, Wikelski M (2015) Terrestrial animal tracking as an eye on life and planet. Science 348:. <https://doi.org/10.1126/science.aaa2478>
- Kelly A, Trowsdale J (2017) Introduction: MHC/KIR and governance of specificity. Immunogenetics 69:481–488. <https://doi.org/10.1007/s00251-017-0986-6>
- Kempson IM, Lombi E (2011) Hair analysis as a biomonitor for toxicology, disease and health status. Chem Soc Rev 40:3915–3940. <https://doi.org/10.1039/C1CS15021A>
- Khadijah S, Kahn LP, Walkden-Brown SW, et al (2013) Effect of simulated rainfall timing on faecal moisture and development of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* eggs to infective larvae. Vet Parasitol 192:199–210. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.10.015>
- Kiene F, Andriatsitohaina B, Ramsay MS, et al (2021) Habitat fragmentation and vegetation structure impact gastrointestinal parasites of small mammalian hosts in Madagascar. Ecol Evol 11:6766–6788. <https://doi.org/10.1002/ece3.7526>
- Kiffner C, Lödige C, Alings M, et al (2011) Body-mass or sex-biased tick parasitism in roe deer (*Capreolus capreolus*)? A GAMLSS approach. Med Vet Entomol 25:39–45. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2010.00929.x>
- Kilpatrick AM, Dobson ADM, Levi T, et al (2017) Lyme disease ecology in a changing world: consensus, uncertainty and critical gaps for improving control. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 372:20160117. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0117>
- Kim J, Oh J-M (2016) Assessment of trace element concentrations in birds of prey in Korea. Arch Environ Contam Toxicol 71:26–34. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0247-3>
- Klemola N, Klemola T, Rantala MJ, Ruuhola T (2007) Natural host-plant quality affects immune defence of an insect herbivore. Entomol Exp Appl 123:167–176. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2007.00533.x>

- Knutie SA, Wilkinson CL, Wu QC, et al (2017) Host resistance and tolerance of parasitic gut worms depend on resource availability. *Oecologia* 183:1031–1040. <https://doi.org/10.1007/s00442-017-3822-7>
- Kołacz R, Bodak E, Dobrzański Z, Patkowska-Sokoła B (1999) Trace elements in the wool of Polish merino sheep grazed in polluted and unpolluted environment. *Czech J Anim Sci* 509–14
- Kołodziej-Sobocińska M (2019) Factors affecting the spread of parasites in populations of wild European terrestrial mammals. *Mamm Res* 64:301–318. <https://doi.org/10.1007/s13364-019-00423-8>
- Kophamel S, Illing B, Ariel E, et al (2022) Importance of health assessments for conservation in noncaptive wildlife. *Conserv Biol* 36:e13724. <https://doi.org/10.1111/cobi.13724>
- Koski KG, Scott ME (2001) Gastrointestinal nematodes, nutrition and immunity: breaking the negative spiral. *Annu Rev Nutr* 21:297–321. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.21.1.297>
- Kośła T, Małgorzata Skibniewska E, Skibniewski M, et al (2019) Hair concentration of selenium in European bison in relation to sex and age, with regard to liver and kidney Se levels. *Folia Biol* 67:99–108. https://doi.org/10.3409/fb_67-3.10
- Kotál J, Langhansová H, Lieskovská J, et al (2015) Modulation of host immunity by tick saliva. *J Proteomics* 128:58–68. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2015.07.005>
- Kruskal WH, Wallis WA (1952) Use of ranks in one-criterion variance analysis. *J Am Stat Assoc* 47:583–621. <https://doi.org/10.2307/2280779>
- Kubenam KS (1994) The role of magnesium in immunity. *J Nutr Immunol* 2:107–126. https://doi.org/10.1300/J053v02n03_07
- Kuzmina TA, Kuzmin YI, Kharchenko VA (2006) Field study on the survival, migration and overwintering of infective larvae of horse strongyles on pasture in central Ukraine. *Vet Parasitol* 141:264–272. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.06.005>
- Kyriazakis I, Tolkamp BJ, Hutchings MR (1998) Towards a functional explanation for the occurrence of anorexia during parasitic infections. *Anim Behav* 56:265–274. <https://doi.org/10.1006/anbe.1998.0761>
- Labocha MK, Schutz H, Hayes JP (2014) Which body condition index is best? *Oikos* 123:111–119. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2013.00755.x>
- Lambert RT, Ashworth CJ, Beattie L, et al (2001) Temporal changes in reproductive hormones and conceptus-endometrial interactions during embryonic diapause and reactivation of the blastocyst in European roe deer (*Capreolus capreolus*). *Reproduction* 121:863–871. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1210863>
- Langrová I, Makovcová K, Vadlejš J, et al (2008) Arrested development of sheep strongyles: onset and resumption under field conditions of Central Europe. *Parasitol Res* 103:387. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-0984-6>
- Larsen HJ, Moksnes K, Øvernes G (1988) Influence of selenium on antibody production in sheep. *Res Vet Sci* 45:4–10. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)30886-5](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)30886-5)

- Laurance WF (1991) Edge effects in tropical forest fragments: Application of a model for the design of nature reserves. *Biol Conserv* 57:205–219. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(91\)90139-Z](https://doi.org/10.1016/0006-3207(91)90139-Z)
- Leboulle G, Crippa M, Decrem Y, et al (2002) Characterization of a novel salivary immunosuppressive protein from *Ixodes ricinus* Ticks. *J Biol Chem* 277:10083–10089. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111391200>
- Lee CY, Munyard KA, Gregg K, et al (2011) The influence of MHC and immunoglobulins A and E on host resistance to gastrointestinal nematodes in sheep. *J Parasitol Res* 2011:e101848. <https://doi.org/10.1155/2011/101848>
- Lehel J, Laczay P, Gyurcsó A, et al (2016) Toxic heavy metals in the muscle of roe deer (*Capreolus capreolus*)—food toxicological significance. *Environ Sci Pollut Res* 23:4465–4472. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5658-1>
- Leivesley JA, Bussière LF, Pemberton JM, et al (2019) Survival costs of reproduction are mediated by parasite infection in wild Soay sheep. *Ecol Lett* 22:1203–1213. <https://doi.org/10.1111/ele.13275>
- Lent PC (1974) Mother-infant relationships in ungulates. *The Behaviour of Ungulates and its Relationship to Management* 24:14–55
- Lequeux G (2016) Oligo-éléments, santé et performance des animaux. In: LABOCEA. <https://www.labocea.fr/oligo-elements-sante-performance-bovins/>. Accessed 4 Aug 2022
- Lerner H, Berg C (2015) The concept of health in One Health and some practical implications for research and education: what is One Health? *Infect Ecol Epidemiology* 5:25300.
- Lettini SE, Sukhdeo MVK (2006) Anhydrobiosis increases survival of *Trichostrongyle* nematodes. *J Parasitol* 92:1002–1009. <https://doi.org/10.1645/GE-784R.1>
- Liatis TK, Monastiridis AA, Birlis P, et al (2017) Endoparasites of wild mammals sheltered in wildlife hospitals and rehabilitation centres in greece. *Front Vet Sci* 4:220. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00220>
- Lin YS, Zhou H, Forrest RHJ, Frampton CM, Burrows LER, Hickford JGH (2016) Association between variation in faecal egg count for a natural mixed field-challenge of nematode parasites and TLR4 variation. *Vet Parasitol* 218:5–9. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.01.004>
- Lindgren ET, Polfeldt T (2000) Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting European tick *Ixodes ricinus*. *Environ Health Perspect* 108:119–123. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108119>
- Lindquist L, Vapalahti O (2008) Tick-borne encephalitis. *Lancet* 371:1861–1871. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60800-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60800-4)
- Lindström A, Jaenson TGT (2003) Distribution of the Common Tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), in Different Vegetation Types in Southern Sweden. *J Med Entomol* 40:375–378. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-40.4.375>
- Linnell J, Andersen R (1998a) Territorial fidelity and tenure in roe deer bucks. <https://doi.org/10.4098/AT.ARCH.98-5>

- Linnell J, Andersen R (1998b) Timing and synchrony of birth in a hider species, the roe deer *Capreolus capreolus*. *J Zool* 244:497–504. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1998.tb00055.x>
- Linnell J, Andersen R (1995) Site tenacity in roe deer: Short term effects of logging. *Wildl Soc Bull* 23:31–36
- Linnell J, Nijhuis PGT, Teurlings I, Andersen R (1999) Selection of bed-sites by roe deer *Capreolus capreolus* fawns in a boreal landscape. *Wild Biol* 5:225-231. <https://doi.org/10.2981/wlb.1999.027>
- Linnell J, Cretois B, Nilsen EB, et al (2020) The challenges and opportunities of coexisting with wild ungulates in the human-dominated landscapes of Europe's Anthropocene. *Biol Conserv* 244:108500. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108500>
- Lippert F (2020) Chapter 3: Macroelements: Ca, Na, K, P, Cl. The Impact of Nutrition and Diet on Oral Health 28:22–31. <https://doi.org/10.1159/000455369>
- Loison A, Bison M (2022) Les ongulés sauvages en France métropolitaine : fonctions écologiques, services écosystémiques et contraintes. Efese - Ministère de la Transition écologique et de la Cohésion des territoires
- Lorenzini R, Hewison M, Gaillard J-M, et al (2020) European roe deer *Capreolus capreolus* (Linnaeus, 1758). In: Hackländer K, Zachos FE (eds) *Handbook of the Mammals of Europe*. Springer International Publishing, Cham, pp 1–32
- Ludolph C, Kierdorf U, Kierdorf H (2021) Lead concentrations in antlers of European roe deer (*Capreolus capreolus*) from an agricultural area in Northern Germany over a 119-year period—a historical biomonitoring study. *Environ Sci Pollut Res* 28:56069–56078. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14538-6>
- Luhken G, Gauly M, Kaufmann F, Erhardt G (2011) Association study in naturally infected helminth layers shows evidence for influence of interferon-gamma gene variants on *Ascaridia galli* worm burden. *Vet Res* 42:84. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-84>
- MacLeod J (1935) *Ixodes ricinus* in relation to its physical environment: II. The factors governing survival and activity. *Parasitol* 27:123–144. <https://doi.org/10.1017/S0031182000015006>
- Macleod J (1936) *Ixodes ricinus* in relation to its physical environment: IV. An analysis of the ecological complexes controlling distribution and activities. *Parasitol* 28:295–319. <https://doi.org/10.1017/S0031182000022502>
- Malcolm JR, Valenta K, Lehman SM (2017) Edge effects in tropical dry forests of Madagascar: additivity or synergy? *Landscape Ecol* 32:327–341. <https://doi.org/10.1007/s10980-016-0453-z>
- Manly BFJ (2007) *Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in biology*, 3rd edition. Chapman and Hall/CRC, Boca Raton, FL
- Mann HB, Whitney DR (1947) On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other. *Ann Math Stat* 18:50–60
- Marcogliese DJ, Pietrock M (2011) Combined effects of parasites and contaminants on animal health: parasites do matter. *Trends Parasitol* 27:123–130. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.11.002>

- Martin C, Pastoret P-P, Brochier B, et al (2011) A survey of the transmission of infectious diseases/infections between wild and domestic ungulates in Europe. *Vet Res* 42:70. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-70>
- Martin LB (2009) Stress and immunity in wild vertebrates: Timing is everything. *Gen Comp Endocrinol* 163:70–76. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.008>
- Maublanc ML, Cibien C, Gaillard J-M, et al (1991) Le chevreuil. *Revue d'Ecologie, Terre et Vie* 155-183.
- Maublanc M-L, Bideau E, Picot D, et al (2009) Demographic crash associated with high parasite load in an experimental roe deer (*Capreolus capreolus*) population. *Eur J Wildl Res* 55:621–625. <https://doi.org/10.1007/s10344-009-0298-8>
- McCarty JP, Winkler DW (1999) Foraging ecology and diet selectivity of tree swallows feeding nestlings. *The Condor* 101:246-254. <https://doi.org/10.2307/1369987>
- McClure SJ (2008) How minerals may influence the development and expression of immunity to endoparasites in livestock. *Parasite Immunol* 30:89–100. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2007.00996.x>
- McClure SJ (2003) Mineral nutrition and its effects on gastrointestinal immune function of sheep. *Aust J Exp Agric* 43:1455–1461. <https://doi.org/10.1071/ea03002>
- McClure SJ, McClure TJ, Emery DL (1999) Effects of molybdenum intake on primary infection and subsequent challenge by the nematode parasite *Trichostrongylus colubriformis* in weaned Merino lambs. *Res Vet Sci* 67:17–22. <https://doi.org/10.1053/rvsc.1998.0271>
- McDowell LR (1996) Feeding minerals to cattle on pasture. *Anim Feed Sci Technol* 60:247–271. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(96\)00983-2](https://doi.org/10.1016/0377-8401(96)00983-2)
- Medlock JM, Hansford KM, Bormane A, et al (2013) Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasites Vectors* 6:1. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-1>
- Meeh K (1879) Oberflächenmessungen des menschlichen Körpers. *Zeitschrift für biologie* 15:425–485
- Mejlon HA, Jaenson TGT (1997) Questing behaviour of *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarol* 21:747–754. <https://doi.org/10.1023/A:1018421105231>
- Mihalca A, Sándor A (2013) The role of rodents in the ecology of *Ixodes ricinus* and associated pathogens in Central and Eastern Europe. *Front Cell Infect Microbiol* 3:56. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00056>
- Mikulewicz M, Chojnacka K, Gedrange T, Górecki H (2013) Reference values of elements in human hair: A systematic review. *Environ Toxicol Pharmacol* 36:1077–1086. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2013.09.012>
- Militzer N, Bartel A, Clausen P-H, et al (2021) Artificial feeding of all consecutive life stages of *Ixodes ricinus*. *Vaccines* 9:385. <https://doi.org/10.3390/vaccines9040385>
- Milne A (1950) The ecology of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L.: Microhabitat economy of the adult tick. *Parasitol* 40:14–34. <https://doi.org/10.1017/S0031182000017820>

- Miroshnikov SA, Skalny AV, Zavyalov OA, et al (2020) The reference values of hair content of trace elements in dairy cows of Holstein breed. *Biol Trace Elem Res* 194:145–151. <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01768-6>
- Mitchell SC (2005) How useful is the concept of habitat ?–A critique. *Oikos* 110:634–638. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.13810.x>
- Mitre E, Nutman TB (2006) Basophils, basophilia and helminth infections. *Parasites and Allergy* 90:141–156. <https://doi.org/10.1159/000088886>
- Moore J (2002) *Parasites and the behavior of animals*. Oxford University Press, USA
- Mooring MS, McKenzie AA, Hart BL (1996) Grooming in impala: Role of oral grooming in removal of ticks and effects of ticks in increasing grooming rate. *Physiol Behav* 59:965–971. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(95\)02186-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(95)02186-8)
- Morel P (1984) *Les parasitoses humaines d'origine animale*, par J. Euzéby, Paris (éd. Flammarion), 1984. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France* 137:302–303
- Morelle K, Fattebert J, Mengal C, Lejeune P (2016) Invading or recolonizing? Patterns and drivers of wild boar population expansion into Belgian agroecosystems. *Agri Ecosyst Environ* 222:267–275. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.02.016>
- Morens DM, Folkers GK, Fauci AS (2008) Emerging infections: a perpetual challenge. *Lancet Infect Dis* 8:710–719. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70256-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70256-1)
- Morgan ER, Dijk J (2012) Climate and the epidemiology of gastrointestinal nematode infections of sheep in Europe. *Vet Parasitol* 189:8–14. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.028>
- Morrissey C, Fritsch C, Fremlin K, et al (2023) Advancing exposure assessment approaches to improve wildlife risk assessment. *IEAM n/a*: <https://doi.org/10.1002/ieam.4743>
- Morrison ML (2001) A proposed research emphasis to overcome the limits of wildlife-habitat relationship studies. *J Wild Manag* 65:613–623.
- Morrison ML, Marcot B, Mannan W (2012) *Wildlife-Habitat relationships: concepts and applications*. Island Press
- Mosbacher J, Desforges J-P, Michelsen A, et al (2022) Hair mineral levels as indicator of wildlife demographics?–a pilot study of muskoxen. *Polar Res* 41:8543. <https://doi.org/10.33265/polar.v41.8543>
- Mosser A, Fryxell JM, Eberly L, Packer C (2009) Serengeti real estate : density vs. fitness-based indicators of lion habitat quality. *Ecol Lett* 12:1050–1060.
- Moutou F (2014) The second eradication: Rinderpest. *Bull Soc Pathol Exot* 107:137–138. <https://doi.org/10.1007/s13149-014-0336-y>
- Murdock CC, Evans MV, McClanahan TD, et al (2017) Fine-scale variation in microclimate across an urban landscape shapes variation in mosquito population dynamics and the potential of *Aedes albopictus* to transmit arboviral disease. *PLoS Negl Trop Dis* 11:e0005640. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005640>

- Murray KA, Olivero J, Roche B, et al (2018) Pathogeography: leveraging the biogeography of human infectious diseases for global health management. *Ecography* 41:1411–1427. <https://doi.org/10.1111/ecog.03625>
- Musella V, Catelan D, Rinaldi L, et al (2011) Covariate selection in multivariate spatial analysis of ovine parasitic infection. *Prev Vet Med* 99:69–77. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.11.012>
- Myers WL, Foreyt WJ, Talcott PA, et al (2015) Serologic, trace element, and fecal parasite survey of free-ranging, female mule deer (*Odocoileus hemionus*) in eastern Washington, USA. *J Wild Dis* 51:125–136. <https://doi.org/10.7589/2014-05-119>
- Mysterud A, Easterday WR, Stigum VM, et al (2016) Contrasting emergence of Lyme disease across ecosystems. *Nat Commun* 7:11882. <https://doi.org/10.1038/ncomms11882>
- Naef-Daenzer L, Naef-Daenzer B, Nager RG (2000) Prey selection and foraging performance of breeding Great Tits *Parus major* in relation to food availability. *J Avian Biol* 31:206–214. <https://doi.org/10.1034/j.1600-048X.2000.310212>
- Nageeb Rashed MN, Soltan ME (2005) Animal hair as biological indicator for heavy metal pollution in urban and rural areas. *Environ Monit Assess* 110:41–53. <https://doi.org/10.1007/s10661-005-6288-8>
- Nathan R, Getz WM, Revilla E, et al (2008) A movement ecology paradigm for unifying organismal movement research. *PNAS* 105:19052–19059. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800375105>
- Navarro-Castilla Á, Barja I, Olea PP, et al (2014) Are degraded habitats from agricultural crops associated with elevated faecal glucocorticoids in a wild population of common vole (*Microtus arvalis*)? *Mamm Biol* 79:36–43. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2013.08.004>
- Navarro-Gonzalez N, Verheyden H, Hoste H, et al (2011) Diet quality and immunocompetence influence parasite load of roe deer in a fragmented landscape. *Eur J Wildl Res* 57:639–645. <https://doi.org/10.1007/s10344-010-0474-x>
- Nelson CR, Halpern CB (2005) Edge-related responses of understory plants to aggregated retention harvest in the pacific northwest. *Ecol Appl* 15:196–209. <https://doi.org/10.1890/03-6002>
- Nelson SM, Shay AE, James JL, et al (2016) Selenoprotein expression in macrophages is critical for optimal clearance of parasitic helminth *Nippostrongylus brasiliensis*. *J Biol Chem* 291:2787–2798. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.684738>
- Nielsen MK (2022) Parasite faecal egg counts in equine veterinary practice. *Equine Vet Educ* 34:584–591. <https://doi.org/10.1111/eve.13548>
- Nuttall PA (2019) Tick saliva and its role in pathogen transmission. *Wien Klin Wochenschr*. <https://doi.org/10.1007/s00508-019-1500-y>
- Obata-Ninomiya K, Domeier PP, Ziegler SF (2020) Basophils and eosinophils in nematode infections. *Front Immunol* 11:583824. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.583824>
- O'Connor LJ, Walkden-Brown SW, Kahn LP (2006) Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Vet Parasitol* 142:1–15. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.035>

- Ogden NH, Nuttall PA, Randolph SE (1997) Natural Lyme disease cycles maintained via sheep by co-feeding ticks. *Parasitol* 115 (Pt 6):591–599. <https://doi.org/10.1017/s0031182097001868>
- Ogle D, Doll J, Wheeler P, Dinno A (2022) Simple Fisheries Stock Assessment Methods. <https://CRAN.R-project.org/package=FSA>
- O’Hara TM, Carroll G, Barboza P, et al (2001) Mineral and heavy metal status as related to a mortality event and poor recruitment in a moose population in Alaska. *J Wild Dis* 37:509–522. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-37.3.509>
- Ohlendorf HM (1993) Marine birds and trace elements in the temperate North Pacific. 232–240
- Oja R, Velström K, Moks E, et al (2017) How does supplementary feeding affect endoparasite infection in wild boar? *Parasitol Res* 116:2131–2137. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5512-0>
- Ojala K, Julkunen-Tiitto R, Lindström L, Mappes J (2005) Diet affects the immune defence and life-history traits of an Arctiid moth *Parasemia plantaginis*. *Evol Ecol Res* 7:1153–1170
- One Health High-Level Expert Panel (OHHLEP), Adisasmito WB, Almuhairi S, et al (2022) One Health: A new definition for a sustainable and healthy future. *PLoS Pathog* 18:e1010537. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010537>
- Ostfeld RS, Glass GE, Keesing F (2005) Spatial epidemiology: an emerging (or re-emerging) discipline. *Trends Ecol Evol* 20:328–336. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.03.009>
- Ostfeld RS, Holt RD (2004) Are predators good for your health? Evaluating evidence for top-down regulation of zoonotic disease reservoirs. *Front Ecol Environ* 2:13–20. [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2004\)002\[0013:APGFYH\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2004)002[0013:APGFYH]2.0.CO;2)
- Ostfeld RS, Keesing F (2000) Biodiversity series: The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. *Can J Zool* 78:2061–2078. <https://doi.org/10.1139/z00-172>
- Pacyna A, Kozirowska-Makuch K, Chmiel S, et al (2018) Svalbard reindeer as an indicator of ecosystem changes in the Arctic terrestrial ecosystem. *Chemosphere* 203:.. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.158>
- Park SY, Birkhold SG, Kubena LF, et al (2004) Review on the role of dietary zinc in poultry nutrition, immunity, and reproduction. *Biol Trace Elem Res* 101:147-163. <https://doi.org/10.1385/bter:101:2:147>
- Park BB, Yanai RD, Fahey TJ, et al (2008) Fine root dynamics and forest production across a calcium gradient in Northern hardwood and conifer ecosystems. *Ecosystems* 11:325–341. <https://doi.org/10.1007/s10021-008-9126-3>
- Parkins JJ, Holmes PH (1989) Effects of gastrointestinal helminth parasites on ruminant nutrition. *Nutr Res Rev* 2:227–246. <https://doi.org/10.1079/NRR19890016>
- Parkinson DE, Ellis RP, Lewis LD (1982) Colostrum deficiency in mule deer fawns: identification, treatment and influence on neonatal mortality. *J Wild Dis* 18:17–28. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-18.1.17>

- Parola P, Raoult D (2001) Tick-borne bacterial diseases emerging in Europe. *Clin Microbiol Infect* 7:80–83. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2001.00200.x>
- Patkowska-Sokoła B, Dobrzański Z, Osman K, et al (2009) The content of chosen chemical elements in wool of sheep of different origins and breeds. *Arch Anim Breed* 52:410–418. <https://doi.org/10.5194/aab-52-410-2009>
- Pato FJ, Vázquez L, Díez-Baños N, et al (2013) Gastrointestinal nematode infections in roe deer (*Capreolus capreolus*) from the NW of the Iberian Peninsula: assessment of some risk factors. *Vet Parasitol* 196:136–142. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.01.027>
- Patra RC, Swarup D, Sharma MC, Naresh R (2006) Trace mineral profile in blood and hair from cattle environmentally exposed to lead and cadmium around different industrial units. *J Vet Med* 53:511–517. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2006.00868.x>
- Patz JA, Daszak P, Tabor GM, et al (2004) Unhealthy landscapes: Policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environ Health Perspect* 112:1092–1098. <https://doi.org/10.1289/ehp.6877>
- Paul SS, Dey A (2015) Nutrition in health and immune function of ruminants. *Indian J Anim Sci* 85:103–112.
- Peakall D, Burger J (2003) Methodologies for assessing exposure to metals: speciation, bioavailability of metals, and ecological host factors. *Ecotox Environ Saf* 56:110–121. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(03\)00055-1](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00055-1)
- Pedersen AB, Babayan SA (2011) Wild immunology. *Mol Ecol* 20:872–880. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04938.x>
- Pélabon C, van Breukelen L (1998) Asymmetry in antler size in roe deer (*Capreolus capreolus*): an index of individual and population conditions. *Oecologia* 116:1–8. <https://doi.org/10.1007/s004420050557>
- Pellerin M (2005) Utilisation et sélection de l’habitat chez le chevreuil à différentes échelles spatio-temporelles. These de doctorat, Poitiers
- Pellerin M, Calenge C, Saïd S, et al (2010) Habitat use by female western roe deer (*Capreolus capreolus*): influence of resource availability on habitat selection in two contrasting years. *Can J Zool* 88:1052–1062. <https://doi.org/10.1139/Z10-070>
- Pelletier F, Page KA, Ostiguy T, Festa-Bianchet M (2005) Fecal counts of lungworm larvae and reproductive effort in bighorn sheep, *Ovis canadensis*. *Oikos* 110:473–480. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.14120.x>
- Perret J-L, Guigoz E, Rais O, Gern L (2000) Influence of saturation deficit and temperature on Ixodes ricinus tick questing activity in a Lyme borreliosis-endemic area (Switzerland). *Parasitol Res* 86:554–557. <https://doi.org/10.1007/s004360000209>
- Perrin N, Sibly RM (1993) Dynamic models of energy allocation and investment. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 24:379–410. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.24.110193.002115>

- Pettorelli N, Dray S, Gaillard J-M, et al (2003) Spatial variation in springtime food resources influences the winter body mass of roe deer fawns. *Oecologia* 137:363–369. <https://doi.org/10.1007/s00442-003-1364-7>
- Pettorelli N, Gaillard J-M, Duncan P, et al (2001) Population density and small-scale variation in habitat quality affect phenotypic quality in roe deer. *Oecologia* 128:400–405. <https://doi.org/10.1007/s004420100682>
- Pettorelli N, Gaillard J-M, Mysterud A, et al (2006) Using a proxy of plant productivity (NDVI) to find key periods for animal performance: the case of roe deer. *Oikos* 112:565–572. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2006.14447.x>
- Pettorelli N, Gaillard J-M, Van Laere G, et al (2002) Variations in adult body mass in roe deer: the effects of population density at birth and of habitat quality. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 269:747–753. <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1791>
- Pettorelli N, Gaillard J-M, Yoccoz NG, et al (2005) The response of fawn survival to changes in habitat quality varies according to cohort quality and spatial scale. *J Anim Ecology* 74:972–981. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2005.00988.x>
- Pfäffle M, Petney T, Elgas M, et al (2009) Tick-induced blood loss leads to regenerative anaemia in the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *Parasitol* 136:443–452. <https://doi.org/10.1017/S0031182009005514>
- Phoebus I, Boulanger J, Eiken HG, et al (2020) Comparison of grizzly bear hair-snag and scat sampling along roads to inform wildlife population monitoring. *Wild Biol* 2020:wlb.00697. <https://doi.org/10.2981/wlb.00697>
- Pichon B, Mousson L, Figureau C, et al (1999) Density of deer in relation to the prevalence of *Borrelia burgdorferi* s.l. in *Ixodes ricinus* nymphs in Rambouillet forest, France. *Exp Appl Acarol* 23:267–275. <https://doi.org/10.1023/A:1006023115617>
- Pilosof S, Morand S, Krasnov BR, Nunn CL (2015) Potential parasite transmission in multi-host networks based on parasite sharing. *PLoS One* 10:e0117909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117909>
- Piper WH (2011) Making habitat selection more “familiar”: a review. *Behav Ecol Sociobiol* 65:1329–1351. <https://doi.org/10.1007/s00265-011-1195-1>
- Poesel A, Nelson DA, Gibbs HL, Olesik JW (2008) Use of trace element analysis of feathers as a tool to track fine-scale dispersal in birds. *Behav Ecol Sociobiol* 63:153–158. <https://doi.org/10.1007/s00265-008-0644-y>
- Poirotte C, Massol F, Herbert A, et al (2017) Mandrills use olfaction to socially avoid parasitized conspecifics. *Sci Adv* 3:e1601721. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1601721>
- Poulin R (2007) Are there general laws in parasite ecology?. *Parasitol* 134:763–776. <https://doi.org/10.1017/S0031182006002150>
- Pokorny B (2000) Roe deer *Capreolus capreolus* as an accumulative bioindicator of heavy metals in Slovenia. *Web Ecol* 1:54–62. <https://doi.org/10.5194/we-1-54-2000>

- Pokorny B, Ribarič-Lasnik C (2002) Seasonal variability of mercury and heavy metals in roe deer (*Capreolus capreolus*) kidney. *Environ Pollut* 117:35–46. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00161-0](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00161-0)
- Poppenga RH, Ramsey J, Gonzales BJ, Johnson CK (2012) Reference intervals for mineral concentrations in whole blood and serum of bighorn sheep (*Ovis canadensis*) in California. *J VET Diagn Invest* 24:531–538. <https://doi.org/10.1177/1040638712441936>
- Powolny T, Scheifler R, Raoul F, et al (2019) Is blood a reliable indicator of trace metal concentrations in organs of small mammals?. *Chemosphere* 217:320–328.
- Powolny T, Scheifler R, Raoul F, et al (2023) Effects of chronic exposure to toxic metals on haematological parameters in free-ranging small mammals. *Environ Pollut* 317:120675. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120675>
- Prohaska JR, Lukasewycz OA (1981) Copper deficiency suppresses the immune response of mice. *Science* 213:559–561. <https://doi.org/10.1126/science.7244654>
- Putman R, Apollonio M, Andersen R (2011) Ungulate management in Europe: problems and practices. Cambridge University Press
- Quintana-Seguí P, Moigne PL, Durand Y, et al (2008) Analysis of near-surface atmospheric variables: validation of the SAFRAN analysis over france. *J Appl Meteorol Climatol* 47:92–107. <https://doi.org/10.1175/2007JAMC1636.1>
- R Core Team (2021) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria URL <https://wwwR-project.org/>
- Råberg L, Graham AL, Read AF (2008) Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364:37–49. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0184>
- Rabinowitz PM, Scotch ML, Conti LA (2010) Animals as sentinels: Using comparative medicine to move beyond the laboratory. *ILAR Journal* 51:262–267. <https://doi.org/10.1093/ilar.51.3.262>
- Raikwar M, Puneet K, Singh M (2008) Toxic effect of heavy metals in livestock health. *Vet World* 1:1. <https://doi.org/10.5455/vetworld.2008.28-30>
- Raileanu C, Moutailler S, Pavel I, et al (2017) *Borrelia* diversity and co-infection with other tick borne pathogens in ticks. *Front Cell Infect Microbiol* 7. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00036>
- Ramana K (2012) Intestinal parasitic infections: An overview. *Ann Trop Med Public Health* 5:279–279.
- Randolph SE, Green RM, Hoodless AN, Peacey MF (2002) An empirical quantitative framework for the seasonal population dynamics of the tick *Ixodes ricinus*. *Int J Parasitol* 32:979–989. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(02\)00030-9](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(02)00030-9)
- Randolph SE, Storey K (1999) Impact of microclimate on immature tick-rodent host interactions (acarid: ixodidae): implications for parasite transmission. *J Med Entomol* 36:741–748. <https://doi.org/10.1093/jmedent/36.6.741>
- Ranger J (2018) Forest soils: characteristics and sustainability. In: *Soils as a Key Component of the Critical Zone 1*. John Wiley & Sons, Ltd, pp 163–186.

- Rashed MN, Soltan ME (2005) Animal hair as biological indicator for heavy metal pollution in urban and rural areas. *Environ Monit Assess* 110:41–53. <https://doi.org/10.1007/s10661-005-6288-8>
- Ratliff C, Hartup BK (2019) Serum biochemical analytes and trace elements in juvenile whooping cranes (*Grus americana*). *J Wildl Dis* 55:857–861. <https://doi.org/10.7589/2018-06-160>
- Rauw W (2012) Immune response from a resource allocation perspective. *Front Genet* 3:267.
- Raynaud J-P, William G, Brunault G (1970) Etude de l'efficacité d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le contrôle des infestations parasitaires des bovins, ovins, équins et porcins. *Ann Parasitol Hum Comp* 45:321–342. <https://doi.org/10.1051/parasite/1970453321>
- Raza A, Rand J, Qamar AG, et al (2018) Gastrointestinal parasites in shelter dogs: occurrence, pathology, treatment and risk to shelter workers. *Animals* 8:108. <https://doi.org/10.3390/ani8070108>
- Razeng E, Watson DM (2015) Nutritional composition of the preferred prey of insectivorous birds: popularity reflects quality. *J Avian Biol* 46:89–96. <https://doi.org/10.1111/jav.00475>
- Reis LSL, Pardo PE, Camargos AS, Oba E (2010) Mineral element and heavy metal poisoning in animals. *J Med Med Sci* 1:560–579.
- Relyea RA, Lawrence RK, Demarais S (2000) Home range of desert mule deer: testing the body-size and habitat-productivity hypotheses. *J Wildl Manag* 64:146–153. <https://doi.org/10.2307/3802984>
- Rioux È, Pelletier F, Mosbacher JB, et al (2022) Links between individual performance, trace elements and stable isotopes in an endangered caribou population. *Glob Ecol Conserv* 38:e02234. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2022.e02234>
- Rivera MT, De Souza AP, Araujo-Jorge TC, et al (2003) Trace elements, innate immune response and parasites. *Clin Chem Lab Med* 41:1020–1025. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2003.156>
- Romero LM, Wingfield JC (2015) *Tempests, poxes, predators, and people: stress in wild animals and how they cope*. Oxford University Press
- Rose JH (1961) Some observations on the free-living stages of *Ostertagia ostertagi*, a stomach worm of cattle. *Parasitol* 51:295–307. <https://doi.org/10.1017/S0031182000070542>
- Rosendahl S, Anturaniemi J, Vuori KA, et al (2022) Diet and dog characteristics affect major and trace elements in hair and blood of healthy dogs. *Vet Res Commun* 46:261–275. <https://doi.org/10.1007/s11259-021-09854-8>
- Rossanigo CE, Gruner L (1995) Moisture and temperature requirements in faeces for the development of free-living stages of gastrointestinal nematodes of sheep, cattle and deer. *J Helminthol* 69:357–362. <https://doi.org/10.1017/S0022149X00014954>
- Roug A, Swift PK, Gerstenberg G, et al (2015) Comparison of trace mineral concentrations in tail hair, body hair, blood, and liver of mule deer (*Odocoileus hemionus*) in California. *J VET Diagn Invest* 27:295–305. <https://doi.org/10.1177/1040638715577826>
- Ruiz-Fons F, Gilbert L (2010) The role of deer as vehicles to move ticks, *Ixodes ricinus*, between contrasting habitats. *Int J Parasitol* 40:1013–1020. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.02.006>

- Rulison EL, Kuczaj I, Pang G, et al (2013) Flagging versus dragging as sampling methods for nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Vector Ecol* 38:163–167. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2013.12022.x>
- Ryser-Degiorgis M-P (2013) Wildlife health investigations: needs, challenges and recommendations. *BMC Vet Res* 9:223. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-223>
- Sach F, Yon L, Henley MD, et al (2020) Spatial geochemistry influences the home range of elephants. *Sci Total Environ* 729:139066. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139066>
- SAGIR, Office Français de la Biodiversité Le réseau SAGIR. <https://www.ofb.gouv.fr/le-reseau-sagir>. Accessed 7 Sep 2023
- Saïd S, Gaillard J-M, Duncan P, et al (2005) Ecological correlates of home-range size in spring–summer for female roe deer (*Capreolus capreolus*) in a deciduous woodland. *J Zool* 267:301–308. <https://doi.org/10.1017/S0952836905007454>
- Saïd S, Gaillard J-M, Widmer O, et al (2009) What shapes intra-specific variation in home range size? A case study of female roe deer. *Oikos* 118:1299–1306. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17346.x>
- Saïd S, Servanty S (2005) The influence of landscape structure on female roe deer home-range size. *Landscape Ecol* 20:1003–1012. <https://doi.org/10.1007/s10980-005-7518-8>
- Samaraweera M, Chandrajith R, Jayasena N (2022) Birds of different feeding habits as biomonitors for trace elements in a wetland of the Central Asian Flyway, Sri Lanka. *Chemosphere* 306:135602. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135602>
- Samartín S, Chandra RK (2001) Obesity, overnutrition and the immune system. *Nutr Res* 21:243-262. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(00\)00255-4](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(00)00255-4)
- Sanchez CA, Becker DJ, Teitelbaum CS, et al (2018) On the relationship between body condition and parasite infection in wildlife: a review and meta-analysis. *Ecol Lett* 21:1869-1884. <https://doi.org/10.1111/ele.13160>
- Sandstead HH (1995) Requirements and toxicity of essential trace elements, illustrated by zinc and copper. *Am J Clin Nutr* 61:621S-624S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/61.3.621S>
- Santín-Durán M, Alunda JM, Hoberg EP, Concepción de la Fuente (2004) Abomasal parasites in wild sympatric cervids, red deer, *Cervus elaphus* and fallow deer, *Dama dama*, from three localities across central and western Spain: relationship to host density and park management. *J Parasitol* 90:1378–1386. <https://doi.org/10.1645/GE-3376>
- Santos MC, Silva BF, Amarante AFT (2012) Environmental factors influencing the transmission of *Haemonchus contortus*. *Vet Parasitol* 188:277–284. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.056>
- Schmidt KA, Ostfeld RS (2001) Biodiversity and the dilution effect in disease ecology. *Ecology* 82:609-619.
- Schulz M, Mahling M, Pfister K (2014) Abundance and seasonal activity of questing *Ixodes ricinus* ticks in their natural habitats in southern Germany in 2011. *J Vect Ecol* 39:56–65. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2014.12070.x>

- Scott ME, Koski KG (2000) Zinc deficiency impairs immune responses against parasitic nematode infections at intestinal and systemic sites. *J Nutr* 130:1412S-1420S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1412S>
- Scrimshaw NS, SanGiovanni JP (1997) Synergism of nutrition, infection, and immunity: an overview. *Am J Clin Nutr* 66:464S-477S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/66.2.464S>
- Segonds-Pichon A, Ferté H, Gaillard J-M, et al (2000) Nematode infestation and body condition in European roe deer (*Capreolus capreolus*). *Game Wildl Sci* 17:241-258.
- Setchell JM, Smith T, Wickings EJ, Knapp LA (2010) Stress, social behaviour, and secondary sexual traits in a male primate. *Horm and Behavior* 58:720–728. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.07.004>
- Shahid M, Natasha N, Dumat C, et al (2019) Ecotoxicology of heavy metal(loid) enriched particulate matter: Foliar accumulation by plants and health impacts. *Rev Environ Contam*. https://doi.org/10.1007/398_2019_38
- Shanebeck KM, Besson AA, Lagrue C, et al (2022) The energetic costs of sub-lethal helminth parasites in mammals: a meta-analysis. *Biol Rev* 97:1886-1907. <https://doi.org/10.1111/brv.12867>
- Siamba DN, Gatongi PM, Mulambalah CS, et al (2011) Changes in lipids utilisation during moisture and temperature stress of infective (L3) and its implication on the epidemiology of *Haemonchus contortus* in arid and semi arid lands. *Curr Res J Biol* 3:88–94.
- Sibilia J (2007) How to define and to classify inflammatory systemic diseases? *J Rhum* 74:714–725. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2007.07.003>
- Sikes RS, the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists (2016) 2016 Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. *J Mammal* 97:663–688. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyw078>
- Silaghi C, Santos AS, Gomes J, et al (2017) Guidelines for the Direct Detection of *Anaplasma* spp. in Diagnosis and Epidemiological Studies. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 17:12–22. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1960>
- Sordillo LM (2016) Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. *J Dairy Sci* 99:4967–4982. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10354>
- Sorensen A, van Beest FM, Brook RK (2014) Impacts of wildlife baiting and supplemental feeding on infectious disease transmission risk: A synthesis of knowledge. *Prev Vet Med* 113:356–363. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.11.010>
- Spallholz JE, Boylan LM, Larsen HS (1990) Advances in understanding selenium's role in the immune system. *Ann N Y Acad Sci* 587:123–139. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1990.tb00140.x>
- Spearman C (1906) Footrule for measuring correlation. *Br J Psychol* 2:89
- Speed JDM, Austrheim G, Kolstad AL, Solberg EJ (2019) Long-term changes in northern large-herbivore communities reveal differential rewilding rates in space and time. *PLoS One* 14:e0217166. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217166>

- Spurrier MF, Boyce M, Manly B (1991) Effects of parasites on mate choice by captive sage grouse. *Bird-parasite interactions* 389–398
- Squadrone S, Brizio P, Stella C, et al (2020) Distribution and bioaccumulation of trace elements and lanthanides in apples from Northwestern Italy. *J Trace Elem Med Biol* 62:126646. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126646>
- Strandgaard H (1997) Displacement of pregnancy in roe deer *Capreolus capreolus*. *Wild Biol* 3:53–55. <https://doi.org/10.2981/wlb.1997.001>
- Stear MJ, Bishop SC, Henderson NG, Scott I (2003) A key mechanism of pathogenesis in sheep infected with the nematode *Teladorsagia circumcincta*. *Anim Health Res Rev* 4:45–52. <https://doi.org/10.1079/AHRR200351>
- Stephen C (2014) Toward a modernized definition of wildlife health. *J Wildl Dis* 50:427–430. <https://doi.org/10.7589/2013-11-305>
- Stien A, Irvine RJ, Ropstad E, et al (2002) The impact of gastrointestinal nematodes on wild reindeer: experimental and cross-sectional studies. *J Anim Ecol* 71:937–945. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2002.00659.x>
- Strain S a. J, Bishop SC, Henderson NG, et al (2002) The genetic control of IgA activity against *Teladorsagia circumcincta* and its association with parasite resistance in naturally infected sheep. *Parasitol* 124:545–552. <https://doi.org/10.1017/S0031182002001531>
- Strandin T, Babayan SA, Forbes KM (2018) Reviewing the effects of food provisioning on wildlife immunity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 373:20170088. <https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0088>
- Sun H-J, Rathinasabapathi B, Wu B, et al (2014) Arsenic and selenium toxicity and their interactive effects in humans. *Environ Int* 69:148–158. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.04.019>
- Suttle NF, Jones DG (1989) Recent developments in trace element metabolism and function: trace elements, disease resistance and immune responsiveness in ruminants. *J Nutr* 119:1055–1061. <https://doi.org/10.1093/jn/119.7.1055>
- Sykes AR, Coop RL (2001) Interaction between nutrition and gastrointestinal parasitism in sheep. *N Z Vet J* 49:222–226. <https://doi.org/10.1080/00480169.2001.36236>
- Tack W, Madder M, Baeten L, et al (2012) The abundance of *Ixodes ricinus* ticks depends on tree species composition and shrub cover. *Parasitol* 139:1273–1281. <https://doi.org/10.1017/S0031182012000625>
- Takako N, Itai T, Kawaguchi M, et al (2012) Applicability of human hair as a bioindicator for trace elements exposure. *Interdiscip Environ Rev* 6:73–77
- Tataruch F, Kierdorf H (2003) Chapter 20 Mammals as biomonitors. In: Markert BA, Breure AM, Zechmeister HG (eds) *Trace Met Other Contam Environ*. Elsevier, pp 737–772. [https://doi.org/10.1016/S0927-5212\(03\)80150-9](https://doi.org/10.1016/S0927-5212(03)80150-9)
- Taylor HM, Karlin S (1998) *An introduction to stochastic modeling*, 3rd ed. Academic Press, San Diego

- Taylor MA, Coop RL, Wall RL (2015) *Veterinary parasitology*. John Wiley & Sons
- Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ (2012) Heavy metal toxicity and the environment. In: Luch A (ed) *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*. Springer Basel, Basel, pp 133–164. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6
- Tegler B, Sharp M, Johnson MA (2001) Ecological monitoring and assessment network's proposed core monitoring variables: an early warning of environmental change. *Environ Monit Assess* 67:29–55. <https://doi.org/10.1023/A:1006479516184>
- Tête N, Afonso E, Crini N, et al (2014) Hair as a noninvasive tool for risk assessment: Do the concentrations of cadmium and lead in the hair of wood mice (*Apodemus sylvaticus*) reflect internal concentrations? *Ecotoxicol Environ Saf* 108:233–241. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.07.010>
- Thioulouse J, Dray S, Dufour A-B, et al (2018) *Multivariate analysis of ecological data with ade4*. Springer
- Thomas F, Guégan F, Renaud, François (2012) *Ecologie et évolution des systèmes parasités, de boeck*
- Thorrold SR, Shuttleworth S (2000) In situ analysis of trace elements and isotope ratios in fish otoliths using laser ablation sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. *Can J Fish Aquat Sci* 57:1232–1242. <https://doi.org/10.1139/f00-054>
- Thrall PH, Hochberg ME, Burdon JJ, Bever JD (2007) Coevolution of symbiotic mutualists and parasites in a community context. *Trends Ecol Evol* 22:120–126. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.007>
- Thrusfield M (2018) *Veterinary epidemiology*. John Wiley & Sons
- Tobin DJ (2008) Human hair pigmentation – biological aspects. *Int J Cosmet Sci* 30:233–257. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2008.00456.x>
- Tomasevic I, Novakovic S, Solowiej B, et al (2018) Consumers' perceptions, attitudes and perceived quality of game meat in ten European countries. *Meat Sci* 142:5–13. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.016>
- Tompkins DM, Dobson AP, Arneberg P, et al (2001) Parasites and host population dynamics. In *The Ecology of Wildlife Diseases*, ed P J Hudson, A Rizzoli, B T Grenfell, H Heesterbeek, and A Dobson 45–62
- Tompkins DM, Dunn AM, Smith MJ, Telfer S (2011) Wildlife diseases: from individuals to ecosystems. *J Anim Ecol* 80:19-38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2010.01742.x>
- Tukey JW (1949) One degree of freedom for non-additivity. *Biometrics* 5:232–242. <https://doi.org/10.2307/3001938>
- Turner WC, Getz WM (2010) Seasonal and demographic factors influencing gastrointestinal parasitism in ungulates of Etosha National Park. *J Wild Dis* 46:1108-1119. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.4.1108>
- Tyrnenopoulou P, Boufis PT, Fthenakis GC, Papadopoulos E (2021) Interactions between parasitic infections and reproductive efficiency in horses. *Parasitol* 1:148–157. <https://doi.org/10.3390/parasitologia1030016>

- Underwood E (2012) Trace elements in human and animal nutrition. Elsevier
- USEPA (2000) Guidance for Data Quality Assessment
- Valko M, Morris H, Cronin M (2005a) Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem* 12:1161–1208. <https://doi.org/10.2174/0929867053764635>
- van der Wal R, Irvine J, Stien A, et al (2000) Faecal avoidance and the risk of infection by nematodes in a natural population of reindeer. *Oecologia* 124:19–25. <https://doi.org/10.1007/s004420050020>
- Van Houtert MFJ, Barger IA, Steel JW, et al (1995) Effects of dietary protein intake on responses of young sheep to infection with *Trichostrongylus colubriformis*. *Vet Parasitol* 56 :163-180. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(94\)00668-3](https://doi.org/10.1016/0304-4017(94)00668-3)
- Van Laere, Boutin, Gaillard (1989) Estimation de l'âge chez le chevreuil (*Capreolus capreolus* L.) par l'usure dentaire: Test de fiabilité sur des animaux marqués. *Gibier Faune Sauvage* 6:417–426
- Van Moorter B, Gaillard J-M, McLoughlin PD, et al (2009) Maternal and individual effects in selection of bed sites and their consequences for fawn survival at different spatial scales. *Oecologia* 159:669–678. <https://doi.org/10.1007/s00442-008-1245-1>
- VanderWaal KL, Ezenwa VO (2016) Heterogeneity in pathogen transmission: mechanisms and methodology. *Funct Ecol* 30:1606–1622. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12645>
- Vanpé C, Gaillard J, Kjellander P, et al (2007) Antler size provides an honest signal of male phenotypic quality in roe deer. *Am Nat* 169:481–493. <https://doi.org/10.1086/512046>
- Vázquez M, Calatayud M, Jadán Piedra C, et al (2015) Toxic trace elements at gastrointestinal level. *Food Chem Toxicol* 86:163–175. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.10.006>
- Vidal J-P, Martin E, Franchistéguy L, et al (2010) A 50-year high-resolution atmospheric reanalysis over France with the Safran system. *Int J Climatol* 30:1627–1644. <https://doi.org/10.1002/joc.2003>
- Villa CA, Flint M, Bell I, et al (2017) Trace element reference intervals in the blood of healthy green sea turtles to evaluate exposure of coastal populations. *Environ Pollut* 220:1465–1476. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.085>
- Vor T, Kiffner C, Hagedorn P, et al (2010) Tick burden on European roe deer (*Capreolus capreolus*). *Exp Appl Acarol* 51:405–417. <https://doi.org/10.1007/s10493-010-9337-0>
- Walker JG, Morgan ER (2014) Generalists at the interface: Nematode transmission between wild and domestic ungulates. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 3:242–250. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.08.001>
- Walker JG, Plein M, Morgan ER, Vesik PA (2017) Uncertain links in host–parasite networks: lessons for parasite transmission in a multi-host system. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 372:20160095. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0095>
- Waller PJ (1999) International approaches to the concept of integrated control of nematode parasites of livestock. *Int J Parasitol* 29:155–164. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(98\)00178-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(98)00178-7)

- Wang X, Piao S, Ciais P, et al (2010) Are ecological gradients in seasonal Q10 of soil respiration explained by climate or by vegetation seasonality?. *Soil Biol Biochem* 42:1728-1734. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.06.008>
- Wauters L, Swinnen C, Dhondt AA (1992) Activity budget and foraging behaviour of red squirrels (*Sciurus vulgaris*) in coniferous and deciduous habitats. *J Zool* 227:71–86. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1992.tb04345.x>
- Weinstein SB, Buck JC, Young HS (2018) A landscape of disgust. *Science* 359:1213–1214. <https://doi.org/10.1126/science.aas8694>
- Wells LA, LeRoy R, Ralston SL (1990) Mineral intake and hair analysis of horses in arizona. *J Equine Vet Sci* 10:412–416. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(06\)80134-6](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(06)80134-6)
- Wesołowska W, Wesołowski T (2014) Do Leucochloridium sporocysts manipulate the behaviour of their snail hosts? *J Zool* 292:151–155. <https://doi.org/10.1111/jzo.12094>
- Wickham H, Hester J, Chang W (2020) devtools: tools to make developing r packages easier. R package version 232 <https://CRAN.R-project.org/package=devtools>
- Widmer O, Saïd S, Miroir J, et al (2004) The effects of hurricane Lothar on habitat use of roe deer. *For Ecol Manag* 195:237–242. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.02.021>
- Wieczorek-Dąbrowska M, Tomza-Marciniak A, Pilarczyk B, Balicka-Ramisz A (2013) Roe and red deer as bioindicators of heavy metals contamination in north-western Poland. *Chem Ecol* 29:100–110. <https://doi.org/10.1080/02757540.2012.711322>
- Wikel SK (1999) Tick modulation of host immunity: an important factor in pathogen transmission. *Int J Parasitol* 29:851–859. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(99\)00042-9](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00042-9)
- Wilson K, Bjornstad O, Dobson A, et al (2002) Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes. In: *Ecol Wildl Dis*. pp 6–44
- Wilson RP, McMahon CR (2006) Measuring devices on wild animals: what constitutes acceptable practice? *Front Ecol Environ* 4:147–154. [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2006\)004\[0147:MDOWAW\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2006)004[0147:MDOWAW]2.0.CO;2)
- Woolhouse MEJ, Dye C, Etard J-F, et al (1997) Heterogeneities in the transmission of infectious agents: Implications for the design of control programs. *PNAS* 94:338–342. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.1.338>
- Worms F (2008) La grippe aviaire entre soin et politique. Une catastrophe annoncée ? *Esprit Mars/avril*:20–35. <https://doi.org/10.3917/espri.0803.0020>
- Wyman W (1897) The black plague. *N Am Rev* 164:441–452
- Yan C, Liang L-J, Zheng K-Y, Zhu X-Q (2016) Impact of environmental factors on the emergence, transmission and distribution of *Toxoplasma gondii*. *Parasites Vectors* 9:137. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1432-6>
- Zaffaroni E, Citterio C, Sala M, Lauzi S (1997) Impact of abomasal nematodes on roe deer and chamois body condition in an alpine environment. *Parasitol* 39:313–317

- Žele D, Vengušt G (2013) Biochemical indicators in serum of free-ranging roe deer (*Capreolus capreolus*) in Slovenia. *Acta Vet Brno* 81:377–381. <https://doi.org/10.2754/avb201281040377>
- Zemanova MA (2020) Towards more compassionate wildlife research through the 3Rs principles: moving from invasive to non-invasive methods. *Wild Biol* 2020:wlb.00607. <https://doi.org/10.2981/wlb.00607>
- Zhang Z, Wang Q, Zhang J, et al (2012) Effects of oxidative stress on immunosuppression induced by selenium deficiency in chickens. *Biol Trace Elem Res* 149:352–361. <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9439-0>
- Zintl A, Mulcahy G, Skerrett HE, et al (2003) *Babesia divergens*, a bovine blood parasite of veterinary and zoonotic importance. *Clin Microbiol Rev* 16:622–636. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.4.622-636.2003>
- Zuk M, McKean KA (1996) Sex differences in parasite infections: Patterns and processes. *Int J Parasitol* 26:1009–1024. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(96\)80001-4](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(96)80001-4)
- Zuk M, Stoehr AM (2002) Immune defense and host life history. *Am Nat* 160:S9–S22. <https://doi.org/10.1086/342131>

ANNEXES



Vous trouverez dans les annexes qui suivent des versions plus détaillées des protocoles de captures de chevreuils ([Annexe 1](#)), des données récoltées à l'issue de ces captures ([Annexe 2](#)), des analyses immunologiques ([Annexe 3](#)), des analyses d'éléments minéraux ([Annexe 4](#)) et des analyses coproscopiques ([Annexe 5](#)). Ensuite, vous pourrez observer les cartes d'infestations parasitaires à Chizé évoquées dans la Discussion en [Annexe 6](#). Enfin, d'autres perspectives concernant la génétique et les efforts maternels, deux sources de variabilité du système immunitaire qui n'ont pas été évoquées dans ce manuscrit, seront exposées dans l'[Annexe 7](#).

ANNEXE 1 : Protocole détaillé de capture de chevreuils et de faons

Des captures hivernales de chevreuils sont organisées sur les sites de l'Ain (~5 jours de capture entre janvier et mars, depuis 2019), de Chizé (~10 jours de capture entre janvier et mars, depuis 1978), du Jura (~8 jours de capture entre novembre et janvier, depuis 2018) et de Trois-Fontaines (~10 jours de capture entre décembre et février, depuis 1976). À Chizé et Trois-Fontaines, une capture le matin et une l'après-midi sont organisées, alors que généralement une seule capture a lieu sur les sites du Jura et de l'Ain. Ces captures sont dirigées par l'Office Français de la Biodiversité, en collaboration avec le CNRS et avec la Fédération des chasseurs du Jura pour le Jura et l'Ain. C'est un chantier - terrain scientifique ouvert au public. Ces différents suivis ne pourraient pas exister sans l'aide précieuse de tous les bénévoles qui participent aux différentes captures.

Chaque année, environ 200 chevreuils à Trois-Fontaines, 300 à Chizé, 10 dans la forêt du Jura et 5 dans la forêt de l'Ain sont capturés. Le taux annuel de recapture des chevreuils à Trois-Fontaines et Chizé est d'environ 0,5 (Gaillard et al., 1993). Ce suivi, principalement sur ces deux sites d'études, a permis de générer une base de données regroupant des informations sur l'histoire de vie de centaines d'individus.

Au niveau du protocole, des filets mouvants sont utilisés chaque année entre décembre et mars pour capturer les individus. Plusieurs kms de filets verticaux sont installés tout autour de parcelles forestières afin de former un dispositif fermé. Des personnes ou des meutes de chiens (ce qu'on appelle des rabatteurs) vont alors être placées au sein de ces dispositifs afin de faire bouger les chevreuils pour les pousser directement dans les filets. Plusieurs dizaines de personnes (appelés des capteurs) sont disposés tout autour des filets. Lorsqu'un chevreuil est pris dans un filet, les capteurs vont l'en extraire précautionneusement pour le mettre dans un sabot en bois. Les animaux sont par la suite emmenés dans un lieu où les manipulations (mesures sur l'animal ; voir sections suivantes) et le prélèvement de divers échantillons biologiques (prélèvements de sang, de fèces, de poils) générant des mesures physiologiques et parasitaires, peuvent être réalisés par des personnes qualifiées. Chaque animal est identifié, permettant de le suivre sur plusieurs années s'il est recapturé. Une boucle auriculaire ainsi qu'une puce électronique munies chacune d'un numéro identifiant unique sont attribuées à chaque chevreuil. Les individus d'âge connu sont équipés de colliers plaques (avec un identifiant), de colliers avec un émetteur VHF ou de colliers GPS. Après les manipulations, les chevreuils sont relâchés sur leurs lieux de capture.

Des recherches de faons, planifiées par les techniciens scientifiques avec l'aide de bénévoles, sont également organisées depuis 1985 à Trois-Fontaines et à Chizé, ce qui permet d'obtenir le suivi de nombreux individus depuis leur naissance. Celles-ci se déroulent tous les ans durant la saison de mise-bas (de mi- avril à mi-juin). Pour orienter la recherche des faons et les trouver, différentes techniques sont utilisées et reposent sur la localisation des chevrettes qui ont mis bas récemment ou qui vont mettre bas. Il est possible

d'identifier les éventuelles femelles gestantes à partir de leur morphologie (ventre plus large) par des observations directes régulières, ou parce que l'on connaît la femelle (équipée d'un collier) et on sait par une échographie (Fig. S1) effectuée lors de la capture hivernale si la femelle est gestante.



Figure S1 : Échographie d'une chevrette à Chizé pour évaluer si des fœtus sont présents ou non. © Léa Bariod.

Par la suite, deux méthodes peuvent être utilisées si une femelle gestante est localisée, ou si on suppose qu'une femelle déjà connue (équipée d'un collier) a mis bas à la même période et dans le même secteur. En effet, une chevrette met bas généralement à la même période chaque année. À l'aide de la télémétrie, il est possible de déterminer par triangulation (Loft et al. 1988) la position et les déplacements des chevrettes plusieurs jours d'affilée, afin de voir si leur comportement est différent avec un potentiel faon à nourrir. Un faon ne bouge pas vraiment avant ses 8 jours, donc on peut observer des déplacements de la mère toujours vers une même zone. Par ailleurs, il est également possible de chercher un faon suite à l'observation d'une chevrette potentiellement gestante, et d'imiter le cri du faon pour voir si la chevrette a une réaction. Si la chevrette répond ou si ses déplacements semblent suspects, des recherches sont réalisées par des techniciens et des bénévoles, qui vont parcourir la forêt par transect afin de trouver le faon en question. Entre 20 et 60 faons sont trouvés ainsi chaque année. Ce sont des faons de quelques jours seulement, sur lesquels quelques mesures vont être effectuées (voir section suivante). Ils seront également identifiés à l'aide de boucles auriculaires, avant d'être relâchés. Si cela est possible, la mère du faon est identifiée.

ANNEXE 2 : Données récoltées

Pour chaque individu (faon et adulte), le sexe est déterminé, (chez les mâles : présence d'une touffe de poils entre les pattes arrières, présence des pédicules de bois). L'âge de chaque individu est également évalué. Les chevillards sont facilement identifiés sur la base des incisives de lait et des troisièmes prémolaires distinctives (Flerov 1952), ou parce qu'ils ont été marqués comme nouveau-nés lors des recherches de faons. Si l'individu n'a pas été marqué « faon », et n'a pas les critères de la dentition d'un chevillard (seulement deux prémolaires, grandes incisives), on le catégorise seulement comme un adulte. Chaque individu est pesé, à $\pm 0,5$ kg près, les pattes arrières sont toutes deux mesurées à l'aide d'un guyapon. Pour les mâles d'âge connu, la taille des bois est estimée si ces derniers sont présents, avec un niveau de développement défini : (1) en pousse (velours), (2) bois finis en velours, (3) bois en train de frayer, et (4) bois frayés (durs).

De plus, plusieurs prélèvements sont effectués :

- Sang : pour analyses immunologiques, biochimiques et parasitologiques
- Fèces : pour analyses parasitologiques, du régime alimentaire et du stress (glucocorticoïdes)
- Poils (prélevés au niveau du miroir ; [fig. S2](#)): pour analyses des éléments minéraux
- Cartilage (lors de la pose de la boucle auriculaire) : pour analyses génétiques

Tiques : 1) observation effectuée seulement sur la tête pour les adultes ; sur la tête, derrière l'insertion des pattes pour les adultes), 2) prélèvements pour des analyses sur les pathogènes dont ils sont vecteurs



Figure S2 : Zone de poils blancs (dans le rond rouge) que l'on appelle « miroir » chez le chevreuil. Les poils qui ont été analysés pour évaluer le statut en éléments minéraux proviennent de cette zone. © Paul Bienvenu.

ANNEXE 3 : Protocole détaillé d'analyses immunologiques

Des prélèvements sanguins sont effectués dans la veine jugulaire des chevreuils d'âge connu. On peut prélever jusqu'à 20 ml pour un chevreuil d'au moins 20 kg. Si le chevreuil est plus petit, il faut prélever autant de ml que de kg (par exemple 15 ml pour un chevreuil de 15 kg). Ces échantillons sont ensuite analysés afin d'en tirer différentes informations sur divers paramètres physiologiques : stress oxydatif, stress aigu, télomères, épigénétique, immunocompétence, biochimie. Pour cette thèse, des mesures descriptives et fonctionnelles de l'immunité ont été utilisées : concentrations des éosinophiles, basophiles, bêta- et gamma-globulines dans le sang. Les analyses ont été effectuées au laboratoire de VetAgro-sup, Marcy l'Etoile (France). L'immunité cellulaire innée est tout d'abord évaluée en comptant le nombre total de globules blancs (WBC, en 10^3 cellules/mL). Le nombre de globules blancs est considéré comme un proxy de l'attribution à l'immunité. Cette formule sanguine complète est mesurée par technologie d'impédance, en tenant compte des paramètres des échantillons bovins puisque la taille des cellules sanguines est comparable entre les deux espèces (Ursache et al., 1980) à l'aide d'un automate ABC Vet (Horiba Medical, Montpellier, France). Les globules blancs regroupent cinq types cellulaires morphologiquement distincts : les neutrophiles, les monocytes, les lymphocytes, les éosinophiles et les basophiles. Seuls ces deux derniers types de cellules nous ont intéressés, du fait de leur rôle clé contre les parasites (Karasuyama et al., 2011 ; autre ref pour éosinophiles). La proportion des différentes formes de globules blancs est estimée en comptant les 100 premières cellules sur des frottis sanguins au microscope sous un grossissement de 200x (en %). Les frottis sanguins sont colorés avec des solutions de May-Grünwald (#T863.2, Carl Roth GmbH) et de Giemsa (#T862.1, Carl Roth GmbH), une méthode qui a déjà été utilisée dans des études sur l'immunologie des mammifères (Durbin et al., 2009). Ensuite, les immunités humorales innée et adaptative sont évaluées à l'aide des taux d'alpha-1-, alpha-2, bêta- et gamma globulines (mg/mL). La teneur totale en protéines (en mg/mL) est d'abord évaluée par réfractométrie suivie d'une électrophorèse automatique sur gel d'agarose (HYDRASYS, Sebia, Evry, France) qui sépare l'albumine et les 4 fractions de globulines. Les bêta-globulines sont un groupe de protéines dont la concentration change suite à des défis externes ou internes tels qu'une infection (Cray et al., 2009), et les gamma-globulines ou immunoglobulines représentent les anticorps circulants.

ANNEXE 4 : Protocole détaillé de dosage des éléments minéraux

Le dosage de 22 éléments essentiels (Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Se, Zn) et non-essentiels (Al, As, Cd, Hg, Pb, Sb, Si, Sr, Ti, Tl) a été effectué dans les poils de chevreuil au laboratoire Chrono-Environnement de Besançon. Au niveau du protocole, les échantillons ont d'abord été lavés dans six bains successifs d'acétone et d'eau ultra-pure en alternance à l'aide d'un dispositif de nettoyage à ultrasons (140/280 W, 37 kHz, Fisher Scientific, S-LINE 4,25 L) pour éliminer la contamination externe potentielle, afin que seuls les métaux accumulés dans les poils soient mesurés. Les échantillons lavés sont ensuite séchés à 60°C dans une étuve avant d'être minéralisés dans des tubes fermés placés dans un système de digestion en bloc (DigiPREP, SCP Sciences, Courtaboeuf, France). Un mode de chauffage progressif est utilisé pour atteindre une température finale de 100°C (course totale de 265 min). Les échantillons de poils pesaient en moyenne 118 ± 37 mg. Les échantillons de masse supérieure à 125 mg ont été digérés avec un mélange acide-oxydant (Optima™ for ultra-traces, Fisher Scientific) composé de 3,5 ml d'acide nitrique (65 %) et 1 ml de peroxyde d'hydrogène (30-32 %), ceux de masse inférieure ont été digérés avec des volumes divisés par deux. Ils ont été ensuite dilués en ajoutant respectivement 25 ou 12,5 mL d'eau ultra-pure (Elga, 18,2 MV/cm²). Puis, une filtration à 1 µm a été effectuée. Pour finir, les concentrations en éléments ont été mesurées par spectrométrie de masse plasma à couplage inductif après dilution facteur 10 (ICP-MS, modèle X Series II, ThermoFisher Scientific) et par spectroscopie d'émission atomique à plasma à couplage inductif sans dilution (ICP-AES, modèle radial iCAP 6500, ThermoFisher Scientific). La répétabilité (précision intra-série) et la reproductibilité des mesures ont été étudiées (vérification des valeurs d'écart-type relatif et utilisation d'étalons internes), et un contrôle qualité (solutions de contrôle et blancs pour vérifier l'absence de dérive) a été effectué pendant les mesures.

ANNEXE 5 : Protocole détaillé d'analyses coproscopiques

Les parasites présents dans les fèces ont été détectés, identifiés et comptés par un examen coproscopique selon un protocole de Mac Master modifié (Gordon & Whitlock, 1939 ; Raynaud, 1970) au laboratoire de l'école nationale vétérinaire VetAgro Sup. Pour chaque échantillon, 1-5g de matière fécale est délayée dans du sulfate de zinc (ZnSO₄) de densité 1.36 selon une dilution au 1/15e. Cette solution est tamisée afin de garder le substrat qui sera ensuite agité pendant 3 minutes pour l'homogénéiser. Ce filtrat est en partie prélevé à l'aide d'une pipette afin de remplir les deux chambres de la lame de Mac Master. La totalité des deux chambres est observée au microscope et tous les éléments sont comptés (1 élément vu sur la lame = 15 éléments/g de fèces). Un tube de 15ml de contenance est rempli avec le reste du filtrat et une lamelle est placée sur le haut du tube avant d'être centrifugé (1500g pendant 5min) afin de réaliser une lame de flottaison (1 élément vu, absent en cellule de Mac Master : <15 éléments/g de fèces = 7.5 éléments/g de fèces). Pour chacune des lames (Mac Master et lame de flottaison), le comptage des œufs de nématodes gastro-intestinaux (strongles digestifs, *Trichuris* sp.) et des oocystes de coccidies (*Eimeria* sp.) est réalisé.

Une technique de Baermann (Baermann, 1917) modifiée est utilisée pour le comptage des larves (au premier stade larvaire) des nématodes pulmonaires (Protostrongylidés). Pour chaque échantillon, 1 à 5 g de matière fécale sont placés et emballés dans une épaisseur de papier filtre, le tout est mis dans une passoire métallique, qui est ensuite posée sur un béccher. Le béccher est rempli d'eau tiède en veillant à ce que les matières fécales soient totalement immergées et le dispositif est laissé ainsi jusqu'au lendemain. Le culot du béccher est ensuite collecté puis la totalité des larves présentes est comptée au microscope.

Ces techniques de comptage sont connues pour être de bons estimateurs de la charge parasitaire interne totale des individus (Wilson et al. 2004).

ANNEXE 6 : Cartes d'infestation parasitaire à Chizé

Ces cartes présentent la distribution des infestations parasitaires par quatre groupes de parasites (strongles digestifs, [Fig. S3](#); *Trichuris* sp., [Fig. S4](#); *Eimeria* spp. et protostrongles, [Fig. S5](#)) des chevreuils de Chizé (1996-2020). Les figures [S3](#) et [S4](#) exposent 4 niveaux de charge parasitaire (classes d'abondance de parasites établies selon la distribution des données), alors que la figure [S5](#) montre seulement la présence et l'absence de parasites, en lien avec l'absence de résultats de l'[article 4](#). Les cartes ont été réalisées à l'aide du logiciel Qgis 3.16, en utilisant la fonction « carte de chaleur ».

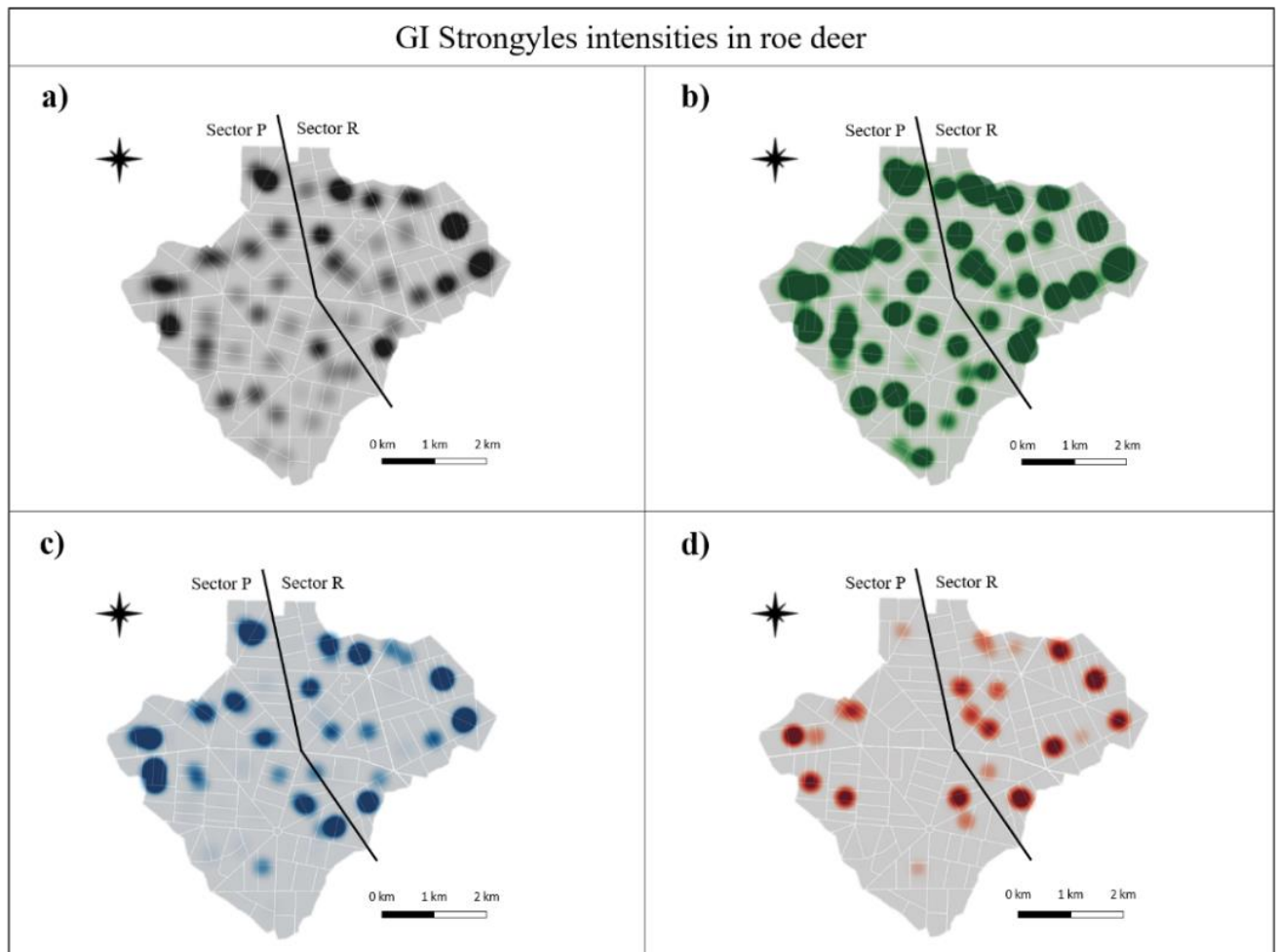


Figure S3 : Projections de la répartition spatiale à Chizé de l'abondance des strongles GI (absence + différentes intensités) chez le chevreuil selon différentes charges mesurées en matières fécales : a) 0 EPG (en noir, n = 643), b) [8;100] EPG (en vert, n = 704), c)]100;200] EPG (en bleu, n = 70) et d) plus de 200 EPG (en rouge, n = 52). La délimitation des deux secteurs a été reportée sur chaque carte. Cette figure a été réalisée à l'aide du logiciel Qgis 3.16.

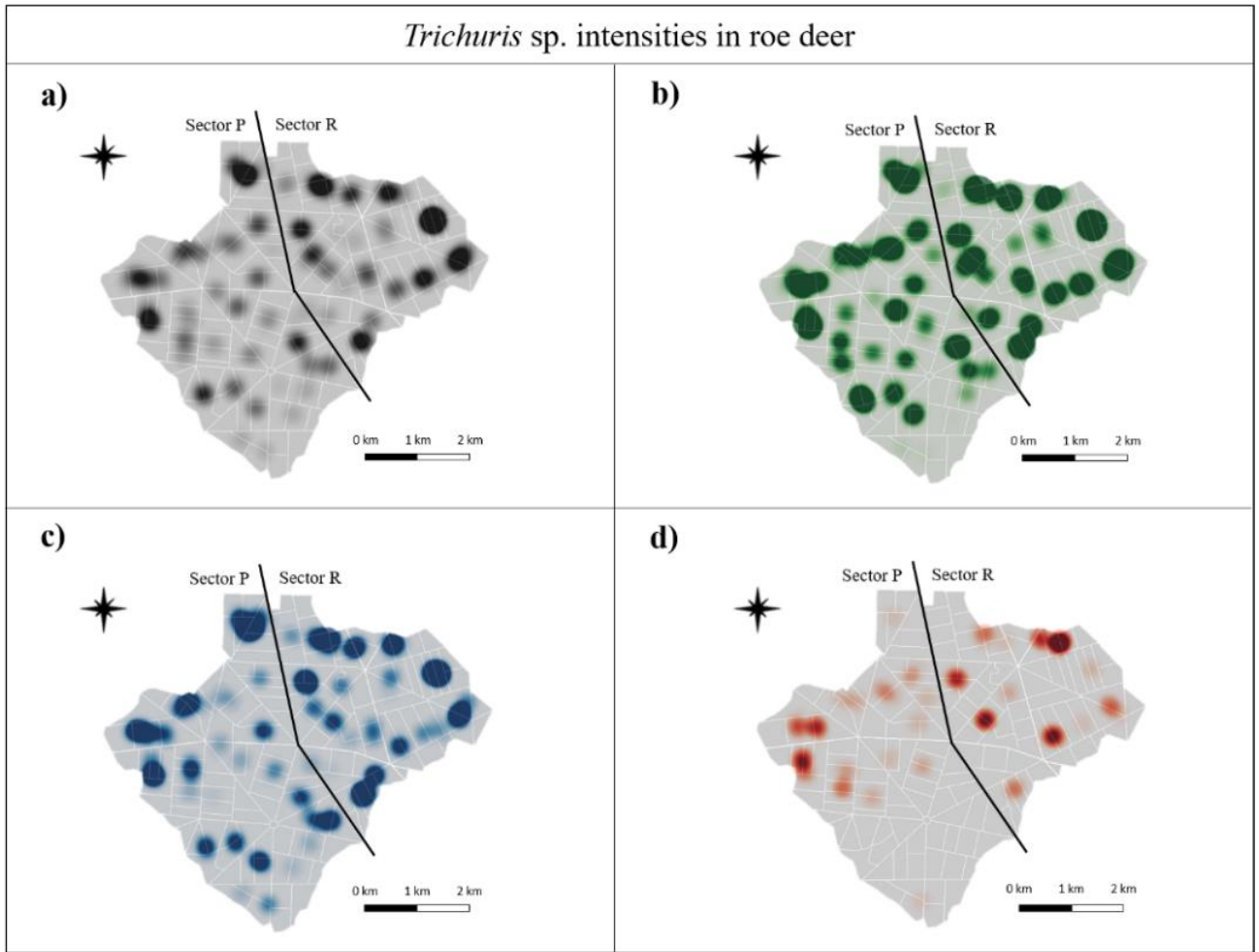


Figure S4 : Projections de la répartition spatiale à Chizé de l'abondance de *Trichuris* sp. (absence + différentes intensités) chez le chevreuil selon différentes mesures de charge en matières fécales : a) 0 EPG (en noir n = 657), b) [8;100] EPG (en vert, n = 474), c)] 100;200] EPG (en bleu, n = 276) et d) plus de 200 EPG (en rouge, n = 59). La délimitation des deux secteurs a été reportée sur chaque carte. Cette figure a été réalisée à l'aide du logiciel Qgis 3.16.

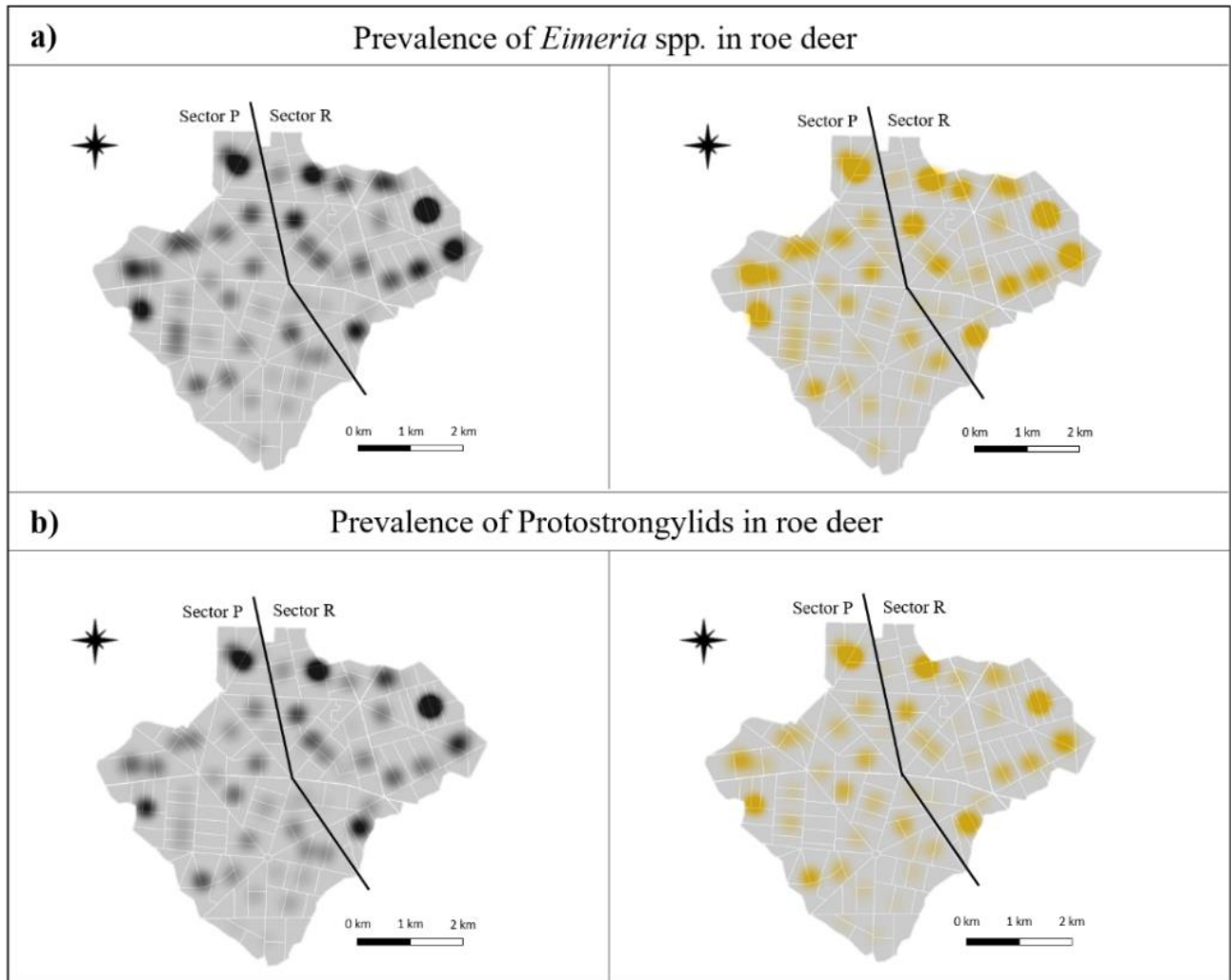


Figure S5 : Projections de la répartition spatiale à Chizé des prévalences de a) *Eimeria* spp. et b) des protostrongyles chez le chevreuil. L'absence de parasites est en noir, la présence est en jaune. La délimitation des deux secteurs a été reportée sur chaque carte. Cette figure a été réalisée à l'aide du logiciel Qgis 3.16.

ANNEXE 7 : Autres perspectives d'étude non abordée, la variabilité génétique et les effets maternels et cohortes

Variabilité génétique

En 2001, Coltman et ses collaborateurs ont publié une étude sur le mouton de Soay, montrant qu'il existe une variation génétique additive considérable à la fois pour la résistance du parasite (mesurée par le nombre d'œufs fécaux), et la condition corporelle (mesurée par la masse corporelle et la longueur des pattes arrière). Ils ont montré que des corrélations génétiques positives existaient entre résistance aux parasites et taille corporelle chez les deux sexes. Plus récemment, une autre étude sur les moutons de Soay (Hayward et al. 2014) a trouvé des preuves d'une sélection phénotypique positive sur la tolérance dans des conditions naturelles. Leur étude a porté sur un échantillonnage longitudinal d'individus dont le pedigree de population est connu, pour quantifier (i) l'association moyenne entre la masse corporelle et la charge parasitaire dans la population ; (ii) la variation de tolérance entre individus, quantifiée comme la pente de relation entre la masse corporelle et la charge parasitaire ; (iii) la base génétique additive de la tolérance ; et (iv) la force et l'orientation de la sélection sur la tolérance. Les résultats ont alors révélé que les individus ont une tolérance variable face à l'infection par les nématodes et que cette tolérance est soumise à une sélection phénotypique positive grâce au succès de reproduction. Par ailleurs, ces études pourraient être renouvelées chez le chevreuil. Les suivis de cette espèce à Chizé et Trois-Fontaines permettent d'avoir des données sur la filiation des faons de chevreuil. En effet, la mère de plusieurs nouveaux-nés trouvés est identifiée. On pourrait donc supposer qu'une chevrette avec une forte charge parasitaire aurait une faible résistance aux parasites, et regarder si ce trait est retrouvé chez son faon. Il s'agirait alors d'une première étape pour mieux comprendre l'héritabilité des composantes du système immunitaire. De plus, le suivi longitudinal permet d'avoir des recaptures individus pendant plusieurs années. C'est un avantage de pouvoir estimer de manière répétée des traits comme la masse corporelle et la charge parasitaire par individu, cela donne lieu à l'obtention d'un corrélât approprié et l'aptitude à utiliser dans l'analyse, de la tolérance individuelle estimée comme « plage de tolérance » (Little et al. 2010; Graham et al. 2011; Doeschl-Wilson et al. 2012). Cela contribuerait dans un premier temps à vérifier les points (i) et (ii) de l'étude d'Hayward citée plus haut, pour le chevreuil. Ensuite, il serait intéressant de dresser un pedigree complet des populations de Chizé et Trois-Fontaines, pour estimer la variance génétique additive de la masse corporelle à l'aide de « modèles animaux » génétiques quantitatifs dans ASReml 3.0, comme ils l'ont fait dans leur publication. Cette extension des modèles linéaires mixtes utilise les informations du pedigree génétique de la population pour estimer la contribution de la parenté à la variance phénotypique. Ce pourrait donc être la prochaine étape du travail sur l'immunogénétique du chevreuil.

Effet maternel et cohorte

Deux autres sources de variabilité de la réponse immunitaire, qui se trouve au cœur des questions abordées en immuno-écologie, sont les effets maternels et les effets cohorte.

Dans les populations, le développement et la survie des jeunes dépendent fortement de l'investissement maternel. En effet, les traits maternels sont connus pour influencer la taille et la croissance de la descendance et donc sa valeur sélective (Boonstra & Hochachka, 1997 ; Ellis et al. 2000 ; Lemaître & Gaillard, 2017). On parle d'effets maternels (Trivers & Willard, 1973), c'est-à-dire de l'influence du phénotype de la mère sur celui de sa descendance (Räsänen & Kruuk, 2007). Ces effets peuvent être directs, par les soins maternels postnataux (Mousseau & Fox 1998 ; Gouldsborough et al. 1998 ; Cameron et al. 2008a, b) ou indirects avec par exemple la transmission d'immunoglobulines G et A (Halliday 1955). Chez les mammifères, ces anticorps peuvent être absorbés à partir de l'ingestion du colostrum (IgG) par les jeunes pendant les premiers moments qui suivent la parturition, ou par le lait (IgA). Ainsi, une mère ayant un bon système immunitaire a plus de chances de donner un meilleur panel d'anticorps à sa descendance pour combattre par exemple des pathogènes, qu'une mère moins immunocompétente (Iposu et al. 2008 ; Chucru et al. 2010). De plus, les conditions rencontrées en début de la vie d'un individu et notamment à sa naissance (i.e. les effets cohorte) peuvent avoir un impact fort sur eux (Albon et al. 1987 ; Lindström, 1999 ; Gaillard et al. 2013). Les variations des traits d'histoire de vie entre les cohortes (i.e. l'ensemble des individus nés la même année ; Gaillard et al. 2003) prennent en compte des facteurs environnementaux, comme la température ou les précipitations de l'année de naissance, ou des facteurs populationnels comme par exemple la densité de population pendant l'année de naissance. Chez l'écureuil roux américain (*Tamiasciurus hudsonicus*) notamment, les températures printanières durant l'année de la naissance et la quantité de nourriture disponible entre la naissance et le sevrage ont des effets positifs à long terme sur le succès reproducteur des femelles (Descamps et al. 2008).

Les efforts maternels et la cohorte sont susceptibles de jouer un rôle particulier dans la variabilité de l'immunité. Pendant la rédaction de l'article 4 de ma thèse, nous avons regardé l'effet de la cohorte sur la charge parasitaire de nos individus de Chizé, mais l'effet n'était pas ressorti. Néanmoins, il y a eu des preuves dans la littérature et lors de travaux préliminaires menés à Trois-Fontaines par une étudiante de Master 2 de l'implication potentiels de ces facteurs sur le parasitisme. Hayward et al. (2010) ont défini que certains effets maternels, tels que l'âge de la mère ou la taille de portée, avaient un impact sur le parasitisme chez le mouton de Soay. Ils ont montré que des agneaux nés de mères d'âge moyen (entre 4 et 6 ans) sont moins parasités que ceux nés de mères plus jeunes ou plus vieilles. Il a été également révélé que les agneaux nés seuls sont moins parasités que ceux nés avec un jumeau. Chez le chevreuil, on sait que la masse de la

mère est positivement associée à la masse et à la survie de sa descendance (Plard et al. 2015), donc potentiellement également associée à son immunité et à sa résistance au parasitisme. Le stage de Master 2 n'a pas permis de vérifier cette relation, mais il a été montré que les chevillards mâles nés de mères âgées présentent des niveaux de parasitisme plus élevés que ceux nés de mères plus jeunes. Au niveau de la cohorte, la masse corporelle moyenne des chevillards durant leur année de naissance est négativement associée à la quantité de strongles chez les chevillards femelles. Cela veut dire que lorsqu'il s'agit d'une « bonne année » (i.e. masse moyenne des chevillards élevée), les chevillards femelles sont moins parasités par les strongles. Cela va dans le sens de l'hypothèse selon laquelle lorsque des individus rencontrent des conditions favorables, ils se développent mieux et sont plus aptes à se défendre contre les parasites (Toïgo et al. 2006 ; Gaillard et al. 2013). Un résultat est cependant apparu, montrant un lien positif entre la masse corporelle moyenne des chevillards durant l'année de leur naissance et le nombre de larves de protostrongles. Ce résultat semble donc indiquer que lors d'une « bonne année », les chevillards sont plus parasités par les protostrongles que lors d'une « mauvaise année ». De plus, un lien positif entre les températures estivales lors de l'année de naissance et l'abondance de coccidies chez les chevillards femelles a été trouvé. Enfin, un lien positif a été trouvé également entre une hausse des précipitations estivales durant l'année de naissance et le nombre de larves de protostrongles des chevillards femelles, s'expliquant probablement par un meilleur développement et une meilleure activité des parasites en présence de précipitations importantes (Turner & Getz, 2010). Par ailleurs, la qualité de l'habitat lors de la naissance, n'a pas été prise en compte dans cette étude de l'influence de la cohorte sur la susceptibilité des chevillards aux parasites. Ce serait un facteur intéressant, à considérer à la fois pour la cohorte mais aussi pour les efforts maternels, étant donné ce rôle important dans le développement du système immunitaire de par les besoins en énergie des individus. Aussi, comme pour le mouton de Soay (Hayward et al. 2010), il serait intéressant de tester si l'influence des effets cohorte et maternels persistent une fois les chevillards devenus adultes, fournissant d'autres perspectives d'étude à ce travail.

Finalement, il est clair que l'exposition des individus hôtes, en interaction avec leur génotype, leur comportement, leur physiologie et les conditions environnementales dans lesquelles ils vivent, vont jouer sur leur réponse immunitaire face aux parasites.

Références de l'annexe 7

- Albon SD, Clutton-Brock TH, Guinness FE (1987) Early development and population dynamics in red deer. ii. density-independent effects and cohort variation. *Journal of Animal Ecology* 56:69–81. <https://doi.org/10.2307/4800>
- Boonstra R, Hochachka M (1997) Maternal effects and additive genetic inheritance in the collared lemming *Dicrostonyx groenlandicus*. *Evolutionary Ecology* 11:169–182. <https://doi.org/10.1023/A:1018447815825>
- Chucrí TM, Monteiro JM, Lima AR, et al (2010) A review of immune transfer by the placenta. *Journal of Reproductive Immunology* 87:14–20. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2010.08.062>
- Coltman DW, Pilkington J, Kruuk LEB, et al (2001) Positive genetic correlation between parasite resistance and body size in a free-living ungulate population. *Evolution* 55:2116–2125. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb01326.x>
- Descamps S, Boutin S, Berteaux D, et al (2008) Cohort effects in red squirrels: the influence of density, food abundance and temperature on future survival and reproductive success. *Journal of Animal Ecology* 77:305–314
- Doeschl-Wilson A, Bishop S, Kyriazakis I, Villanueva B (2012) Novel methods for quantifying individual host response to infectious pathogens for genetic analyses. *Frontiers in Genetics* 3:
- Ellis SL, Don Bowen W, Boness DJ, Iverson SJ (2000) Maternal effects on offspring mass and stage of development at birth in the harbor seal, *Phoca vitulina*. *Journal of Mammalogy* 81:1143–1156. [https://doi.org/10.1644/1545-1542\(2000\)081<1143:MEOOMA>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2000)081<1143:MEOOMA>2.0.CO;2)
- Gaillard J-M, Loison A, Toïgo C, et al (2003) Cohort effects and deer population dynamics. *Écoscience* 10:412–420. <https://doi.org/10.1080/11956860.2003.11682789>
- Gaillard J-M, Mark Hewison AJ, Klein F, et al (2013) How does climate change influence demographic processes of widespread species? Lessons from the comparative analysis of contrasted populations of roe deer. *Ecology Letters* 16:48–57. <https://doi.org/10.1111/ele.12059>
- Graham AL, Shuker DM, Pollitt LC, et al (2011) Fitness consequences of immune responses: strengthening the empirical framework for ecoimmunology. *Functional Ecology* 25:5–17. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01777.x>
- Halliday R, Brambell FWR (1997) Prenatal and postnatal transmission of passive immunity to young rats. *Proceedings of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences* 144:427–430. <https://doi.org/10.1098/rspb.1955.0068>
- Hayward AD, Nussey DH, Wilson AJ, et al (2014) Natural selection on individual variation in tolerance of gastrointestinal nematode infection. *PLOS Biology* 12:e1001917. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001917>
- Hayward AD, Pilkington JG, Pemberton JM, Kruuk LEB (2010) Maternal effects and early-life performance are associated with parasite resistance across life in free-living Soay sheep. *Parasitology* 137:1261–1273. <https://doi.org/10.1017/S0031182010000193>

- Iposu SO, McAnulty RW, Greer AW, et al (2008) Does suckling offer protection to the lamb against *Teladorsagia circumcincta* infection? *Veterinary Parasitology* 153:294–301. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.01.034>
- Lindström J (1999) Early development and fitness in birds and mammals. *Trends in Ecology & Evolution* 14:343–348. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01639-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01639-0)
- Little TJ, Shuker DM, Colegrave N, et al (2010) The coevolution of virulence: tolerance in perspective. *PLOS Pathogens* 6:e1001006. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001006>
- Minchella DJ (1985) Host life-history variation in response to parasitism. *Parasitology* 90:205–216. <https://doi.org/10.1017/S0031182000049143>
- Mousseau TA, Fox CW (1998) *Maternal effects as adaptations*. Oxford University Press
- Plard F, Gaillard J-M, Coulson T, et al (2015) The influence of birth date via body mass on individual fitness in a long-lived mammal. *Ecology* 96:1516–1528. <https://doi.org/10.1890/14-0106.1>
- Räsänen K, Kruuk LEB (2007) Maternal effects and evolution at ecological time-scales. *Functional Ecology* 21:408–421. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01246.x>
- Thomas F, Guégan F, Renaud, François (2012) *Ecologie et évolution des systèmes parasités, de boeck*
- Toïgo C, Gaillard J-M, Van Laere G, et al (2006) How does environmental variation influence body mass, body size, and body condition? Roe deer as a case study. *Ecography* 29:301–308. <https://doi.org/10.1111/j.2006.0906-7590.04394.x>
- Trivers RL, Willard DE (1973) Natural Selection of Parental Ability to Vary the Sex Ratio of Offspring. *Science* 179:90–92. <https://doi.org/10.1126/science.179.4068.90>
- Turner WC, Getz WM (2010) Seasonal and demographic factors influencing gastrointestinal parasitism in ungulates of Etosha National Park. *J Wildl Dis* 46:1108–1119. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.4.1108>

