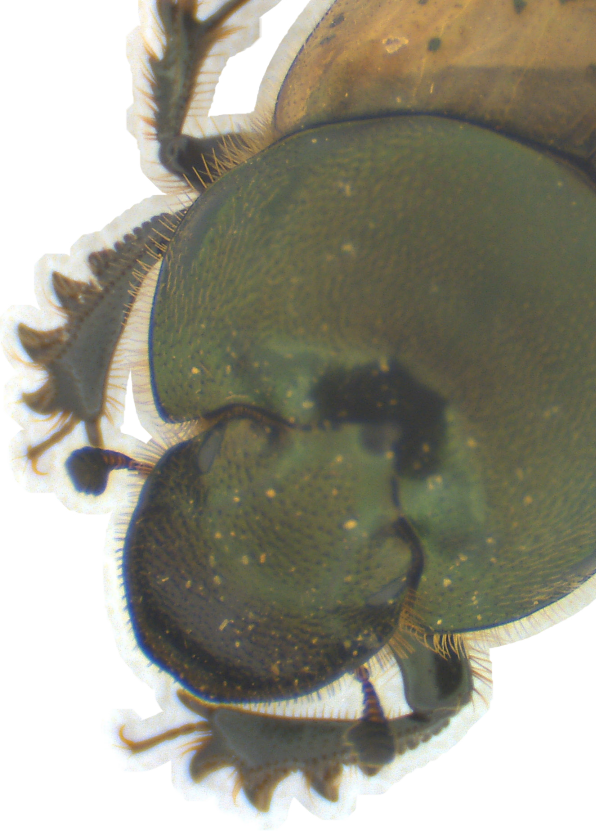




Écologie, éthologie et dynamique parasitaire en pâturages : le zèbre, ses parasites gastro-intestinaux et les coléoptères coprophages





“La leçon du bousier” - Cloé Joly

Il était une fois, une rondelette boulette,
Luisante d’humidité, lourde de matière.
En son sein reposait, une larve affamée.
Affublée de mandibules disproportionnées,
la larve croquait, rongeait, ciselait la vie.
Usant de tout son art, elle gonflait dans son rétrécit,
Si bien qu’un matin, la larve n’eut plus d’espace.
Il était le temps de sa grande métamorphose.
Un dernier effort, elle transperça sa boulette maintenant sèche
Et sous l’air frais, se para d’élytres solides.
Adieu les mandibules, adieu le confort de la boulette,
L’insecte gourmand devait chercher refuge.
Et par l’odeur alléché, ses ailes le portèrent
Jusqu’à ce tas gigantesque de frais caca,
Afin de se vautrer dans cette soupe tiède.
Il avait trouvé sa crotte, sa raison de vivre.
Alors dans un geste millénaire, il roula,
Il tourna et retourna, lissa et amassa
Jusqu’à ce que boulette il créa.
Un jour, les élytres à l’air, il croisa cet être.
Paré de milles couleurs, des ailes immenses
Le portaient bien au-dessus du tas nauséabond.
Un regard vers le bas, le papillon pouffa :
« Voyez comme il est heureux le moins que rien,
Vautré dans son tas, il trime pour que moi, moi, moi,
Je puisse m’abreuver d’un élixir divin.
Pauvre être souillons, admire plutôt ma prestance !»
Soudain un vent puissant bouscula l’arrogant,
Le faisant chuter, la trompe droit dans la bouse.
Ses ailes collées, inutiles, il mourut de honte.
Le bousier effaré de ce coup du destin,
et heureux d’avoir tant de richesses, se dit que
Pour rien au monde il n’échangera sa vie de merde.

REMERCIEMENTS

Merci aux jurés, d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Marion Vittecoq, Julie Brunet, Mickaël Hedde et Thierry Dutoit, je vous ai contacté pour vos expertises respectives, vos connaissances et votre exemplarité dans la profession. Je me sens honorée de recevoir vos commentaires et vos réactions.

Aux nombreuses structures académiques et/ou de recherche dont j'ai pu faire partie : les universités de Poitiers, d'Avignon et de Montpellier 3, le CEFE, le laboratoire EBI, l'INRAE d'Avignon, la PACES. Merci à toutes les équipes accueillantes que j'ai pu intégrer, à toutes les personnes qui ont pris le temps de discuter avec moi et de partager un bout de leur quotidien. Merci à Alberto Zamprogna et Valérie Caron du CSIRO pour leurs partages d'experts en éleveurs de bousiers. Merci aux jurys des comités de thèse : Simon Chamaillé, Hubert Ferté, Philippe Jacquiet et Olivier Montreuil. Un grand merci aux équipes administratives.

Mes trois co-directeurs de thèses, le trio gagnant. Freddie-Jeanne Richard, qui a attrapé au vol cette étudiante tout juste sortie de master, envoyant hasardeusement son ébauche de projet de thèse. Les zèbres ont su te convaincre, et j'en suis honorée. Alix Ortega, mon premier contact avec la Réserve Africaine de Sigean, du fond d'un kangoo poussiéreux après avoir remué dans la vase pour attraper des flamants roses. Tu as ouvert des portes que je n'ai pas pu me résigner à refermer. Enfin, Pierre Jay-Robert, l'homme de la situation comme on dirait, avec toute ta sagesse, ta positivité, et ta passion. Je n'étais pas bien convaincue de cette histoire de déjections, ça a été la découverte d'une vie.

J'avais prévu que ce serait difficile, que je n'aurai pas beaucoup de temps personnel, que je perdrai quelques points de vie au passage. J'ai remis ma vie en question une fois par mois, passé mes journées et mes nuits à réfléchir aux mêmes sujets... je me suis sentie seule. Et pourtant. Une thèse est finalement un objet façonné de rencontres, de surpassement de soi et de beaucoup d'amour. Si vous lisez ces mots, c'est grâce à beaucoup de travail de ma part, mais aussi et surtout grâce au soutien de tout un écosystème. Euh... De plusieurs écosystèmes !

L'écosystème de la Réserve Africaine de Sigean.

Christine Pellegrini, directrice générale de la Réserve Africaine de Sigean, pour avoir accepté de soutenir ce projet de thèse, mais bien avant ça, mon stage de master. Merci pour l'autonomie que j'ai eu durant ces trois années.
Antoine Joris, Directeur zoologique de la Réserve Africaine de Sigean, pour avoir plus que soutenu le projet, pour ne pas m'avoir expédiée au bâtiment stagiaires, pour le miel, les courges et les confitures.
Marianne De Jesus pour tes conversations, Lyna Rachid Martin pour ta compagnie dans le bureau du fond, Laurent Fontaine pour tous les bousiers laissés sur mon bureau, Belén Fortea pour ta si belle sensibilité, Marielle Vandenbunder pour ta présence.

Phillipine Dendauw et Camille Breil, vous avez été mes meilleurs moments, mes meilleures rencontres, et mes meilleurs souvenirs à Sigean. Merci pour votre soutien, vos rires, les soirées jeux, vos recettes de cuisine, et les discussions interminables.

L'équipe des soigneurs, et particulièrement Brice Escourrou pour ton partage de savoirs, et avoir sans hésiter plongé dans la bouse de rhino. Ta passion est inspirante. Florent Patural, pour ton amitié. Merci à Manon Pailhas, Nicolas Blondel, Fabrice Rabanel, Julien Justafré, Juan Rodrigez, Stéphane Craste, Fabrice Allain et tous les autres qui ont de près ou de loin participé aux terrains. Merci à l'équipe Carni d'avoir stocké les kilos de crottins et de bouse au congèle.

Merci aux nombreux stagiaires qui ont participé à ces travaux de recherche : Samuel Duprés, Salomé Vallet, Amélie Rouvière, Lucie Dewever et Camille Maravat. Et merci à Sarah Esmingeaud.

Merci à mes collègues les plus incroyablement attachants : les zèbres de Grant de la S2 qui m'ont fait vivre toutes les saisons de la meilleure série drama, les autruches qui viennent gossiper à la fenêtre de la voiture, les gnous bikers de la savane, les watussis forces tranquilles, les élands éternels adolescents et les rhinos que je n'ai pas vu assez mais pour qui je garde cette place spéciale dans mon cœur.

L'écosystème du CEFE.

Merci à Benoit Lapeyre et Bruno Buatois pour leurs soutiens techniques lors de mes expérimentations à la PACE.

Une fois par semaine, c'était discussions engagées, rires autour d'un verre au Tarbrew, et même parfois expédition dans la nature. Merci à l'équipe ESA pour avoir confirmé mon image idéalisée d'une équipe de recherche. Merci particulièrement à Clara Zimmermann, Quilina Lanfranchi, Sandra Barantal, William Perrin, Camila Leandro, Matthias Brand, Nicolas Hénon, Théo Oriol, Gwenaël Magne, Mélanie Bertrand.

Et parce que nous avons partagé bien plus que des discussions de couloir, bien plus que des after work, parce qu'on a créé ensemble, je remercie Louise Eydoux, Ambre Mautuit et Camille Zamant.

L'écosystème premier, celui de toujours et pour toujours.

Ma famille, aussi dispersée soit-elle. Merci à mes grands-parents Michoux pour avoir cru en moi, aux Voute pour ce petit coin de bonheur, aux luxembourgeois pour votre ambition. Merci à ma mère pour son amour infini et pour m'avoir donné la curiosité de la nature, à mon père pour m'avoir dit toute une vie que la science lui donnera raison, à Isa, ma chance. Merci pour votre soutien depuis toujours et pour tout, de mes études d'art à ma reconversion scientifique, merci pour l'enfance dorée que vous m'avez permise, merci pour les aventures que vous m'avez faites vivre, merci pour l'autonomie que vous m'avez apprise, merci pour votre amour (et les photos de chats). Dou, tu es une force, une inspiration, un coup de pied au derrière.

Merci à Christiane, Michel, Stéphane et Simone.

Mes amies qui ont ce point commun d'être des humaines humaines, fortes d'intelligences pures. On a commencé notre amitié enfants, on la finira petites vieilles. À Coline Parmentier, Marion Crozet, Mina Guinchard et Candice Faure, Eglantine Vernay, Maud Czerwinski.

Merci aux amis de Saint-Cyr pour ce paradis en haut de la montagne, ce lieu où je me sens comme à la maison, ce parfait bijou dans son écrin de sapins.

Merci à Guillaume, le témoin de cette expérience. Celui qui a vécu les hauts et les bas en direct, qui m'a sauvé plus d'une fois, mon compagnon de cuisine, de films tardifs, et surtout, de voyages merveilleux.

Et enfin, à la jeune étudiante en arts que j'ai été. Le parcours est encore long et semé d'embûches, mais tu peux être fière de ta persévérance, de ta capacité à te réinventer, de tes choix qui te mèneront à une vie jusque-là remplie d'expériences uniques et de souvenirs vivants.

Fais-en bon usage.

RÉSUMÉ

Les années 1970 marquent le début de la commercialisation des principales molécules antiparasitaires. Depuis, les animaux d'élevage sont régulièrement et systématiquement traités, souvent en surdosage. Ces pratiques ont mené à l'apparition de parasites résistants aux antiparasitaires, et à une pollution environnementale importante. Plusieurs études rapportent un impact négatif de cette pollution sur la plupart des arthropodes du sol, dont certains ont un rôle majeur dans le contrôle des parasites d'herbivores présents dans les déjections. Les travaux de recherche présentés dans ce manuscrit s'intègrent dans le contexte des parcs zoologiques, dont les activités de divertissement sont aujourd'hui complétées par les missions d'éducation, de bien-être animal, de recherche et de conservation. Nous nous sommes intéressés à l'écologie des pâturages dans des enclos multi-espèces d'herbivores, à travers trois modèles biologiques concernés par l'utilisation d'antiparasitaires : les équidés, leurs parasites gastro-intestinaux et les coléoptères coprophages. Les travaux présentés se sont déroulés selon deux axes principaux d'investigation.

Au cours du premier axe, nous avons examiné la relation hôte-parasites chez les Zèbres de Grant (*Equus quagga boehmi*). Les de trois études présentées utilisent des suivis parasitaires et comportementaux individuels, afin d'améliorer les méthodes de vermifugation raisonnée existantes. Nous nous sommes ainsi intéressés aux prédicteurs de la variation d'excrétion fécale des œufs de strongles, avec ou sans administration d'antiparasitaires. Au cours de cette première partie de thèse, nous avons montré que les comportements sociaux sont déterminants de la vitesse de ré-excrétion après un traitement antiparasitaire. De plus, nous avons mis en évidence l'importance des conditions climatiques, quel que soit l'âge, et l'importance des périodes de bouleversements sociaux chez les jeunes, pour expliquer les variations d'excrétion fécale des œufs de strongles au cours du temps.

Au cours du deuxième axe, nous avons examiné comment les diversités d'habitats impactent les communautés de coléoptères coprophages. Parmi les trois études présentées, deux s'appuient sur des méthodes de piégeage *in situ* et une s'appuie sur des expérimentations en laboratoire incluant l'élevage de l'espèce *Onthophagus vacca* et la réalisation de tests comportementaux et physiologiques sur cette même espèce. L'objectif de ce second axe était de mettre en évidence le lien entre pratiques de gestion des enclos d'herbivores

et communautés de coléoptères coprophages afin de permettre aux directions des zoos de mieux intégrer les problématiques de conservation de la faune sauvage locale. Au cours de cette seconde partie de thèse nous avons montré que la diversité des herbivores ne semble pas être un facteur de diversité au sein des communautés de coprophages, bien que les herbivores aient accès à la même ressource alimentaire. Nous avons aussi mis en évidence l'importance de l'intensité de l'utilisation du sol sur l'abondance et la diversité de ces communautés. Enfin, dans une dernière étude nous avons abordé la plasticité de l'espèce *O. vacca* et les mécanismes d'évolution locaux.

SOMMAIRE

Remerciements 3
Résumé 7
Sommaire 9
Liste des tableaux 12
Liste des figures 13

Introduction générale 14
Problématiques politiques et sociales liées à la perte de biodiversité 15
Déclin des insectes 15
Un parasite ou un vermifuge ? 16
Définition des parc zoologiques 21
Rétrospective du développement des zoos en Europe avant les années 2000 21
Importance du lien entre les zoos et l'écologie de la conservation 22
La Réserve Africaine de Sigean 24

Partie 1 : relation hôte-parasites chez les zèbres de Grant en captivité 27
Introduction partie 1 28
Le modèle équin 28
Les parasites des équidés 29
Problématiques 32

Chapitre 1 : Social behavior impacts parasite infection risk in equid groups 35
Contexte d'étude 36
Résumé 37
Abstract 38
Graphical abstract 39
Introduction 40
Material and method 43
Results 50
Discussion 54
Conclusion et ouverture 61

Chapitre 2 : The ups and downs of parasite infections, from birth to three-year-old foals 63
Contexte d'étude 64

Résumé 65
Abstract 66
Graphical Abstract 67
Introduction 68
Material and method 71
Results 76
Discussion 80
Conclusion et ouverture 85
Supplementary material 87

Chapitre 3 : Biotic and abiotic predictors of parasite egg shedding in adult equids 89
Contexte d'étude 90
Résumé 91
Abstract 92
Graphical abstract 93
Introduction 94
Material and Methods 98
Results 104
Discussion 107
Conclusion et ouverture 112
Supplementary material 113

Conclusion partie 1 116
Application des résultats 116
Les méthodes de mesure de la charge parasitaire 117
Perspectives de recherche 119

PARTIE 2 : Relation trophique entre les bousiers et les grands mammifères en condition de pâturages clos 121
Introduction partie 2 122
Les coléoptères coprophages… 122
…héros et victimes de nos pâturages 125
Problématiques 128

Chapitre 4 : One dung to attract them all : feces attractiveness to dung beetles in herbivore multi-species pasture 131
Contexte d'étude 132

Résumé 133
Abstract 134
Graphical abstract 135
Introduction 136
Materiel and method 138
Results 143
Discussion 147
Conclusion et ouverture 152
Supplementary material 154

Chapitre 5 : Dung beetles doesn't like to play dirty 157
contexte d'étude 158
Résumé 159
Abstract 160
Graphical abstract 161
Introduction 162
Material and method 166
Results 172
Discussion 179
conclusion et ouverture 183
Supplementary material 187

Chapitre 6 : Étude préliminaire de l'effet de la ressource trophique disponible sur la fitness de *O. vacca* *190*
Contexte d'étude 191
Résumé 193
Synthèse graphique 194
Introduction 195
Matériel et méthode 200
Résultats 206
Discussion 208
Conclusion et ouverture 211
Annexe 213

Conclusion partie 2 215
L'évolution des communautés 215
Perspectives de recherches 218

Conclusion générale 220
Synthèse 220
En route pour le zoo 4.0 ? 225

Références **236**

Liste des communications scientifiques 267

LISTE DES TABLEAUX

introduction générale

Table 1 : Recensement dans la littérature, des dosages d'IVM dans les déjections fraîches (bleu) et sèches (orange) d'animaux traités.
p.25

Chapitre 1 : Social behavior impacts parasite infection risk in equid groups

Table 1: Ethogram of the social behaviors of plains zebras.
p.52

Table 2 : Models predicting fecal egg and oocyst counts, fitted with a negative binomial error structure and log link function. .
p.60

Chapitre 2 : The ups and downs of parasite infections, from birth to three-year-old foals

Table 1 : éthogramme complémentaire permettant l'évaluation du budget temps des zèbres de Grant de la RAS.
p.94

Table S.1 : Ethogram of the social behaviours of plains zebras used to create the social network and establish the hierarchy.
p.95

Chapitre 3 : Biotic and abiotic predictors of parasite egg shedding in adult equids.

Table 1*:* Effect of environmental predictor on the fecal egg count (FEC) dynamic of zebras expressed in egg per gram of feces.
p.113

Table S1: Detailed ethogram of the social behaviours of plains zebras used to create the social network and evaluate the hierarchy.
p.121

Table S2: List of studies reporting seasonal variation of FEC in equids.
p.123

Chapitre 4 : One dung to attract them all : feces attractiveness to dung beetles in herbivore multi-species pasture

Table 1: Average weight ± standard error excreted by each taxon in one hour within each enclosure (W=Wd*f*n).
p.150

Table 2: Detailed inventory results classed by bait's type, from left to right:

Equidae, *Antilopinae*, *Struthionidae*, *Bovinae*.
p.152
Table S.1: Detailed inventory results classed by location, all traps from the last two sessions of trapping cumulated.
p.163
Table S.2: Comparison of the dung beetle captured depending on the location inside or outside of the zoo respectively.
p.164

Chapitre 5 : Dung beetles doesn't like to play dirty

Table S1: Abundance of each species in relation to the enclosure of capture.
p.197
Table S2: Results of the ManyGLM model predicting the community structure in relation with the enclosure studied, the surface covered by naked soil in the 10m buffer in the surroundings of the trap and the year of capture.
p.197
Table S3: Results of the GLM model predicting the dung beetle abundance, fitted with a poisson error structure.
p.197

Chapitre 6 : étude préliminaire de l'effet de la ressource trophique disponible sur la fitness de *O. vacca*

Table 1 : comparaison des espèces présentes autour de la RAS (rayon de moins de 10km), dans des milieux similaires, entre les observations de 1970-1980 et celles réalisées lors des travaux de recherches de la thèse.
p.224

LISTE DES FIGURES

introduction générale

Figure 1 : Présentation succinte du fonctionnement théorique de l'écosystème étudié, sans application de traitement antiparasitaire chez les herbivores.
p.27

Figure 2 : Présentation succinte du fonctionnement théorique de l'écosystème étudié, après administration d'IVM chez les herbivores.
p.28

Partie 1 : relation hôte-parasites chez les zèbres de Grant en captivité

Figure 3: Présentation succinte du cycle de vie des cyathostomes d'après les indications de Bowman et Georgi, 2014.
p.39

Chapitre 1 : Social behavior impacts parasite infection risk in equid groups

Figure 1: Microscopic examination of one coccidia's oocyst and one strongyle eggs observed in plains zebra fecal samples.
p.55

Figure 2 : Social network of the plain zebras present at the Réserve Africaine de Sigean, based on affiliation behaviors observed from 25 March to 7 July 2019.
p.59

Figure 3: Individual's parasite infection (eggs or oocysts per gram of feces) during the study. B
p.59

Figure 4: Fecal egg count for strongyle and coccidia in relation with the predictors: (a) degree; (b) strength; (c) dominance.
p.63

Chapitre 2 : The ups and downs of parasite infections, from birth to three-year-old foals

Figure 1: Number of births recorded between 01/01/2019 and 12/31/2023.
p.84

Figure 2: Evolution of the FEC of foal across time from birth to 3 years old (A), and depending on the month of sampling (B).
p.85

Figure 3: Affiliation behaviors observed between the individuals of the group.
p.86

Figure 4: Evolution of the distance between a foal (n=19) and its mother (n=11), depending on the foal's age.
p.87
Figure 5: Number of agonistic behaviors recorded monthly, with at least one foal (n=19) depending on the foal's age.
p.87

Chapitre 3 : Biotic and abiotic predictors of parasite egg shedding in adult equids.

Figure 1: Fecal egg count (FEC) of 16 zebras of different ages.
p.113
Figure 2: Fecal egg count (FEC) of 16 zebras in relation with their dominance and the degree of connection within the social networks during the decrease period and the increase period of FEC.
p.114
Figure S1: Individual FECs depending on meteorological conditions (temperature, precipitation and wind) recorded at 0, 2 or 5 months prior to fecal sampling.
p.122

Partie 2 : Relation trophique entre les bousiers et les grands mammifères en condition de pâturages clos

Figure 1 : Illustration des trois groupes fonctionnes principaux décrits par Doubes, 1990.
p.131
Figure 2 : Illustration du cycle de vie de l'espèce *Onthophagus vacca*, un coléoptère coprophage faisant partie du groupe fonctionnel des paracoprides.
p.132

Chapitre 4 : One dung to attract them all : feces attractiveness to dung beetles in herbivore multi-species pasture

Figure 1: Overview of the study site (source: Google Maps March 2024).
p.147
Figure 2: Cut side view of the pitfall baited trap used to catch dung beetles.
p.148
Figure 3: Species richness of dung beetles in each trap depending on the bait used.
p.153
Figure 4: Abundance of dung beetles in each trap depending on the bait used.
p.154

Figure S1
p.162

Chapitre 5 : Dung beetles doesn't like to play dirty

Figure 1: Study site and its surrounding areas (source: Google Terrain August 2024), and enclosure compositions.
p.175
Figure 2: Vegetation cover classes used to characterize the environment at the enclosure level and within the 10 m buffer around traps.
p.177
Figure 3: Environmental description of the enclosures.
p.181
Figure 4: Characterization of the environment in the 10 meter buffer surrounding the traps respectively of the encolure.
p.182
Figure 5: Mean dung beetle abundance captured per trap in April respectively of the enclosure and the year of sampling.
p.183
Figure 6: Dung beetle species richness per trap considering the surface of naked soil in the 10 meter-buffer surrounding the trap.
p.184
Figure 7: Dung beetle abundance per trap considering the surface of naked soil in the 10 meter-buffer surrounding the trap.
p.185
Figure 8: Results from the fourth-corner analysis estimating associations between dung beetle species VS enclosure, year of capture and surface of naked soil in the 10 m buffer around the trap (Nak.Soil).
p.186
Figure 9 : Support visuel en deux pages, distribué aux équipes de soigneurs afin de mobiliser leur intérêt et leurs compétences sur les secteurs étudiés.
p.193
Figure 9 (suite).
p.194
Figure S1: Illustration of the baited traps used to capture dung beetles. The bait was 300g of equine feces.
p.195
Figure S2: Map of the localisation of each quadrat recorded in the enclosures of the RAS.
p.195

Figure S3: Distribution of the surface covered by each kind of soil cover in the 10m buffer surrounding the traps.
p.196

Chapitre 6 : étude préliminaire de l'effet de la ressource trophique disponible sur la fitness de *O. vacca*

Figure 1 : schéma des grandes étapes du protocole d'élevage défini pour *O. vacca*.
p.209
Figure 2 : Exemple des photographies de *O. vacca* émergeants F1.
p.210
Figure 3 : Photographie à travers un microscope du montage de l'antenne de *O. vacca* sur une électrode de verre ou posée sur le socle du microscope, avec des morceaux de cheveux humains intercalés entre les lamelles de l'antenne en massue.
p.213
Figure 4 : Volume et poids des pilules récoltées selon les déjections disponibles pour la réalisation des soins parentaux.
p.215
Figure S1 : Montage d'une antenne entre deux électrodes de verre, dans la boîte en téflon
p.221
Figure S2 : Profil d'odeur des déjections de watussi, après immersion de 25 grammes de déjections congelées dans 20 mL d'hexane.
p.222
Figure S3 : profils d'odeur des déjections de zèbre, après immersion de 25 grammes de déjections congelées dans 20 mL d'hexane.
p.222

Conclusion Partie 2

Figure 1 : Méthodes de capture des insectes.
p.225

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Français :
AFdPZ : Association française des Parcs zoologiques
CFO : Compte fécal des oeufs
IVM : Ivermectine
RAS : Réserve Africaine de Sigean

Anglais :
EAZA : European Associatioon of Zoos and Aquariums
EPG : eggs per gramm
FEC : Fecal Egg count
OPG : Oocysts per gramm
WAZA : World Association of Zoos and Aquariums

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Problématiques politiques et sociales liées à la perte de biodiversité

Déclin des insectes

La communauté scientifique reconnaît largement l'existence de la sixième extinction massive à laquelle nous sommes actuellement confrontés dans le monde (Cowie et al., 2022; Pimm et al., 2014). Ce concept est savamment expliqué dans le livre de Elizabeth Kolbert au titre explicite The Sixth Extinction: an Unnatural History (Kolbert, 2014). La chute de la biodiversité enregistre une intensité presque 3 fois supérieure entre avant et après 1900 parmi les taxons d'oiseaux et d'amphibiens et 2 fois supérieure parmi les taxons de mammifères (Pimm et al., 2014). Les activités humaines s'en trouvent impactées (Brauman et al., 2020; Cardinale et al., 2012). En effet, la faiblesse d'une espèce peut engendrer une cascade de conséquences impactant tout l'écosystème dans lequel elle évolue (box 1).

Box 1. L'écologie, étude des écosystèmes.

L'écologie est une science récente, définie en premier par Ernst Haeckel dès 1866 dans son livre Generelle Morphologie der Organismen. Dès lors, l'écologie est établie comme l'étude des interactions entre les organismes et les éléments extérieurs ayant un effet sur leur évolution (Deléage, 2010). De la notion d'écologie découle l'écosystème, désignant une entité écologique composée d'un ensemble d'espèces évoluant dans un environnement défini spatialement (Tansley, 1935). L'espace biotique relève des espèces, tandis que l'espace abiotique relève des caractéristiques physico-chimiques de l'environnement. Ainsi, nous définirons l'écologie comme l'étude de l'ensemble des interactions entre facteurs biotiques et abiotiques, au sein d'un écosystème.

Bien que tous les taxons soient affectés par cette extinction de masse (Purvis et al., 2019), les insectes semblent être particulièrement vulnérables (Dirzo et al., 2014; Hallmann et al., 2017). Le déclin des invertébrés serait d'ailleurs deux fois plus rapide que celui des vertébrés (Sánchez-Bayo et Wyckhuys, 2019). Pourtant, les insectes jouent un rôle primordial dans les écosystèmes terrestres (Yang and Gratton, 2014), et leur disparition a des conséquences

dramatiques pour de nombreux autres organismes comme les plantes entomophiles (Lemanski et al., 2022) ou les espèces ayant un régime alimentaire principalement insectivore (Tallamy and Shriver, 2021). Les pratiques agricoles sont décrites comme principales accusées (Donald et al., 2006; Maxwell et al., 2016; Outhwaite et al., 2022; Raven and Wagner, 2021; Rigal et al., 2023). En effet, elles contribuent à la perte d'habitats et de ressources naturelles, et représentent une source importante de polluants à travers la production de gaz à effets de serre ou l'utilisation de produits pesticides (Dudley et Alexander, 2017 ; Wagner et al., 2021). Les pesticides, largement utilisés, ont des effets néfastes sur les espèces non ciblées partageant le même écosystème que l'espèce traitée (Pineaux et al., 2023; Wan et al., 2025).

Un parasite ou un vermifuge ?

Les réseaux trophiques sont dominés par les interactions parasitaires (Lafferty et al., 2006), et 40% des espèces connues sont classées parmi les parasites tandis que les 60% autres sont classées parmi les hôtes (Dobson et al., 2008). Le parasitisme se définit comme une association entre organismes dans laquelle un des organismes vit au dépend de l'autre, lui causant des dommages (Rózsa and Garay, 2023). Les parasites sont des acteurs majeurs de leurs écosystèmes, agissant tantôt directement sur leur hôte, tantôt indirectement sur l'environnement de l'hôte à travers un effet sur la densité ou certains traits fonctionnels des hôtes (Preston et al., 2016). Leur présence peut s'accompagner d'une perte de fitness (box 2) significative de l'hôte même en l'absence de cas clinique, et ce que l'organisme hôte soit animal ou végétal (Gupta et al., 2022; Shanebeck et al., 2022; Tyrnenopoulou et al., 2021). L'infection parasitaire conduit parfois à une perte de production agricole ou des pertes d'animaux d'élevage.

Table 1 : Recensement dans la littérature, des dosages d'IVM dans les déjections fraîches (bleu) et sèches (orange) d'animaux traités.

espèce traitée	posologie (mg/kg poids vif)	voie d'administration	Temps	concentration fécale (µg/kg)	Réference
Bovin	500	cutané	j+1	15,14	Lumaret et al., 2007
Bovin	500	cutané	j+3	122,67	
Bovin	500	cutané	j+12	45,41	
Bovin	750	cutané	j+1	50,36	
Bovin	750	cutané	j+3	243,79	
Bovin	750	cutané	j+12	49,54	
Bovin	0,2	injection	j+4	110	Römbke et al., 2010
Bovin	0,2	injection	j+7	50	
Bovin	500	cutané	j+3	2845	Wohde et al., 2016
Bovin	500	cutané	j+7	2480	
Bovin	500	cutané	j+14	692	
Bovin	500	cutané	j+28	49	
Bovin	500	cutané	j+3	5029	
Bovin	500	cutané	j+7	7675	
Bovin	500	cutané	j+14	341	
Bovin	500	cutané	j+28	65	
Bovin	500	cutané	j+56	15	
Equin	0,2	orale	j+1	1862	Pérez et al., 2001
Equin	0,2	orale	j+28	2413	
Equin	0,2	orale	j+3	523	
Equin	0,2	orale	j+4	94	
Equin	0,2	orale	j+6	49	
Equin	0,2	orale	j+8	33	
Equin	0,2	orale	j+10	27	
Equin	0,2	orale	j+12	20	
Equin	0,2	orale	j+15	12	
Equin	0,2	orale	j+20	7	
Equin	0,2	orale	j+25	2	
Equin	0,2	orale	j+30	1	

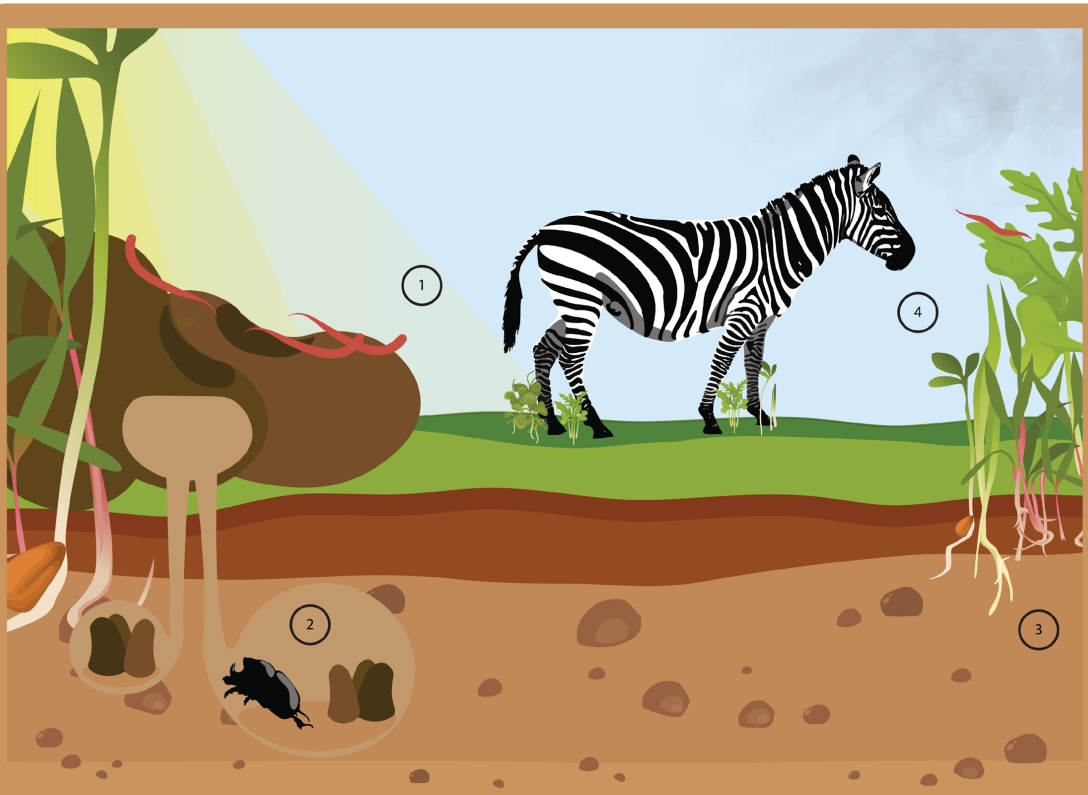
Box 2 : Définition de la fitness (Wadgymar et al., 2024).

Le mot “fitness” vient de l’anglais “to be fit”. En français on pourrait traduire ça par “être adapté”. En biologie, le terme de fitness a tout d’abord été évoqué dans l’Origine des Espèces de Darwin (1869), mais le concept est attribué à Herbert Spencer, dans son livre Les Principes de la Biologie paru en 1864.

Aujourd’hui, la fitness peut s’appliquer à plusieurs échelles. Elle correspond par exemple à la capacité d’un organisme à survivre, et à se reproduire dans son environnement. Il se rapproche de l’idée de succès reproducteur. Cette définition induit que certains organismes ont une fitness plus élevée que d’autres, c’est-à-dire qu’ils ont une meilleure capacité à transmettre leurs gènes que d’autres (Wadgymar et al., 2024).

Depuis les années 1960 environ et la commercialisation de molécules anthelminthiques, l’utilisation d’antiparasitaires chimiques s’est largement démocratisée (Drudge and Lyons, 1966; Kaplan and Nielsen, 2010). Ainsi, presque 200 tonnes d’antiparasitaires sont consommées chaque année en Europe (Kools et al., 2008). Les antiparasitaires représentent une source importante de pollution environnementale (Wardhaugh, 2005). L’ivermectine (IVM) est la molécule antiparasitaire la plus largement utilisée parmi celles disponibles actuellement, avec plus de 5 milliards de doses achetées dans le monde entre sa mise sur le marché et 2002 (Shoop et Soll, 2002). Elle agit principalement sur les canaux chlorure glutamate-dépendants des cellules nerveuses et musculaires des invertébrés (Albert et al., 1986; El-Saber Batiha et al., 2020), conduisant à une paralysie neuromusculaire parfois létale, des invertébrés. Les mammifères semblent peu touchés, n’ayant pas de canaux chlorure glutamate-dépendant (Priel et Silberberg, 2004).

Après administration orale, jusqu’à 90 % des molécules d’IVM sont excrétées à travers les déjections des animaux traités (González Canga et al., 2009; Pérez et al., 2001). L’excrétion rémanente d’IVM dans les déjections peut être détectable jusqu’à deux mois après traitement par voie cutanée, avec un pic dans la première semaine après traitement (table 1). Puis après excrétion, l’IVM persiste jusqu’à 8 mois dans les déjections bovines (Wohde et al., 2016). L’IVM est retrouvée dans le sol jusqu’à 12 mois après excrétion (Halley et al., 1989; Römbke et al., 2010; Wohde et al., 2016), dans les arthropodes terrestres et également dans les plantes poussant autour des matières fécales contaminées (Iglesias



Ecosystème d'étude - sans traitements

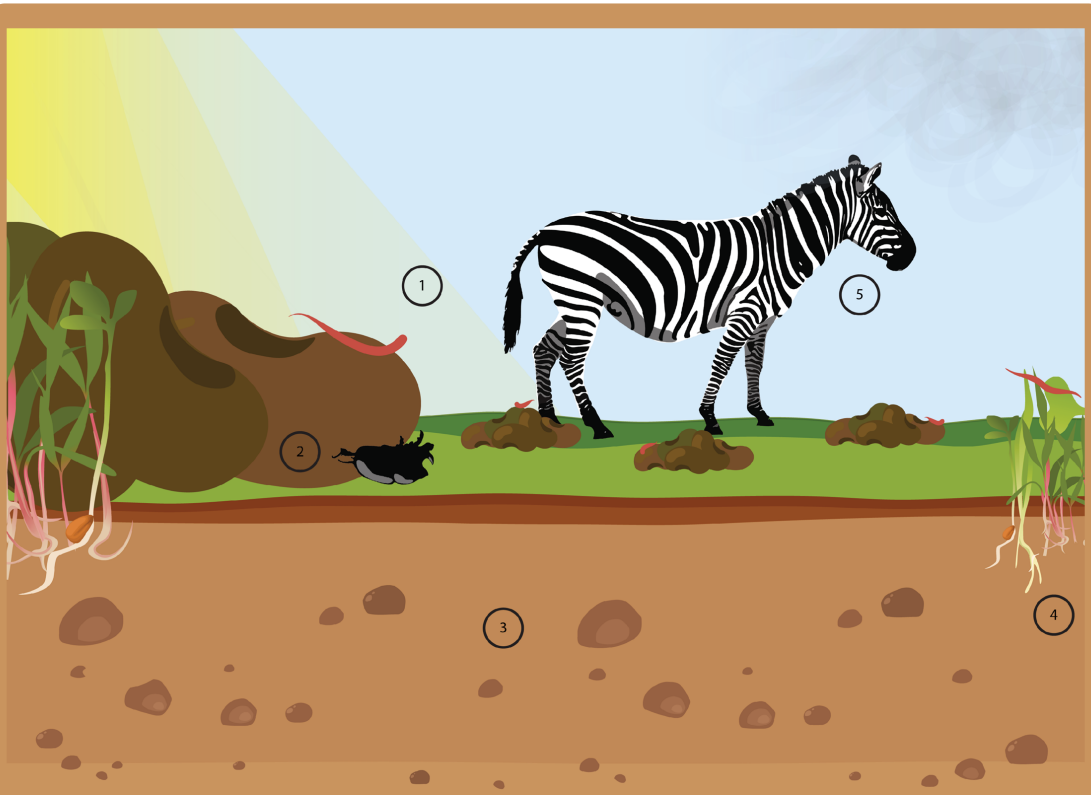
1. Stade larvaire de strongles gastro-intestinaux.
Les œufs de parasites gastro-intestinaux sont expulsés dans l'environnement à travers les déjections de l'animal hôte. Ils se développent dans les déjections puis les larves émergentes migrent sur l'herbage afin de contaminer un nouvel hôte.

2. Les coléoptères coprophages.
Tous se nourrissent en partie ou totalement de déjections. Certaines espèces enterrent des pilules formées à base de déjection, dans lesquelles les femelles déposent un œuf. Ce comportement mène les bousiers à aérer le sol, l'enrichir de matière organique en décomposition, à dégrader les déjections, et à diminuer les taux de survie des parasites gastro-intestinaux des grands herbivores, notamment les strongles digestifs.

3. Les végétaux.
Ils sont particulièrement sensibles à la qualité du sol. La présence de bousiers permet l'apport de nutriments nécessaires au bon développement des végétaux. L'aération du sol permet aussi de mieux retenir l'eau dans la terre et donc de la rendre disponible pour les végétaux.

4. Les grands herbivores
Ils se nourrissent principalement d'herbes, en priorité sur les zones les plus nourrissantes, et à qualité égale ils évitent de se nourrir à proximité de leurs déjections, créant des zones d'évitement. En leur présence, la taille des végétaux est réduite.

Figure 1 : Présentation succinte du fonctionnement théorique de l'écosystème étudié, sans application de traitement antiparasitaire chez les herbivores.



Ecosystème d'étude - avec traitements

1. Traitement antiparasitaire. Afin de limiter l'infestation parasitaire, les vétérinaires peuvent administrer de l'IVM aux herbivores. Les parasites adultes, et les formes enkystées, meurent, provoquant la chute du nombre d'œufs de parasites dans les déjections. Les œufs peuvent réapparaitre dans les déjections en moins de 3 semaines. Par ailleurs, l'IVM n'est pas ou très peu métabolisée par la mégafaune. Près de 90% de l'IVM administrée est excrété dans l'environnement à travers les déjections.

2. Les bousiers, intoxiqués. L'IVM excrétée parmi les déjections d'herbivores est toxique pour les arthropodes, notamment les bousiers. La présence d'antiparasitaires réduit le taux de survie des bousiers à tous les stades, ainsi que leur vitesse de développement. Les larves intoxiquées donnent des adultes plus petits, dont les attributs sexuels sont parfois atrophiés. L'activité des bousiers est réduite voir supprimée : les déjections ne sont plus éliminées, les parasites résistants aux antiparasitaires peuvent se développer d'autant plus.

3. L'altérations physico-chimiques du sol. En l'absence de bousiers, le sol est plus compact et moins riche en matière organique.

4. Le développement limité des végétaux. Les ressources du sol ne permettent plus une pousse optimale des végétaux : il contient en effet moins d'eau et moins de nutriments. De plus, la présence des antiparasitaires dans le sol peut causer une réduction du développement des systèmes racinaire et aérien. Les larves de parasites mobiles se concentrent sur la faible biomasse de végétaux disponibles.

5. réinfestation parasitaire. Les grands herbivores ne peuvent plus éviter les zones souillées par les déjections puisqu'il y a moins d'herbe disponible et que les déjections s'accumulent.

Figure 2 : Présentation succinte du fonctionnement théorique de l'écosystème étudié, après administration d'IVM chez les herbivores. Les références associées sont présentées en introduction de la partie 2.

et al., 2018 ; Vokřál et al., 2019). La contamination des eaux souterraines par de fortes concentrations d'IVM est peu probable (Oppel et al., 2004 ; Popova et al., 2013). Cependant, il est possible que les résidus contaminent les eaux de surface et soient toxiques pour les organismes aquatiques (Garric et al., 2007). Plus la concentration initiale d'ivermectine dans les déjections est élevée, plus le temps de dissipation dans le sol est long (Iglesias et al., 2018).

Fertiliser les sols avec du fumier de déjections d'animaux traités peut d'ailleurs s'avérer contre-productif (Hamscher et al., 2000). L'IVM a un pouvoir phytotoxique, même à petites doses. Une étude montre qu'à une concentration de 0.04 µg.ml^-1 d'IVM dans de l'eau d'arrosage, l'IVM inhibe la croissance des racines de moutarde de 20 % (Vokřál et al., 2019). Une concentration d'IVM aussi faible que 0,001 ppm a déjà des effets visibles sur les diptères (Strong & James, 1993). L'utilisation de l'IVM représenterait une perte de 6 000 000 £/ an rien qu'en services écosystémiques fournis par les coléoptères coprophages pour la filière bovine anglaise (Beynon et al., 2015). En effet, l'élevage en pré s'inclut dans un écosystème complexe et fragile, et bouleverser cet équilibre avec des intrants peut apporter des conséquences néfastes à long terme. Par exemple, l'élevage d'herbivores en pré requiert la présence d'herbage de qualité en quantité suffisante pour nourrir les animaux. La couverture végétale dépend elle de la météo et de la qualité du sol. La qualité du sol dépend notamment du traitement des matières organiques, de l'aération du sol, des composés chimiques, le tout régi par les organismes du sols, sensibles aux polluants (figure 1 et 2). L'élevage est donc dépendant du bon fonctionnement de son écosystème local, et de la bonne santé de la biodiversité qui l'accompagne. Alors, un parasite ou un vermifuge ?

Définition des parc zoologiques

Rétrospective du développement des zoos en Europe avant les années 2000

La définition d'un parc zoologique est complexe, de part son histoire récente, et de part la diversité des établissements que cela représente (Nekolnỳ and Fialová, 2018). La diversité des activités des zoos actuels apporte encore du flou quant à la définition du mot (Dupont, 2024; Roux, 2023). L'encyclopédie Larousse propose : "lieu public où sont présentés aux visiteurs des animaux en

captivité ou en semi-liberté et appartenant à des espèces exotiques ou rares. (Synonyme : zoo.)" (Larousse, n.d.). Par lieu public il faudrait entendre espace accueillant des visiteurs, car les parcs zoologiques peuvent aujourd'hui être publiques à but non-lucratif, ou privés, c'est-à-dire gérés par des entreprises privées ayant un but lucratif. Historiquement d'ailleurs, les parcs zoologiques sont issus de collections privées d'animaux vivants, appelés ménageries (Baratay et Hardouin-Fugier, 2004). Le premier zoo public de France, la ménagerie du Jardin des Plantes, apparaît à Paris en 1794, à la charge du Muséum National d'Histoire Naturelle. Au début du 20e siècle, Carl Hagenbeck, spécialiste des zoos humains et des cirques, crée le premier zoo sans barreaux en Allemagne, dont les enclos sont notamment délimités par des fossés parfois remplis d'eau tels des douves (Baratay et Hardouin-Fugier, 2004). L'activité principale des zoos jusqu'aux années 1970 environ en France est principalement divertissante. On parle ainsi de collections figées, et les animaux prélevés directement à l'état sauvage sont "consommés" comme on consommerait des fleurs coupées (Gay, 2016). En effet, les gestionnaires de zoo ne se préoccupent pas du bien-être de leur collection, ce qui rend les espérances de vie extrêmement courtes. Ainsi, le parc zoologique cumule les activités de loisir avec la présentation au public, et les activités d'élevage avec la reproduction des espèces détenues. Petit à petit, avec l'arrivée des défenseurs des droits des animaux et des mouvements écologistes, la mission première des zoos va changer pour s'inclure dans une société qui semble se sensibiliser aux autres êtres vivants qui l'entourent.

Importance du lien entre les zoos et l'écologie de la conservation

Plusieurs organisations ont vu le jour pour réglementer les conditions de vie des animaux, et garantir l'éthique des parcs zoologiques, notamment à la suite à la convention de Washington de 1973 encadrant la détention et les transferts de faune sauvage. Par exemple, l'Association Française des Parcs Zoologiques (AFdPZ) regroupe une centaine de parcs zoologiques en métropole et en outre-mer. Sur le même principe, la European Association of Zoos and Aquariums (EAZA) et la World Association of Zoos and Aquariums (WAZA) regroupent des centaines de parcs zoologiques et aquariums à travers le monde. Ces regroupements permettent l'homogénéisation des objectifs fixés pour les zoos et la mutualisation des données et des connaissances à l'échelle internationale. En 2002, l'IUCN (International Union for Conservation of Nature) reconnaît le rôle des zoos dans la conservation *ex situ* de la biodiversité (IUCN, 2003).

Au cours des dernières décennies, les zoos se sont de plus en plus concentrés sur les efforts de conservation de la faune sauvage (WAZA, 2005). Pierre Gay, pionnier du “zoo 3.0” selon ses termes, fait ainsi l’éloge de cette nouvelle version du zoo en prônant son rôle de catalyseur du rétablissement des liens entre populations humaines locales, environnement et espèces animales (Gay, 2016). Les engagements autoproclamés des zoos se divisent aujourd’hui selon cinq grandes missions : conservation, éducation, recherche, divertissement et bien-être animal (Colléony, 2016; Rose and Riley, 2022). Le point divertissement est garanti par l’attractivité du parc. La plupart des zoo ont aujourd’hui un pôle pédagogique intégrés à leurs effectifs salariés, proposent des animations pédagogiques pour les visiteurs, accompagnent la visite de panneaux informatifs, le point éducation semble donc largement développé. Le bien-être animal a fait un grand pas en avant ces dernières années en France, notamment grâce aux contrôles réguliers mis en place par les organisations de zoo nationales ou internationales. Un nouveau cadre législatif a aussi grandement participé, car depuis le 1er janvier 2022 tout élevage français doit avoir un responsable bien-être animal “formé au bien-être animal notamment chargé d’y sensibiliser les personnes exerçant leur activité en contact avec les animaux.” (Castex et al., 2020). Les zoo semblent être des acteurs sérieux de la recherche avec une spécialisation dans les sujets de zoologie et de médecine vétérinaire (Loh et al., 2018). Enfin, s’ils n’ont pas toujours la possibilité de participer à de grandes actions de conservation, leurs engagements envers les grandes organisations de zoo et aquariums, comme l’AFdPZ en France, permet leur implication dans la conservation, par exemple grâce à des collaborations avec l’IUCN et de grandes campagnes de financements de projets de conservation (IUCN, 2023). Les zoos sont aussi moteurs des actions de réintroductions à succès, comme par exemple l’implication de Doué-la-Fontaine dans la réintroduction des vautours dans les montagnes Cévenoles ou en Pyrénées (Gay, 2005).

Mais la réalité des chiffres montre que la plupart des efforts de conservation, de recherche et d’éducation fournis par les zoos sont dirigés vers une sélection limitée d’espèces animales, principalement des mammifères, et s’effectuent dans la plupart des cas par le biais d’un soutien financier à des associations ou des ONG (Miranda et al., 2023). Les articles scientifiques traitant de sujets de conservation ne représentent que 7% des articles publiés avec la participation d’un zoo (Loh et al., 2018). La captivité de façon générale pose de plus en plus de questions éthiques, et l’impact réel de la mission éducative sur les visiteurs est régulièrement remise en cause (Clayton et al., 2014; Moss and Esson, 2013;

Roe et al., 2014; Vincelette, 2024; Woods, 2002). Comme écrit par Mathilde Gallay-Keller en 2019 : " [...] dans leur volonté actuelle de sensibiliser à la « biodiversité en danger », les zoos tentent une autojustification de leur existence, mais restent confrontés à leurs paradoxes.". Ainsi, bien que le concept du zoo 3.0 semble avoir été mis en place avec succès à l'échelle européenne, ce fonctionnement exclut la responsabilité du zoo envers son propre espace géographique.

Alors est-ce qu'il ne serait pas temps de lancer le zoo 4.0 ? Celui qui s'intègre dans son environnement d'implantation. Celui qui prend conscience de son impact. Celui qui mesure l'ampleur du problème au pied de ses enclos. Il est difficile de justifier la conservation d'une espèce emblématique à l'autre bout du monde quand finalement l'activité des zoos se fait au détriment d'espèces locales et d'écosystèmes dont ils dépendent. Ainsi, un des axes d'amélioration envisageables serait d'intégrer une politique de conservation in-situ en interne. En effet, les zoos peuvent s'apparenter à des refuges pour les espèces sauvages locales, quel que soit le taxon (Brereton, 2022; Elwell et al., 2021), soulignant l'importance d'intégrer des stratégies de conservation locales. Ces stratégies seraient particulièrement intéressantes pour les zoos dans le cas d'espèces contribuant aux services écosystémiques, comme les coléoptères coprophages (Brereton, 2022). Dans leur évolution, les zoos pourraient maintenant se placer dans une démarche innovante afin de mettre en place des systèmes d'élevages durables qui puissent avoir valeur d'exemple. Cette évolution semble en cohérence avec les attentes du monde de l'agriculture qui pourrait bénéficier des avancées faites en zoo, bien que l'élevage de production n'ait pas les mêmes objectifs ni les mêmes contraintes économiques.

La Réserve Africaine de Sigean

La Réserve Africaine de Sigean (RAS) est un des plus vastes parcs zoologiques de France, comptabilisant plus de 350 hectares de surface dont 200 sont conservés en espaces naturels et 150 hectares sont dédiés à l'activité de zoo (espaces de présentation d'animaux, espaces visiteurs et coulisses inclus). La RAS est implantée depuis 50 ans au bord de la mer méditerranée, entre les roches du massif des Corbières et les salins de Gruissan. Le zoo profite donc d'un climat méditerranéen chaud et sec, et la végétation alentour est principalement constituée de garrigue, de pinède, de sansouïre et de vigne. Inclue dans le Parc Naturel Régional de la Narbonnaise, classée en Espace

Naturel Sensible (ENS), en site Natura 2000 et en Zone Naturelle d'Intérêt Ecologique, Faunistique et Floristique (ZNIEFF), la RAS s'est engagée dès sa construction dans la conservation des habitats et de la biodiversité in-situ et ex-situ. Ainsi, elle est un membre actif engagé de l'AFdPZ et de l'EAZA. La RAS a aussi à cœur de communiquer et de participer à la recherche à travers des partenariats ou mécénats de programmes de conservation, associations et ONGs au niveau local (Aude Claire, ADENA, Aude Nature, etc…) et au niveau international (J.A.C.K en République Démocratique du Congo, AKATIA en Côte d'Ivoire, SAVE THE RHINO en Afrique du Sud, etc…). Le zoo semble donc être un bon exemple de zoo 3.0.

La RAS attire chaque année près de 350 000 visiteurs, venus rencontrer les 2500 animaux appartenant à 140 espèces différentes. Au-delà de l'élevage de plusieurs espèces menacées à différents degrés en captivité, la RAS est aussi un lieu de passage et de vie pour beaucoup d'espèces sauvages. Il est possible d'observer près de 230 espèces d'oiseaux sauvages sur le parc, dont une population de 900 moineaux domestiques (effectif en 2023), *Passer domesticus* (Linnaeus, 1758), abrités par des murs à moineaux. Leur suivi a débuté en 2018 et se poursuivra dans les années à venir. Au moins 5 espèces de chiroptères cohabitent sur l'espace de la RAS, dont trois représentent un intérêt de conservation fort à très fort (*Miniopterus schreibersii, Rhinolophus ferrumequinum* et *Myotis blythii*). On trouve aussi deux espèces de mammifères à fort intérêt de conservation : la Loutre d'Europe (*Lutra lutra*, observée en 2012) et le Campagnole amphibie (*Arvicola sapidus* observé en 2015) ; et le Lézard ocellé (*Timon lepidus*) une espèce de reptile considérée à fort intérêt de conservation de la région. Un inventaire des arachnides présents sur le bord littoral de la RAS en juin 2023 a notamment recensé deux espèces classées "en danger" sur la liste rouge de l'IUCN (*Paidiscura dromedaria* (Simmon, 1880) et *Zelotes mundus* (Kulczyński, 1897)), deux espèces vulnérables (*Devade indisctincta* (*O.* Pickard-Cambridge, 1872) et *Oxyopes mediterraneus* (Levy, 1999)) et une espèce, *Agyneta inermis* (Tanasevitch, 2019), n'a été observée que sur un seul autre site en France il y a plus de 70 ans. Enfin, la RAS est devenue acquisitrice de patrimoine foncier à haute valeur environnementale, confiés en gestion au Conservatoire d'Espace Naturels Occitanie.

La communication de la RAS insiste particulièrement sur la naturalité des espaces. Ainsi, parmi les quatres points forts mis en avant sur leurs supports de communication, on peut lire : "Un grand respect des animaux et de la

nature", "Un espace naturel de 350 hectares" et "Un lieu de conservation et de recherche". De plus, une page entière de leur site internet est dédié à la conservation de la faune locale (arthropodes, avifaune, etc…), notamment par le financement d'associations locales et par la mise en place d'un plan de gestion "écologiquement responsable [...] avec pour objectif de préserver ce patrimoine naturel animal et végétal et pourquoi pas voir revenir certaines espèces qui n'ont pas été retrouvées lors des inventaires" (citation du site reserveafricainesigean.fr). Entre la volonté de conservation et les contraintes liées aux objectifs de divertissement, la RAS doit faire des compromis. Cette thèse se positionne donc de façon à mieux comprendre les mécanismes qui régissent d'une part la charge parasitaire dans les groupes d'équidés, et d'autre part la distribution des assemblages de bousiers, afin de donner à la direction de la RAS les outils nécessaires à une prise de décision avertie.

PARTIE 1 : RELATION HÔTE-PARASITES CHEZ LES ZÈBRES DE GRANT EN CAPTIVITÉ

Introduction partie 1

Le modèle équin

La grande famille des équidés s'inclut dans l'ordre des Périssodactyles, au même titre que les Rhinocérotidés (rhinocéros) et les Tapiridés (Tapirs). Au sein des équidés (genre *Equus*), la phylogénie actuelle s'accorde sur l'identification de 2 espèces domestiques : le cheval domestique (*Equus caballus*) et l'âne domestique (*Equus asinus*); ainsi que de sept espèces sauvages (Librado and Orlando, 2021) : le zèbre des plaines (*Equus quagga*), le zèbre de Grevy (*Equus grevyi*) et le zèbre des montagnes (*Equus zebra*), l'âne sauvage d'Afrique (*Equus africanus*), l'âne sauvage d'Asie (*Equus hemionus*), le kiang (*Equus kiang*), et le cheval de Przewalski (*Equus ferus przewalskii*). Les zèbres des plaines vivent au sud-est du continent africain, dans un paysage composé de grandes plaines comme leur nom l'indique. L'espèce se subdivise en 5 sous-espèces non éteintes dont le zèbre de Grant (*Equus quagga boehmii,* Matschie, 1892). Le zèbre des plaines est l'espèce d'équidé sauvage la plus représentée en termes de nombre d'individus et en termes d'aire de répartition (Hack et al., 2002). Pourtant, depuis 2016, cette espèce est classée "quasi menacée" (LC) sur la liste rouge de l'IUCN. En effet, la population est en déclin significatif, avec notamment une perte de 24% des effectifs entre 2002 et 2016, et elle a presque disparu en dehors des espaces protégés (King and Moehlman, 2016).

Avec un ancêtre commun présumé datant du Pliocène (Librado and Orlando, 2021), il y a environ 4 millions d'années, toutes les espèces comprises dans le genre *Equus* présentent des similarités physiques, physiologiques et comportementales. Les équidés sont en effet tous grégaires, et leurs stratégies sociales peuvent être soit de l'ordre du harem où les mâles défendent un groupe de femelles pour avoir accès à la reproduction, soit de l'ordre territorial où les mâles défendent une ressource délimitée sur une zone géographique (Boyd et al., 2016). Les espèces sauvages dont la stratégie sociale est basée sur le harem vivent en groupes sociaux complexes constitués selon différents niveaux intégrant la horde, considéré comme le niveau le plus large et composé de harems et de groupes de mâles célibataires (Ozogány et al., 2023; Rubenstein and Hack, 2004). Le harem est un groupe familial généralement composé de plusieurs femelles, de leurs jeunes encore immatures, et d'un étalon reproducteur (Hack et al., 2002; Klingel, 1969; Linklater, 2000; Mills and McDonnell, 2005). Ce groupe familial est connu pour être stable dans le temps (Klingel, 1969; Mills

and McDonnell, 2005; Vitet et al., 2020), et régi par une hiérarchie linéaire dont la tête est occupée par la femelle la plus âgée ou la plus ancienne dans le groupe la plupart du temps (Andersen, 1992; Pluháček et al., 2006; Rubenstein and Hack, 2004; Simpson et al., 2012). Contrairement à l'idée populaire selon laquelle les étalons sont les individus les plus dominants du groupe, plusieurs études montrent qu'ils auraient plutôt un rôle protecteur pour le groupe, au-delà du rôle de reproducteur (Briard, 2015; Houpt and Keiper, 1982).

Les parasites des équidés

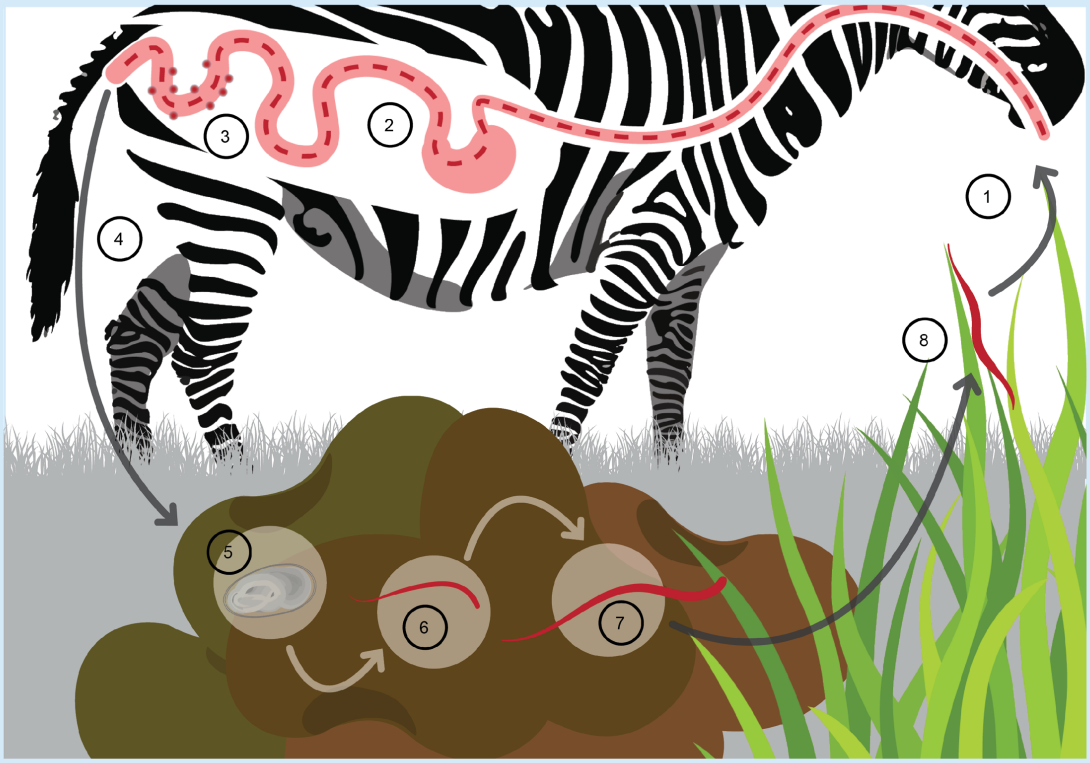
Les équidés sont hôtes de nombreuses espèces d'exo et d'endoparasites, dont les parasites gastro-intestinaux. Nous pouvons énumérer 4 grandes familles principales : les strongles, les *Parascaris*, les ténias et les coccidies. N'ayant pas observé de ténia durant ce travail de recherche, nous nous concentrerons sur les 3 autres grandes familles. Toutes présentent des cycles simples, c'est à dire qu'elles ne comportent qu'un seul hôte durant leur phase endogène (Nielsen and Reinemeyer, 2018), et toutes peuvent être hautement pathogéniques et mener jusqu'à la mort de l'hôte (Love et al., 1999; Nielsen and Reinemeyer, 2018; Nielsen, 2012). L'utilisation massive d'antiparasitaires a mené petit à petit à une simplification des communautés de parasites, favorisant les espèces à forte capacité mutagène (Kuzmina et al., 2024). Cette sélection à long terme favorise ainsi le développement des espèces de parasites compétitifs, augmentant les probabilités d'apparition de résistance aux antiparasitaires. Plusieurs études prônent la conservation de ces communautés parasites afin de conserver aussi la compétition interspécifique au sein des hôtes et dans l'environnement (Gómez and Nichols, 2013; Lymbery and Smit, 2023; Nichols and Gómez, 2011; Northover et al., 2018). Il est nécessaire de rétablir le lien entre les parasites et l'écosystème externe dans lequel ils évoluent (Coulson et al., 2018).

La grande famille des strongles est subdivisée en deux, avec d'une part les grands strongles, et d'autre part les petits strongles (les cyathostomes). Les grands strongles comptent une espèce en particulier chez les équidés : *Strongylus vulgaris*. Ils ont longtemps représenté la préoccupation principale des détenteurs de chevaux (Duncan, 1973). Mais à force d'élimination par les antiparasitaires, ils sont maintenant devenus minoritaires et ne présentent finalement qu'un risque mineur pour les poulains (Lyons et al., 1999). Cependant, les cyathostomes semblent avoir pris le relais avec une prévalence de plus de 90% tant en condition sauvage qu'en captivité (Fugazzola and Stancampiano,

2012; Kuzmina et al., 2016; Love et al., 1999; Merlin et al., 2024; Sallé et al., 2020). On compte une cinquantaine d'espèces différentes (Lichtenfels et al., 2008), et en Europe, certaines d'entre elles peuvent être observées aussi bien chez le cheval, le poney ou le zèbre (Kuzmina et al., 2013). Il semblerait que la temporalité du cycle de développement soit similaire entre les différentes espèces de cyathostomes (Reinemeyer et al., 1986). Le cycle de développement des cyathostomes est présenté figure 3. L'accumulation de strongles peut provoquer chez l'hôte une perte de poids et des coliques sévères. Le taux de mortalité des hôtes présentant des signes cliniques peut atteindre les 50% (Corning, 2009).

Les *Parascaris* sont des nématodes ubiquistes, couramment observés chez les jeunes individus ânes, chevaux et zèbres (Roberts et al., 2024). Les équidés adultes semblent avoir développé une immunité acquise contre les *Parascaris* (Bello, 1985; Clayton and Duncan, 1979; Klei, 2000). Il n'existe que deux espèces de *Parascaris* chez les équidés : *Parascaris* equorum (espèce la plus souvent rencontrée), et *Parascaris* univalens. Au moins l'une d'entre elles semble être capable d'infecter autant les chevaux que les zèbres (Peng et al., 2019). Les œufs de *Parascaris* sont excrétés dans l'environnement à travers les déjections de l'hôte. Puis la larve va se développer dans l'œuf, qui pourra rester dans l'environnement pendant près de deux ans en attendant d'être ingéré. La larve éclot dans l'estomac de l'hôte, puis pénètre les muqueuses intestinales afin de migrer à travers le foie et les poumons, et de revenir dans les intestins. C'est là que les parasites adultes se reproduisent et forment de nouveaux œufs. Les ascaridoses se manifestent généralement par des signes cliniques pulmonaires (toux, écoulements nasaux), par un développement corporel ralenti, par une rupture ou une occlusion intestinale liée à l'accumulation de vers dans l'intestin grêle (Nielsen et al., 2016).

Les coccidies font partie des protozoaires, et deux genres sont connus pour infecter les équidés : *Eimeria* (représenté par *E. leuckarti*) et *Cryptosporidium* (représenté par *C. parvum*). On rapporte des observations de coccidiose chez tous les équidés en captivité (Cizauskas et al., 2015; Dubey and Bauer, 2018; Nielsen et al., 2019) mais le parasite semble absent chez les zèbres sauvages (Lathuilliere, 2018; Turner and Getz, 2010). Les oocystes, ou sporogonies, sont excrétés dans l'environnement à travers les déjections de l'hôte. Le parasite se développe ensuite dans le sol jusqu'à former des oocystes sporulés très résistants dans le milieu. Ces oocystes sont ingérés par un animal hôte. Lors de



Cycle de vie des cyathostomes (Bowman and Georgi, 2014)

1. Contamination.
La larve infestante (L3I) du parasite est ingérée par un hôte lors de la prise alimentaire ou de boisson.

2. Circulation de la larve dans l'hôte.
La larve de parasite ingérée (L3E) va circuler avec les aliments jusqu'au gros colon.

3. Développement interne.
Les larves L3E vont perdre leur enveloppe afin de traverser les tissus de la muqueuse intestinale, où elles s'enkystent. Les larves enkystées peuvent évoluer puis émerger en 10 semaines dans la lumière du gros intestin. Elles peuvent aussi entrer en hypobiose, arrêtant leur développement jusqu'à deux ans. Leur émergence en masse est la principale cause de cas cliniques. Les parasites adultes émergeants se fixent à la parois du côlon, et après fécondation les femelles pondent des œufs.

4. Excrétion des œufs.
Les œufs de cyathostomes transitent avec les déjections de l'hôte et sont excrétés dans l'environnement.

5-7. Développement larvaire dans le crottin.
Les œufs de cyathostomes vont éclore dans le crottin si les conditions environnementales sont favorables (hygrométrie d'environ 80% et températures autour de 25°C dans le crottin). Les larves évoluent du stade L1 au stade L3I.

8. Dispersion.
La larve L3I a la particularité d'être mobile. Elle va se déplacer hors du crottin, notamment sur l'herbage.

Figure 3 : Présentation succinte du cycle de vie des cyathostomes d'après les indications de Bowman et Georgi, 2014.

la digestion, ils libèrent des sporozoïtes qui colonisent les cellules épithéliales intestinales. La multiplication asexuée des sporozoïtes permet la formation de schizontes, qui eux mêmes se développeront en macro- ou microgamontes permettant la formation de la génération suivante d'oocystes, par multiplication sexuée. La prévalence des coccidies chez les équidés est généralement assez faible et touche principalement les jeunes (Dubey and Bauer, 2018).

Problématiques

Depuis les années 1985, les parasitologues recommandent la réduction du nombre et de la quantité de traitements appliqués aux équidés (Herd, 1990; Herd et al., 1985). La plupart des parasites sont agrégés au sein de la population d'hôtes. En résulte une distribution hétérogène des parasites avec quelques hôtes hautement parasités tandis que la majorité des autres hôtes supportent une charge parasitaire raisonnable n'ayant pas d'impact crucial sur leur survie (Poulin, 2007; Wilson et al., 2002). La règle des 20/80% s'applique généralement : 20% des individus hôtes contribuent à 80% de la transmission parasitaire (Woolhouse et al., 1997). C'est le cas des strongles digestifs dans les populations de chevaux (Nielsen et al., 2024; Scala et al., 2020; Stratford et al., 2011) et de zèbres en captivités ou sauvages (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Turner and Getz, 2010). Cette agrégation parasitaire fait des équidés de bons candidats pour l'application de protocoles de traitement vermifuges ciblés sélectifs, recommandés par les autorités vétérinaires (Abbas et al., 2023b; Becher et al., 2010; Kaplan and Nielsen, 2010; Rendle et al., 2024; Wallace, 2022). Ce protocole raisonné permet de réduire la quantité de molécules vermifuges utilisées en ne traitant que certains individus forts excréteurs (Duncan et Love, 1991). De ce fait, comprendre les déterminants de cette agrégation parasitaire est crucial pour mieux contrôler la charge parasitaire des hôtes (VanderWaal and Ezenwa, 2016; Morgan et al., 2019).

BOX 3 : Le traitement ciblé sélectif (Duvauchelle-Waché et al., 2017) :

Ce protocole repose sur le principe de conservation de populations refuges de parasites, c'est-à-dire maintenir des populations de parasites qui ne subissent pas la pression de sélection induite par les antiparasitaires. En théorie, ces populations refuges permettent la dilution des gènes de résistance aux antiparasitaires. Ce protocole raisonné pose la question de savoir, pour chaque type de parasite, quels individus vermifuger, et quand. Il ne cible que les individus fortement excréteurs qui représentent une plus grande source de contamination pour le reste du groupe, et les individus présentant un fort risque de parasitose. Par exemple, chez les chevaux, et concernant les strongles digestifs (Rendle et al., 2019), il est recommandé de traiter particulièrement les individus de moins de 5 ans et de plus de 15 ans, et de concentrer les traitements au printemps et en automne. De plus, il est recommandé de réaliser régulièrement des analyses fécales afin de détecter les individus fortement excréteurs qui ne rentreraient pas dans ces catégories sensibles. Le résultat de ces analyses fécales, donné en nombre d'œufs de parasite par gramme de déjection (opg), est comparé à une valeur seuil prédéfinie. Ainsi, chez les chevaux il est recommandé de traiter au dessus de 250 opg (Rendle et al., 2019).

Les travaux de recherche présentés dans cette première partie se concentrent sur la relation hôtes-parasites chez les zèbres des plaines élevés en captivité en Europe. Ils ont été réalisés dans un seul et même enclos du circuit voiture de la RAS, certains zèbres sont donc représentés dans chacune des études. L'évaluation de la charge parasitaire a été réalisée par analyse fécale. Cette méthode évalue la charge parasitaire des strongles, des *Parascaris* et des coccidies en simultané. Nous avons choisi de ne traiter que les données liées aux strongles digestifs, présentant le principal danger pour la santé des zèbres. L'analyse des données de *Parascaris* et de coccidies récoltés en 2022 et 2023 est encore en cours et ne sera donc pas intégrée au manuscrit. La première étude présentée dans ce chapitre est dédiée à l'analyse de la dynamique d'infection parasitaire chez les zèbres après l'administration d'un vermifuge. Cette première étude nous a conduit à modifier le protocole d'administration des antiparasitaires, passant d'une administration en libre accès avec les nourriture, à une administration individuelle par fléchage. Les individus les plus sensibles aux parasites sont les jeunes de moins de 3 ans. La deuxième étude s'intéresse donc à la dynamique de la charge parasitaire des strongles digestifs chez les jeunes zèbres de moins de 3 ans, en traitement ciblé sélectif. Cette

deuxième étude nous a permis de définir les meilleures périodes de traitement antiparasitaire chez les jeunes afin de garantir leur bien-être. Enfin, bien que les strongles ne représentent pas un danger important pour les équidés adultes, la dynamique d'excrétion des œufs de parasites influence la charge parasitaire du pâturage et donc les risques d'infection de tous les individus de l'enclos. Au cours de la dernière étude nous nous sommes donc intéressé à la dynamique de la charge parasitaire des zèbres adultes au cours du temps, toujours en condition de traitement ciblé sélectif.

CHAPITRE 1 : SOCIAL BEHAVIOR IMPACTS PARASITE INFECTION RISK IN EQUID GROUPS

Authors: Cloé **Joly**, Lyna **Rachid Martin**, Alix **Ortega**, Freddie-Jeanne **Richard**

Journal: Applied Animal Behaviour Science, Volume 269, 2023, 106091, ISSN 0168-1591,
https://doi.org/10.1016/j.applanim.2023.106091.
(https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168159123002630)

Contexte d'étude

La partie terrain de cette étude a été réalisée lors de mon stage de fin de master. Ce stage a eu lieu en 2019, et était encadré par A. Ortega, docteure vétérinaire à la RAS, et L. Rachid, aujourd'hui référente bien-être animal à la RAS. A ce moment, le groupe de zèbres de Grant de la RAS comptait une vingtaine d'individus, et les traitements antiparasitaires étaient administrés par voie orale de manière régulière et systématique une à deux fois par an au printemps et/ou en automne. L'antiparasitaire était mélangé à la ration journalière des animaux, et distribué à même le sol de l'enclos sans aucun contrôle d'accès. De ce fait, tous les herbivores de l'enclos étaient théoriquement vermifugés simultanément. Mon stage faisait écho à une volonté de la RAS de diminuer l'utilisation de ces antiparasitaires, tout en garantissant la bonne santé des zèbres. J'avais aussi comme mission de contrôler le bon fonctionnement de la méthode d'administration en déterminant la période de réapparition des œufs dans les déjections après traitement. Sortant d'un master spécialisé en éthologie, j'ai pris le parti d'utiliser cet atout et d'étudier l'agrégation parasitaire selon les comportements sociaux des zèbres.

Le travail réalisé pendant ces six mois a d'abord fait l'objet d'un rapport de stage, d'une soutenance orale, et d'une présentation orale devant les employés de la RAS et l'association des Amis de la Réserve Africaine de Sigean (A.R.A.S.). Puis, sur le conseil de mes professeurs à l'université, j'ai pu utiliser ce travail pour démarcher les futurs directeurs de thèse et l'ANRT pour l'obtention d'un financement CIFRE. Enfin, c'est durant la thèse que nous avons travaillé à la valorisation de ce travail sous forme d'article scientifique publié dans le journal Applied Animal Behavior en 2023. En découlent les deux autres études présentées dans cette thèse.

Résumé

Parmi les coûts variés liés au comportement grégaire, la proximité entre individus contribue fortement à faciliter la transmission parasitaire. Cependant, l'intensité de la charge parasitaire varie entre les individus d'un groupe social. Identifier les causes de cette agrégation parasitaire a donc un fort intérêt pour le contrôle du parasitisme. Dans cette étude, nous avons examiné l'impact des comportements sociaux des hôtes ainsi que les conséquences des traitements antiparasitaires sur la distribution des parasites gastro-intestinaux du plus grand groupe européen de zèbres de Grant (*Equus quagga boehmi*). Pendant 44 jours d'observations répartis sur 3 mois, 22 zèbres élevés dans un enclos de 6 hectares ont été observés en focal sampling de 10 minutes. L'infection individuelle en strongles et en coccidies ont été estimés mensuellement à l'aide d'un kit commercial OVATEC® d'analyses fécales à vocation vétérinaire pour le décompte des œufs et oocytes de parasites. Nous avons utilisé des modèles GLMM comprenant l'age, le sexe, et le temps avant ou depuis le traitement antiparasitaire comme facteur fixes, et les comportements sociaux (degré de connection et coefficient de dominance) comme prédicteurs du nombre d'oeufs et d'oocystes excrétés par gramme de déjection. Nos résultats montrent que la structure sociale observée dans le groupe de zèbres captifs est similaire à celle observée chez les zèbres sauvages et chez les chevaux : les mâles reproducteurs sont répartis dans des sous-groupes constitués de femelles et de leurs jeunes, la hiérarchie s'établit de façon à ce que la femelle la plus âgée soit la plus dominante. Avant l'administration du traitement antiparasitaire, les femelles étaient plus parasitées que les mâles. Après l'administration d'antiparasitaires, nous avons observé une diminution significative du nombre d'œufs de strongles excrétés, et une augmentation significative du nombre d'oocystes de coccidies. Nous discutons d'une possible compétition inter-spécifique entre les parasites au sein de l'hôte. Après traitement, environ 20% des zèbres portaient 70% de la charge parasitaire en strongles du groupe. La dominance et le degré de connexion sont de bons prédicteurs de la ré-infestation parasitaire après vermifugation. Des études complémentaires sont nécessaires afin de déterminer précisément de potentiels comportements marqueurs d'un statut social de l'hôte favorable au développement du parasite. Les nouvelles stratégies d'administration d'antiparasitaires dans de grands groupes d'équidés pourraient prendre en compte l'organisation sociale du groupe afin de cibler les individus forts excréteurs.

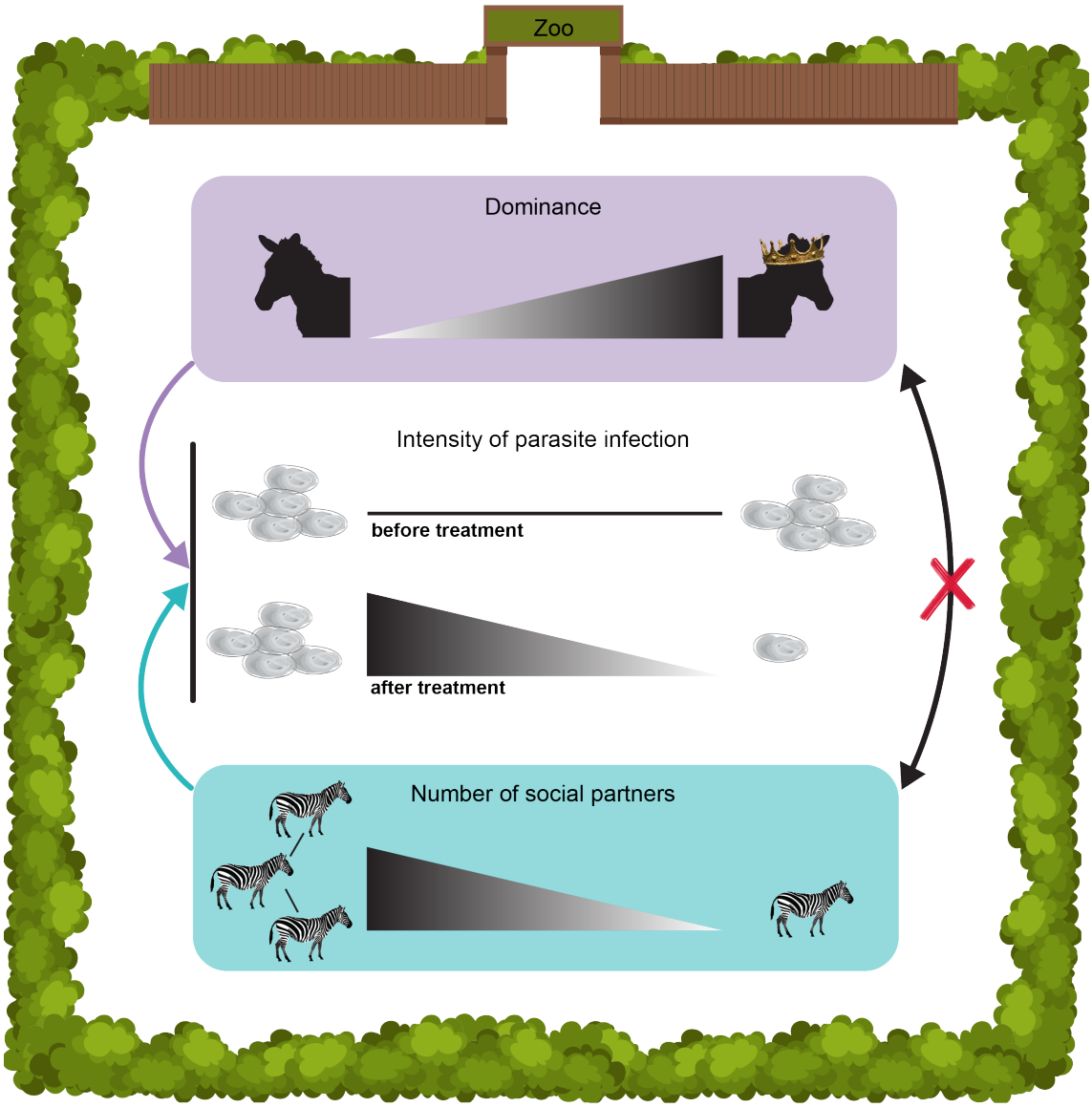
Abstract

Among the various costs of gregarious behaviors, proximity highly contributes to facilitating parasite transmission. However, the intensity of parasite infection varies between individuals of a social group. It is then of high interest to identify the causes of such inequality for parasite management. In this study, we investigated the impact of individual social behaviors on parasite distribution in the largest European group of captive plains zebras (*Equus quagga boehmi*) and the consequences of anthelmintic treatment. For six months, 22 plains zebras were kept in a safari enclosure and observed for 10 minutes each by focal sampling for a total of 44 days over three months. Strongyle and coccidia individual infections were estimated monthly with a commercial OVATEC® Plus fecal analysis kit provided to veterinarians for fecal egg/oocyst count. Then, we used GLMM models with age, sex and time until or since anthelmintic treatment as fixed factors and with social factors (degree of connection and dominance) as predictors of individual variation in fecal parasite eggs and oocyst shedding. The social structure observed in captive plains zebras is comparable to that of wild plains zebras and horses. Before treatment, females were more infected than males. Then, we observed an increase in coccidia infection after anthelmintic treatment, and approximately 20% of zebras carried 70% of the total strongyle infection. Dominance, and degree were strong predictors of an individual 's strongyle infection intensity after anthelmintic treatment. Further investigation is needed to identify new treatment strategies based on social behaviors and to improve anthelmintics administration in large groups of equids.

Keywords: coccidia; fecal egg count; hierarchy; social network; strongyle; *Equus* quagga

Abbreviations: Réserve Africaine de Sigean (RAS); Egg Per Gram (epg); Oocyst Per Gram (opg) ; Fecal Egg Count (FEC); Fecal Oocyst Count (FOC)

Graphical abstract



Introduction

While gregariousness includes benefits (Lehtonen and Jaatinen, 2016; Olson et al., 2015; Taraborelli et al., 2012; Webster et al., 2004), it also has negative consequences, such as intraspecific competition for food or reproductive sites (Krause and Ruxton, 2002), and pathogen transmission between group members which increases with proximity (Hawley et al., 2011; Torfs et al., 2021). Furthermore, social species are excellent systems to examine a pathogen spread (Aubert and Richard, 2008; Rimbach et al., 2015; Webber et al., 2016), especially because social groups are small systems and easier to study than pathogen transmission at the population level.

Research with social mammals suggests that social behaviors affect pathogen transmission within groups (Rimbach et al., 2015; VanderWaal and Ezenwa, 2016) and individual infection levels (Altizer et al., 2003; Ezenwa, 2002; Halvorsen, 1986). Indeed, parasite infection intensity and prevalence, such as gastrointestinal parasites, varies with group size and can either increase or decrease, mostly depending on the parasite's transmission path (Coté and Poulin, 1995). However, the mechanisms linking social behaviors and parasitism are still poorly known, and the need to identify the causes of individual infection variation through social behaviors was recently highlighted (Briard and Ezenwa, 2021). For this purpose, social network analyses highly contribute to understanding parasite infection dynamics within a group (Silk et al., 2019; White et al., 2017; Williams et al., 2017). Indeed, many studies explain pathogen transmission through social networks, mostly with three parameters: degree, eigenvector centrality and betweenness centrality. The degree corresponds to the number of connections received or given by one individual (Newman, 2010; Whitehead, 2008; Williams et al., 2017); eigenvector centrality corresponds to how well-connected, both directly and indirectly, an individual is (Freeman, 1978; Newman, 2010; Whitehead, 2008); and betweenness centrality corresponds to the frequency an individual occurs on the shortest path between two other individuals in the network (Krause et al., 2015; Newman, 2010; Torfs et al., 2021). The parameter best explaining parasite transmission highly depends on the method of transmission used by the parasite and on the social organization of the host (Briard and Ezenwa, 2021). On the other hand, parasite infection can modify social networks because of the avoidance of infected individuals (Müller-Klein et al., 2019). Moreover, an individual parasite infection can be affected by its own behaviors, as parasite avoidance behaviors were observed in

herbivorous species (Michel, 1955). For example, horses choose their foraging zone at least one meter from potentially contaminated environments, such as dung patches (Fleurance et al., 2007).

Gastrointestinal parasites are a common equid pathology (Francisco et al., 2009) and can be lethal (Giles et al., 1985; Love et al., 1999; Murphy et al., 1997). Strongylidae nematodes (Francisco et al., 2009) and Coccidia (Lathuilliere, 2018) are observed in captive conditions. Both present a simple life cycle with only one host during the endogenous phase, making good subject models to study parasite transmission through host contact (Arneberg, 2002). The main source of infection is the ingestion of the infective form (Bowman and Georgi, 2014). In equid groups, approximately 20% of individuals shed 80% of the total group's strongyle egg shedding. This 20/80 rule is relevant for horses (Scala et al., 2020; Stratford et al., 2011) as well as for wild zebras (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Turner and Getz, 2010). The individual parasite infection intensity of horses is linked with the host's age or sex (Kornaś et al., 2010; Scala et al., 2020). Indeed, adults are more infected by strongyle than foals, and females are more infected than stallions (Kornaś et al., 2015; Nielsen et al., 2018; Scala et al., 2020). The cause of this last statement might be that pregnancy and lactation could reduce the immune activity of females and thus be favorable to larval development (Connan, 1976).

Likewise, the strongyle prevalence of wild plains zebra populations is approximately 98%, which is comparable to that of horses, and approximately 20% of zebras shed 80% of the total group's egg shedding (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Turner and Getz, 2010). Dominant wild zebras are less infected by strongyles than subordinates (Fugazzola and Stancampiano, 2012). However, if horses can be affected by both strongyle and coccidia parasites (Cizauskas et al., 2015; Nielsen et al., 2019), coccidia infection has yet to be reported in wild zebra populations (Lathuilliere, 2018; Turner and Getz, 2010) and was only once reported in captive plains zebra (Dubey and Bauer, 2018). However, the relationship between life history traits (age and sex) and individual parasite infection levels has not yet been investigated in zebras.

Plains zebras originate from the southern and eastern African savannas and are the most widespread and represented wild equid in the world. However, they are categorized as Near Threatened in the IUCN Red List since 2016 with significant population decline (King and Moehlman, 2016). They live in two kinds

of groups: very unstable bachelor groups composed of males only and harems composed of one breeding stallion, 2-3 mares and their foals (Hack et al., 2002; Klingel, 1969; Mills and McDonnell, 2005). Harem composition is known to be stable (Mills and McDonnell, 2005; Vitet et al., 2020). They are ruled by a linear hierarchy stable as well, with the older mare being the most dominant female in most cases (Andersen, 1992; Pluháček et al., 2006; Rubenstein and Hack, 2004; Simpson et al., 2012).

Previous studies on predictors of plains zebra parasite infection have only been conducted in wild systems (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Seeber et al., 2020). Seeber et al.'s (2020) study only focuses on the life history stage of zebras (age and sex). Moreover, dominance was assessed only for the most dominant individual in Fugazzola and Stancampiano's study despite dominance in equids being mostly linear (Klingel, 1969; Sigurjónsdóttir et al., 2003; van Dierendonck et al., 1995, 2004), and they based the identification of dominant females on leadership, although it has been demonstrated that leadership is not reliable for this purpose (Krueger et al., 2014). To our knowledge, no researcher has published and studied social network in any way as a predictor of plains zebra parasite infection.

In the current study, we estimated the individual parasite infection in the largest European group of captive plains zebras before and after anthelmintic treatment and conducted behavioral observations to characterize hierarchy and social structure. We assumed that the confined living conditions induced a homogeneously contaminated environment. Therefore, we tested the hypothesis that life history (age and sex), dominance and social network metrics (degree and strength) are predictors of individual parasite infection in captive plains zebra groups.

Material and method

Animal environment

Experiments were conducted at the Réserve Africaine de Sigean (RAS) France (43°03’45.5”N 2°57’00.9”E). The RAS holds 22 plains zebras (later called zebras) in a 6.5 hectares safari enclosure, with five other species (six wildebeest (*Connochaetes taurinus*), four watussi oxen (*Bos taurus*), four ostriches (*Struthio camelus*), two common elands (Taurotragus oryx) and one male white rhinoceros (Ceratotherium simum)). All zebras were born in the RAS except for the two stallions who were imported from another European park to limit inbreeding. The group composition changed during the study period due to the death of one individual, the departure of two others in the first month of observation and four births during the last month of observation. None of these individuals were included in the current study. Thus, the study group was composed of 12 mares (from 10 years old. to 18 y.*o.*), one of whom was not lactating, 2 stallions (5 y.*o.* and 10 y.*o.*), and 8 foals (from 6 months to 4 y.*o.*).
The animals had free access to five shelters. They are fed hay and grass distributed ad libitum and parasite-free pellets once a day year-round. The hay and grasses were considered parasite-free, as they were cultivated in dedicated plots inaccessible to herbivores. Water is available ad libitum at the drinkers next to the shelters or directly at the stream constituting one of the borders of the enclosure. The RAS is open every day year for visits, and visitors can drive through the safari enclosure with their own vehicle but are restricted to the road.

Behavioral observations

Zebras were observed from 25 March to 7 July 2019 by a single observer from a car. Zebras live in a safari park and are habituated to cars crossing the enclosure. The observer was able to individually identify zebras based on their stripe patterns after 2 weeks of daily observations. Those two weeks also constituted the habituation period for animals to the continuous presence of the car and the observer. Observations were always conducted during sessions of two hours starting either at 09:00 h and 13:00 h or at 11:00 h and 15:00 h every other day. Observation days were divided into 22 time slots of focal sampling (Altmann, 1974) of 10 minutes: 11 time slots during the morning session and 11 time slots during the afternoon session. Each individual was observed daily for one focal sampling and always at different time slots. Two similar interactions noted at 5-second intervals were considered to have occurred twice (Vervaecke

Table 1: Ethogram of the social behaviors of plains zebras. Behavior indicated with a * includes a physic contact between the mouth of an individual and its environment.

Category	Behaviour	Description¤
Affiliation	Social grooming*	Reciprocal coat care in which the partners stand beside one another, usually head-to-shoulder or head-to-tail, grooming each other's neck, mane, rump, or tail by gently nipping, nuzzling, or rubbing.
	Rubbing	One side of the head laterally rubbing against another horse's body part, with rhythm.
	Head on neck, back, or rump	The chin or entire head rests on the dorsal surface of the neck, body, or rump of another zebra. Often precedes a mount.
	Body-to-body touch	One horse's body touches another horse's body.
	Head-to-head touch*	One horse's head touch another horse's head.
	Sucking*	The youngster puts its head under the mother's stomach to try to catch her udders.
	Mounting	One stallion raises his chest and forelegs onto another horse's back with the forelegs on either side, just as during a copulation, with or without erection.
Investigation	Nasal sniff*	A horse sniffs the neck, withers, flank, or head of another horse, which may or may not reciprocate.
	Genital sniff*	A horse sniffs the genital region of another horse, which may or may not reciprocate.
Submission	Snapping	Opening and closing mouth with lips retracted. Typically, the head and neck are extended, and the ears oriented back or laterally.
	Avoidance/retreat	Movement that maintains or increases an individual's distance from an approaching other horse. The head is usually held low and the ears turned back. The retreat can be at any gait.
	Back kick	One or both hindlegs lift off the ground and rapidly extend backwards towards another horse, with apparent intent to make contact.
	Threat to kick	Kick intention movement, performed by swinging rump or backing up, or by waving or stamping hindleg towards another horse, without making contact.
Dominance	Bite*	Opening and rapid closing of the jaws with actual contact to another horse's body. The ears are back, and lips retracted.
	Threat to bite	Bite intention movement with ears back and neck extended, with no actual contact.
	Stomp	One foreleg is raised and lowered, sharply and firmly striking the ground, usually repeatedly.
	Head threat	Head lowered with the ears pinned, neck stretched or extended towards the target horse and, often, the lips pursed.
	Herding/chase	Combination of head threat and ears laid back with forwards locomotion, sometimes at a gallop in an apparent attempt to overtake, direct the movement of, or catch up with another horse.
	Displacement	Approach of one horse with ears back causes another to move away so that distance is maintained or increased, without overt aggression.
	Push	Pressing of the head, neck, shoulder chest or body against another horse, causing it to move one or more legs to regain balance.
	Defecate or urinate over*	Defecation on faecal piles in a characteristic sequence: sniff faeces, step forwards, defecate, pivot or back up, and sniff faeces again.

et al., 2007). Data was collected using a voice recorder. All behaviors available in ethograms of previous equid studies (Christensen et al., 2002; McDonnell and Haviland, 1995; Ransom and Kaczensky, 2016) and including at least 2 protagonists were considered social behaviors and were recorded. Behaviors were classified into three categories: affiliation, dominance and submission. The Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior defines affiliation behaviors as “Friendly and peaceful interactions exchanged among individuals with the function of developing, maintaining, or strengthening social bonds” (Jasso del Toro and Nekaris, 2019). Thus, we included social grooming, rubbing, physical contacts without intentions and suckling in the category Affiliation. Both categories of dominance and submission included agonistic behaviors, but in one case, the individual observed was victorious, while in the other case, the individual observed was defeated. Thus, the dominance category included biting, stomping, threatening, chasing, pushing, displacing, and defecating over the feces of another zebra. Moreover, the Submission category included snapping, avoiding and back kicking another zebra. A description of each behavior is presented in table 1. All behaviors were considered directed (an individual carrying out the behavior toward another) except for head-to-head contact and body-to-body contact.

To build a social network, we used Affiliation behaviors (Clauset et al., 2004). As the number of zebras present in the study (22) largely exceeded the average number of individuals present in harems (one stallion and 2-3 mares with their foals), we determined potential subgroups from the social network (Feh, 2005). Then, we identified three metrics from social behavior networks that are best representative of host contacts: degree, strength and eigenvector centrality. In the study, the first is the number of partners, the second is the number of interactions, and the third is a dependent variable of the previous two. We then focused on degree and strength to perform a finer-scale analysis of the effect of social interactions on parasite transmission. Individual dominance was calculated with David’s score, which is recommended by previous studies (de Vries, 2009; Hemelrijk et al., 2005), by using behaviors from Dominance and Submission categories (Feh, 1988; Hemelrijk et al., 2005; Ransom and Cade, 2009). The David’s score calculation is based on the proportion of “gains” by individual i in interactions with individual j, abbreviated as follows (Pij), and the proportion of “defeats” of individual i in its agonistic interactions with individuals j, abbreviated as follows (Pji). Gains correspond to events when i is an actor and j is a receiver during a dominance behavior or when j is an actor

and i is a receiver during a submission behavior. In contrast, defeats correspond to events when i is an actor and j is a receiver during a submission behavior or when j is an actor and i is a receiver during a dominance behavior. Thus, the proportion of gains is calculated as Pij = αij/nij, (αij) being the abbreviation of the number of gains of i against j, and (nij) being the abbreviation of the total number of agonistic interactions between i and j. The proportion of defeats is calculated as Pji = 1 – Pij. David's score method uses the following formula (David, 1987; de Vries, 1998):

$$\text{Dominance} = w + w2 - l - l2$$

where w represents the sum of the Pij values of i, w2 represents the sum of the w values of the individuals with whom i interacted, l represents the sum of the Pji values of i and l2 represents the sum of the l of the individuals with whom i interacted.

Evaluation of individual parasite infection

Individual parasite infection intensity was evaluated by fecal egg count (FEC) and fecal oocyst count (FOC) (Matthews, 2014; Nápravníková et al., 2019; Nielsen, 2022) from February to July 2019. Our sample size follows the methods of previous studies, corresponding to approximately one FEC and FOC per month and per individual (Aviruppola et al., 2016; Kuzmina et al., 2006). However, in total, we analyzed 106 fecal samples instead of the 132 samples corresponding to 22 individuals sampled across 6 months. Indeed, some samples were missed, as the sampling was opportunistic to avoid disturbing zebras. Also, fecal samples were always collected after behavioral observations to limit interferences. They were collected 3 minutes after defecation and then placed in a refrigerator before being analyzed within the next 24 hours for optimal freshness of the feces (Ballweber et al., 2014; Crawley et al., 2016; Jagła et al., 2013). Parasite infection was evaluated by a single operator at the veterinary clinic of the RAS using a commercial OVATEC® Plus fecal analysis kit (Zoetis, USA). Approximately 1 g of homogenized fecal sample was placed in the device's filter. Next, the insert was immersed in saturated zinc sulfate solution and rotated manually for 2 minutes inside the container to homogenize the solution. The container was then filled with zinc sulfate saturated solution until a meniscus was obtained. A lamella was placed on the top of the meniscus for 20 minutes and then gently removed from the top carrying zinc sulfate solution drops containing parasite eggs to be next laid flat on a microscope slide for

observation. Identification was based on egg shapes for strongyles and oocyst shapes for coccidia (figure 1). Eggs of all different species of strongyles are similar; no attempt to distinguish species was made. Both eggs and oocysts were counted by the same operator. As we used 1 g of fecal sample, the count corresponded to the number of eggs per gram (epg) and oocysts per gram of feces (opg).

Zebras were not treated with anthelmintics within 6 months prior to the beginning of the study and were treated in May (three months from the beginning of the study) as a routine treatment. Consequently, sample collection corresponds to three samples before treatment and three samples after treatment per individual. The anthelmintics used are mainly efficient against strongyles (7.5 mg/kg fenbendazole per os, mixed with pellets distributed by the zookeepers), targeting adult nematodes. Finally, all other species present in the enclosure were also treated, as anthelmintics were provided via daily distributed pellets in free access to every animal in the enclosure.

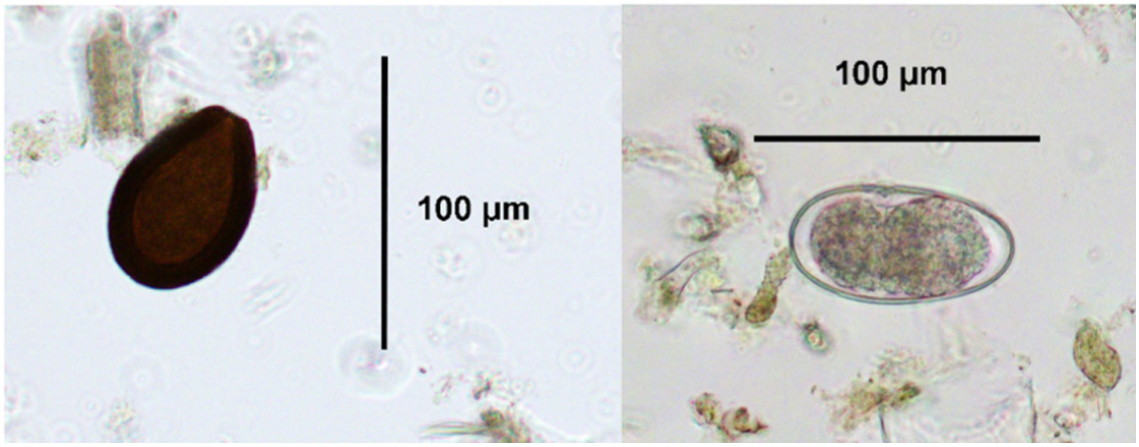


Figure 1 : Microscopic examination of one coccidia's oocyst and one strongyle eggs observed in plains zebra fecal samples.

Data analysis

All statistical analyses were carried out with RStudio software (R Core Team, 2023; RStudio Team, 2023). The significance was determined at the alpha threshold of 0.05. Data will be presented with the mean and the standard error. The social network was built using the R package Igraph (Clauset et al., 2004), which allowed us to calculate the degree of connection and to determine the presence of subgroups. Individual dominance was defined using David's score method calculated with the R package dominance based on a matrix of winning and losing interactions (Sueur et al., 2011). Individual parasite infection was evaluated by the number of eggs observed in each individual fecal analysis for both types of parasites. Comparisons between strongyle and coccidia FECs were made with a Spearman rank correlation, and differences in strongyle parasite infection between subgroups were analyzed with the Wilcoxon signed-rank test. Finally, we used linear models to analyze the correlation between age and dominance and dominance and degree, as it is known to be correlated in the literature (Andersen, 1992; Pluháček et al., 2006; Rubenstein and Hack, 2004; Simpson et al., 2012). No random factor or fixed factor was included. Normality was analyzed with the Shapiro–Wilk normality test in R, and homoscedasticity was tested with the var.test function.

For statistical analysis, associations between predictors (degree, strength, and dominance) and individual parasite infections were analyzed separately before and after anthelmintic treatment. Then, time was calculated, such as before treatment, which represents the number of days until the next treatment, and after treatment, which represents the number of days elapsed since the last treatment. We used generalized linear mixed models from the package glmmTMB (Brooks et al., 2017), with FECs and FOCs as the response variables. As our data showed overdispersion (variance twice as high as the mean), the model was fitted to a negative binomial distribution (nbinom2). All models included the time since/until treatment (continuous, days), age (continuous), subgroup (three levels, 1/2/3) and sex (two levels, female/male) as fixed factors. Furthermore, all models allowed a random variation accounting for repeated measures from the same individual: (1 | ID). We designed three different models with one predictor each: degree (continuous), strength (continuous) and dominance (continuous, normalized David's score). Models were checked for goodness of fit with the DHARMa package using residual diagnostic controls (Hartig, 2022).

We used the interaction between the predictor and the fixed factors when it was significantly better fitted than the model without interaction after running a likelihood ratio test with the ANOVA function from the car package. Variance explained by the entire model (pseudo R2) was estimated with the r.squared function from the MuMIn package, with the trigamma-estimate method. As mentioned in Lynsdale, 2022, all fixed factors were tested using the likelihood test ratio, comparing starting models to replicates without each singular term in turn, and only the significant ones were kept (Lynsdale et al., 2022). In addition, a quantile deviation and a significant combined adjusted quantile test were detected in the model exploring the effect of degree and dominance on FOCs before treatment. Thus, we included the quadratic form of time until treatment as a fixed factor (Hartig, 2022). Finally, we predicted that FEC should start from 0epg for all zebras immediately after treatment; thus, random variation in slope depending on the time since the last treatment across individuals has been included, which is expressed as (0+time since the treatment | ID) (Bolker, 2023).

Results

Social network

In total, we recorded the behaviors of 22 individuals daily for 44 days spread over 3 months of observation, cumulating 5 750 social behavior events. Each zebra was observed for a total of 7 hours and 20 minutes. We identified three subgroups within the enclosure, composed of eleven zebras for subgroup 1, five zebras for subgroup 2 and six zebras for subgroup 3 (modularity = 0.61). Each stallion was associated with one of the two largest subgroups. Subgroup 1 consisted of six mares and four foals (2 males and 2 females), subgroup 2 consisted of three mares and two foals (females), and subgroup 3 consisted of three mares and two foals (females). In between subgroup interactions represent only 7% of all interactions observed (407 in between subgroup interactions: 143 behaviors between subgroups 1 and 2, 219 between subgroups 1 and 3, 45 interactions between subgroups 2 and 3), and most of them are agonistic behaviors (164 affiliation behaviors, 147 domination behaviors, 60 submission behaviors). Finally, 75% of in-between subgroup interactions included at least one male (204 between two males from different subgroups, 101 between one male and one female from different subgroups). The David's score varied from 7.78 to 14.55 (mean = 10.53 ± 1.70). Age and dominance are correlated; thus, older zebras are more dominant (linear regression: $F_{1,46} = 14.34$, $R^2 = 0.24$, $P < 0.01$), although both stallions were dominant in their respective subgroups independently of their age. Finally, dominance and degree are independent (linear regression: $F_{1,46} = 0.54$, $R^2 = 0.01$, $P > 0.5$).

Individual parasite infection

Eggs of strongyles and oocysts of coccidia were observed at least once in each zebra. Among the 106 analyzed samples, 55 samples were collected before treatment, and 53 samples were collected after treatment. Before treatment, a maximum of 42 epg for strongyles (mean = 8.32 ± 9.5 epg) and 13 opg for coccidia (mean = 2.02 ± 3.37 opg) were recorded. After treatment, a maximum of 8 epg for strongyles (mean = 1.06 ± 2 epg) and 32 opg for coccidia (mean = 5.58 ± 6.56 opg) were recorded. Anthelmintic treatment significantly decreased strongyle FECs (Mann–Whitney U test: $U = 246$, $N1 = N2 = 22$, $P < 0.001$; figure 3). This was expected, as the anthelmintic used is known to be efficient against adult nematodes. However, after treatment, coccidia FOCs increased (Mann–Whitney U test: $U = 27.5$, $N1 = N2 = 22$, $P < 0.001$; figure 3).

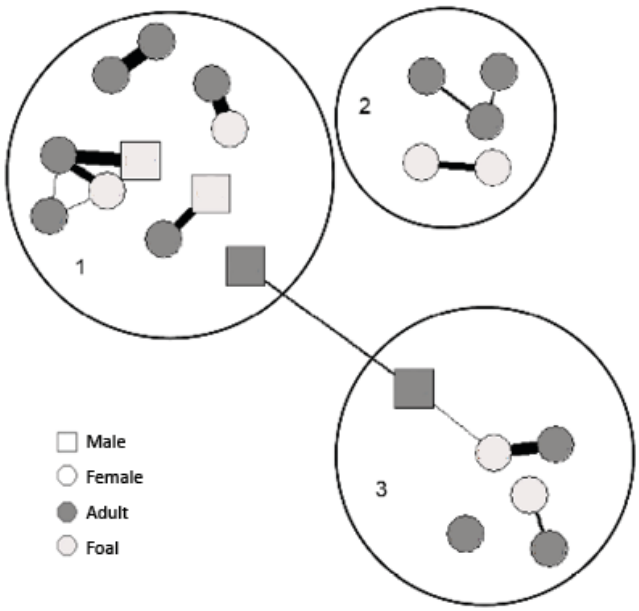


Figure 2 : Social network of the plain zebras present at the R´eserve Africaine de Sigean, based on affiliation behaviors observed from 25 March to 7 July 2019.

Lines are present between two individuals who had more interactions than the average number of interactions observed within the group. Their thickness is proportionate to the number of interactions observed between the two linked individuals. Circles delimits the three subgroups present in the enclosure (modularity = 0.61). Foals are aged from 6 months to 4 years old.

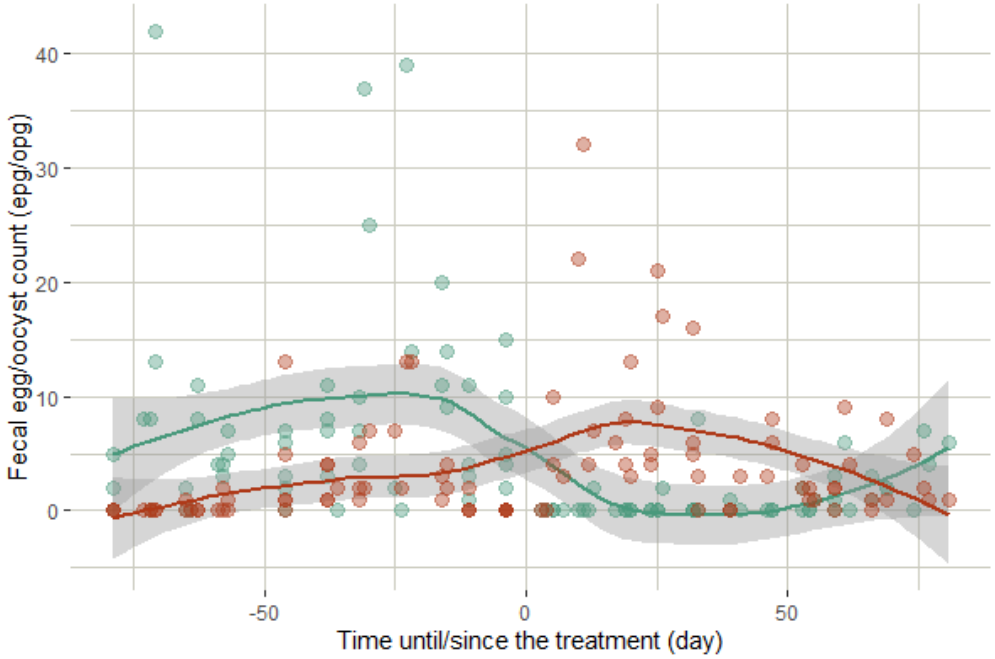


Figure 3 : Individual's parasite infection (eggs or oocysts per gram of feces) during the study. Blue points and line represent strongyle egg counts and red points and line represent coccidia oocyst counts. the gray areas represent the confidence interval at 95%.

Predictors of parasite infection

Before and after treatment, there was no significant difference in mean parasite infection between subgroups for either strongyle or coccidia (Wilcoxon signed-rank test: $W > 50$, $P > 0.05$). While males excreted fewer eggs than females before (male mean = 4.5 ± 4 epg; female mean = 9.23 ± 10.3 epg) and after treatment (male mean = 0.88±2.1 epg; female mean = 1.1±2.01 epg), the difference between sexes was not significant ($X2 > 1$, $P > 0.05$). Age was not correlated with parasite infection intensity, either before or after treatment (linear regression: $F1,20 < 5$, $R2 < 0.2$, $P > 0.5$). None of the models run before treatment with FECs as the response variable showed a significant association with any of the predictors (degree, strength and dominance). None of the models run before treatment with FOCs as response variable showed a significant association with any predictors as well, but the effect of the quadratic form of the time until treatment was significant (table 2).

As predicted, all zebras showed 0epg at their first strongyle FEC after treatment (figure 3). The interaction between predictors and the time since the last treatment was significant for two models with FECs after treatment as the response variable: dominance*time since last treatment ($X2 = 8.19$, $P < 0.01$) and degree*time since last treatment ($X2 = 8.83$, $P < 0.01$). Thus, both showed that more dominant zebras are infected more slowly than their subordinates over time (model estimate = 0.03 ± 0.01, $X2 = 8.58$, $P < 0.01$; figure 4), and a higher degree increases the speed of infection over time (model estimate = -0.03 ± 0.01, $X2 = 5.67$, $P < 0.05$; figure 4). In contrast, FOCs after treatment were not predicted by strength in our model (model estimate = -0.006 ± 0.009, $X2 = 0.47$, $P = 0.36$; figure 4). None of the predictors significantly affected coccidia FECs, despite a significant effect of time until/since treatment on FECs in each of the model runs (table 2).

Table 2 : Models predicting fecal egg and oocyst counts, fitted with a negative binomial error structure and log link function. Time until/since the last treatment and the zebra ID were used as random effects, and time since the treatment was also used as fixed factor. Thus, estimates present FECs of strongyles and coccidias from zebra at 0 days until/since the last treatment and either degree or strength or dominance degree equal zero, or for females, depending of the model considered. All models were fitted to 52 observations

before treatment or 48 observations after treatment, from 22 zebras. Significant results are in bold. The R2 column present the pseudo R2 calculated with the trigamma-estimate method.

Response var.	Treatment	Predictor	Coefficient	Estimate	SE	Z	X2	P	R2
Strongyle	Before	Degree	**Intercept**	**2,9**	**0,64**	**4,56**	**1,65**	**<0,001**	0,02
			Degree	-0,07	0,05	-1,29	1,65	0,2	
				Variance	Standard deviation				
			(1 | ID)	1,99E-07	4,40E-04				
		Strength	**Intercept**	**2,8**	**0,79**	**3,55**	**12,59**	**<0,001**	0,02
			Strength	-0,004	0,004	-0,99	0,98	0,32	
				Variance	Standard deviation				
			(1 | ID)	1,26E-01	3,54E-01				
		Dominance	**Intercept**	**2,04**	**0,19**	**10,49**	**109,97**	**<0,001**	0,0002
			Dominance	0,0005	0,005	0,1	0,009	0,92	
				Variance	Standard deviation				
			(1 | ID)	1,70E-01	4,10E-01				
	After	Degree	**Intercept**	**-29,27**	**10,83**	**-2,7**	**7,31**	**<0,01**	0,84
			Degree	**1,99**	**0,76**	**2,62**	**6,87**	**<0,01**	
			Sex (Male)	-0,77	0,66	-1,17	1,36	0,24	
			Time since treatment (days)	**0,48**	**0,19**	**2,55**	**6,5**	**<0,05**	
			Degree:time since treatment	**-0,03**	**0,01**	**-2,38**	**5,67**	**<0,05**	
				Variance	Standard deviation				
			(0 + time since treatment| ID)	1,38E-09	3,72E-05				
		Strength	Intercept	1,66	2,63	0,63	0,4	0,53	0,36
			Strentgh	-0,006	0,009	-0,69	0,47	0,49	
			Sex (Male)	**-1,87**	**0,94**	**-1,98**	**3,93**	**<0,05**	
			Age	**-0,16**	**0,06**	**-2,81**	**7,92**	**<0,01**	
			Subgroup	**-0,98**	**0,48**	**-2,06**	**4,25**	**<0,05**	
			Time since treatment (days)	**0,05**	**0,02**	**3,22**	**10,35**	**<0,01**	
				Variance	Standard deviation				
			(0 + time since treatment | ID)	3,88E-13	6,23E-07				
		Dominance	**Intercept**	**20,26**	**6,17**	**3,28**	**10,78**	**<0,01**	0,79
			Dominance	**-2,39**	**0,7**	**-3,44**	**11,86**	**<0,001**	
			Time since treatment (days)	**-0,27**	**0,1**	**-2,61**	**6,79**	**<0,01**	
			Dominance:time since last treatment	**0,03**	**0,01**	**2,93**	**8,58**	**<0,01**	
				Variance	Standard deviation				
			(0 + time since treatment | ID)	1,30E-10	1,14E-05				
Coccidias	Before	Degree	Intercept	-1,92	1,06	-1,81	3,28	0,07	0,73
			Degree	-0,05	0,06	-0,77	0,59	0,44	
			Time since treatment (days)	**-0,26**	**0,05**	**-4,87**	**23,76**	**<0,001**	
			Time since treatment (quadratic)	**-0,004**	**0,0008**	**-5,14**	**26,4**	**<0,001**	
				Variance	Standard deviation				
			(1 | ID)	5,30E-01	2,30E-01				
		Strength	**Intercept**	**-1,53**	**1,13**	**-1,35**	**1,83**	**0,18**	0,71
			Strength	-0,005	0,004	-1,12	1,25	0,26	
			Time since treatment (days)	**-0,25**	**0,05**	**-4,79**	**22,98**	**<0,001**	
			Time since treatment (quadratic)	**-0,003**	**0,0007**	**-5,14**	**26,39**	**<0,001**	
				Variance	Standard deviation				
			(1 | ID)	3,89E-09	6,24E-05				
		Dominance	**Intercept**	**-2,45**	**0,85**	**-2,88**	**8,29**	**<0,01**	0,73
			Dominance	-0,0005	0,006	-0,08	0,007	0,94	
			Time since treatment (days)	**-0,26**	**0,05**	**-4,81**	**23,11**	**<0,001**	
			Time since treatment (quadratic)	**-0,004**	**0,0008**	**-5,08**	**25,84**	**<0,001**	
				Variance	Standard deviation				
			(1 | ID)	3,90E-02	1,99E-01				
	After	Degree	**Intercept**	**1,71**	**0,6**	**2,85**	**8,12**	**<0,01**	0,19
			Degree	0,07	0,05	1,39	1,94	0,16	
			Time since treatment (days)	**-0,03**	**0,007**	**-3,77**	**14,19**	**<0,001**	
				Variance	Standard deviation				
			(1| ID)	6,66E-01	2,58E-01				
		Strength	**Intercept**	**2,95**	**2,59**	**1,14**	**1,3**	**0,25**	0,27
			Strength	-0,01	0,009	-1,46	2,13	0,14	
			Age	**-0,14**	**0,06**	**-2,48**	**6,14**	**<0,05**	
			Subgroup	**-1**	**0,48**	**-2,07**	**4,3**	**<0,05**	
			Time since treatment (days)	**0,04**	**0,01**	**2,98**	**8,9**	**<0,01**	
				Variance	Standard deviation				
			(1 | ID)	5,86E-13	7,66E-07				
		Dominance	**Intercept**	**2,49**	**0,29**	**8,62**	**74,37**	**<0,001**	0,17
			Dominance	-0,002	0,004	-0,56	0,31	0,57	
			Time since treatment (days)	**-0,02**	**0,007**	**-3,56**	**12,69**	**<0,001**	
				Variance	Standard deviation				
			(1 | ID)	8,64E-02	2,94E-01				

Discussion

Social structure of captive plains zebra

In this study, we observed the social structure of the largest group of captive plains zebras in Europe. We determined three different subgroups in the enclosure, two of which included one stallion and 3-6 adult females with their respective foals. One subgroup (number 3) comprises females and their foals only. Identification of the foal's father was not possible, as both stallions present in the enclosure were sexually active. Both group structures are comparable to observations in wild plains zebra populations (Simpson et al., 2012). In addition, observations showed that older females are more dominant within their respective subgroups, which also corroborates previously described results in wild populations (Lloyd and Rasa, 1989) and captive populations (Andersen, 1992; Pluháček et al., 2006).

Fecal analysis: an indicator of parasite infection intensity

Methods for parasite infection estimation create a debate as to which is the best, whereas the best universal method does not exist, and consequently, information about any deviation is needed (Ballweber et al., 2014). Using the OVATEC® Plus kit, we were able to identify differences between individual parasite infection intensities (Egwang and Slocombe, 1981), although it is known for its lack of sensitivity and is not recommended to evaluate precise FECs for anthelmintic treatment decision purposes (Lester and Matthews, 2014). However, the results from this method give a good approximation of reality, and the number of eggs observed with this method is proportionate to the real number of eggs present in one gram of feces (Egwang and Slocombe, 1981). Thus, we suspect an underestimation of fecal egg shedding; for example, we counted a maximum of 42 eggs and 32 oocysts per gram of feces before treatment in this study, while it was approximately 250-1000epg in wild zebra populations (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Seeber et al., 2020) and in captive zebra populations (Epe et al., 2001; Lia et al., 2010; Palomero et al., 2018) with the FLOTACTM or Macmaster method. However, our study was conducted with the same experimenter all along to limit "the personal factor" (Levine et al., 1960) and with the same tools, and samples were homogenized, which had a positive effect on accuracy (Went et al., 2018). Finally, this method respects the reality of veterinarians' worldwide zoos, who commonly use the OVATEC® Plus kit because of its low price per sample and its quickness of application. We hypothesize that we would detect egg reappearance sooner after treatment

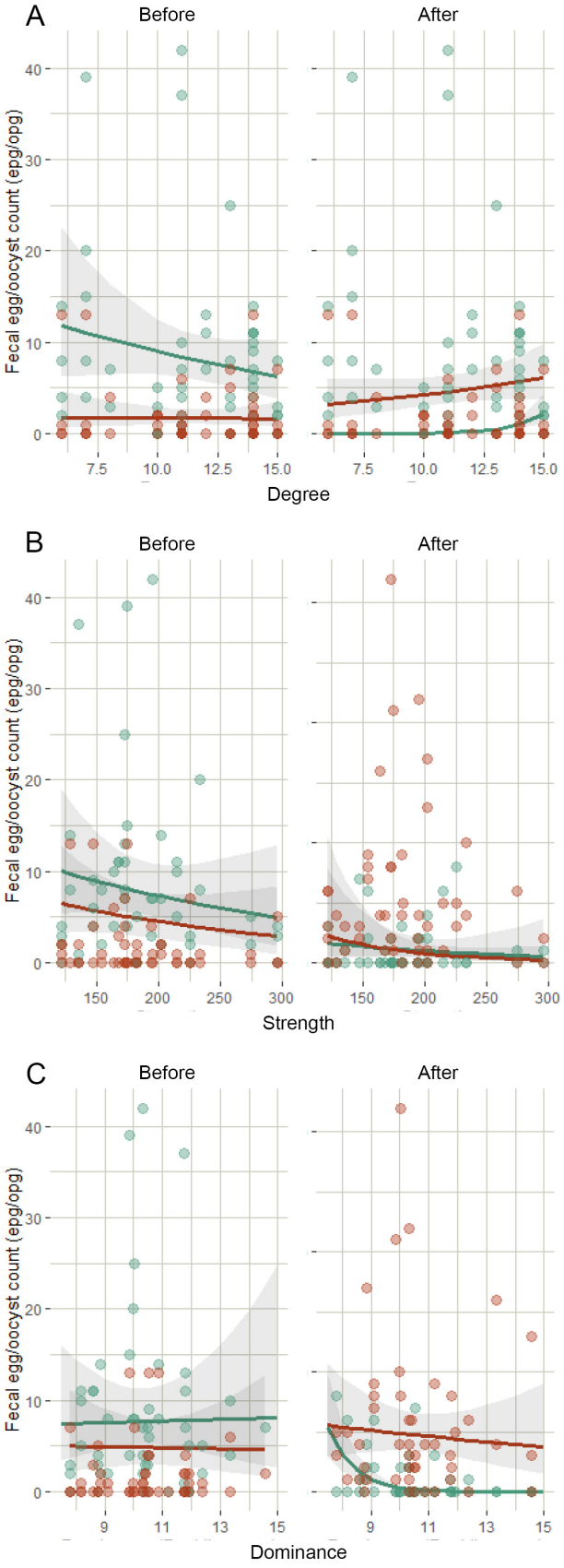


Figure 4: Fecal egg count for strongyle (blue) and coccidia (red) in relation with the predictors: (a) degree; (b) strength; (c) dominance. Lines show the linear tendency from the respective model, and the gray areas represent the confidence interval at 95%

with a more accurate method for FECs, but the increase or decrease in parasite infection is still well represented. Finally, we might have been able to highlight weaker factors of parasite infection variation, in addition to the ones observed here.

Anthelmintics impacts on strongyle and coccidia infections

Anthelmintic treatment was efficient and significantly decreased strongyle egg shedding, and as all individuals presented a zero FEC count immediately after treatment, the possibility of parasite resistance was avoided. Furthermore, after treatment, the models showed an increase in FECs over time and a decrease in FOCs over time. Similar results have been reported in previous studies of nontargeted parasites after treatment with anthelmintics used with wild mice (Ferrari et al., 2009; Knowles et al., 2013; Pedersen and Antonovics, 2013), but to our knowledge, it has never been reported before in equids. The most plausible reason to explain the increase in FOCs is a competitive interaction between strongyles and coccidia, sharing the same infection site within the host (Dallas et al., 2019; Pedersen and Fenton, 2007). Anthelmintic treatment kills adult strongyles, creating less competition and a more favorable environment for coccidia development. This is supported by the fact that time since treatment was the only factor predictive of coccidia FECs after treatment, unlike degree, strength or dominance. It is also supported by the fact that coccidias rapidly decreased as the strongyle infection increased after treatment, as described by Knowles in 2013 in wild mice (Knowles et al., 2013). Under wild conditions, no coccidia oocysts have been observed in plains zebra feces, although they were described in other wild species living in proximity (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Turner and Getz, 2010). However, coccidia is a common parasite in captive equids, including plains zebra (Dubey and Bauer, 2018), and is commonly observed in our study site in RAS. The difference in coccidia prevalence between captive and wild plains zebras must be the subject of future studies, with possible applications to parasite management in captive wildlife: Is coccidia infection a general matter for captive wildlife equids? What are the coccidia species that infect captive plains zebras? Do captive plains zebras share mechanisms of infection with horse populations known to be infected by coccidia? Moreover, the increase in coccidia oocyst shedding in captive plains zebras observed after treatment in our study raises the question of what the possible consequences of anthelmintics are administered to captive wildlife. Further studies could contribute to a better understanding of anthelmintic use aftermaths on non targeted parasite species.

Predictors of parasite infection

Considering that parasitic nematodes are mostly host species specific (Titcomb et al., 2022), grazing by multiple species can have a positive impact on individual parasitism due to a dilution effect (Mahieu, 2013; Rocha et al., 2008). As an example, individual parasite infection decreases and the time of effectiveness of anthelmintics increases when horses and bovines share the same enclosure (Forteau et al., 2020). In the current study, zebras share their enclosure with three species of ruminants and one species of bird; to our knowledge, none of them share parasite species with equids. Furthermore, the white rhinoceros present in part of the enclosure was not infected by either strongyle or coccidia (unavailable data collected by the veterinarians of the zoo), and direct interspecies contact between zebra and any of the four other species was not observed. Consequently, we hypothesized that if cross-species transmission between the zebras and the other species present within the enclosure is possible, we considered it negligible.

The prevalence of strongyle eggs in collected feces was 95% before treatment and 52% three months after treatment. Then, 20% of zebras, the lowest in the hierarchy, shed 70% of all strongyle eggs of the group observed during the last three months of the study. Our results, after treatment, are consistent with a previous studies on captive horses that showed that 20% of individuals carried 85% of all strongyle eggs (Brazik et al., 2006; Scala et al., 2020; Stratford et al., 2011) and follow the widely known 20:80 rule also observed in wild zebra (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Turner and Getz, 2010). This implies that targeted treatment could be applied in plains zebra populations living in safari enclosures, but it is crucial to precisely identify the 20% of individuals to be treated (Woolhouse et al., 1997). In our study, females shed more strongyle eggs than males, although the difference was not significant. Despite no effect of parturition on parasite infection intensity has been demonstrated with equids (Steuer et al., 2022), lactation is known to induce immune relaxation in mares (Connan, 1976). As 11 of the 12 adult females studied were lactating, the global parasite infection intensity of females could be higher than that of males, as hypothesized in a previous study (Debeffe et al., 2016). In our study, parasite infection intensity did not depend on host age. However, previous studies showed that age as a quadratic factor explained the parasite infection distribution within a group, with older and younger individuals being more infected than middle-aged individuals (Lynsdale et al., 2020). Studies on wild zebras obtained divergent results, with adults once being more infected than foals (Seeber et al.,

2019), and once being less infected than younger individuals (Fugazzola and Stancampiano, 2012). Seeber explained the difference by adult plains zebras spending more time grazing than foals (Seeber et al., 2019). In addition, mares present inhibited larvae of strongyle untargeted by anthelmintics that reactivate and migrate to the mammary gland around the time of parturition. In contrast, foals might also become infected with larvae present in the milk of the mother (Lyons and Tolliver, 2015; Mirck, 1977; Thamsborg et al., 1998; Tyrnenopoulou et al., 2021). However, we have no clue about the importance of this transmission compared to the infection risk of free larvae stages present in the environment, and we do not know if more infected mares transmit more larvae through their milk. Parasite infection in young animals can have a crucial impact on population viability, and variation in infection intensity among juvenile hosts is still poorly understood. A study quantifying gastrointestinal nematode infection of wild juvenile birds revealed that almost all chicks were infected (Granroth-Wilding et al., 2016). Thus, understanding the main routes of contamination and the prevalence of maternal vertical transmission is necessary to limit parasite dynamics in the infected captive population.

Parasite infection intensity depends on many social factors and their interactions (Craft, 2015; Ezenwa, 2004). Our study highlights two predictive factors of parasite infections in a captive plains zebra group after treatment with anthelmintics, all in relation to time since the administration of the treatment: degree of connection among the social network and individual dominance. Social networks seem to be a valuable indicator of parasite dynamics. Indeed, strongyle FECs of individuals with a higher degree of connection within the group increase faster. The degree of connection is the most studied social network parameter to explain pathogen transmission (Briard and Ezenwa, 2021). A previous study reported such a correlation with direct cycle gastrointestinal parasite transmission in a chipmunk population (Grear et al., 2013). Contacts were approximated as sharing the same foraging area, and chipmunks sharing an area with a higher number of chipmunks were more infected. Thus, studying the space distribution of zebras in the enclosure would contribute to a better understanding of the link between these variables. However, in the current study, we designed a social network with affiliation behaviors. Among them, some include the possibility of ingesting larvae present in the environment. As an example, grooming consists of scratching the fur of another zebra with the teeth, and it has been demonstrated in mice that free-stage larvae of gastrointestinal parasites are present on the fur of the host, thus contaminating

the other mice grooming the infested fur (Hernandez and Sukhdeo, 1995). Thus, multiplying the number of partners could increase the probability of ingesting an infective stage larva. The fact that the occurrence of social interactions between individuals is not a predictor of parasite infection intensity at the individual scale in our study makes it interesting to design a contact network with more specific behaviors that could contribute to parasite transmission (White et al., 2017). These behaviors remain to be defined (Briard and Ezenwa, 2021), but our study provides some clues for exploring the predictive success for parasite infection intensity of such contact networks with equids. In addition, the degree could be impacted by the subgroup size as the number of partners available for interaction might increase with the subgroup size. Despite there was no significant differences in infection intensity between subgroups in our study, larger groups show a higher prevalence of gastrointestinal parasites (Ezenwa and Worsley-Tonks, 2018; Patterson and Ruckstuhl, 2013), as much as pathogens in general (Nunn et al., 2015), and parasite infection of strongyles is also known to increase with population density with wild Soay sheep (Hayward et al., 2022). However, we found no difference in parasite infection intensity among the three subgroups studied. Finally, young individuals tend to have connections with a higher number of individuals within their respective groups but also with other groups as they change of groups when they grow (Klingel, 1969). This can lead to higher parasite infection risk (Podgórski et al., 2018), although it has never been explored in equids and our study did not brough evidence of a relation between age and degree.

Our results revealed that strongyle FECs increase faster as the individual is lower in the hierarchy. This suggests that a low hierarchy rank either increases the risk of infection or decreases the access to anthelmintics distributed in free access in the enclosure. Both hypotheses are based on the possibility that subordinates forage in lower quality food areas than dominants. Indeed, foraging in low parasite infection risk areas could have an effect on the parasite infection intensity of wild zebra (Tombak et al., 2022), and as with horses (Krüger and Flauger, 2008), a behavioral study with captive zebra showed that dominants would have better access to distributed parasite-free food (Schilder and Boer, 1987). In the experimental conditions of our study, anthelmintics were mixed with daily distributed pellets in free access to all animals in the enclosure, suggesting that dominants would have more access to anthelmintics in addition to parasite-free food. Thus, they would better be treated, in addition to having less risk of contamination through foraging, explaining parasite infection

distribution after treatment among the group. As recommended before with ivermectin administration in captive zebras (Lia et al., 2010), anthelmintics should be administered individually to assure that each zebra receives the right dose for proper treatment. Moreover, such a relation between dominance and parasite infection intensity is reported with wild populations of zebras in the same proportion of 20:80 as was observed in this study (Fugazzola and Stancampiano, 2012). This suggests that the mechanisms behind parasite contamination in captive conditions might be similar to those applied in wildlife. It is now essential to precisely evaluate resource access individually in captive plains zebra populations and take social behaviors into account to improve equid parasite management in captivity. Thus, it could reduce reinfestation risk after treatment and improve the distribution of drugs through the group.

Conclusion et ouverture

Cette étude a mis en évidence des disparités importantes de vitesse et d'intensité de la réinfection parasitaire après l'administration d'antiparasitaires. L'hypothèse principale expliquant ces disparités s'appuie sur un accès hétérogène à la nourriture distribuée par les soigneurs, et donc à l'antiparasitaire, avec des individus dominés recevant probablement une sous-dose de traitement, tandis que les individus dominants reçoivent probablement une surdose de traitement. A la suite de cette étude, les vétérinaires de la RAS ont mis en place un suivi de la charge parasitaire des herbivores du parc afin d'appliquer un protocole de traitement ciblé sélectif à l'échelle de l'espèce et de l'enclos en "poolant" les échantillons fécaux. De plus, la récolte des échantillons et leur analyse ne seront réalisés qu'en automne et au printemps, périodes décrites comme les plus élevées en charge parasitaire (Nielsen et al., 2024). Les résultats seront donc peu précis mais permettront tout de même de prendre la décision de traitement pour le groupe, et de sélectionner le type de traitement selon les parasites observés et leur quantité. Le traitement ciblé sélectif s'inscrit dans des exploitations agricoles où il est facilement possible de diagnostiquer et traiter individuellement.

A la RAS, les herbivores sont maintenus en captivité certes, mais dans de larges enclos et avec le moins d'intervention humaine possible. Il est donc impossible d'approcher un zèbre ou de l'isoler en box, et encore moins de lui administrer individuellement une dose de vermifuge par voie orale, comme on peut le faire avec les chevaux domestiques. L'application du traitement sélectif ciblé à l'échelle individuelle doit être réalisé par fléchage, ce qui induit donc des coûts élevés en temps de travail, lié à la mobilisation des équipes de soigneurs et des vétérinaires, et en stress chez les zèbres et les autres animaux occupant l'enclos. En effet, la préparation de la flèche, à la mise en place sur le terrain et à l'acte lui-même peuvent être chronophages. L'acte est fortement soumis aux conditions météorologiques : il est impossible de flécher en période pluvieuse ou fortement venteuse au risque de ne pas atteindre la cible. Cela demande aussi d'être capable de reconnaître les zèbres de façon individuelle afin de flécher la bonne cible. Enfin, l'acte de fléchage induit du bruit, un choc avec l'individu cible et une période de panique dans le troupeau.De plus, l'obtention des échantillons fécaux demande de longues heures d'observations afin d'obtenir des déjections fraîches, dont on connaît l'individu excréteur, et qui n'ont pas été contaminées par l'environnement. Les zèbres ont tendance à déféquer sur

des surfaces dédiées, appelées latrines. Lorsque l'un d'eux défèque, il y a de fortes chances que les autres fassent de même, plus ou moins dans la même zone, entraînant le piétinement de la déjection intéressante ou le mélange avec d'autres crottins. De plus, les zèbres dominants ont tendance à déféquer ou uriner par-dessus les tas de crottins des zèbres dominés. L'analyse fécale elle-même demande la mobilisation de personnel formé pendant en moyenne 1h par analyse, répartie en trois étapes clés sur une journée. Du matériel de laboratoire spécifique est nécessaire, limitant le nombre maximum d'analyses possible par jour, et entraînant la mise en place d'une organisation parfois complexe dans le stockage des échantillons et l'espace disponible à la clinique vétérinaire.

Par la suite, nous chercherons à déterminer les prédicteurs de la charge parasitaire individuelle chez les zèbres sans intervention antiparasitaire, dans l'optique de proposer des caractéristiques facilement accessibles par le service vétérinaire. L'objectif appliqué de ces travaux de recherche est donc de diminuer les coûts en temps de travail, à travers une présélection des individus à cibler, de diminuer les coûts liés à la quantité de produit antiparasitaires consommés, et de diminuer le stress des animaux lié aux interventions humaines, à travers une meilleure compréhension de la relation hôte-parasites.

CHAPITRE 2 : THE UPS AND DOWNS OF PARASITE INFECTIONS, FROM BIRTH TO THREE-YEAR-OLD FOALS

Auteurs : Cloé **Joly,** Alix **Ortega**, Camille **Maravat**, Pierre **Jay-Robert**, Freddie-Jeanne **Richard**

Soumis à : International Journal of Parasitology, depuis le 17/02/2025

Contexte d'étude

D'après les recommandations des autorités vétérinaires sur l'application du traitement sélectif ciblé aux chevaux, les individus de moins de 5 ans sont particulièrement à risque de parasitoses et fortement excréteurs (Rendle et al., 2019). Les résultats de l'étude précédente semblent confirmer cette sensibilité parasitaire des jeunes. En effet, nous avons observé une corrélation négative de la vitesse et de l'intensité de la réinfestation parasitaire avec l'âge. De plus, les parasitoses aiguës historiquement observées à la RAS ont principalement été reportées chez les jeunes. La RAS accueille chaque année entre 5 et 7 nouveaux nés dans le groupe de zèbres des plaines, et les moins de 5 ans peuvent représenter jusqu'à 50% des effectifs annuels. L'étude des jeunes zèbres est donc une approche particulièrement intéressante dans le contexte du zoo, qu'elle soit mise en relation avec la charge parasitaire ou avec les comportements.

Le processus de création de cette thèse représente un travail de presque 2 ans (période COVID inclue) afin d'obtenir le financement CIFRE. Cela a permis de maturer le projet, et d'établir le protocole en amont. Les observations comportementales et les relevés fécaux ont pu être réalisés rapidement après le début officiel de la thèse, pour durer environ 1 an et demi. Les études aussi longues sont rares, d'autant plus avec une évaluation individuelle et mensuelle, et réalisées sur les mêmes individus (Steuer et al., 2022). La majorité des études parasitaires réalisées sur les jeunes équidés les regroupent en catégories d'âges et ne prennent pas en compte des variations plus fines que l'échelle annuelle (Abbas et al., 2023a; Boisseau et al., 2023; Relf et al., 2013; Scala et al., 2020). Avec l'apparition d'outils statistiques plus sophistiqués, notamment les GAMM (Wood, 2023), il est maintenant possible de réaliser des modèles mettant justement en valeur ces variations non linéaires dans le temps.

Résumé

Aujourd'hui, les autorités encouragent l'application de protocoles de traitements sélectifs ciblés, basé sur une surveillance individuelle de l'intensité de l'infection parasitaire à l'aide du comptage des œufs dans les selles (Compte Fécal des Oeufs, CFO). Cependant, les poulains de moins de 3 ans représentent un fort intérêt pour le contrôle des infections parasitaires et sont par conséquent systématiquement traités. Dans cette étude, nous avons enregistré la variation du CFO et les comportements sociaux de 19 zèbres des plaines (*Equus quagga boehmii*) âgés de 0 à 3 ans et élevés en captivité, et les avons analysés en fonction des conditions environnementales. Nous avons émis l'hypothèse que le CFO des poulains atteindrait son maximum juste après la naissance en raison d'une immunité acquise peu développée, et lors de la dispersion du poulain, en raison du bouleversement de son environnement social. Le délai moyen entre deux parturitions était de 591 ± 173 jours, et 2/3 des parturitions ont eu lieu entre mai et juillet. Nous avons constaté une augmentation de la distance sociale entre le poulain et sa mère à partir de 1,9 an, et une augmentation de la dominance à partir de 1,29 an. Notre étude met en évidence que l'intensité de l'excrétion des œufs de parasites chez les poulains en captivité semble suivre un motif de variation. Nous avons déterminé trois périodes différentes : (1) une augmentation du CFO de 0 à 6 mois, (2) une diminution du CFO de 6 à 12 mois et (3) une augmentation du CFO de 20 à 26 mois. Chaque phase est discutée pour mettre en évidence les causes plausibles de variation, sur la base des connaissances acquises sur l'écosystème hôte-parasite dans le contexte équin.

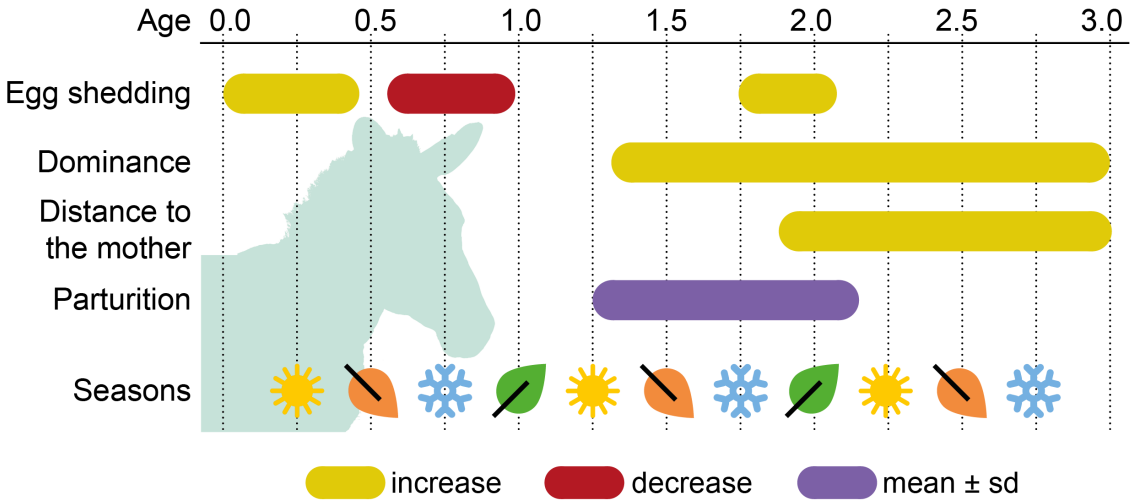
Abstract

Host social behaviors play a crucial part in the dynamics of parasite infection. Equids are social animals and their parasites are mostly represented by strongyles, known to be resistant against the main anthelmintics currently available. Recently, authorities are encouraging targeted selective treatment, based on individual surveillance of the parasite infection intensity using Fecal Egg Count (FEC). However, foals under 3 years old are considered of high interest to control parasite infections, and are consequently systematically treated. In this study, we recorded FEC variation and social behaviors of 19 captive plains zebra (*Equus quagga boehmi*i) foals aged from birth to 3 years old, and analyzed it in regard to environmental conditions. We hypothesized that foals' FEC would peak right after birth due to the immature acquired immunity, and around the dispersing event of the foal, due to a challenging social environment. The mean time between two parturitions was 591 ± 173 days, and 2/3 of the parturitions happened between May and July. We reported an increasing social distance between the foal and its mother starting at 1.9 years old, and an increasing dominance starting at 1.29 years old. Our study highlights a pattern of variation in the intensity of parasite egg shedding in captive foals. We determined three different phases of FEC variation: (1) an increase from 0 to 6 months old, (2) a decrease from 6 to 12 months old and (3) an increase from 20 to 26 months old. Each phase is discussed to highlight the plausible causes for variation, based on knowledge acquired across years of research on the host-parasite ecosystem in equine context.

Key words: Strongyle; parasite ecology; climate; social behavior; zebra

Abbreviations: Fecal Egg Count (FEC); Réserve Africaine de Sigean (RAS); Egg Per Gram (epg)

Graphical Abstract



Introduction

Parasite infection depends on the host's exposure and susceptibility to the parasite, both driven by various biotic and abiotic factors, also influencing each other (Sweeny and Albery, 2022). Among these factors, the social behaviors of the host play a crucial role in the dynamics of parasite infection (Ezenwa, 2004; Ezenwa et al., 2016; Habig et al., 2018; Hawley et al., 2021; Sih et al., 2018). Specifically, challenging or unstable social environments, as well as competition among individuals, are known stressors that can impact immune levels (Creel et al., 2013; Ksenofontova et al., 2022). In equid populations, low immunity correlates with higher intensity of parasite infection (Kuzmina et al., 2016). Equids can live in large, complex social groups in the wild (Klingel, 1969; Ransom and Kaczensky, 2016; Rubenstein, 2014), and their social behaviors in captivity are very similar (Schilder and Boer, 1987). Moreover, single housing management can be detrimental for equid welfare (Christensen et al., 2002; Schmucker et al., 2022; Torres Borda et al., 2023).

Equine parasites are primarily represented by strongyles including cyathostomin and large strongyles (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Kuzmina et al., 2016; Love et al., 1999; Merlin et al., 2024b), both in captive and wild conditions. Cyathostomin includes over 50 co-infecting species (Lichtenfels et al., 2008), some of them common across multiple equine host species (Maina et al., 2023; Tombak et al., 2021). They present a simple life cycle, involving only one host during the endogenous phase (Nielsen and Reinemeyer, 2018), and are highly pathogenic, potentially causing death in severe cases (Love et al., 1999; Nielsen and Reinemeyer, 2018; Nielsen, 2012). Hosts become infected by ingesting the infective form while foraging, and the parasite either reproduces in the host's digestive tract or encysts (Bowman and Georgi, 2014). In equid groups, the 20/80 rule applies: approximately 20% of individuals shed 80% of the group's total strongyle eggs. This pattern was observed in horses (Nielsen et al., 2024; Scala et al., 2020; Stratford et al., 2011) as well as in wild and captive zebras (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Joly et al., 2023; Turner and Getz, 2010). Conventional veterinary strategies for controlling parasite infections involved frequent application of anthelmintic treatment on all individuals present in the enclosure (Lloyd et al., 2000; Relf et al., 2012), typically using moxidectin, ivermectin or pyrantel (Wallace, 2022). However, overuse of anthelmintics has led to environmental pollution (Liebig et al., 2010; Lumaret et al., 2012; Mesa et al., 2020; Vokřál et al., 2023), and resistances among parasites (Abbas et al.,

2023b; Hedberg Alm et al., 2023; Matthews, 2014; Merlin et al., 2024a; Peregrine et al., 2014). Recently, authorities encouraged targeted selective treatment for adults, based on individual monitoring of the parasite infection intensity (Abbas et al., 2023c; Becher et al., 2010; Kaplan and Nielsen, 2010; Rendle et al., 2024; Wallace, 2022). This reasoned approach uses individual Fecal Egg Count (FEC) to assess infection intensity, which is then compared to a threshold value to determine whether a treatment is necessary. Application of targeted selective treatment has been shown to reduce the emergence of anthelmintic resistance (Leathwick et al., 2019a; Lester et al., 2013; Sauermann et al., 2019), with the reduction being more pronounced as the FEC threshold increases (Leathwick et al., 2019). However, it remains advisable to systematically treat at regular intervals all individuals considered at high risk of infection, both to prevent clinical symptoms and limit the excretion of parasites into the environment.

Parasite infection intensity in equids is influenced by the host's sex, social status and age. Adult females are more likely to be infected than males (Kornaś et al., 2010; Scala et al., 2020) probably due to the immunosuppressive effect of pregnancy and lactation, which favors the development of larvae (Connan, 1976). Previous studies also demonstrated that dominant individuals are less infected than subordinates (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Joly et al., 2023). In equid groups dominance is generally linked to age, with older individuals being more dominant (Andersen, 1992; Joly et al., 2023; Pluháček et al., 2006; Rubenstein and Hack, 2004; Simpson et al., 2012), and parasite infection intensity is correlated with age (Ahn et al., 2024). Although encysted strongyle larvae are usually sparse in foals under one year old (Nielsen and Lyons, 2017; Zynda et al., 2019), foals under three years old show higher FEC (Abbas et al., 2023a; Relf et al., 2013; Scala et al., 2020) and greater species richness of strongyle than adults (Boisseau et al., 2023b). This high prevalence in foals is thought to be caused by their incomplete acquired immunity, although evidence of passive transfer of antibodies from the mother to the foal was demonstrated until they assumed their own production, at approximately 20 weeks of age (Steuer et al., 2022). Furthermore, foals play a significant role in parasite dynamics within the group: infection risk, the mother's FEC, and the likelihood of resistance development all increase in groups containing foals compared to those without (Baudena et al., 2000; Leathwick et al., 2019a). As such, foals are considered high risk individuals for infection and contamination, justifying systematic anthelmintic treatment at fixed intervals throughout the year (Merlin et al., 2024b; Reinemeyer and Nielsen, 2017). Foals, already

categorized as high-risk for parasite infection, may experience further immune suppression during socially challenging dispersal events, typically around 2-3 years old (Klingel, 1969; Simpson et al., 2012). In addition, as foals transition from a suckling diet to grazing of pastures that may contain the infective larvae, their risk of infection increases.

Previous studies also described the seasonality in equine parasite infection, depending on climatic conditions (Nielsen et al., 2024; Turner and Getz, 2010). The number of infective larvae in pastures is lowest during warm periods (daily minimum temperature above 18°C) and freezing conditions (Baudena et al., 2000). In Mediterranean climates, infection intensity is highest during the winter months (Abbas et al., 2023a). Finally, the risk of parasite infection is higher in captivity, where limited host mobility forces foraging near contamination sources (Patterson & Ruckstuhl, 2013), combined with high host density and overgrazing (Hasik et al., 2024; Joó et al., 2022; Nielsen et al., 2018). Extensive human handling associated with captivity also induces stress, further compromising the host's immunity (Seeber et al., 2020).

Grant's Zebra is a subspecies of Plains Zebra, and native to the southern and eastern African savannas. It is the most widespread wild equid in the world despite that it is currently categorized as Near Threatened by the IUCN Red List since 2016 because of significant population decline (King and Moehlman, 2016). They are also the most commonly represented equid in zoos (ZIMS, 2024). In this study, we estimated individual parasite infection intensity using FEC in the largest European group of captive plain's zebras, focusing specifically on foals under 3 years old. We monitored FEC variation over time, alongside social behaviors (dominance, social distance from the other members of the group, number of social partners), and analyzed these data in relation to environmental conditions. We hypothesized that FEC would peak shortly after birth due to the lack of acquired immunity, and again when the foal transitions from maternal dependence to establishing its social role within the group.

Material and method

Animal environment

The study was conducted at la Réserve Africaine de Sigean (RAS), France (43°03'45.5"N 2°57'00.9"E). We observed a group of plains zebras (hereafter referred to as "zebras"), consisting of 28 to 35 individuals, housed in a 6.5-hectare safari enclosure. The zebras shared the enclosure with four other species: six wildebeests (*Connochaetes taurinus*), five watusi oxens (*Bos taurus*), three common elands (Taurotragus oryx) and six ostriches (*Struthio camelus*). All zebras were born at the RAS except the oldest stallion, which was imported from another European zoo to prevent inbreeding. The composition of the group varied throughout the study due to the death of two adults, the transfer to other zoos of eight foals (under 3 y. *o.*) and 14 new births. The study focuses on foals, which included a minimum of 10 and a maximum of 18 foals at any given time (19 animals totals). The zebras had free access to five shelters and were provided with hay and grass ad libitum, and parasite-free pellets once a day, all year-round. Hay and grass were cultivated in dedicated plots, inaccessible to herbivores, ensuring they were parasite-free. Water was available ad libitum from drinkers located near the shelters and from a stream constituting one boundary of the enclosure. The RAS opens to the public every day, year-round, with visitors allowed to drive through the safari enclosure on a restricted road.

Evaluation of individual parasite infection

Individual parasite infection intensity was assessed via FEC, a reliable indicator of host's parasite infection intensity (Lester and Matthews, 2014; Nápravníková et al., 2019; Nielsen, 2022) and recommended for parasite infection detection (Rendle et al., 2024, 2019). Fecal samples were collected within 5 minutes of defecation at multiple points across the dung pat, following behavioral observations to minimize interference. Samples were stored in a refrigerator at 4°C, and analyzed within 3 days for optimal freshness of the feces (Crawley et al., 2016; Jagła et al., 2013). Our sample size followed the methods of previous studies with one FEC per month and per individual (Aviruppola et al., 2016; Kuzmina et al., 2006), although some samples were missed, due to the opportunistic sampling to avoid disturbing zebras. Parasite infection was evaluated at the veterinary clinic of the RAS by the same experienced operator to limit personal bias (Levine et al., 1960), using an adapted MacMaster flotation method (Camuset, 2020). Therefore, 10 g of homogenized fecal sample was mixed with 300 ml water, filtered through a metallic tea filter and left to decant

for at least 1.5 hours. The sediment was filtered through a 200 µm filter, and 300 ml of distilled water was poured through the filter to rinse the residues and make sure that most parasite eggs were filtered. The filtrate was left to decant for at least 30 minutes. Afterwards, 1ml of the second sediment was mixed with 4 ml of saturated zinc sulfate solution (density = 1.35, final volume = 5 ml). Finally, 0.5 ml of the mix was placed inside Mcmaster chambers and observed under a microscope. We repeated four counts of parasite eggs over four chambers. The FEC was calculated accordingly: FEC = (number of eggs per chamber) * 2 * (final volume of zinc sulfate solution + second sediment) * (volume of sediment) / (weight of fecal sample); and reported as eggs per gram of feces (EPG). Identification was based on strongyle egg shapes (Lichtenfels et al., 2008); however, no attempts were made to distinguish species. Zebras were not treated with anthelmintics for 6 months prior to the study. However, individuals with FEC >1000 EPG were treated with macrocyclic lactones (either 0.2 mg/kg of ivermectin or 1 mg/kg of moxidectin, intramuscular injection, via darting) to insure their welfare. Other species present in the enclosure were not treated during the study.

Animal behavior recording

Zebras were observed two days a week from March 2022 to July 2023 by a single observer from a car. The zebras were habituated to cars crossing the enclosure; thus, the observer's presence was not considered as a disturbance. The observer identified zebras individually based on their stripe patterns after 2 weeks of daily training, which also constituted the habituation period for the animals to the continuous presence of the car and observer. Observations consisted in 10 minute-time slots of focal sampling (Altmann, 1974) for each zebra present in the enclosure. Observations began everyday with a different individual at 09:00 AM, following a randomly prearranged order of observation. When each zebra had been observed first in the day, the order of observation was randomly rearranged. Data were collected using the Behayve app (Fulton et al., 2023) installed on a dedicated tablet. The ethogram was based on a previous study conducted in the same enclosure (Joly et al., 2023). Behaviors were categorized either as event behaviors (behavior's occurrence) or state behaviors (behavior's occurrence and duration). Two similar event behaviors noted 5-second apart were considered to have occurred twice (Vervaecke et al., 2007). Behaviors were classified into three categories: affiliation, dominance and submission. Affiliation behaviors were defined as "Friendly and peaceful interactions exchanged among individuals with the function of developing,

maintaining, or strengthening social bonds" (Jasso del Toro and Nekaris, 2019), including social grooming, rubbing, physical contacts without intent and suckling. Affiliation behaviors were recorded as event behaviors (April to July 2022), but for better accuracy they were later recorded as state behaviors (August 2022 to July 2023). Both categories of dominance and submission included agonistic behaviors, recorded as event behaviors, but in one case, the individual observed was victorious, while in the other case, the individual observed was defeated. Thus, dominance behaviors included biting, stomping, threatening, chasing, pushing, displacing, and defecating over the feces of another zebra. Submission behaviors included snapping, avoiding and back kicking another zebra. All behaviors were considered directed (an individual carrying out the behavior toward another) except for the physical contacts with no intention (see table S1 for behavior descriptions).

Social networks give an image of the contacts between all individuals at a specific time. As the enclosure composition was dynamic we decided to build one social network monthly using affiliation behaviors (Clauset et al., 2004). Subgroups were expected as the number of zebras present in the enclosure exceeded the average number of individuals present in natural harems (one stallion and 2-3 mares with their foals, (Klingel, 1969)). Thus, we identified potential subgroups from the social networks (Feh, 2005). The distance between individuals was defined as the shortest path within the social network, weighted by either the occurrence (April to August 2022) or duration (August 2022 to July 2023) of behaviors. In our case, the distance gives a good image of the strength of the relationship considered. Individual dominance was quantified using the Elo rating method (Elo, 1978), by using behaviors from dominance and submission categories. Elo rating was first designed for rating in sport, but is now commonly used in behavioural ecology (Neumann et al., 2011). It is based on the sequence in which interactions occur, and continuously updates ratings by incorporating interactions sequentially. Thus, ratings can be obtained at any point in time, in our case at the time of parasite evaluation (Neumann and Kulik, 2014a). Observations from March 2022 were excluded from the study, but were dedicated to the implementation of the Elo rating.

Data analysis

Social networks were constructed using the R package Igraph (Clauset et al., 2004), which allowed calculation of the degrees of connection and identification of potential subgroups. Individual dominance was assessed using the Elo

rating method with the EloRating R package (Neumann and Kulik, 2014b). Parasite infection intensity was evaluated by the mean FEC from all four counts conducted on each fecal analysis. All statistical analyses were carried out with RStudio software (R Core Team, 2023; RStudio Team, 2023). The significance was set at α = 0.05. Data are presented as mean ± standard error.

a. Foal's age and parasite association

Association of age with individual FEC was analyzed with Generalized Additive Mixed Models (GAMM) from the package mgcv (Wood, 2023). It allows modeling the relationship between parameters without making a priori assumption about its shape (Wood, 2017; Zuur, 2009). We used FEC as the response variable. As our data showed overdispersion (variance twice as high as the mean) which is common with counting data, the model was fitted to a quasipoisson distribution. The model included the month (twelve levels), year (two levels, 2022/2023) and sex (two levels, female/male) as simple random effects, indicated with the "re" smoother (Wood, 2017). The model also allowed a random variation accounting for repeated measures from the same individual (ID) : correlation = corARMA (form=~1|ID, p=1). The predictor of the FEC was the age (continuous, years) smoothed with a cubic regression spline. Models were checked for goodness of fit with the function gam.check. All fixed factors were tested using the likelihood test ratio with anova function from the car package, comparing starting models to replicates without each singular term in turn, and only the significant ones were kept (Fox et al., 2001).

b. Foal's age and distance between the foal and its mother

We compared the mean number of affiliation behaviors between a foal and another partner (the mother, another adult female, an adult male, another foal) with Kruskal-Wallis tests followed by Dunn's tests as a post hoc test. Association of the distance between the foal and its mother with the foal's age was analysed using GAMM, to detect the age from which the distance starts to increase (Sanders et al., 2022). We used distance (continuous) as the response variable, sex (two levels, male/female) as a random factor and age (continuous, years) as the predictor. Random factors were smoothed with a "re" smoother, while the predictor was smoothed with a cubic regression spline. The model was fitted with a gaussian distribution, and allowed a random variation accounting for repeated measures from the same individual. We determined the periods of significant variance using the gratia package (Simpson, 2019).

c. Foal's age and dominance association

In zebra populations, age, sex and dominance are usually highly correlated, following a linear regression (Andersen, 1992; Joly et al., 2023; Pluháček et al., 2006; Simpson et al., 2012). However, we considered that newborn foals are not included into the hierarchy from birth. Thus, we used GAMM to analyse association between age, sex and dominance, to detect the age from which foals start to integrate the group's hierarchy (Sanders et al., 2022). We used dominance (continuous) as the response variable, sex (two levels, male/female) as random factor and age (continuous, years) as the predictor. Random factors were smoothed with a "re" smoother, while the predictor was smoothed with a cubic regression spline. The model was fitted with a gaussian distribution, and allowed a random variation accounting for repeated measures from the same individual. We determined the periods of significant variance using the gratia package (Simpson, 2019).

d. Foal's age and agonistic behaviors

For statistical analysis, associations between the foal's age and the monthly number of agonistic behavior recorded including at least one foal were analyzed with generalized linear mixed models from the package glmmTMB (Brooks et al., 2017), that allows a random variation accounting for repeated measures from the same individual: (1 | ID). We used the number of agonistic behaviors (continuous) as a response variable and the age (continuous, years) as a predictor. The model was fitted to a negative binomial distribution (nbinom2). Model was checked for goodness of fit with the DHARMa package using residual diagnostic controls (Hartig, 2022). Variance explained by the entire model (pseudo R2) was estimated with the r.squared function from the MuMIn package, with the trigamma-estimate method.

Results

Between 2021 and 2024, the mean time between two parturitions was 591 ± 173 days, and 19 of the 28 parturitions happened between May and July (figure 1). In total, fecal samples from 19 foals (mean = 9.0 ± 2.6 individuals per month) were collected and 147 fecal samples analysed (mean = 7 ± 3.3 fecal analysis per foal). Eggs of strongyles were observed for all foals with a maximum of 1017 EPG (mean = 287.6 ± 211.1EPG). In total, 7 individuals (5 foals and 2 adults) were treated once with anthelmintics through the one and a half year study. Eggs shedding variation in foal zebras was significantly linked to both age (GAMM: edf = 5.24, F = 2.97, P < 0.05) and month (GAMM: edf = 5.00, F = 0.99, P < 0.05), explaining almost 22% of the variations. The curve representing egg shedding dynamics across age can be divided in three periods of significant variations (figure 2): a first increase period from birth to almost 6 months old, followed by a first decrease from almost 6 months old to one year old, and finally, a second increase period from 1.7 to more than 2 years old. The GAMM analysis also showed a 6 month period with no significant association between age and FEC, from one year old to 1.7 years old.

The social networks were based on the 6718 affiliation behaviors recorded. Foals showed significantly less interactions with the adult males (246 contacts, mean = 8.6 ± 12.4 % of observed behaviors) or with the adult females (588

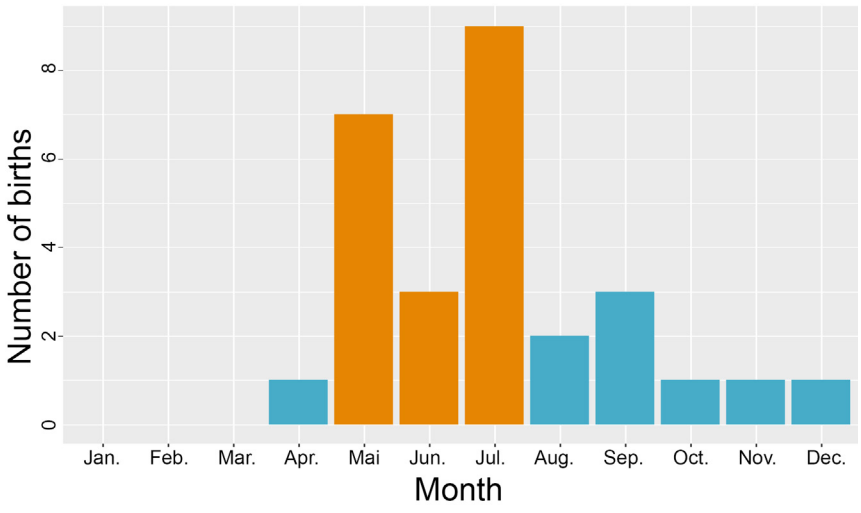


Figure 1: Number of births recorded between 01/01/2019 and 12/31/2023, depending on the month of birth. In total, 19 births out of 28 were recorded from May to July (orange).

contacts, mean = 18.1 ± 11.0 % on observed behaviors) than with their mother (Kruskal-Wallis test: X2= 25.8, df= 3, P < 0.001; Dunn's test: P < 0.05) or the other foals (Dunn's test: P < 0.05, figure 3).

However, foals showed as many affiliation behaviors with their mother as with other foals (number of behaviors with the mother: 1282 contacts, mean = 38.8 ± 19.0 % of observed behaviors; number of behaviors with another foal: 1702 contacts, mean = 43.5 ± 14.3 % of observed behaviors; Dunn's test: P > 0.05).

The distance foal-mother significantly increased with the foal's age (GAMM: edf = 3.11, F = 8.564, P < 0.001, figure 4), explaining almost 24% of the distance variations. The relation between the distance and age was not significant

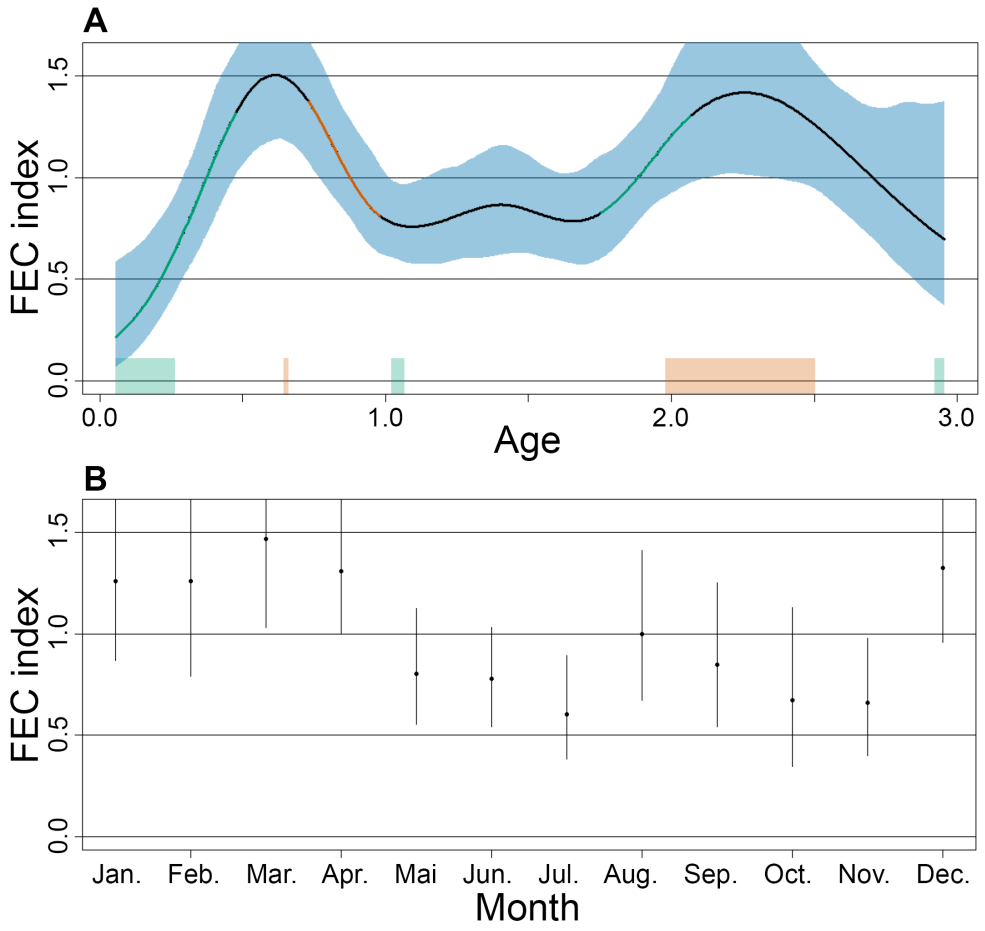


Figure 2: Evolution of the FEC of foal across time from birth to 3 years old (A), and depending on the month of sampling (B). A: The green lines represent the significant increase periods, and the orange lines represent the significant decrease periods. The blue shadow area corresponds to the 95% confidence interval. The green and orange rectangles at the bottom represent the times of significant change in the variation. B: the black dots correspond to the mean value and the vertical lines correspond to the 95% confidence interval.

from birth to 1.90 years old. Then, starting from 1.90 years old, the distance significantly increases as age increases. The mean distance between pairs that are not foal-mother was 1.52 ± 0.75.

The Elo-rating was calculated from the 4117 dominance and submission behaviors recorded. The number of agonistic behavior observed in a month including foals increased with the foal's age (GLMM: model estimate = 0.54 ± 0.08, X2 = 39.75, P < 0.001, figure 5). Finally, we detected a significant effect of age (GAMM: edf = 1.85, F = 5.41, P < 0.01) explaining almost 27% of the dominance variations. The relation between dominance and age was not significant from birth to 1.29 years old. Then, from 1.29 years old, the dominance significantly increases as age increases.

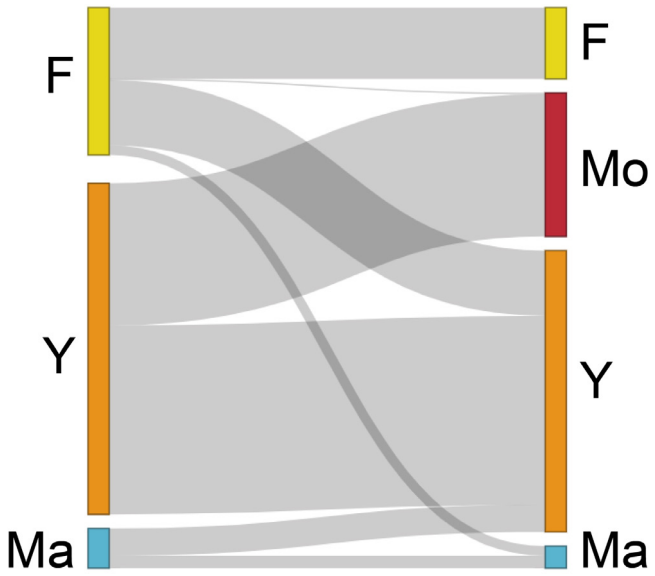


Figure 3: Affiliation behaviors observed between the individuals of the group. Females (F) are represented in yellow, mothers (Mo) are represented in red, males (Ma) are represented in blue, and foals (Y) are represented in orange. The links including a mother are affiliation behaviors recorded between one individual and its mother.

Figure 4: Evolution of the distance between a foal (n=19) and its mother (n=11), depending on the foal's age. Green points indicate that the distance was recorded before the birth of the next sibling, and yellow points indicate that the distance was recorded after the birth of the next sibling. The red line corresponds to the model estimates and the gray area to the 95% confidence interval.

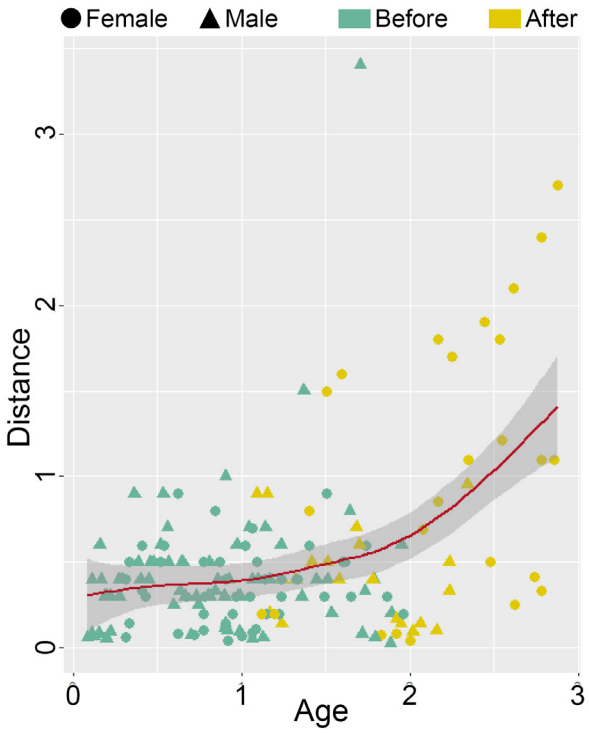
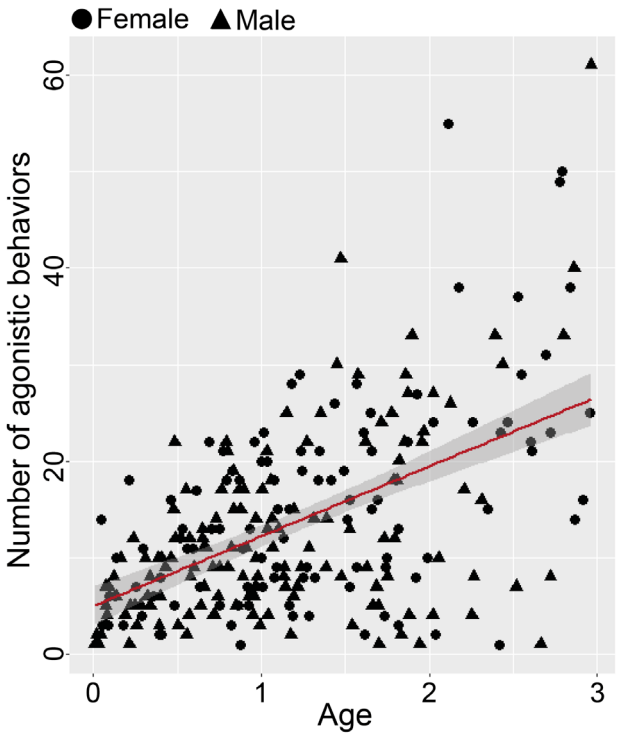


Figure 5: Number of agonistic behaviors recorded monthly, with at least one foal (n=19) depending on the foal's age. The red line corresponds to the model estimates and the gray area to the 95% confidence interval.



Discussion

The present study investigates the intensity of parasite infection in relation to the age of foals within the largest European group of plains zebras, integrating behavioral and environmental approaches, with a specific focus on strongyle. We determined three different phases of FEC variation: (1) an increase from 0 to 6 months old, (2) a decrease from 6 to 12 months old and (3) an increase from 20 to 26 months old.

The first increase phase (1) corresponds to the first sixth months of life of the foal and is consistent with previous studies (Fabiani et al., 2016). Encysted larvae of cyathostomin are usually sparse in foals under 1 year old (Nielsen and Lyons, 2017; Zynda et al., 2019), leading to the hypothesis that foals are born parasite-free and become infected through their environment after birth. Despite possible maternal antibody transfer via lactation (Steuer et al., 2022), the rising prevalence of parasites in foals is assumed to be caused by undeveloped acquired immunity (Klei, 2000). Our results support the idea that the initial increase in FEC could be due to the development of a first parasite population, consistent with previous model predictions (Leathwick et al., 2019b). It is well known that strongyles are ubiquitous parasites that have high prevalence in equids without necessarily being pathogenic (Tombak et al., 2021). Thus, a foal starting life with a FEC of 0 EPG would naturally experience an increasing FEC as the parasite population within the host develops (Fabiani et al., 2016). From the time the larvae is ingested to the time the adult parasite is able to produce eggs, it needs at least 50 days of development and the number of adult parasites peaks after 120 days inside the host (Corning, 2009; Leathwick et al., 2019b). Consequently, we should observe a peak of egg shedding 4 months after infection. The observed peak of foals' FEC at 6 months suggests that infection of the foals begins almost immediately after birth.

The transition between phase (1) and phase (2) is consistent with a previous study that highlighted a decrease of FEC in foals at 20 weeks old, likely corresponding to the moment when foals produce their own immunity (Steuer et al., 2022). Birth peak occurs in January (25%) in wild plains zebras and most births (66%) occur between December and February (Klingel, 1969). However, in our study most foals were born during spring (May–July), which is more typical of horses (Steuer et al., 2022) and European captive zebras (ZIMS, 2024). Therefore, the beginning of phase (2) likely corresponds to the winter season. During this

period (December, January, February) , the mean temperatures in the study area ranged from 7.05 ± 3.02°C to 13.23 ± 3.5°C in winter. Such environmental conditions (Nielsen et al., 2007) are suboptimal to the development of free-living larvae (Nielsen et al., 2007), thus, reducing the environmental infection risk for the hosts (Leathwick et al., 2015). The few encysted cyathostomin ready to emerge from the foal's mucosa were probably not as abundant as the free-living larvae ingested during spring time, that reproduced straightforwardly after contamination (Nielsen and Lyons, 2017; Zynda et al., 2019). As a result, FEC decreased during the first winter due to parasite mortality, simultaneously with a slower rate of reinfection.

Between phase (2) and phase (3), we observed a stable period lasting over 6 months, during which FEC neither increased or decreased. This period, which spanned the foal's first to second year, coincided with summer, and includes the following autumn and winter. The free infective stage larva represents a higher risk of infection when temperatures are over 15°C and under 30°C, primarily due to a faster development and dispersion, and a lower mortality rate (Abbas et al., 2023a). Thus we should have observed an increase of FEC during autumn, with a peak at the beginning of winter. However, the climatic conditions recorded were particularly dry in the study area with only 303.1mm of precipitation in 2022 and 244.9 mm of precipitation in 2023 ("prevision-meteo," 2024), making it the driest years since 2000 (mean = 558.1 ± 156.7 mm), and causing the decrease of survival rate of infective larvae in the pasture (Leathwick et al., 2015). During this time, foals were still primarily suckling (Pluháček et al., 2014; Seeber et al., 2019), thus reducing their grazing and exposure to larvae during the time of the year when infective larvae are the most abundant in the pastures (Abbas et al., 2023a). Finally, the foal's acquired immunity should have developed, and should have been supplemented with the mother's milk rich in antibodies. Thus, the foals in this study were able to avoid the autumn-winter peak of parasite infection, possibly due to a combination of environmental factors, behavioral factors, and immune system maturation.

Phase (3) marks the final increase in FEC from 20 to 26 months, which corresponds to significant behavioral and social changes. Our results show that at around 1.5 years old, the distance between foals and their mothers began to increase until equaling or exceeding the non foal-mother distance. This age corresponds to the following parturition of a mother, marking a turning point for the older foal as it transitions into the group hierarchy. At this moment, foals

are at the bottom of the hierarchy. Subordinate status is known to provide lower immunity in horse groups (Habig et al., 2018; Weinstein et al., 2014), which may partly explain the FEC increase of phase (3). In addition, the foal shifts from suckling to grazing as it takes its independence from its mother (Seeber et al., 2019), increasing the risk of infection. In wild conditions, dispersal event, corresponding to the moment when a young individual leaves the family group, occurs between 2 and 3 years old (Klingel, 1969; Simpson et al., 2012). Before this age, adults don't show much aggressive behaviors directed towards the foals (Simpson et al., 2012). In our study, the foals participate in aggressive behaviors at younger age and the aggressive behavior frequency increases with age. In horses, competition between individuals in a hierarchy has been demonstrated to increase stress (Ksenofontova et al., 2022). Our results then suggest that foals under 1.5 years old are mostly victims of aggressive behaviors. Captivity and high density of animals might be the cause of such a high level of aggression at this early age (Andersen, 1992; Flauger and Krueger, 2013; Hogan et al., 1988). In addition, reproductive herds are usually composed of 2-5 females (de Vos et al., 2020; Klingel, 1969), and a higher number of females can increase the aggressivity of the stallion (Boyd, 1991). In our study, the largest group was composed of one stallion for 12 reproductive mares. Our results also suggest that 1.5 years old foals are initiators of aggressive behavior frequently enough to significantly increase its dominance. This age corresponds more or less to when the mother gives birth to the next offspring. Thus, the older foal's increase in the hierarchy might start with the competition with its younger sibling for access to suckling. Indeed, the observator reported regular observations of foals of different ages sharing one mare for suckling, despite the aggressive responses of the mother towards the older foal. The FEC increase (3) from 20 to 26 months old might be caused by increased competition and stress when losing the mother's privileges, reducing the immunity. In addition, the increase of grazing activity might increase the infection risk around 1.5 years old, leading to the development of adult parasites in the gastrointestinal tract a few weeks later.

Interestingly, our results suggest that foals have more interactions with their mother or other foals, and that the stallion is the least frequent partner for affiliation behaviors. This contrasts with a previous study on semi-feral ponies, where foals preferentially interacted with stallions over mothers (Šandlová et al., 2020). The enclosure management could explain such differences: the presence of a second stallion in such proximity might push stallions to

engage more oftenly in competition behaviors, consequently spending less time engaging in affiliation behaviors with the foals than stallion in extensive conditions. Additionally, species-specific behavioral differences between zebras and ponies could explain these contrasting results (Ransom and Kaczensky, 2016).

Our study brings evidence of a pattern of FEC variation in captive equids from birth to 3 years old. We synthesized knowledge acquired across years of research on the host-parasite relationship and on the host behavior to determine the plausible causes of such variation, but underlying mechanisms are still to consider. The main point of improvement is that the current methods of fecal analysis available for veterinarians only considered strongyles, although it represents numerous species. It would be of great interest to differentiate the species to study their life cycle independently. Indeed, different parasite species might show different susceptibilities. Our study comforts the hypothesis that the host social life might have an effect on parasite development in the gastro-intestinal tract, most probably because of stress induced behaviors. It would therefore be interesting to study the stress levels of the host through fecal glucocorticoid measures, in relation to its social status, and to its parasite infection intensity simultaneously (Defolie et al., 2020).

In larger terms, host behaviors can affect the parasite life cycle depending on the parasite's ecology. In this study we focused on gastrointestinal parasites, for which the endogenous ecological niche is mostly represented by its host digestive tract. Broader work already showed the importance of the link between host gut microbiota and gastro-intestinal parasite infection intensity (Boisseau et al., 2023a). It would thus be interesting to explore the effects of host behaviors that are known to impact their digestive health as a direct or indirect result. As an example, physical activity that partly depends on the social status of the host, is known to accelerate the digestive function of mammals (Goachet et al., 2014), so it might impact parasite egg shedding as well. This is particularly relevant for captive animals that might be less active than wild animals.

The current consensus for anthelmintic use against strongyle is to treat when the FEC of an individual is above a defined threshold, based on individual characteristics such as the age or the reproductive state (Rendle et al., 2024). Foals are particularly sensitive to parasites, and are considered of high risk of parasite infection (Rendle et al., 2024). The current recommendations is

to focus the treatment at certain times of the year when a peak of parasite excretion is expected . The definition of these key moments are mostly based on climatic conditions and on egg shedding variation patterns observed in adult groups. However, our study shows that the parasite egg shedding in foals might follow a different pattern, and that social behaviors could play an essential role in it. Thus, recommendations for anthelmintic use should also incorporate behavioral stress induced parameters to define the best strategy of treatment.

Conclusion et ouverture

Les résultats de cette étude ont mis en évidence une variation temporelle de l'excrétion des œufs de strongles chez les individus âgés de 0 à 3 ans. Nous émettons les hypothèses que cette variation est due principalement à trois facteurs individuels déterminants, et à leur interactions les uns avec les autres : le développement de l'immunité acquise chez les nouveaux nés, le stress induit par les contrastes de statuts sociaux subis par les jeunes en fonction de leur âge, et le régime alimentaire. De plus, le climat semble intensifier ou diminuer l'effet de ces facteurs.

Le processus de la recherche est une remise en question constante : le protocole d'observations comportementales a été défini en amont de la thèse. Nous avions choisi de ne prendre en compte que l'occurrence des comportements, facilitant grandement l'analyse des données, puisqu'il était ainsi possible de comparer tous les comportements les uns avec les autres. Cependant, les comportements dont la durée ont une importance, se retrouvaient sous-représentés. Pour éviter ce biais, j'ai donc choisi de compter une occurrence toutes les 5 secondes (Vervaecke et al., 2007). Ainsi, les comportements qui dureraient plus de 5 secondes seraient comptabilisés deux fois, 10 secondes 3 fois, etc... L'utilisation d'un chronomètre en parallèle de l'enregistrement de l'occurrence du comportement était compliqué. C'est ainsi qu'à partir du mois de juillet 2022 j'introduisais les comportements d'états dans mon éthogramme. Ce changement de méthode coïncide avec une meilleure prise en main d'un nouvel outil informatique pour enregistrer les comportements : l'application Behayve (Fulton et al., 2023). Celle-ci permet d'enregistrer facilement les comportements, l'heure d'observation, la localisation, etc… le tout prêt à être exporté au format Excel. Cette application a pour autre avantage de mesurer la durée des comportements d'état très facilement. La décision est donc prise de passer tous les comportements d'affiliation en comportement d'état. Ce changement de méthode de terrain induit aussi un changement de méthode statistique puisque les réseaux sociaux sont capables de pondérer les liens entre les nœuds avec des coefficients, tels que la durée du comportement. Ainsi, avec cette modification nous gagnions en fiabilité.

En discussion de cette première étude, nous faisons l'hypothèse que l'accès à la nourriture distribuée par les soigneurs est conditionnée par le statut hiérarchique. Les individus les plus dominés auraient moins accès à cette

ressource que les individus les plus dominants, et dans le cas d'une distribution de vermifuges mélangés à la nourriture, cela entraîne une disparité dans les doses d'antiparasitaires reçues individuellement. En 2023, nous avons donc débuté un protocole d'observation comportemental afin d'établir le budget temps individuel des zèbres, et de le mettre en relation avec la hiérarchie. Le protocole était identique à celui défini dans le chapitre 2, à la différence que les observations étaient conduites trois jours par semaine, de mars à août 2023. De plus, l'éthogramme était enrichi de comportements d'états concernant l'activité de l'individu (Boyd et al., 1988 ; McDonnell & Haviland, 1995 ; McDonnell & Poulin, 2002 ; table 1). Cette étude à donné lieu à un stage de fin de master, effectué par Camille Maravat. Les données issues de cette étude sont en cours d'analyse et ne seront pas présentées dans ce manuscrit.

Table 1 : éthogramme complémentaire permettant l'évaluation du budget temps des zèbres de Grant de la RAS. Tous les comportements complémentaires sont des comportements d'état.

Catégorie	Comportement	
Alimentaire	Coprophagie	Ingestion de matière fécale provenant d'un individu différent. Généralement observé chez les nouveaux nés.
	Eau abreuvoirs	Prise d'eau traitée, au niveau des abreuvoirs disponibles dans les abris de l'enclos.
	Eau du cours d'eau	Prise d'eau non-traitée, généralement au niveau du cours d'eau ou dans des flaques profondes après une pluie.
	Foin	Ingestion de foin distribué quotidiennement par les soigneurs.
	Mélange	Ingestion du mélange granulés/légumes/compléments alimentaires distribué quotidiennement par les soigneurs.
	Lait maternel	Ingestion de lait maternel par les jeunes.
	Pâture	Action de brouter au sol, conduisant à la prise alimentaire d'herbe fraiche.
	Végétation haute	Prise alimentaire de feuillages, d'écorces ou de branches.
Locomotion	Déplacement	Déplacement spatiale par la marche ou la course.
	Repos couché	Individu immobile, allongé sur le sol.
	Repos debout	Individu immobile, en position debout, la tête parallèle ou en direction du sol.
	Surveillance	Individu immobile, en position debout, la tête relevée et les oreilles dressées.

Supplementary material

Table S.1 : Ethogram of the social behaviours of plains zebras used to create the social network and establish the hierarchy.

Category	Behaviour	Description¤
Affiliation	Social grooming	Reciprocal coat care in which the partners stand beside one another, usually head-to-shoulder or head-to-tail, grooming each other's neck, mane, rump, or tail by gently nipping, nuzzling, or rubbing.
	Rubbing	One side of the head laterally rubbing against another zebra's body part, with rhythm.
	Physical contacts with no intention	One zebra body part touches another zebra's body without clear intent.
	Suckling	The youngster puts its head under the mother's stomach to try to catch her udders.
Submission	Snapping	Opening and closing mouth with lips retracted. Typically, the head and neck are extended, and the ears oriented back or laterally.
	Avoidance/retreat	Movement that maintains or increases an individual's distance from an approaching other zebra. The head is usually held low and the ears turned back. The retreat can be at any gait.
	Back kick	One or both hindlegs lift off the ground and rapidly extend backwards towards another zebra, with apparent intent to make contact.
	Threat to kick	Kick intention movement, performed by swinging rump or backing up, or by waving or stomping hindleg towards another zebra, without making contact.
Dominance	Bite	Opening and rapid closing of the jaws with actual contact to another zebra's body. The ears are back, and lips retracted.
	Threat to bite	Bite intention movement with ears back and neck extended, with no actual contact.
	Stomp	One foreleg is raised and lowered, sharply and firmly striking the ground, usually repeatedly.
	Head threat	Head lowered with the ears pinned, neck stretched or extended towards the target zebra and, often, the lips pursed.
	Herding/chase	Combination of head threat and ears laid back with forward locomotion, sometimes at a gallop in an apparent attempt to overtake, direct the movement of, or catch up with another zebra.
	Displacement	Approach of one zebra with ears back causes another to move away so that distance is maintained or increased, without overt aggression.
	Push	Pressing of the head, neck, shoulder, chest or body against another zebra, causing it to move one or more legs to regain balance.
	Mounting	One stallion raises his chest and forelegs onto another zebra's back with the forelegs on either side, just as during a copulation, with or without erection.
	Defecate or urinate over	Defecation on faecal piles in a characteristic sequence: sniff faeces, step forwards, defecate, pivot or back up, and sniff faeces again.

¤Based on descriptions in Christensen et al. (2002) and Mcdonnell and Haviland (1995).

CHAPITRE 3 : BIOTIC AND ABIOTIC PREDICTORS OF PARASITE EGG SHEDDING IN ADULT EQUIDS.

Auteurs : Cloé **Joly**, Alix **Ortega**, Camille **Maravat**, Pierre **Jay-Robert**, Freddie-Jeanne **Richard**

Soumis à : International Journal of Parasitology, depuis le 31/03/2025

Contexte d'étude

Au cours de son cycle de vie, le parasite évolue entre plusieurs écosystèmes : l'un pendant la phase endogène, et l'autre pendant la phase exogène. Ainsi, à travers les études précédentes nous avons abordé particulièrement l'écologie du parasite au sein de l'écosystème-hôte. Il était donc nécessaire d'inclure aussi les paramètres de l'écosystème exogène pour comprendre la relation hôte-parasite entre les zèbres et les strongles. Ce chapitre porte sur la variation de la charge parasitaire des zèbres adultes, et partage le même protocole de récolte des données que le chapitre 2. Le statut social des adultes est relativement stable à l'état sauvage (Rubenstein, 2010), et d'autant plus en captivité où le renouvellement des étalons est rare, et où l'espérance de vie est allongée par rapport aux conditions sauvages. La gestion de la population de zèbres de l'enclos cherche à minimiser les cas d'affrontements, de mauvaises entente, afin de limiter les blessures et les morts. A la RAS, les départs de zèbres pour d'autres parcs européens se font avant leurs 3 ans. Seule une femelle, souvent la mieux intégrée dans le groupe parmi les jeunes d'une année, est conservée par la RAS à des fins de reproduction et pour éviter le vieillissement de la population. Les mâles sont choisis avec soin afin de privilégier une entente au sein de l'enclos. On observe donc très peu de challenge social au sein des groupes sociaux.

Notre évaluation de la charge parasitaire s'appuie sur le CFO, ne donnant qu'une indication de la charge parasitaire réelle supportée par l'hôte, et aucune information concernant les formes libres du parasite dans l'environnement. Cependant, l'état d'avancement des recherches actuelles sur le développement des larves exogènes de strongles permet de faire des estimations relativement précises. Par exemple, l'impact des facteurs abiotiques de l'environnement extérieur sur la vitesse de développement des larves exogènes, ainsi que sur leur survie, a été quantifié avec précision (Leathwick et al., 2015). Il est possible ensuite d'estimer qu'une faible survie ou un faible développement des larves infestantes mène à une faible contamination, et donc une faible excrétion (Leathwick et al., 2019). Par la suite, nous émettons donc l'hypothèse que les facteurs environnementaux ont un effet indirect, et décalé dans le temps, sur le CFO, selon des délais plus ou moins longs (Jaenike, 2002; Shearer and Ezenwa, 2020).

Résumé

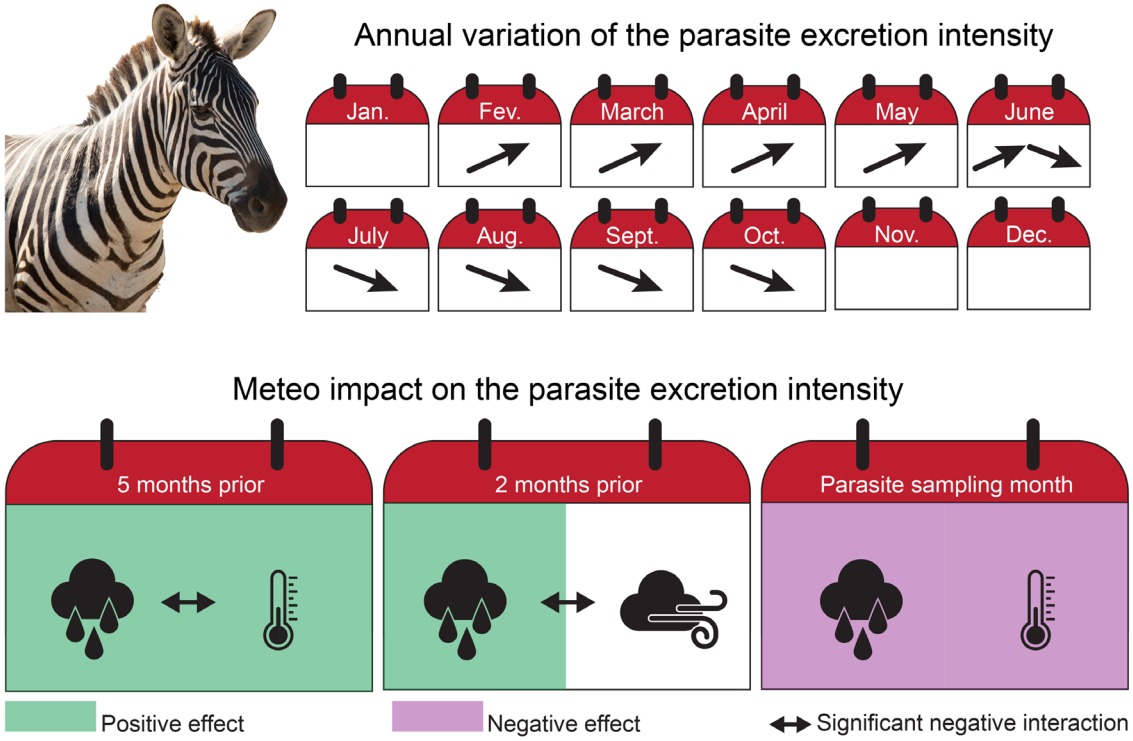
Les risques d'apparition de résistance parasitaire aux antiparasitaires augmentent chez les équidés, et les changements climatiques semblent aggraver encore cette dynamique. Comprendre les facteurs écologiques qui régissent les variations d'intensité de l'infection parasitaire est donc crucial. Étudier ces variations revient à étudier l'évolution des parasites dans leurs niches écologiques. Pendant 18 mois, nous avons suivi individuellement les CFO de strongles chez 16 zèbres adultes vivant à la RAS. La variation temporelle des CFO a ensuite été analysée en fonction des conditions environnementales (température, précipitations et vent) directes et différées (enregistrées 0, 2 ou 5 mois avant l'analyse fécale), et des comportements sociaux des zèbres (dominance et degré de connexion). Nos résultats ont mis en évidence une saisonnalité de l'excrétion d'œufs de strongles, avec une augmentation des CFO entre février et juin, et une diminution des CFO entre juin et octobre. Nous avons observé un impact direct et indirect significatif des conditions environnementales. Nos résultats montrent que plus il pleut et plus il fait chaud le mois de récolte de l'échantillon fécal, moins il y a d'œufs de strongle dans les déjections. Nous faisons l'hypothèse que l'état corporel de l'hôte est médiateur de la relation entre les conditions météorologiques enregistrées le mois d'échantillonnage et l'excrétion des œufs de strongle. La sécheresse enregistrée 2 et 5 mois avant la récolte de l'échantillon fécal diminue en partie l'intensité de l'excrétion fécale d'œufs de strongles, suggérant un effet indirect en limitant le développement des larves de strongles dans l'environnement et donc les risques d'infections. Les comportements sociaux ne sont pas des facteurs significatifs de la variation individuelle des CFO dans notre étude. D'après nos résultats, et en considérant la littérature existante, nous concluons que la saisonnalité de l'excrétion des œufs de strongle doit être évaluée au cas par cas en fonction de la zone climatique étudiée, et que la stratégie de traitement doit être adaptée en conséquence. Ainsi, l'infection parasitaire dépend de divers facteurs biotiques et abiotiques. La relation hôte-parasite est complexe et demande d'étudier les parasites du point de vue de l'écologie afin de comprendre les enjeux liés aux variations environnementales locales.

Abstract

The appearance of parasite resistance against anthelmintics increases in equids, and climatic condition changes seem to aggravate it. Understanding the ecological drivers of the parasite infection intensity is then crucial. Studying the parasite infection intensity comes down to studying the evolution of parasites in their ecological niches. This study focuses on 16 adult zebras living in captivity under mediterranean climate. Their parasite egg shedding was individually monitored for 18 months, and analyzed in regard to the direct and delayed environmental conditions (temperature, precipitation and wind, recorded 0, 2 or 5 months prior to the fecal analysis) and the zebra's social behaviors (dominance and degree of connection). Our results highlighted a seasonality of parasite egg shedding. We observed a significant impact of environmental conditions, depending on the number of delayed months considered. However, social behaviors were not significant drivers of the egg shedding variation. Compared with previous studies, we conclude that parasite egg shedding seasonality should be assessed on a case-by-case basis depending on the climate zone, and treatment strategy should be adapted consequently. Thus, parasite infection depends on various biotic and abiotic factors.

Key words: Strongyles; parasite ecology; climate; social behavior; zebra; seasonality

Graphical abstract



Introduction

The host-parasite relationship is increasingly studied through an ecological lens (Juarez-Estrada et al., 2023; Pedersen and Fenton, 2007), and investigating parasite infection intensity comes down to studying the evolution of parasites within their ecological niches. Parasite infection depends on the host's exposure and susceptibility to the parasite, both depending on various biotic and abiotic factors, which often interact with one another (Sweeny and Albery, 2022). Parasite infections have significant economic impacts on farming industries because of veterinarian costs, lower development of body mass, poorer physical performances and even death of the infected herbivores (Bonsi et al., 2023; Charlier et al., 2020; Ogbein et al., 2022). Costs reach 1.8 billion euros in European ruminant farming alone (Charlier et al., 2020). Gastrointestinal parasites are common in equids (Francisco et al., 2009) and are considered as a leading cause of mortality among working equids (Merridale-Punter et al., 2024). Equids' gastrointestinal parasites are mostly represented by strongyles, including large strongyles and cyathostomins, in both captive and wild conditions (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Kuzmina et al., 2016; Love et al., 1999; Merlin et al., 2024b). While the prevalence of large strongyle has significantly declined over recent decades, making them a minor threat primarily to juvenile equids, cyathostomin prevalence has been rising since the 2000's (Lyons et al., 1999; Sallé et al., 2020). Cyathostomins are distributed among 50 co-infecting species (Lichtenfels et al., 2008), some shared among captive zebras, ponies and horses (Kuzmina et al., 2013). These parasites exhibit a simple life cycle with a single host during the endogenous phase (Nielsen and Reinemeyer, 2018), and are highly pathogenic (Love et al., 1999; Nielsen and Reinemeyer, 2018; Nielsen, 2012). Cyathostomins eggs are excreted in the environment with the host's feces, from which free-living larvae emerge and develop through three stages: L1, L2, and the mobile infestant L3 stage. The L3 larvae migrate onto pasture vegetation and are ingested by a new host during grazing. Once ingested, the larvae either encyst in the intestinal mucosa for delayed emergence or continue developing and reproducing in the host's digestive tract (Bowman and Georgi, 2014). The encysted larvae can stay under this form for up to two years (Gibson, 1953; Love et al., 1999). Although the triggers of emergence are not completely understood yet, in equids, negative feedback from the luminal adult parasites might be regulating the encysted larvae emergence (Gibson, 1953; Love et al., 1999; Smith, 1976).

Conventional control of gastrointestinal parasites rely on frequent administration of anthelmintic treatment on all animals in a given enclosure (Lloyd et al., 2000; Relf et al., 2012). However, this approach has lead to a recent crisis with the appearance of parasite resistance to all commonly used treatments (Abbas et al., 2023b; Hedberg Alm et al., 2023; Matthews, 2014; Merlin et al., 2024a; Peregrine et al., 2014). In response, authorities now advocate for targeted selective treatment (TST) protocols, based on individual monitoring of the parasite infection (Abbas et al., 2023c; Becher et al., 2010; Kaplan and Nielsen, 2010; Rendle et al., 2024; Wallace, 2022). This protocol uses the individual Fecal Egg Count (FEC) to individually quantify the infection intensity and the necessity of treatment. Its application slows down the development of anthelmintic resistance (Leathwick et al., 2019a; Lester et al., 2013; Sauermann et al., 2019). In equid populations, the parasite infection intensity varies from one individual to another and over time (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Joly et al., 2023; Nielsen et al., 2024; Scala et al., 2020; Stratford et al., 2011; Turner and Getz, 2010). For instance, FEC peaks during winter under Mediterranean climate (Abbas et al., 2023a) while it peaks in spring in more humid regions such as Scotland and central Kentucky ((Duncan, 1974; Steuer et al., 2022). Moreover, parasite aggregation follows the 20/80 rule in equid populations: approximately 20% of individuals account for 80% of total strongyle egg shedding. This rule is relevant for horses (Nielsen et al., 2024; Scala et al., 2020; Stratford et al., 2011) and both wild and captive zebras (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Joly et al., 2023; Turner and Getz, 2010). A deeper understanding of the ecological drivers of the parasite infection intensity is crucial for developing sustainable parasite management strategies and addressing the rising threat of anthelmintic resistance (Johnson et al., 2015; VanderWaal and Ezenwa, 2016).

1.1 Abiotic factors

Parasite infection sensitivity to abiotic factors is mostly linked to the parasite's exogenous stages. Although eggs are known to be particularly resistant to environmental stressors, free-living larvae are more sensitive (Nielsen et al., 2007). In general, the development of eggs into dispersed infective-stage larvae is fastest during hot and dry season (Hutchinson et al., 1989; Merlin et al., 2022), and the success rate (i.e., the proportion of shed eggs that develop into infective larvae) is higher when temperatures are between 15°C and 30°C (Leathwick et al., 2015). However these larvae are sensitive to high temperature with a decreasing survival rate starting at 25°C and even dropping below 50% at 35°C (Leathwick et al., 2015). Freezing temperatures (below 0°C) also

damage free-living larvae (Nielsen et al., 2007). Consequently, the number of infective-stage larvae in the pasture is lowest during warmer times and freezing times (Baudena et al., 2000). The final stage of free-living larvae requires dispersal to be ingested, which does not occur below 20°C (Leathwick et al., 2015). Humidity is also a key factor for infective larval dispersion and survival (Ogbourne, 1973), and both larval abundance and parasite infection intensity are positively correlated with rainfall (Ememe et al., 2024; Merlin et al., 2024b; Turner and Getz, 2010). Moreover, the infection rate based on free-living larvae influences parasite egg shedding two months after host infection (Chapman et al., 2001; Thamsborg et al., 1998), and host were likely infected at least eight weeks before the appearance of eggs in the feces (Grear et al., 2013). Thus, studies based on FEC must account for this delay. Indeed, a two-months delayed negative effect of rainfall was reported on parasite egg shedding in wild ruminant populations (Shearer and Ezenwa, 2020). Despite its importance, research on the relationship between parasite infection intensity and abiotic factors remains limited, with further studies needed across a broader range of host species. Notably, 66% of recent studies on this topic have focused on cattle and sheep (Moerman et al., 2023).

1.2 Biotic factors

During the exogenous stages, free-living parasites interact with various taxa that affect their survival, such as fungi, earthworms or coprophagous insects (Boughton et al., 2024). During the endogenous stages, parasite infection sensitivity can be influenced by the host's sex, social status and age. Previous studies of equid populations observed higher infection rates in females than males (Kornaś et al., 2010; Scala et al., 2020) while others have reported the opposite trend (Boelow et al., 2023). Among adults, dominant individuals have lower infection intensity than subordinates (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Joly et al., 2023). In equid groups, dominance is generally associated with age, with older individuals being more dominant (Andersen, 1992; Joly et al., 2023; Pluháček et al., 2006; Rubenstein and Hack, 2004; Simpson et al., 2012). Parasite infection intensity is also linked with the host age (Ahn et al., 2024; Joly et al., submitted). Foals under 3 years old exhibit higher FECs (Abbas et al., 2023a; Relf et al., 2013; Scala et al., 2020) and greater strongyle species richness than adults (Boisseau et al., 2023b). Furthermore, equine group composition has a determining role in the parasite dynamics. The risk of infection, maternal FEC and probability of developing resistance to anthelmintics all increase in groups with foals compared to groups without foals (Baudena et al., 2000; Leathwick

et al., 2019a).

At a finer scale, low immunity in equid populations is associated with higher FECs (Kuzmina et al., 2016). Pregnancy and lactation can either suppress or enhance immune activity, making both reproductive states key drivers of parasite infection intensity (Connan, 1976; Seeber et al., 2020). Likewise, the high prevalence of parasites in foals is attributed to their incomplete acquired immunity, despite evidence of passive antibody transfer from the mother to the foal (Steuer et al., 2022). Stress, which influences immunity levels, can be induced by challenging or unstable social environments as well as competition between individuals (Creel et al., 2013; Ksenofontova et al., 2022). Indeed, host behavior can be a driver of the parasite infection intensity, mostly depending on the parasite's transmission path (Coté and Poulin, 1995). In addition to social behaviors, diet selection studies highlighted that horses established an anti-parasite foraging strategy by avoiding foraging within at least one meter of potentially contaminated environments, such as dung patches (Fleurance et al., 2007). Additionally, strongyles coexist with other organisms within the host ecosystem, and interactions between them are assumed to occur (Dallas et al., 2019; Pedersen and Fenton, 2007), including competitive interactions (Ferrari et al., 2009; Joly et al., 2023; Knowles et al., 2013; Pedersen and Antonovics, 2013).

Egg shedding is known to be seasonal and disentangling the effects of biotic and abiotic factors is challenging, as they also influence each other. Moreover, anthelmintic treatments alter the seasonal dynamic of FEC (Wood et al., 2013), and disrupt gut microbiota stability and complexity, exacerbating other stresses and medical comorbidities (Boisseau et al., 2023a). Since 2015, significant progress has been made in modeling the cyathostomin life cycle, incorporating anthelmintic treatments, temperature, and humidity as key drivers of parasite development and survival (Leathwick et al., 2019a, 2019b, 2015; Sauermann et al., 2019; Stancampiano and Usai, 2015). However, these models still lack precision due to missing predictors at various parasite life cycle stages. Understanding the impact of abiotic and biotic factors on host-parasite relationship is determinant to face future climate changes (Altizer et al., 2013; Moerman et al., 2023). Therefore, our study focuses on the effects of both abiotic (temperature, rainfall and wind) and biotic (host social behaviors, age and sex) factors to predict FEC dynamics over 18 months in captive adult plains zebras.

Material and Methods

2.1 Data recording

2.1.1 Study area

Experiments were conducted at la Réserve Africaine de Sigean (RAS) France (43°03’45.5”N 2°57’00.9”E), which benefits from a Mediterranean climate (Joly et al., 2010). The research focused on a group of plains zebras (*Equus quagga*, hereafter referred to as zebras) housed in a 6.5-hectare safari enclosure alongside four other species: wildebeests (*Connochaetes taurinus*, n = 6), Watusi cattle (*Bos taurus*, n = 5), common elands (Taurotragus oryx, n = 3) and ostriches (*Struthio camelus*, n = 6). All zebras, except for the eldest stallion, were born in the RAS. The group size varied between 28 and 35 plains zebras during the study due to natural demographic changes, including two adult deaths, the transfer of eight juveniles to other zoos, and 14 births. The study focuses exclusively on adults (individuals aged three years or older), comprising 16 individuals : 2 stallions (only the older was reproductively active), and 14 mares (one of which never reproduced during the study period). All zebras had unrestricted access to five shelters, and were provided with hay and grass ad libitum, along with pellets once daily throughout the year. The hay and grass were grown in dedicated, herbivore-free plots to ensure the absence of parasites. Water was continuously available from drinkers located near the shelters or from a stream forming part of the enclosure’s border. The RAS remains open to visitors year-round, allowing them to drive through the safari enclosure on a designated road.

2.1.2 Parasite recording

Individual parasite infection intensity was assessed from March 2022 to September 2023 using FEC, which is a reliable indicator of host’s parasite infection intensity(Lester and Matthews, 2014; Nápravníková et al., 2019; Nielsen, 2022). Fecal samples were collected after behavioral observations to limit interferences, and within 5 minutes after defecation, stored at 4°C, and analyzed within three days to maintain sample integrity (Crawley et al., 2016; Jagła et al., 2013). All counts were conducted by the same operator. Our sample size follows the methods of previous studies with one FEC per month and per individual (Aviruppola et al., 2016; Kuzmina et al., 2006). Due to opportunistic sampling to avoid disturbing the zebras, some replicates may be missing. Parasite infection was evaluated at the veterinary clinic of the RAS, using an adapted MacMaster flotation method (Camuset, 2020): 10 g of homogenized

fecal sample was mixed with 300 ml water, filtered with a metallic tea filter and placed in decantation for at least 1h30. The sediment was filtered with a 200 µm filter and placed in decantation with 300 ml of distilled water a second time, for at least 30 minutes. Next, 1ml of the second sediment was mixed with 4 ml of saturated zinc sulfate solution (density = 1.35, final volume = 5 ml). Finally, 0.5 ml of the mix was placed within McMaster chambers and observed under a microscope. We repeated four counts of parasite eggs over four chambers. The FEC was calculated accordingly: FEC = (number of eggs per chamber) * 2 * (final volume of zinc sulfate solution + second sediment) * (volume of sediment) / (weight of fecal sample); and reported as eggs per gram of feces (epg). Identification was based on strongyle egg shapes (Lichtenfels et al., 2008); no attempts were made to distinguish species. Additionally, because of a systematic elimination of the large strongyle, they are now considered as a minority in adult equids in comparison with cyathostomin (Kuzmina et al., 2024; Lyons et al., 1999), and a recent study across France reported an absence of large strongyles (Merlin et al., 2024b). Private results of larvae identification obtained at the RAS tend to confirm this hypothesis (Ferté, personal communication).
Zebras were not treated with anthelmintics within 6 months prior to the beginning of the study. However, when zebra's FEC was higher than 1000 EPG, the individual was treated with macrocyclic lactones (either 0.2 mg/kg of ivermectin or 1 mg/kg of moxidectin, intramuscular injection via darting). In total, 2 individuals were treated once with anthelmintics and were excluded from the analysis from the date of treatment to 6 months later. The other species present in the enclosure were not treated with anthelmintics during the study.

2.1.3 Behavioral recording

Zebras were observed two or three days per week from March 2022 to July 2023, from a car by a single observer. Zebras are accustomed to cars crossing the enclosure; thus, the observer's presence was considered non-disruptive. Individual identification was achieved based on stripe patterns following a two-week training period. This initial phase also allowed for animal habituation to the continuous observer's presence. Behavioral data were collected using focal sampling (Altmann, 1974) in 10-minute time slots starting at 09:00 AM, following a prearranged order that was randomized once all individuals had been observed at each time slot. As young individuals were present in the enclosure and potentially influenced the social behaviors, they were recorded as well, and integrated to the calculation of both the dominance and the social networks. However, they were not investigated further in this study. Data were

recorded using the Behayve applications (Fulton et al., 2023) installed on a dedicated tablet. The ethogram was based on a previous study conducted in the same enclosure (Joly et al., 2023). Behaviors were recorded either as state behaviors or event behaviors. The state behaviors measured the duration of the behavior while the event behaviors recorded the occurrence of one behavior. Two similar event behaviors noted at 5-second intervals were considered to have occurred twice (Vervaecke et al., 2007). All behaviors were classified into three categories: Affiliation, Dominance and Submission. The Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior defines Affiliation behaviors as “Friendly and peaceful interactions exchanged among individuals with the function of developing, maintaining, or strengthening social bonds” (Jasso del Toro and Nekaris, 2019). Thus, we included social grooming, rubbing, physical contacts without intentions and suckling in the category Affiliation. All behaviors of this category were considered directed (an individual carrying out the behavior toward another) except for the physical contacts without intentions. From April 2022 to August 2022 Affiliation behaviors were recorded as event behaviors, while from August 2022 to July 2023 Affiliation behaviors were recorded as state behaviors. Both categories of Dominance and Submission were defined as agonistic behaviors: in one case, the individual observed was victorious, while in the other case, the individual observed was defeated. Thus, the dominance category included biting, stomping, threatening, chasing, pushing, displacing, and defecating over the feces of another zebra. Moreover, the Submission category included snapping, avoiding and back kicking another zebra. Both categories were recorded as event behaviors. A description of each behavior is presented in table S1.

Social networks give an image of the contacts between all individuals at a specific time. As the enclosure composition was dynamic we decided to build a new social network monthly using Affiliation behaviors (Clauset et al., 2004). The number of zebras present in the enclosure largely exceeded the average number of individuals present in natural harems (one stallion and 2-3 mares with their foals; Klingel, 1969), leading us to test for the presence of potential subgroups within the social networks (Feh, 2005). Then, we identified the degree of connection (later referred to as Degree) as the most relevant metric from social networks to explain parasite transmission (Joly et al., 2023). Degree is the number of social partners recorded in the month, weighted with either the occurrence (April to August 2022) or the duration (August 2022 to July 2023) of the behaviors. The metric was used to perform a finer-scale analysis of

the effect of social interactions on parasite transmission. Individual dominance was calculated with the elo-rating method (Elo, 1978), by using behaviors from Dominance and Submission categories. Elo-rating was first designed for rating in sport, but is now also commonly used in behavioural ecology (Neumann et al., 2011). It is based on the sequence in which interactions occur, and continuously updates ratings by looking at interactions sequentially. Thus, ratings calculation is dynamic and continuous, allowing extraction at any time of the study. In our case, we extracted the elo-rating score of individuals at the date of each parasite analysis (Neumann and Kulik, 2014). The observations from March 2022 are not included in the study, but were devoted to the implementation of the elo-rating.

2.2 Data analysis

All statistical analyses were carried out with RStudio software (R Core Team, 2023; RStudio Team, 2023). The significance was set at the alpha threshold of 0.05. Results are reported as means ± standard errors. The correlation between random effects and predictors of a given model was checked with the cor.test function, and only the independent ones were kept.

2.2.1 FEC and temporal variations

Association between months and FEC was analyzed with Generalized Additive Mixed Models (GAMM) from the package mgcv (Wood, 2023). We used FEC as the response variables. As our data showed overdispersion (variance twice as high as the mean) which is common with counting data, the model was fitted to a quasipoisson distribution. The model included Year (two levels, 2022/2023), Sex (two levels, female/male) and ID (16 levels) as simple random effects, indicated with the “re” smoother (Wood, 2017). The model also allowed a random variation accounting for repeated measures from the same individual (ID) : correlation = corARMA(form=~1|ID, p=1). The predictor was the Month (continuous) smoothed with cyclic cubic regression splines (k = 12). Models were checked for goodness of fit with the function gam.check. All fixed factors were tested using the likelihood test ratio with anova function from the car package, comparing starting models to replicates without each singular term in turn, and only the significant ones were kept (Fox et al., 2001).

2.2.2 FEC and environmental predictors

We considered different time lag between the environmental factors and the FEC : 0 month (M0) to interpret the immediate effect of the environmental predictors

on the FEC, 2 months (M2) which is defined as the time needed for ingested cyathostomin larvae to become adults (Chapman et al., 2001; Leathwick et al., 2019b; Shearer and Ezenwa, 2020), and 5 months (M5) which is the time needed to reach the maximum percentage of ingested larvae becoming adults (Leathwick et al., 2019b). Association between FEC and environmental factors were analysed with generalized linear mixed models GLMM (Shearer and Ezenwa, 2020) from the package glmmTMB (Brooks et al., 2017), with FEC as the response variables and the environmental factors as predictors. As our data showed overdispersion , the model was fitted to a negative binomial distribution (nbinom2). All models included age (continuous) and sex (two levels: female/male) as fixed factors. Furthermore, all models allowed a random variation accounting for repeated measures from the same individual. We designed three different models for each time lag including precipitation (continuous), wind speed (continuous) and minimal temperature (continuous) as predictors. Correlation between the predictors was assessed with a correlogram using a combination of the ggpairs function from the GGally package and the ggplotly function from the plotly package. Models were checked for goodness of fit with the DHARMa package using residual diagnostic controls (Hartig, 2022). Interactions between predictors were used when it was significantly better fitted than the model without interaction after running a likelihood ratio test with the anova function from the car package. Variance explained by the model (pseudo R2) was estimated with the r.squared function from the MuMIn package, with the trigamma-estimate method. Fixed factors were tested using the likelihood test ratio, comparing starting models to replicates without each singular term in turn, and only the significant ones were kept (Lynsdale et al., 2022). Final models were compared using Akaike's Information Criteria (AIC), and the model with the lowest AIC score and at least 2 AIC units of difference than the next best model was selected as the model explaining the best the FEC variation.

2.2.3 FEC and behavioral predictors

From the GAMM analysis, we defined two periods of time for FEC variation (a decrease and an increase period; see results section for details). Thus, associations between behavioral predictors (degree and dominance) and FEC were analyzed separately during the decrease period of time (February to June) and during the increase period of time (June to October). We used GLMM with FEC as the response variables. We performed the model fitting as mentioned before in the section "FEC and environmental predictors". The model was fitted to a negative binomial distribution (nbinom2), and allowed an individual random

variation. We designed two different models with one predictor each: degree (continuous) and dominance (continuous, elo-rating). Both models included the subgroup (two levels: 1 or 2) and the Month (five levels) as fixed factors. Dominance is known to depend on age (continuous) and sex (two levels: female and male), thus both factors were included as fixed factors only in the model using degree as a predictor. Models checking and pseudo-R2 estimation were performed as described for the environmental predictors analysis.

Results

In total, we recorded 228 FEC from 16 individuals (individuals observed per month: 11.4 ± 2.0; FEC per individual : 14.5±3.9). Individuals' behaviour were recorded up to 17 months (16.1±2.0 months). Eggs of strongyles were recorded in all zebras and the highest load of parasites was 864 epg (260.7 ± 143.0 epg). Our results indicated significant variation in eggs shedding depending on individuals (GAMM: edf = 12.15, F =5.27, P < 0.05) and the month of FEC (GAMM: edf = 3.27, F =3.02, P < 0.05) explaining together almost 34% of the variations. Indeed, FEC significantly decreased from February to June, and significantly increased from June to October (figure 1). Thus, we recorded 172 out of the 228 total FEC during the increasing (n = 85) and decreasing (n = 87) FEC periods of time. Age and Sex were never significantly associated with FEC variation (table 1).

However, our data showed a strong link between the environmental factors and the FEC, with different trends depending on lags. Both minimal temperature (model estimate = -0.02 ± 0.007, X2 = 13.97, P <0.001) and precipitation (model estimate = -0.11 ± 0.05, X2 = 5.44, P <0.05) recorded at the time of parasite sampling (M0) were significantly negatively correlated with FEC variation (table 1, Figure S1); i.e. when the temperature or the precipitation increases FEC decreases. The interaction between precipitation and wind recorded two months prior to parasite sampling (M2), was significantly negatively correlated with FEC variation (model estimate = -0.08 ± 0.03, X2 = 9.14, P <0.01; table 1, figure S1); i.e. when either precipitation or wind increases, the effect of the other factor on FEC decreases. Finally, the interaction between precipitation and minimal temperature recorded five months prior to parasite sampling (M5) was negatively correlated with FEC variation (model estimate = -0.03 ± 0.01, X2 = 9.72, P <0.01; table 1, figure S1); i.e. when either precipitation or minimal temperature increases, the effect of the other factor on FEC decreases. The model runned with environmental factors recorded five months prior to the parasite sampling (M5) was the best (lowest AIC score) of all three models to explain FEC variation (table 1).

The behaviors of the 16 adult Zebras were recorded for 164 days spread over 17 months. Each adult zebra was observed for a total of 27 hours 30 minutes except for two young individuals, observed 8 hours 10 minutes and 4 hours10 minutes respectively as their age reached the studied range during the observation

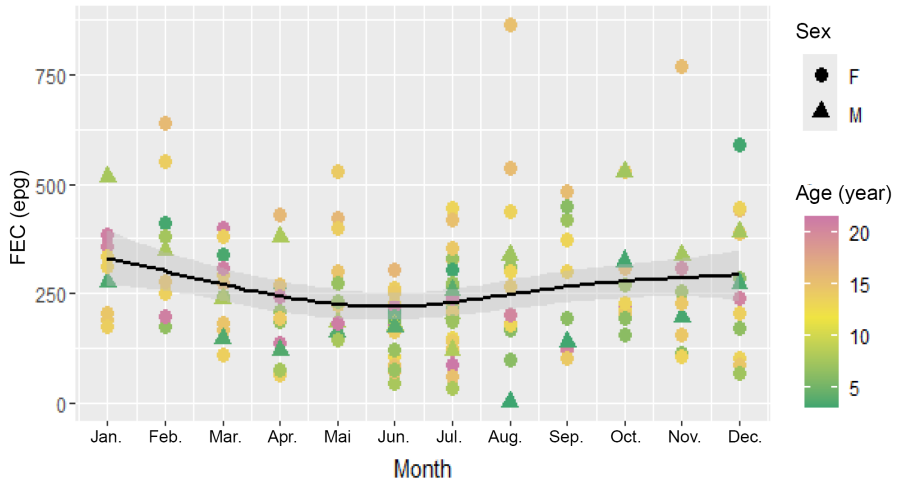


Figure 1: Fecal egg count (FEC) of 16 zebras of different ages, expressed in egg per gram of feces per month. Model estimates (GAMM) are represented with a black line with gray area corresponding to the 95% confidence interval. F: Female; M: Male

Table *1:* Effect of environmental predictor on the fecal egg count (FEC) dynamic of zebras expressed in egg per gram of feces. Models (GLMM) were fitted with a negative binomial error structure and log link function. The individual variability (ID) was used as a random effect. All models were fitted to 228 observations from the 16 zebras present in the enclosures. Significant results are written in bold. The R^2 column presents the pseudo R^2 calculated with the trigamma-estimate method. The model M5 is the best explaining FEC variation (lowest AIC score).

Lag	Predictors	Estimate	SE	Z	X^2	P	R^2	AIC
M0	**Intercept**	**6.17**	**0.24**	**25.35**	**642.6**	**< 0.001**	0.27	2825.6
	Min. temperature (°C)	**-0.02**	**0.007**	**-3.74**	**13.97**	**< 0.001**		
	Wind (km.h-1)	-0.01	0.01	-1.07	1.15	0.28		
	Precipitation (mm)	**-0.11**	**0.05**	**-2.33**	**5.44**	**<0.05**		
		Variance	Standard deviation					
	(1|ID)	0.07	0.26					
M2	**Intercept**	**5.29**	**0.35**	**15.29**	**233.82**	**< 0.001**	0.27	2826.4
	Min. temperature (°C)	0.007	0.006	1.05	1.10	0.29		
	Wind (km.h-1)	0.01	0.01	0.71	0.50	0.48		
	Precipitation (mm)	**1.52**	**0.55**	**2.76**	**7.62**	**<0.01**		
	Precipitation:wind	**-0.08**	**0.03**	**-3.02**	**9.14**	**<0.01**		
		Variance	Standard deviation					
	(1|ID)	0.07	0.26					
M5	**Intercept**	**4.76**	**0.25**	**19.15**	**366.89**	**< 0.001**	0.3	2816.2
	Min. temperature (°C)	**0.04**	**0.007**	**5.48**	**30.00**	**< 0.001**		
	Wind (km.h-1)	0.01	0.01	1.02	1.04	0.31		
	Precipitation (mm)	**0.53**	**0.15**	**3.56**	**12.68**	**<0.001**		
	Temperature:precipitation	**-0.03**	**0.01**	**-3.12**	**9.72**	**<0.01**		
		Variance	Standard deviation					
	(1|ID)	0.07	0.26					

period. We identified two subgroups within the enclosure (modularity = 0.47 ± 0.19), with 12 adults for subgroup 1, and 4 adults for subgroup 2. The older stallion was associated with subgroup 1, and the younger stallion was associated with subgroup 2. All zebras considered, we recorded a total of 10 935 social interactions, including 7 096 interactions within subgroup 1 and 2 638 within subgroup 2. In-between subgroup interactions represented 10% of all interactions observed, and most of them were agonistic behaviors (136 Affiliation behaviors vs 1 065 agonistic behaviors). Finally, 74% of in-between subgroup interactions included at least one stallion (465 between two stallions from different subgroups, 426 between a stallion and another member of the other subgroups, and 310 without any stallion). The adults' elo-rating varied from 737 to 1851 (1282 ± 218.89 elo-rating score). None of the behavioural predictors, neither dominance nor degree, were significantly associated with either the increasing or the decreasing of adults' FEC (figure 2).

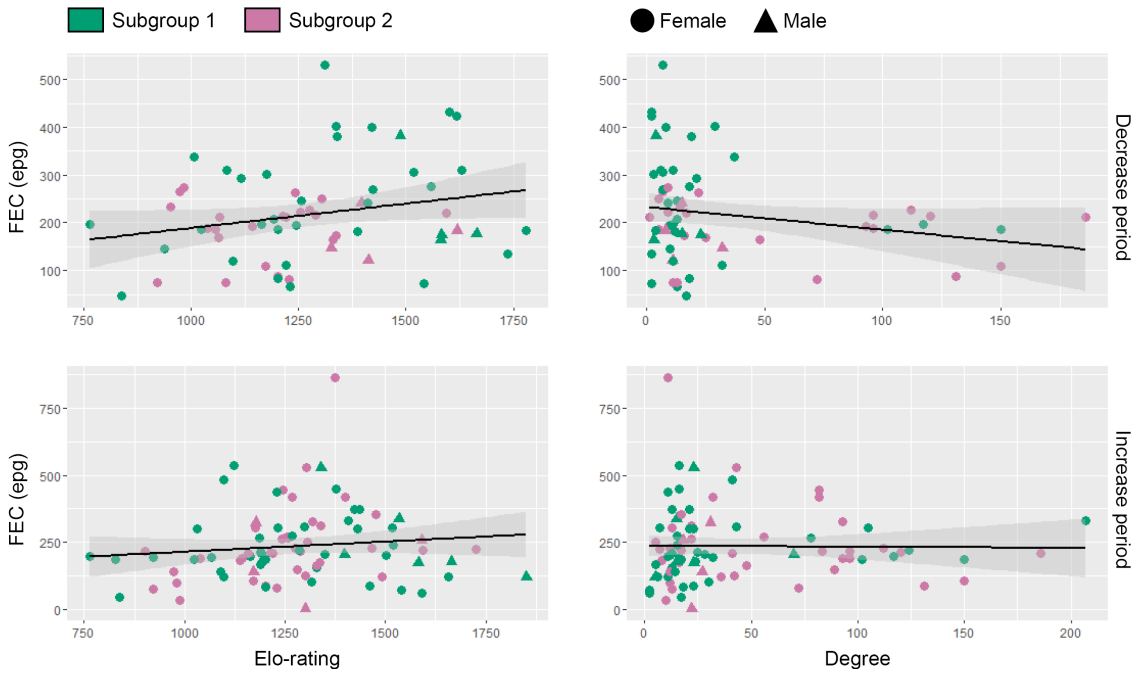


Figure 2: Fecal egg count (FEC) of 16 zebras in relation with their dominance based on their Elo-rating value (left) and the degree of connection within the social networks (right) during the decrease period (up) and the increase periode (down) of FEC. The black lines correspond to the model estimates (GLMM) and the gray area to the 95% confidence interval. None of the models showed significant association (P>0.05). Subgroup membership is highlighted in green (subgroup 1) or red (subgroup 2) and sex is highlighted by a circle (Female) or a triangle (Male).

Discussion

The mean fecal egg count recorded during the study aligns with previous studies using similar fecal analysis methods, in both wild and captive zebra populations (Epe et al., 2001; Fugazzola and Stancampiano, 2012; Lia et al., 2010; Palomero et al., 2018; Seeber et al., 2020). It also corresponds to findings from untreated horse populations (Laroche et al., 2024; Steuer et al., 2022; Wood et al., 2013). While the exact correlation between FEC and parasite infection intensity is partially uncertain, the McMaster method for fecal parasitology offers a nonlethal, quick, and cost-effective way to estimate relative infection levels (Lester and Matthews, 2014). Although the best universal method does not exist for parasite detection (Ballweber et al., 2014), we selected the currently most widely used and accessible method in equid parasitology, ensuring compatibility with previous studies. To enhance accuracy, all analyses were conducted by the same experimenter using standardized tools and homogenized samples, reducing the influence of subjective variation (Levine et al., 1960; Went et al., 2018).

Our study highlights the seasonality of FEC in adult equids living in captivity in the Mediterranean climate with FEC decreasing from February to June, and increasing from June to October. These findings contrast with previous studies in pony populations in the United-Kingdom, where FEC increased from February to June and declined from September to February (Wood et al., 2013), and in naturally infected horses in Ukraine, where FEC rose from February to June before decreasing from June to September (Kuzmina et al., 2006). Indeed, FEC seasonality varies geographically (Elghryani et al., 2023; Nielsen et al., 2024), often correlating with local climatic conditions, including temperature and rainfall (Wood et al., 2013).

In our study, we observed an immediate negative effect of precipitation on FEC, contradicting previous findings in equid populations (Turner and Getz, 2010; Wood et al., 2013). However, another study described similar results to ours, in wild populations of antelopes, possibly due to changing host susceptibility (Shearer and Ezenwa, 2020). In that case, lower rainfall reduced food availability, leading to poorer host body condition and weakened immune function. Diet composition also influences parasite development in horses (Laroche et al., 2024). However, this explanation seems unlikely as our study takes place in a zoo, where the same quality of food is provided year-round, and animal health is

carefully monitored. In our experimental condition, the grazing activity of fresh grass in an overgrazed environment would represent only a small amount of the total food intake of animals. In addition, our study was conducted in a dry environment, during the driest years since 2000 (annual precipitation from 2000 to 2023: 558.1 ± 156.7 mm) with only 303.1mm of precipitation in 2022 and 244.9 mm in 2023 ("prevision-meteo," 2024). Consequently, the fresh grass was almost absent from the area, drying as soon as it grew. It is more likely that the climatic conditions trigger another physiological response of the host, either signaling the parasite for egg shedding or creating a favorable environment for parasite development into the digestive tract of the host. For instance, horses were demonstrated to travel less in paddocks under rainfall weather than under sunny weather (He et al., 2020). The observer of our study also noted that zebras remained stationary during rainfall, either outdoors or in shelters, despite precipitation levels being ten times lower than those reported in He et al. (2020). However, the physiological and metabolic effect of physical activity in equids on parasite dynamics requires further investigation (Soulsbury and Halsey, 2018).

FEC variation is likely influenced by delayed climatic conditions affecting free-living larvae, which subsequently contribute to egg production (Shearer and Ezenwa, 2020). Previous studies considered that ingested cyathostomin larvae need at least 2 months to mature and shed eggs (Leathwick et al., 2019b; Shearer and Ezenwa, 2020). Thus, we expected that the climatic conditions two months prior to FEC measurement should drive the parasite infection intensity. Our findings indicate that both wind and precipitation significantly affected FEC, with wind mitigating the positive effect of rainfall on FEC. This result aligns with the known sensitivity of free-living larvae to dryness (Ogbourne, 1973). And although rainfall has been frequently associated with high levels of free-living larvae in the pastures (Ememe et al., 2024; Merlin et al., 2024b; Turner and Getz, 2010), wind had not previously been identified as a predictor of larval survival. This omission may stem from a lack of studies in diverse climatic regions. Given that our study was conducted in a particularly windy and arid environment, dryness appears to be the primary limiting factor for parasite survival (ADEME et al., 2016). Additionally, the lack of green grass in the enclosure might concentrate the free-living larvae in the environment. Thus, despite the poor quantity of green grass ingested after rainfall, as discussed previously, it might be highly concentrated in infesting larvae.

From egg excretion to the infective larval stage, cyathostomin development takes approximately 20 days under optimal conditions (Leathwick et al., 2015). Additionally, larvae require at least 50 days to mature after ingestion, with adult populations peaking at 120 days after ingestion (Leathwick et al., 2019b). Thus, a theoretical cycle length of 140 days (approximately five months) should result in two shedding peaks per year. However, our study identified only one peak per year, occurring in winter. If pasture egg abundance was the main infection risk factor, a secondary peak would be expected in summer, yet we observed the lowest FEC during this period. We then hypothesize that eggs shed in winter had a low survival rate.

Our results also showed a positive effect of temperature and precipitation five months prior to FEC measurement, balanced by a negative interaction between both factors. In other words, when the temperature or the precipitation increases, the five months later FEC increases as well. However, when precipitation increases, the effect of the temperature decreases, and vice-versa. While freezing temperatures are the primary climatic constraint on larval survival, such conditions are scarce in our study area. Thus the minimal temperatures likely slow but do not prevent parasite development (Leathwick et al., 2015). In spring, as temperatures rise, the number of free-living larvae in the pastures may surge. Since temperatures in this region are typically within the optimal range for larval development, they are unlikely to be a critical limiting factor. Moreover, temperature is highly correlated with temporal seasonality, making it difficult to distinguish its direct effects from broader temporal patterns. Both host and parasites are ruled by distinct annual cycles including hormonal fluctuations that may influence parasite development (Cizauskas et al., 2015; Martinez-Bakker and Helm, 2015). Most parturitions occurred between May and July (Joly et al., chapitre 2), during the lowest point of FEC annual variation. Parasite peri-parturient rise doesn't seem to be occurring in equids (Duncan, 1974; Steuer et al., 2022), despite that it is a well known phenomenon in sheeps (Urquhart et al., 1996). However, lactation can induce an immune depression in mares, which could cause FEC increasing after spring (Connan, 1976). Cyathostomin hypobiosis, releasing adult parasites in the lumen, usually occurs in winter and spring (Giles et al., 1985; Reid et al., 1995; Reinemeyer et al., 1986), and some studies suggests that it occurs when the number of parasites in the lumen is very low (Gibson, 1953; Love et al., 1999; Smith, 1976). This might partly explain the winter FEC peak observed in our study. The lowest FEC excretion in summer could signal the emergence of the encysted larvae and the time needed for

their development could lead to an egg production during the following winter. However, our results showed a decrease during spring which is in opposition with previous observations. Finally, the parasite cycle may have been affected by the historical use of anthelmintics as zebras have been treated at regular intervals for over 20 years, potentially resetting larval development cycles each spring and autumn and creating an artificial seasonality of FEC. This could have led to a selection of short life cycle parasite species.

Our study did not identify any significant association between host-derived biotic factors and parasite infection intensity. The sex effect was unclear in the literature, as previous studies reported either males or females alternatively showing higher FEC (Kornaś et al., 2010; Scala et al., 2020; Boelow et al., 2023) or no effect at all (Merlin et al., 2024b). Dominance and age are highly correlated, but zoo management practices influence age distribution. For example, in the RAS, males older than two years, socially excluded from the group, are relocated to other European zoos, while only one female per age class remains in the herd to assure the renewal of the herd. In addition, stallions are artificially introduced in the herd to prevent inbreeding. Previous studies linking dominance and parasite infection were conducted in wild populations (Fugazzola and Stancampiano, 2012; Gulland, 1995; Wascher, 2021) where natural selection pressures such as predation and resource competition may drive this association by reducing the fitness of the most infected hosts. For instance, predation might eliminate the most infected host by targeting the easiest prey. These factors are absent in our captive population of plains zebras. However, individual variability is the main driver of parasite intensity variations (Carstensen et al., 2013; Scheuerle et al., 2016). Further investigations should include immunity measures and genetics parameters as individual predictors of FEC (Klei and Chapman, 1999; Nielsen et al., 2014).

Experts increasingly emphasize balancing parasite populations with host health, favoring an ecological approach to host-parasite relationships (Juarez-Estrada et al., 2023). While the diversity of the parasite community declines due to long term use of anthelmintics (Kuzmina et al., 2024), conservation efforts targeting parasites are advocated for nearly 30 years, recognizing their role in ecosystem functioning (Lymbery and Smit, 2023; Windsor, 1997). Our study underscores the complexity of factors influencing parasite infection intensity while highlighting the distinct seasonality of egg shedding in Mediterranean environments. This pattern differs from previously documented seasonal trends

across various bioclimatic conditions. Feral horses demonstrated higher FEC in summer and lower in winter under temperate oceanic climate (Debeffe et al., 2016). In Kentucky, USA, mature horses showed no seasonal variation (Steuer et al., 2022), as well as in one study conducted in England (Lester et al., 2018). On the contrary, also in England, the FEC peak was reported during summer while the lowest egg shedding rate was observed during winter (Duncan, 1974; Wood et al., 2013). Similar results were observed in Sweden and New Zealand (Nielsen et al., 2021; Tydén et al., 2019). In Ireland, seasonality of FEC varies according to the geographical area of sampling (Elghryani et al., 2023). In conclusion, FEC seasonality is observed all around the world but the peaks appear at different times of the year depending on the climatic conditions (table S2). Targeted anthelmintic treatment is recommended when FEC exceeds a defined threshold, typically during peak shedding seasons, to minimize pasture contamination (Rendle et al., 2024). Current veterinary guidelines often lead to spring and autumn treatments without accounting for local parasite seasonality (Nielsen et al., 2024). Thus, FEC seasonality should be assessed on a case-by-case basis, with treatment strategies adapted accordingly.

Conclusion et ouverture

Les résultats de cette étude ont mis en évidence la saisonnalité de l'excrétion des œufs de strongles. Nous n'avons pas observé de lien entre les comportements sociaux et la dynamique d'excrétion des œufs de strongles, ce qui induit que les mécanismes qui régissent les variations de CFO obtenues dans le chapitre 1 ne sont pas les mêmes que ceux qui régissent la saisonnalité des CFO observée au chapitre 3. L'utilisation d'antiparasitaires dans le chapitre 1 nous permet de garantir que la diminution du nombre d'œufs excrétés est liée à une diminution de la charge parasitaire. Or, la différence de résultats entre le chapitre 1 et le chapitre 3 nous indique qu'il est peu probable que la diminution d'excrétion des œufs de parasites saisonnière observée au chapitre 3 soit liée à une diminution de l'infestation parasitaire. Nous pourrions plutôt envisager une variation dans la biologie des parasites, liée ou non à une variation de leur environnement. Dans la discussion de ce chapitre nous évoquons notamment le possible lien entre les cycles hormonaux ou le stress chez l'hôte et l'intensité d'excrétion des œufs de strongles. La prise en compte de la saisonnalité dans le diagnostic parasitaire réalisé sur la base du nombre d'œufs observés par gramme de déjections est donc primordiale.

Lors de la récolte des échantillons fécaux utilisés dans les chapitres 2 et 3, nous avons conservé 10 g de chaque échantillon à - 20 °C. Il serait donc possible de doser les hormones de stress afin de tester une possible saisonnalité du stress social (Cizauskas et al., 2015; Creel et al., 2013; Ksenofontova et al., 2022). Nous pourrions aussi imaginer doser les hormones sexuelles afin de les mettre en parallèle avec la charge parasitaire et vérifier l'existence d'un pic pré-parturient comme évoqué dans plusieurs études précédemment réalisées (Duncan, 1974; Steuer et al., 2022). Enfin, en faisant l'hypothèse que le métabolisme de tous les individus d'une espèce est similaire, et comme tous les individus ont accès à exactement la même nourriture, nous pourrions aussi envisager de doser les nutriments présents dans les déjections afin de définir quels sont les individus ayant accès à une nourriture de meilleure qualité. En faisant un parallèle avec les hypothèses émises au chapitre 2 pour expliquer les variations parasitaires au cours de l'âge des individus, nous pourrions aussi vérifier la part que représente la prise alimentaire en pâturage chez les jeunes et ainsi le risque associé à la contamination parasitaire par les strongles.

Supplementary material

Table S1: Detailed ethogram of the social behaviours of plains zebras used to create the social network and evaluate the hierarchy.

Category	Behaviour	Description¤
Affiliation	Social grooming	Reciprocal coat care in which the partners stand beside one another, usually head-to-shoulder or head-to-tail, grooming each other's neck, mane, rump, or tail by gently nipping, nuzzling, or rubbing.
	Rubbing	One side of the head laterally rubbing against another zebra's body part, with rhythm.
	Physical contacts with no intention	One zebra body part touches another zebra's body without clear intent.
	Suckling	The youngster puts its head under the mother's stomach to try to catch her udders.
Submission	Snapping	Opening and closing mouth with lips retracted. Typically, the head and neck are extended, and the ears oriented back or laterally.
	Avoidance/retreat	Movement that maintains or increases an individual's distance from an approaching other zebra. The head is usually held low and the ears turned back. The retreat can be at any gait.
	Back kick	One or both hindlegs lift off the ground and rapidly extend backwards towards another zebra, with apparent intent to make contact.
	Threat to kick	Kick intention movement, performed by swinging rump or backing up, or by waving or stomping hindleg towards another zebra, without making contact.
Dominance	Bite	Opening and rapid closing of the jaws with actual contact to another zebra's body. The ears are back, and lips retracted.
	Threat to bite	Bite intention movement with ears back and neck extended, with no actual contact.
	Stomp	One foreleg is raised and lowered, sharply and firmly striking the ground, usually repeatedly.
	Head threat	Head lowered with the ears pinned, neck stretched or extended towards the target zebra and, often, the lips pursed.
	Herding/chase	Combination of head threat and ears laid back with forward locomotion, sometimes at a gallop in an apparent attempt to overtake, direct the movement of, or catch up with another zebra.
	Displacement	Approach of one zebra with ears back causes another to move away so that distance is maintained or increased, without overt aggression.
	Push	Pressing of the head, neck, shoulder, chest or body against another zebra, causing it to move one or more legs to regain balance.
	Mounting	One stallion raises his chest and forelegs onto another zebra's back with the forelegs on either side, just as during a copulation, with or without erection.
	Defecate or urinate over	Defecation on faecal piles in a characteristic sequence: sniff faeces, step forwards, defecate, pivot or back up, and sniff faeces again.

¤Based on descriptions in Christensen et al. (2002) and Mcdonnell and Haviland (1995).

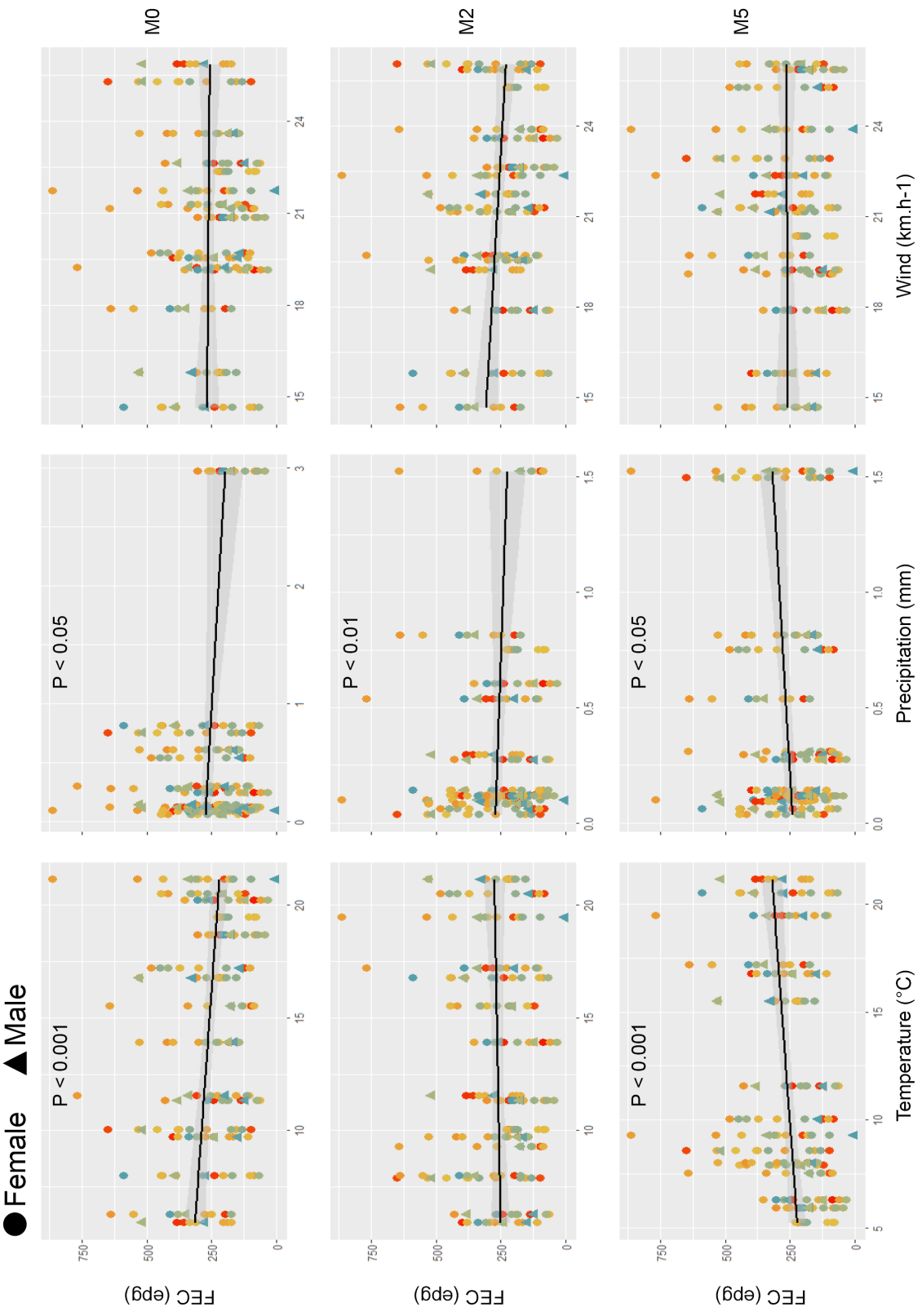


Figure S1: Individual FECs depending on meteorological conditions (temperature, precipitation and wind) recorded at 0, 2 or 5 months prior to fecal sampling.

Table S2: List of studies reporting seasonal variation of FEC in equids.

Localisation	Climate	Years	High FEC season	Low FEC season	reference
Louisianna (USA)	Humid subtropical	Unknown	Autumn	Summer	Chapman et al., 2003
Australia	Non-seasonal rainfall	2019-2021	Autumn	Summer	Abbas et al., 2024
Australia	Tropical	Unknown	Autumn	Summer	Mfitilodze et al., 1985
Australia	Tropical (Summer rainfall)	2019-2021	Autumn	Summer	Abbas et al., 2024
Australia	Tropical (Winter rainfall)	2019-2021	Autumn	Winter	Abbas et al., 2024
Kentucky (USA)	Humid subtropical	2018	no variation observed		Steuer et al., 2022
United Kingdom	Temperate oceanic	2010-2012	no variation observed		Lester et al., 2018
Ukraine	Continental	2002-2004	Summer	Winter	Kuzmina et al., 2006
Germany	Continental	2017-2018	Summer	Winter	Boelow et al., 2023
South of USA	Humid subtropical	2020-2023	Summer	Winter	Nielsen et al., 2024
Australia	Mediterranean	2019-2021	Summer	Winter	Abbas et al., 2024
Sweden	Nordic	2014-2016	Summer	Winter	Tydén et al., 2019
United Kingdom	Temperate oceanic	1972-1973	Summer	Winter	Duncan, 1974
United Kingdom	Temperate oceanic	2000-2011	Summer	Winter	Wood et al., 2013
Canada	Temperate oceanic	2008-2014	Summer	Winter	Debeffe et al., 2016
Scotland	Temperate oceanic	2013-2018	Summer	Winter	Sargisson et al., 2022
Namibia	Semi-arid desert	2005-2006	Wet	Dry	Turner et al., 2010
Namibia	Semi-arid desert	2008-2010	Wet	Dry	Cizauskas et al., 2015
Nigeria	Tropical	2023-2024	Wet	Dry	Ememe et al., 2024
West and North of USA	Continental	2020-2023	Winter	Summer	Nielsen et al., 2024

Conclusion partie 1

Application des résultats

Au cours de cette première partie de thèse, nous avons eu un aperçu de la complexité de la relation hôte-parasite chez les équidés. La prédiction de la charge parasitaire à des fins de traitements n'est pas encore à portée de main. Cependant, nous avons vu que, chez les zèbres, l'intensité de la charge parasitaire est notamment liée à l'état social de l'hôte et aux conditions climatiques. En conclusion, nous pouvons confirmer l'intérêt de traiter en priorité les jeunes de moins de 3 ans, mais la systématisation du traitement devrait prendre en compte le stade de développement de l'individu hôte autant que la saison. Suite aux résultats obtenus, l'équipe vétérinaire de la RAS a déterminé un nouveau protocole de gestion des parasites. Tous les jeunes d'une année sont traités par injection sous-cutanée (fléchage) entre la fin d'automne et l'hiver. De plus, les soigneurs alertent sur une baisse d'état corporel général (gonflement de l'abdomen, pelage hirsute), ou une situation sociale à risque (isolement, perte précoce de la mère, partage des soins maternels avec un autre poulain), permettant de décider d'un second traitement au printemps au besoin. Enfin, deux campagnes d'analyses fécales sont réalisées sur le parc, incluant les déjections de zèbres échantillonnées par opportunisme et poolées, afin de garder un suivi de l'intensité de la charge parasitaire globale des adultes. Ainsi, l'excrétion d'œufs dans l'environnement est limitée, et les zèbres adultes jouent le rôle de réservoir génétique pour les parasites. De façon générale, nous avons constaté une légère hausse de la charge parasitaire au cours de l'étude. Le protocole appliqué à la RAS suite aux travaux de thèse devrait donc limiter cette hausse et permettre à la population de parasites de se maintenir à un niveau suffisamment haut pour limiter la sélection des formes résistantes. L'administration individuelle du vermifuge chez les zèbres requiert des injections par fléchage (Wiedner et al., 2012), contrairement au protocole initial où l'antiparasitaire était distribué avec les aliments à même le sol. Ainsi, la dose reçue par l'individu ciblé est plus fiable, et il n'y a pas de perte de produit dans le sol. Ces travaux de thèse ont permis de réduire le nombre d'individus vermifugés par 3 par rapport aux 5 années précédentes aux travaux de thèse, ne traitant que les jeunes de moins de 2 ans une fois par an et, ponctuellement (<2/an), un individu plus âgé. Ce protocole prévoit donc l'administration d'antiparasitaires 3 fois moins souvent que la moyenne états-unienne dans les élevages de chevaux, ce qui revient à diviser la quantité

d'antiparasitaires annuelle par 10 (Nielsen et al., 2018). C'est aussi plus de 10 fois moins que le nombre de traitements rapportés en Irlande (Elghryani et al., 2019), ou en Allemagne (Hinney et al., 2011), et 2 fois moins que dans les pâtures de chevaux français (Merlin et al., 2024).

En comparaison avec les chevaux domestiques, dont les protocoles vétérinaires en zoo sont souvent tirés, il semble envisageable que les zèbres soient plus résistants aux parasites. Les chevaux font l'objet de centaines voire milliers d'années de domestication progressive et de sélection par l'humain pour des caractéristiques liées à la docilité ou aux compétences de travail (Kyselý and Peške, 2022). Au contraire, la captivité des zèbres étudiés ici date de moins de 5 générations (ZIMS, 2024). Ils sont donc les héritiers d'évolutions induites par des pressions de sélections issues du milieu sauvage. Notamment, la pression de sélection induite par les parasites sur leurs hôtes est source d'adaptations immunitaires chez les ongulés sauvages (Ebert and Fields, 2020; Quéméré et al., 2021), incluant les zèbres des plaines (Kamath et al., 2014). Les protocoles vétérinaires pourraient donc s'adapter aux zèbres en déterminant un seuil de CFO plus élevé que celui déterminé pour décider du traitement des chevaux (environ 250 opg). Il serait nécessaire de préalablement s'assurer de la relation entre la charge parasitaire et l'état corporel afin de déterminer un seuil parasitaire à partir duquel on observe un impact sur l'hôte. Enfin, nous pourrions imaginer la mise en place d'un suivi à vie dans les parcs zoologiques, permettant de comparer la charge parasitaire à l'état juvénile et celle à l'état adulte, et de s'assurer de la stabilité du statut de fort excréteur chez cette espèce au cours du temps.

Les méthodes de mesure de la charge parasitaire

Cette première partie de thèse est axée sur l'étude de la relation hôte-parasites chez les équidés. Pour estimer l'intensité de la charge parasitaire supportée individuellement dans le groupe de zèbres des plaines, nous avons choisi d'utiliser le CFO sur les trois études présentées. Sur les trois études, nous avons utilisé des méthodes de flottation, c'est à dire qu'on utilise une solution dense (ici une solution de zinc saturée dans les deux cas, densité = 1.3) pour diluer une échantillon de déjection et faire remonter à la surface les possibles oeufs de parasites. Cependant, les protocoles entre la première étude et les deux suivantes diffèrent. Lors de la première étude nous avons utilisé un kit de détection OVATEC® Plus, disponible dans les centrales d'achat vétérinaires,

tandis que les deux études suivantes, présentées respectivement aux chapitres 2 et 3, s'appuient sur la méthode de McMaster. Les résultats ont été fortement impactés avec une moyenne de 8.32 ± 9.5 epg et un maximum de 42 epg dans le chapitre 1 et une moyenne de 282.22 ± 182.89 opg et un maximum de 1028 opg dans les deux suivants. Il semble très peu probable que les zèbres aient soudainement multiplié leur charge parasitaire par plus de 30 entre 2019 et 2022. De plus, nous avons testé en interne les deux méthodes sur le même échantillon, pour en conclure que la différence flagrante était bien liée à la méthode. De fait, il semble que la seconde méthode soit bien plus sensible que la première. Les kit OVATEC® Plus sont connus pour donner une indication qualitative de la contamination parasitaire : positive ou négative. Cependant, comme nous avons pu le voir précédemment, l'utilisation d'antiparasitaires requiert la conservation de populations de parasites afin de diminuer l'apparition de résistances aux antiparasitaires. L'information présence/absence de parasites ne suffit donc pas pour décider de traiter un individu. Enfin, la quantité de déjection échantillonnée pour l'utilisation des kits OVATEC® Plus est bien trop faible pour être représentative de la charge parasitaire d'un individu. De ce fait, nous déconseillons fortement d'utiliser ces kits comme aide à la prise de décision de traitements. Au contraire, les méthodes dérivées de McMaster semblent donner une évaluation fiable de la charge parasitaire et de ses variations. La répétabilité des CFO issus de ces protocoles est proportionnelle au temps passé : plus les CFO sont éloignées dans le temps et moins la mesure est répétable (Carstensen et al., 2013; Debeffe et al., 2016; Scheuerle et al., 2016). Ceci laisse penser que le manque de répétabilité entre deux échantillons est probablement plus lié à une réelle variation de charge parasitaire au cours du temps qu'à un manque de fiabilité de l'analyse.

Aujourd'hui, il est recommandé d'utiliser le metabarcoding afin de maximiser la précision de l'estimation de la charge parasitaire gastro-intestinale (Ghafar et al., 2023). En effet, cette technique permet l'identification des parasites à l'espèce, et donne une indication quantitative de la charge parasitaire correspondant à chacune des espèces. Ce degré de précision peut alors conduire à l'étude des dynamiques parasitaires entre espèces (Sargison et al., 2022). En effet, certaines partagent partiellement les mêmes zones d'infestation de l'hôte, créant une compétition interspécifiques. En résulte des variations saisonnières des effectifs de chaque espèce, selon les limites de chacune (Stancampiano et al., 2010). Le metabarcoding devient de plus en plus accessible, mais restait encore trop cher au moment de la thèse. Cependant, un échantillon de 10

grammes de chaque déjection analysée par McMaster a été conservé à -20 °C afin de peut-être, un jour, pouvoir les analyser par metabarcoding.
Finalement, le CFO ne rend compte que de la charge parasitaire “active” de l’hôte, c’est-à-dire se reproduisant, quelle que soit la méthode utilisée. Or la particularité des parasites gastro-intestinaux est qu’ils existent aussi sous une forme enkystée dans l’hôte, causant parfois plus de dommages que la forme reproductive (Love et al., 1999). Par exemple, chez les cyathostomes, les formes enkystées peuvent s’accumuler dangereusement chez certaines classes d’âge (Chapman et al., 2003), à certaines périodes de l’année (Leathwick et al., 2019), et dans certaines parties du corps de l’hôte (Nielsen et al., 2021). Elles peuvent rester en dormance plusieurs mois, voire plusieurs années (Gibson, 1953; Smith, 1976), et il est difficile de les prendre en compte dans la gestion parasitaire car elles ne sont pas détectables par coproscopie. Le seul moyen actuel de déterminer leur importance est particulièrement invasif pour l’hôte, voire mène à l’euthanasie pour autopsier (Geurden et al., 2022).

Perspectives de recherche

Les deux sessions de suivi sur le terrain présentées dans cette première partie ont duré respectivement 6 mois et 18 mois, et se sont intéressées aux variations climatiques locales ainsi qu’aux caractéristiques comportementales et d’histoire de vie individuelle pour expliquer les variations de charge parasitaire chez les zèbres des plaines en captivité. Il y a donc trois possibilités d’approfondissement principales : augmenter les limites spatiales, augmenter les limites temporelles, augmenter les limites spécifiques. Enfin, il serait intéressant d’ajouter de nouveaux prédicteurs individuels potentiels tels que la génétique de l’hôte, ou son immunité. Dans la suite de cette discussion nous souhaitons aborder quelques pistes de recherches qui nous semblent intéressantes à poursuivre.
La RAS, comme la majorité des zoos existants, fait partie d’organisations internationales de zoos. Ceci permet de cultiver un réseau riche, varié et géographiquement très étendu. Par exemple, l’EAZA compte plus de 400 zoos et aquariums membres, à travers toute l’Europe. Le but initial de la formation de telles organisations est de faciliter les échanges d’animaux entre parcs et la gestion génétique des espèces les plus sensibles. Le pouvoir de ce réseau est aujourd’hui mis à contribution dans de nombreux projets de conservation incluant souvent un volet recherche, et les établissements membres sont fortement encouragés à s’investir chacun de son côté dans la recherche

fondamentale ou appliquée liée aux espèces détenues. Une étude sur les parasites des équidés à l'échelle européenne serait novatrice et pourrait par exemple compléter les études à grandes échelles réalisées aux U.S.A. (Nielsen et al., 2024, 2018). L'ampleur géographique pourrait permettre de générer des modèles de prédiction de la variation de la charge parasitaire selon les conditions climatiques. Ce serait aussi l'occasion de créer des cartes d'aires de répartition des espèces de parasites au sein des populations d'équidés européens. Enfin, le nombre important d'établissements disponibles pourrait aussi permettre d'étudier l'impact des modèles de gestion des équidés sur la charge parasitaire (nombre d'individus, densité sur un enclos, couverture végétale, mode de distribution de la nourriture, type de nourriture, etc…).

Comme indiqué précédemment, le réseau de l'EAZA a été initié afin de faciliter la translocation d'individus entre zoos et aquariums européens. De ce fait, des registres ont été mis en place permettant de remonter la généalogie de chacun des individus, parfois même jusqu'à l'ancêtre prélevé directement du milieu sauvage. Une étude à l'échelle européenne pourrait donc mettre en valeur l'impact de la génétique dans la sensibilité des hôtes aux parasites, ou des soins maternaux. De la même façon, les vétérinaires des zoos conservent généralement une trace des actes réalisés. Ainsi nous pourrions avoir accès, dans l'idéal, à la fréquence de traitement, les molécules utilisées, les quantités d'antiparasitaires administrés, et même au nombre d'individus pour qui la charge parasitaire a été une cause probable du décès. Ainsi, la presque totalité des prédicteurs envisagés pour expliquer la variation de la charge parasitaire pourrait être testée en simultané, chez toutes les espèces d'équidés connus dans le monde.

PARTIE 2 : RELATION TROPHIQUE ENTRE LES BOUSIERS ET LES GRANDS MAMMIFÈRES EN CONDITION DE PÂTURAGES CLOS

Introduction partie 2

Les coléoptères coprophages…

Les bousiers sont des coléoptères de la superfamille des Scarabaeoidea dont les larves et les imagos se nourrissent, exclusivement ou majoritairement, de déjections d'herbivores (Hanski and Cambefort, 2014; Holter and Scholtz, 2007). Ils se répartissent en trois sous-familles : Les Aphodiinae, les Scarabaeinae et les Geotrupinae. Près de 170 espèces sont décrites en France (Paulian and Baraud, 1982), 900 en Europe et 6000 dans le monde (Simmons and Ridsdill-Smith, 2011). Ces espèces peuvent être catégorisées selon trois groupes fonctionnels, appelés guildes, basés sur des différences au niveau du comportement reproducteur (Doube, 1990) : les endocoprides, les paracoprides et les télocoprides (figure 1). Les endocoprides se reproduisent et pondent leurs œufs au sein même de la déjection. Les paracoprides enterrent leurs œufs directement sous la déjection (figure 2). Enfin, les télocoprides forment des pilules de déjection qu'ils vont déplacer à la surface du sol en les faisant rouler, pour les enterrer plus loin. Ce régime alimentaire particulier associé à ces comportements reproducteurs font des bousiers un taxon clefs de voûte (Box 4) dans les écosystèmes auxquels ils s'intègrent (Manning et al., 2016), rendant d'autant plus important l'intérêt pour leur conservation.

Box 4 : Les espèces clefs de voûte

Défini en premier lieu dans une publication de 1969 au sujet de prédateurs (Paine, 1969), le terme est re-défini par la suite afin de généraliser le concept (Bond, 1994; Paine, 1995; Power et al., 1996). Ainsi, par espèce clefs de voûte, on définit les espèces qui présentent des effets disproportionnés par rapport à leur abondance, sur les écosystèmes dans lesquels elles sont intégrées. La perte d'une espèce clef de voûte mènerait à la perte d'autres espèces ainsi qu'à des fonctions écologiques cruciales pour le maintien de l'écosystème considéré.

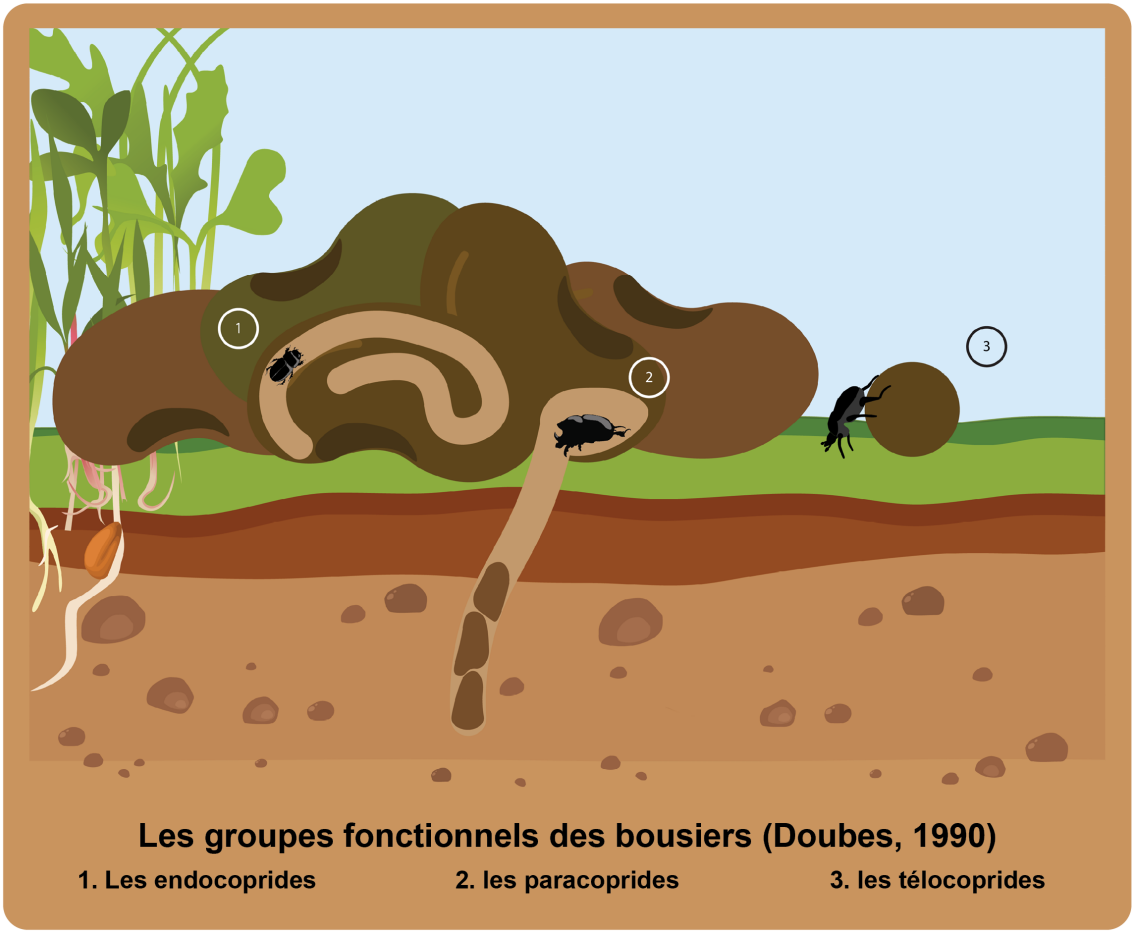
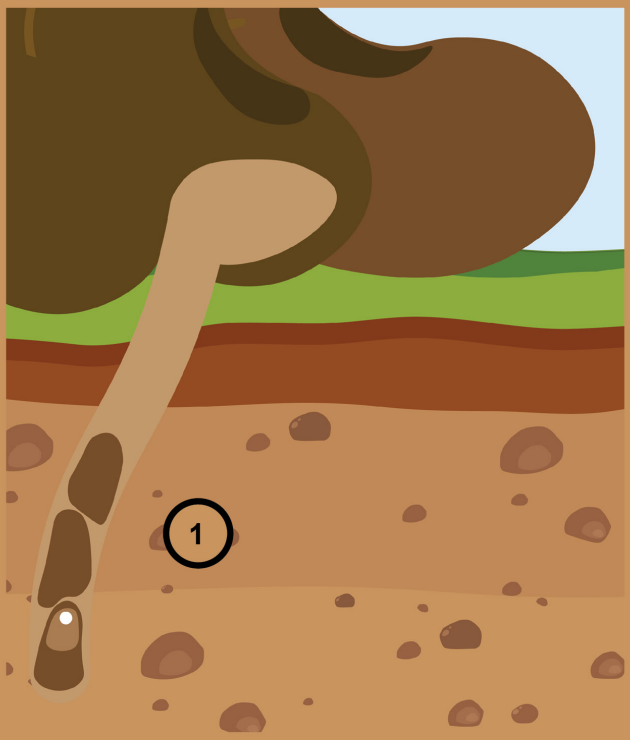


Figure 1 : Illustration des trois groupes fonctionnes principaux décrits par Doubes, 1990.



Le cycle de vie de *Onthophagus vacca*

A partir du printemps, les adultes façonnent des pilules à partir de matière fécale. Les pilules vont être enfouies, seules ou les unes après les autres, directement sous la déjection. La femelles déposera un oeuf unique dans la loge, avant de sceller la pilule (1).
La larve éclos (2), puis se développe dans la pilule. Elle est équipée de mandibules puissantes lui permettant de se nourrir des fibres contenues dans la pilule. La larve se développe en nymphe (3), pour se métamorphoser en adulte (4). Les adultes ont de puissantes pattes, leur permettant de s'excaver de leur pilules et de sortir à la surface à la recherche d'une nouvelle déjection, le printemps suivant (5). Le cycle de vie de *O. vacca* se déroule sur un année.



Figure 2 : Illustration du cycle de vie de l'espèce *Onthophagus vacca*, un coléoptère coprophage faisant partie du groupe fonctionnel des paracoprides.

…héros et victimes de nos pâturages

Fournisseurs-clés de services écosystémiques, les bousiers sont décrits comme les principaux acteurs de la dégradation des déjections des mammifères (Holter, 2016; Losey and Vaughan, 2006), identifiée comme l'une des 100 questions de haute pertinence politique au Royaume-Uni (Sutherland et al., 2006). Au premier abord, il semblerait que certains groupes fonctionnels semblent plus efficaces que d'autres dans l'élimination des déjections. Ainsi, une étude a montré que les paracoprides étaient capables d'éliminer plus de déjection que les endocoprides après un mois de travail, avec respectivement, 49% et 24% de déjection éliminé, mais l'écart s'estompe après un an, atteignant respectivement 80% et 84% de déjections éliminées (Nervo et al., 2017). La taille des insectes pourrait aussi être indicatrice de la capacité éliminatrice, et à court terme au moins, les paracoprides de grande taille semblent éliminer plus de déjections que les autres groupes fonctionnels (Piccini et al., 2017). Néanmoins, la diversité étant leur force, les services écosystémiques rendus par les bousiers sont plus efficients lorsque l'assemblage de la communauté inclut tous les groupes fonctionnels, les tailles et les spécialisations trophiques (Milotić et al., 2018).

La fonction de décomposeur des bousiers participe au nettoyage des déchets organiques présents dans les pâturages, augmentant ainsi l'espace disponible pour les herbivores. Par exemple, la France compte 18 864 000 bovins (FranceAgriMer, 2019) couvrant annuellement chacun 300 m2 de sol de déjections (Hughes et al., 1975) auxquels s'ajoutent les surfaces de refus situées autour des déjections, 6 à 12% des surfaces couvertes par les déjections (Fincher, 1981). En effet, les herbivores évitent de brouter sur les zones proches de déjections, créant des zones de refus inutilisables (Michel, 1955). Si aucune déjection bovine n'était dégradée, chaque année, près de 6% des pâtures permanentes françaises ne seraient plus disponibles pour le bétail. Il serait encore possible d'extrapoler au niveau mondial, puisque plus de 26% du sol planétaire non recouvert par de la glace est dédié à l'élevage d'animaux de production (Steinfeld et al., 2006). Au-delà de la problématique spatiale, l'élimination des déjections par les bousiers s'accompagne aussi d'une réduction de 32% des émissions de gaz à effets de serre issus des bouses de vaches (Piccini et al., 2017).

Ce nettoyage contribue au contrôle des ectoparasites coprophiles tels que les

mouches, et limite l'exposition des herbivores aux parasites gastro intestinaux en réduisant de façon significative l'émergence des oeufs de parasites présents dans les déjections ainsi que la dispersion des nématodes (Bergstrom, 1983; Gormally, 1993; Forbes et al., 2024; Ridsdill-Smith and Edwards, 2011). Les bousiers ont aussi un rôle-clef dans les cycles des nutriments en déplaçant physiquement la matière organique. En effet, les déjections représentent une source importante de nutriments (Bloor et al., 2012). On estime que 15% de la matière organique sèche ingérée par les bovins est excrétée à travers leurs déjections (Haynes and Williams, 1993). En dégradant cette ressource riche en nutriments, les bousiers facilitent la mise à disposition pour les plantes (Nichols et al., 2008). En effet, la présence de bousiers s'accompagne d'une augmentation de la taille et de la qualité nutritionnelle de l'herbage environnant (Bang et al., 2005; Hanafy and El-Sayed, 2012; Nervo et al., 2017). Les bousiers participent aussi à la dispersion des graines des végétaux (Manns et al., 2020; Nichols et al., 2008). Pour les Etats-Unis, une première étude avait estimé la valeur des services écosystémiques rendus par les bousiers à plus de 2 milliards $US/an (Fincher, 1981). Une étude plus récente, tenant compte du fait que de nombreux animaux sont aujourd'hui élevés « hors sol » (et donc que les matières fécales doivent être ramassées et traitées), a estimé le service écosystémique à plus de 380 millions $US/an pour les seules zones de pâturage bovin états-uniens (Losey et Vaughan, 2006).

Malgré l'incontestable utilité des bousiers pour les activités anthropiques telles que l'agriculture, ils en sont pourtant les premières victimes, notamment de par l'utilisation des antiparasitaires chez les animaux d'élevage. Si on garde l'exemple de l'IVM, cette molécule perturbe le fonctionnement des canaux ioniques chlorure glutamate et GABA qu'on retrouve chez la grande majorité des arthropodes. Les traitements antiparasitaires à base d'IVM impactent les bousiers à plusieurs niveaux : ils diminuent significativement le taux d'éclosion des oeufs de bousiers (Jochmann, Lipkow, et Blanckenhorn, 2015), sont létaux pour les larves, diminuent la vitesse de développement des survivantes, et impactent la fitness de la descendance (O'hea et al., 2010 ; Baena-Diaz et al., 2018). De précédentes études ont établi des taux de mortalité de 50% des larves de bousiers à partir d'une concentration de 67 µg.kg^-1 d'IVM dans des déjections fraîches (Lumaret et al., 2007). Après avoir été exposés à une concentration de 1 mg.kg^-1 d'IVM dans des excréments frais, la fécondité de bousiers adultes a été réduite et aucune larve n'a émergé (Cruz Rosales et al., 2012). L'exposition à l'IVM par le biais des excréments peut également entraîner la mort des bousiers

adultes (Verdú et al., 2015), avec un taux de mortalité de 50% des adultes à partir de 620 µg.kg^-1 d'IVM dans des déjections sèches (Römbke et al., 2010). L'IVM diminue la sensibilité olfactive et la force musculaire des bousiers, les empêchant d'effectuer leurs activités biologiques normales (Verdú et al., 2015) et prolongeant le temps de développement des larves (Cruz Rosales et al., 2012). L'exposition à long terme à l'IVM affecte ensuite les services écologiques fournis par les bousiers en réduisant la richesse, l'abondance et la biomasse des espèces (Verdú et al., 2018). La capacité d'élimination des déjections par les bousiers est réduite de 70% dans les pâturages où les herbivores sont traités régulièrement comparé aux zones jamais traitées (Tonelli et al., 2020). Les pertes économiques liées à la raréfaction des bousiers causée par l'IVM sont estimées à plus de 6 millions £ par an en Angleterre pour les filières de productions bovines (Beynon, Wainwright, et Christie, 2015). Il est nécessaire de mettre en place des actions de conservation pour les communautés de bousiers afin de maintenir ces services écosystémiques sur lesquels nos écosystèmes reposent (Torabian et al., 2024).

Problématiques

Les travaux de recherche présentés dans cette seconde partie se concentrent donc sur les relations qui s'établissent entre les grands herbivores et les coléoptères coprophages dans des pâturages clos. Ils répondent à une demande de la direction de la RAS et s'intègrent ainsi dans les problématiques du zoo. D'une part, parmi les services écosystémiques rendus par les bousiers on trouve une meilleure qualité et une plus grande quantité d'herbe dans les enclos. La RAS dépense plus de 170 000 € par an en foin/luzerne (chiffres de 2021), sans compter le coût d'un poste d'agriculteur permanent à temps plein et ceux liés à la gestion des terrains cultivés par le parc. De plus, près de 60 soigneurs sont employés à temps plein tout au long de l'année et une grande partie de leur temps est allouée au nettoyage des déjections d'herbivores dans les enclos. D'autre part, bien que les bousiers soient les premières victimes des traitements vétérinaires, ils ont un rôle dans le contrôle des parasites gastro-intestinaux des grands herbivores (Bergstrom, 1983; Gormally, 1993; Ridsdill-Smith and Edwards, 2011). En effet, en enterrant les déjections, les bousiers enterrent aussi les œufs et les larves de parasites des herbivores, ce qui les empêche d'infecter un futur hôte. De plus, le travail de bioturbation des bousiers assèche rapidement les déjections, diminuant l'espérance de vie des œufs et des larves de parasites d'herbivore. Ainsi, selon les notions issues du principe de One Health (Panel OHHLEP, 2022), les bousiers, les herbivores et les parasites font partie d'un même écosystème et la santé est interconnectée avec celle des autres. Une communauté de bousiers abondante et riche complète donc la bonne gestion des parasites dans les enclos.

Lors de la caractérisation des communautés de bousiers par rapport à l'hétérogénéité de leur environnement, nous avons fait le choix de commencer par considérer la multitude d'espèces d'herbivores présentes dans les enclos. Ainsi, nous avons testé l'attractivité des déjections de différents herbivores et celles d'animaux historiquement élevés dans la région (cheval et mouton). Contrairement aux zèbres, modèle biologique considéré en partie 1, l'activité des bousiers est saisonnière. Les échantillonnages sont donc conditionnés au pic d'activité des adultes. Nous avions le choix entre deux pics d'activités principaux dans l'année (Lumaret and Kirk, 1987), le printemps et l'automne, mais afin de pouvoir comparer avec la littérature existante en région méditerranéenne nous avons choisi d'étudier les communautés printanières (Jay-Robert et al., 2008). Les deux années suivantes, nous avons axé la thématique de recherche sur

l'impact de la gestion des enclos sur les bousiers. Nous avons donc exploré l'effet de la densité des grands herbivores lors d'une étude réalisée sur deux années consécutives. Enfin, à la suite des résultats de la première étude, qui montraient notamment une préférence de *O. vacca* pour les déjections équines contrairement à ce qui était décrit dans la littérature, nous avons souhaité étudier l'impact de la ressource disponible sur leur fitness. Pour cela, nous avons examiné les bousiers en conditions contrôlées et intégré une approche expérimentale au projet de recherche. Nous avons démarré un élevage d'*O. vacca* afin d'évaluer l'impact de la ressource disponible sur les soins parentaux et sur la physionomie de la génération suivante (F1). Nous avons aussi eu l'ambition de tester l'hypothèse de l'héritage chimique en olfactomètre. Celle-ci suggère que l'exposition à une ressource à l'état larvaire conditionne les choix trophiques à l'état adulte. Plus simplement, une larve de bousiers élevée dans une déjection équine, devrait à l'âge adulte préférer se nourrir et nidifier dans une déjection équine. Nous partirons donc du constat existant, puis nous déroulerons un fil de réflexion nous menant jusqu'à poser des questions d'évolution.

CHAPITRE 4 : ONE DUNG TO ATTRACT THEM ALL : FECES ATTRACTIVENESS TO DUNG BEETLES IN HERBIVORE MULTI-SPECIES PASTURE

Auteurs : Cloé **Joly**, Freddie-Jeanne **Richard**, Sandra **Barantal**, Lucie **Dewever**, Alix **Ortega**, Pierre **Jay-Robert**

Soumis à : Ecological Entomology, depuis le 02/08/2024

Contexte d'étude

Au moment de la construction de la thèse, la curiosité de Pierre a tout de suite été piquée : nous allions caractériser des communautés de bousiers restées inconnues pendant près de 50 ans, dans un hotspot de diversité pour ces insectes (Numa et al., 2020). En effet, les dernières observations connues de bousiers autour de la RAS datent d'avant 1980 (Leandro and Jay-Robert, 2025). A l'époque, la région est principalement occupée à travailler la vigne. On trouve quelques chevaux et quelques troupeaux de moutons, mais ces derniers sont plus dispersés dans les hauteurs des collines que proches du littoral. La curiosité s'emballe de plus belle quand on sait que la communauté de bousiers caractérisée 50 ans auparavant a connu un chamboulement de grande ampleur : l'ouverture de la RAS date de 1974. Cet événement a marqué le début d'un remodelage important du paysage, notamment par la création d'enclos, de haies et de routes, et par l'introduction d'une activité d'élevage importante avec une très grande diversité d'espèces animales (mammifères, oiseaux et reptiles) concentrées sur une petite surface. Le zoo a donc fêté ses 50 ans d'existence au cours de ce projet de thèse. Ce changement d'occupation du sol à long terme a possiblement provoqué des modifications profondes des communautés d'insectes (Carpaneto et al., 2005). Afin de mieux comprendre l'impact sur la communauté de bousiers, nous avons donc commencé par réaliser un inventaire en 2022.

A cause, notamment, des sécheresses répétées, la production en herbe a été quasi nulle en 2022. La source alimentaire principale de tous les herbivores observés correspond donc aux apports en foin distribués par les soigneurs. La quantité de nourriture distribuée est proportionnelle aux animaux vivant dans les enclos, et est calculée à l'identique quel que soit l'enclos. De plus, elle est en accès libre à tous les animaux présents dans les enclos. Nous pouvons donc considérer que la variation physico-chimique des déjections entre les espèces est liée à la métabolisation et au comportement alimentaire de l'espèce productrice. Cette gestion des herbivores nous a paru être idéale pour créer un test de choix *in situ* pour les bousiers.

Résumé

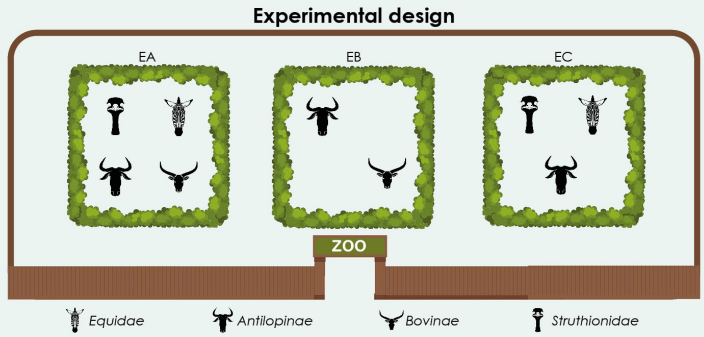
Les espèces de bousiers peuvent être considérées généralistes ou spécialisées dans l'utilisation de différentes ressources. En conséquence, nous avons testé l'attractivité de différentes ressources, en faisant l'hypothèse qu'une plus grande diversité d'herbivores induit une plus grande diversité d'espèces de bousiers. Afin d'inventorier les communautés de bousiers, nous avons utilisé 52 pièges appâtés avec différentes combinaisons de déjections selon les herbivores vivants dans les espaces géographiques étudiés. Tous les herbivores vivaient dans des enclos de zoo, et étaient nourris à l'identique. Au total, nous avons capturé 411 bousiers appartenant à 16 espèces. La plus abondante des espèces était *Onthophagus vacca*. Les déjections des *Equidae* étaient significativement plus attractifs que les déjections de *Bovinae*, d'*Antilopinae* ou de *Struthionidae*. Nous émettons deux hypothèses afin d'expliquer ces résultats en contraste avec les études précédemment publiées. La forte attractivité des déjections d'*Equidae* pourrait être le résultat de pression de sélection induite par la présence de longue date de chevaux dans la zone étudiée, et par l'isolement de la communauté de bousiers. Nos résultats pourraient aussi s'expliquer par une mauvaise identification de l'espèce dominante dans les études précédemment publiées. En effet, les insectes identifiés jusqu'à 2010 comme *O. vacca* sont maintenant inclus dans un complexe d'espèces entre *O. vacca* et *O. Medius*.

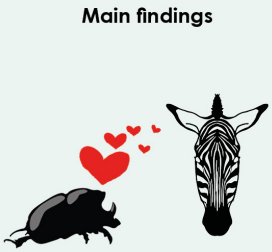
Abstract

Dung beetles play a decisive part in the degradation of organic matter, among other important ecosystem services. The different species can be generalists or specialized in the processing of different resources. Therefore, we tested the attractiveness of different resources, and we hypothesized that higher diversity of herbivores induced a higher diversity of dung beetle's species. To inventory dung beetles we used 52 pitfall traps, baited with different combinations of droppings from herbivore species living in the respective areas. Herbivores were hosted in different enclosures of a zoo, and fed with the same food. In total, 411 dung beetles belonging to 16 species were inventoried. The most abundant species was *Onthophagus vacca*. *Equidae*'s droppings were significantly more attractive than the *Bovinae*'s, *Antilopinae*'s or *Struthionidae*'s droppings. We emitted two main hypotheses to explain the observed dung beetles' feeding preferences for *Equidae*'s droppings, contrasting with previous studies. It might result from pressures of selection induced by the long-term presence of the herbivores in an area poor in available resources and the isolation of the dung beetle's population. Alternatively, it might result from a misidentification of the species in the previous papers investigating the diet preferences of dung beetles. Indeed, insects previously identified as *O. vacca* are now a complex of *O. vacca* and *O. medius*.

Key words: Trophic Relation; Large Herbivores; Coprophagous Beetles; Diet preferences; Insect Behavior; Zoo

Graphical abstract





Introduction

Insects provide a wide array of ecosystem services to humans displayed in at least 30 main areas of application from engineering to educational purposes (Cardoso et al., 2020). Among these ecosystem services, the decomposer function of coprophagous insects plays a decisive role in the degradation of herbivorous dropping, identified as one of the 100 questions of highest political relevance in England (Sutherland et al., 2006). Dung beetles are described as key suppliers of ecosystem services (Scholtz et al., 2009), and belong to the superfamily Scarabaeoidea, feeding exclusively or predominantly on mammal droppings at every stage of their life (Edmonds, 1982; Hanski and Cambefort, 2014). The economic value of the ecosystem services they provide has been estimated at over USD 380M per year for the North American bovine pastures alone (Losey and Vaughan, 2006), £ 367M per year for the U.K. cattle industry (Beynon et al., 2015), and almost USD 1M per year for the bovine pastures in Florida (Stanbrook-Buyer et al., 2024). However, their populations are declining (Hanski and Cambefort, 2014; Lobo et al., 2001a, 2001b), jeopardizing the ecosystem services they offer, as their efficiency relies on complete dung beetle assemblage, including various droppings processing behaviors, body sizes and resource specializations (Milotić et al., 2018; Noriega et al., 2023). Dung beetle's diversity is largely driven by the diversity of habitats (Giménez Gómez et al., 2018; Leandro et al., 2023; Salomão et al., 2023), particularly defined by microclimatic conditions, vegetation cover, soil texture, and human activities in a given area (Barragán et al., 2011). Agricultural practices, such as grazing activities, are closely associated with both dung beetle diversity and abundance (Perrin et al., 2021, 2020), with the impact of land use being even stronger under continuous grazing over time, in addition to space (Buse et al., 2015). However, the relationship between large herbivores and arthropods is complex (van Klink et al., 2015). For instance, across grazing intensity gradients within European grasslands, the taxonomic composition of dung beetle communities changes alongside variation in species' biological traits (Perrin et al., 2021, 2020). Additionally, dung beetle presence appears to depend on the type of available trophic resource (Bogoni et al., 2019; Hosler et al., 2021; P. Jay-Robert et al., 2008; Nichols et al., 2009), although some insect species exhibit more generalist behaviors than others (Cajaiba et al., 2017; Frolov et al., 2023; Martín-Piera and Lobo, 1996; Wurmitzer et al., 2017). Consequently, the composition of mammal assemblage could affect dung beetle communities (Raine et al., 2018), as demonstrated by decreases in dung beetle species diversity and abundance

when the resource type shifts abruptly, such as from sheep to dog droppings (Carpaneto et al., 2005), or with the disappearance of certain mammal species (Halffter and Arellano, 2002). Conversely, the introduction of a new trophic resource leads to an increase in the abundance of dung beetle species capable of utilizing this new resource (Hanski et al., 2008; Lumaret et al., 1992). As a consequence, both habitat heterogeneity and mammal assemblage diversity may impact abundance and species richness within dung beetle communities, although disentangling these two factors is challenging due to the close relationship between habitat structure and herbivore distribution in natural systems, such as pristine grasslands or savannas (Cromsigt et al., 2009).
Megafauna diet types such as carnivore, herbivore or omnivore, can contribute to variations in dung beetle attraction (Cajaiba et al., 2017; Frank et al., 2018, 2017). Furthermore, different species of animals with the same diet type also show a heterogeneity in the attraction of dung beetles (Frank et al., 2018, 2017). Previous studies demonstrated that cattle droppings are the most attractive in the Mediterranean area (Dormont et al., 2007). Yet, at a finer scale, individuals from one species but with different diets also present differences in the odorant signal emitted by their respective droppings leading to a difference in attractiveness (Perera et al., 2022). Despite an increased number of studies linking dung beetles and mammals (Raine et al., 2018), few have focused on dung beetle feeding preferences within longstanding multispecies assemblages (Bogoni and Hernández, 2014; Enari et al., 2013; Frank et al., 2017).

Hereafter is presented a study on dung beetles' tropism for droppings obtained in a safari zoo, an original context allowing to well dissociate the respective effect of species identity from their choice of habitat and their particular diet. All herbivores are fed the exact same food. Thus, the only potential source of heterogeneity of dung beetle attractiveness by the droppings is the diversity of digestive metabolisms. To investigate whether and to what extent the simultaneous presence of multiple herbivore species benefits the diversity of dung beetle communities, we sampled the zoo's primary enclosures using droppings from different species. This inventory approach was complemented by an in-situ choice test. We hypothesized that not all droppings are equally attractive to dung beetles, specifically that *Bovinae* droppings are more attractive to dung beetles (Dormont et al., 2007; Errouissi et al., 2004) and that generalist dung beetle species are the most abundant (Frank et al., 2018).

Materiel and method

Study area and dung beetles sampling design

The study took place at La Réserve Africaine de Sigean, a safari zoo located in the French Mediterranean area (43°03'45.5"N 2°57'00.9"E; 10m. a.s.l.), known as a hotspot of biodiversity for dung beetles (Numa et al., 2020). Situated next to a salt pond (figure 1), between the Pyrenean mountains chain and the Mediterranean Sea, the zoo has been operating for over 50 years in a Mediterranean climate. The monthly average temperatures in 2021 ranged from 8°C in January to 26°C in July with monthly cumulative rainfall varying from 3mm in October to 58mm in April. The annual cumulative rainfall was 290mm. Outside the zoo, the landscape mainly consists of vineyards and garrigue. The study area exhibits around 30 species of exotic ungulates and 40 species of birds. Among them, 18 ungulate species and one bird species are dispatched in different combinations across 5 large enclosures of the safari zoo that can be visited by car. The experiment was conducted in three of the safari enclosures labeled A, B and C. Overgrazed enclosures are sparsely vegetated, with a few isolated trees. It is therefore possible to sample dung beetle populations in large, homogeneous lawns. All vertebrates in these enclosures are provided with the same diet in free access: pellets, vegetables, and ad libitum hay with access to grazing areas and freely available water.

Dung beetles were captured using non-destructive baited traps (figure 2), left in place for 24 hours as per Perrin (2019). We selected six trapping locations within the zoo. To minimize environmental variations (Leandro et al., 2023; Macedo et al., 2020), we selected open areas between 0m and 10m in altitude. Traps were placed simultaneously in two areas: one situated between 20m and 50m from running water (A2, B3, C5), and the other more than 100m away from water (A1, B4, C6). In each trapping location traps with different baits were positioned 10 meters apart to maximize interference between them (Larsen and Forsyth, 2005). Traps were set up without bait at least one day before trapping to allow captive animals to acclimate to their presence.

Animals within the enclosures were classified in four taxonomic categories (Groves and Grubb, 2011; Wilson and Reeder, 2005): *Equidae* (monogastric), *Bovinae* and *Antilopinae* (Bovidae, ruminants), and *Struthionidae*. The weight of bait influences its attractiveness (Errouissi et al., 2004; Martínez-Hernández et al., 2022), thus all bait consisted of 300 g of dropping (Hajji et al., 2023; Leandro

et al., 2023). They were from one species representing each taxonomic category present in each enclosure respectively, as suggested in the literature (Raine et al., 2018), resulting in different bait combinations across enclosures. These combinations included seven different species of large herbivores: Grevy's zebra (*Equus grevyi*), Grant's zebra (*Equus quagga bohemi*), watussis (*Bos taurus primigenius*), buffalo (*Syncerus caffer nanus*), wildebeest (*Connochaetes taurinus*), sable antelope (*Hippotragus niger*) and ostrich (*Struthio camelus*; see figure 1). Species of the same taxonomic category had similar body weights and produced similar droppings (*Antilopinae* differ from *Bovinae* by the small size of their droppings; table 1). Droppings were collected immediately after excretion, stored at +4°C in airtight plastic bags for one week, homogenized one day before trapping, divided into 300g baits, and stored in airtight plastic bags at ambient temperature for 24 hours before trapping. All droppings were

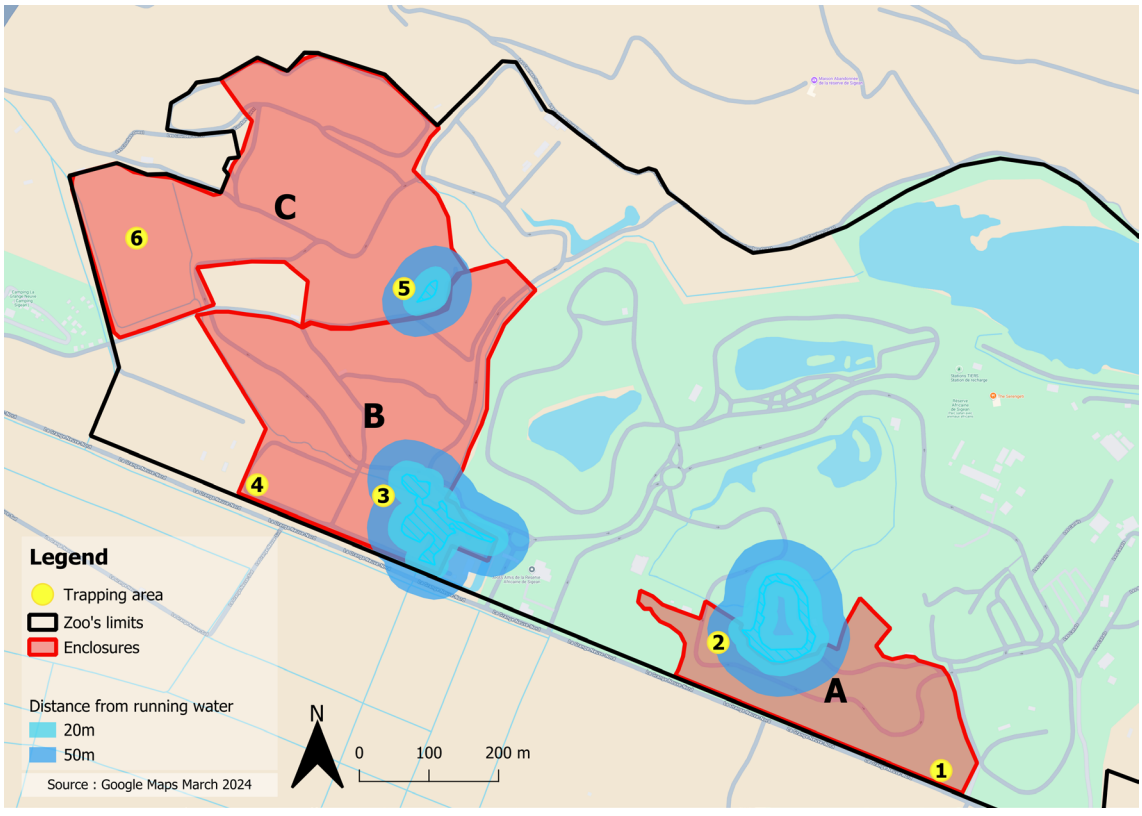


Figure 1: Overview of the study site (source: Google Maps March 2024). Trapping areas 1 and 2 included the following baits: Grant's zebra (*Equus quagga bohemi*), watussis (*Bos taurus primigenius*), wildebeest (*Connochaetes taurinus*), and ostrich (*Struthio camelus*); trapping areas 3 and 4 included the following baits: buffalo (*Syncerus caffer nanus*), hippotragus (*Hippotragus niger*); trapping areas 5 and 6 included the following baits: Grevy's zebra (*Equus grevyi*), wildebeest (*Connochaetes taurinus*), and ostrich (*Struthio camelus*).

free of anthelmintics, as it could influence their attractiveness (Errouissi and Lumaret, 2010).

Dung beetle diversity was assessed during spring 2022 when dung beetle species richness peaks in the Mediterranean region (Pierre Jay-Robert et al., 2008). Trapping sessions were conducted in April (temperatures ranging from 10 to 15°C), early May (temperatures ranging from 13°C to 25°C, following 2 days of rain), and early June (with temperatures ranging from 17°C to 25°C). All captured dung beetles were identified to the species level using the taxonomic key for French dung beetles (Paulian and Baraud, 1982) and released back into their respective enclosures to minimize the impact of trapping on insect populations across time (Saunders et al., 2020).

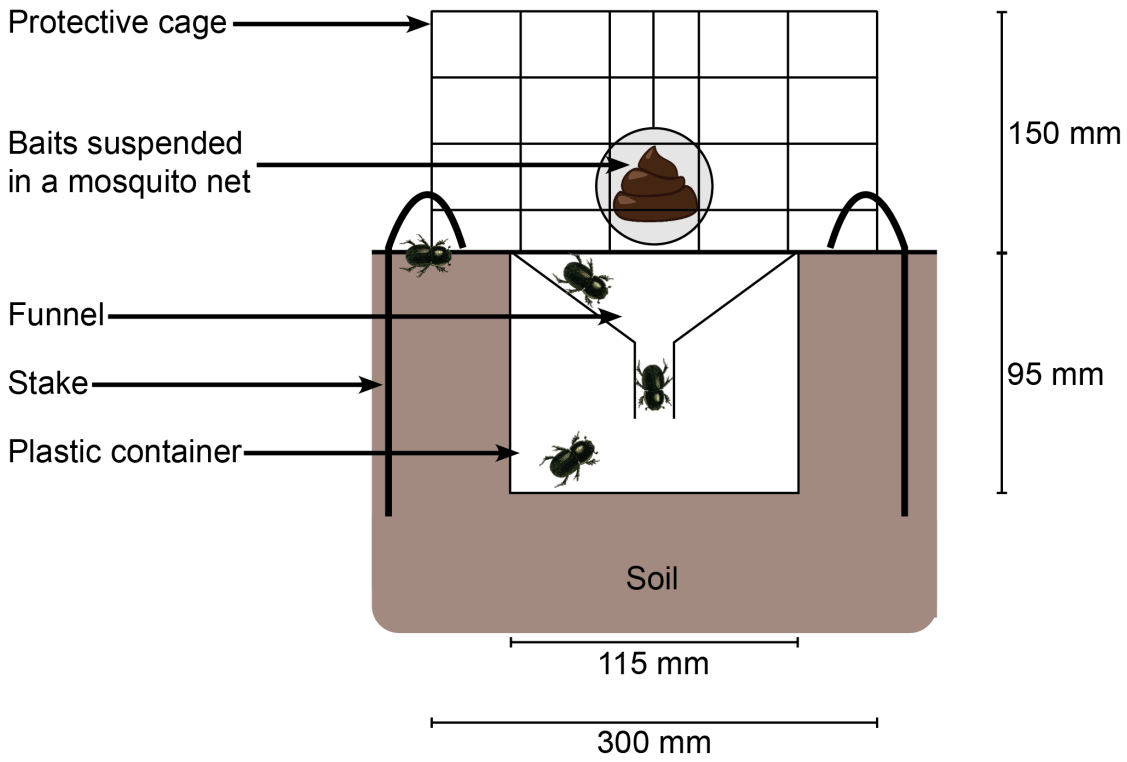


Figure 2: Cut side view of the pitfall baited trap used to catch dung beetles. Traps disposed inside the enclosures were protected with a metallic cage to limit destruction from the megafauna. Outside the enclosures, the bait was suspended to a metallic stick, at the same height as the baits suspended to the metallic cage.

Resource availability

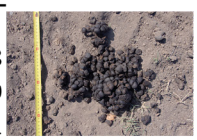
The study was conducted by a single observer. We estimated the average weight of fresh droppings excreted per hour by each taxonomic category of vertebrate using Grant's zebra as model for *Equidae*, watusi as model for *Bovinae*, wildebeest as model for *Antilopinae* and ostriches as model for *Struthionidae*. At the time of dung beetle inventory, enclosure A housed 28 zebras, 5 watusis, 5 wildebeests and 6 ostriches; enclosure B housed 29 buffalos and 6 sable antelopes; enclosure C housed 10 zebras, 21 ostriches and 29 wildebeests. First we evaluated the average weight of one dropping (Wd) for each category (table 1). Ten fresh droppings from each of the four taxonomic categories were collected immediately after excretion and weighed (scale accuracy: 10g). Adult dejections only were selected, as the diet of juveniles could vary depending on age and breastfeeding occurrence. Secondly, we estimated the average individual defecation frequency per hour (f). Defecation frequency was recorded from 09h00 AM to 12h30 PM and from 02h30 PM to 04h30 PM over four days for each taxonomic category. We specifically focused on daytime excretory behaviors, as herbivorous species defecate less during nighttime hours (Boyd, 1991; Cooper et al., 2010; Hirata et al., 2011), and Mediterranean dung beetles are mostly diurnals (Lobo and Cuesta, 2021; Mena et al., 1989). Additionally, we assumed a uniform dung excretion rate across individuals within each taxonomic category. The observer was able to simultaneously watch all individuals of the same category which naturally remained near each other. Thus, four watusis (*Bovinae*), or four wildebeests (*Antilopinae*), or two zebras (*Equidae*), or two ostriches (*Struthionidae*) were observed concurrently. Finally, we used the following formula to assess the average weight of fresh droppings excreted by each taxonomic category per hour in each enclosure: W= Wd*f*n. Where (n) represents the number of individuals of the same category living in the enclosure. All estimations are presented in table 1.

Statistical analysis

All statistical analyses were performed using R software (R Core Team, 2023; RStudio Team, 2023). Significance was determined at an alpha threshold of 0.05. Abundance and species richness are presented with the mean and standard error. Trapping areas were considered independent, as they were set with a minimum distance of 100m between each of them (Da Silva and Hernández, 2015), and trapping sessions were also considered independent as they were set with a minimum of 25 days between each session (Roslin, 2000). As the sampling effort is not equal among the enclosures, we compared the average

abundance or species richness per bait within one enclosure. Thus, all analyses were independently tested using the non-parametric Mann-Whitney test for enclosure B (testing two modalities) and Kruskal-Wallis test followed by Dunn's test for enclosures A and C (testing respectively 4 and 3 modalities). Sample coverage analysis of each enclosure was conducted using iNEXT package (Chao et al., 2014; Hsieh et al., 2016). The association of dung beetle species with the type of dropping were assessed using the IndVal index (Dufrêne and Legendre, 1997) given by the R function multipatt from indicspecies package. The IndVal combines specificity and fidelity, both increasing when a species is found exclusively in a specific habitat type and when a species is present at all sites within a given habitat type, respectively. The IndVal value varies from 0 to 1, the higher value representing the higher association.

Table 1: Average weight ± standard error excreted by each taxon in one hour within each enclosure (W=Wd*f*n). (Wd) is the mean ± standard error weight of one dropping; (f) is the number of excretory behaviors observed per hour; (n) is the number of individuals present in the enclosures at the time of the study. As an indication, the last two columns present pictures of the different dropping's morphotypes. Successively from top to bottom: *Equidae, Antilopinae, Struthionidae, Bovinae*.

Taxon - enclosure	Wd (kg)	f	n	W (kg/h)	Top view	Side view
	1.1 ±0.45	0.43				
A			31	14.66 ±6.00		
B			0	0		
C			10	4.73 ±1.94		
	0.64 ±0.17	0.45				
A			7	1.44 ±0,38		
B			9	2.59±0.69		
C			42	12.10±3.21		
	0.20 ±0.13	1.29				
A			6	1.55 ±1.01		
B			0	0		
C			21	5.42 ±3.52		
	1.68 ±0.64	0.27				
A			5	2.27 ±0.86		
B			29	13.15±5.01		
C			0	0		

Results

In total, 411 dung beetles belonging to 16 different species were captured (table 2). Two alive toads (Epidalea calamita) were discovered in traps within the enclosure A, prompting suspicion of predation on the dung beetles sharing the same plastic container. Only 19 dung beetles did not survive after identification. The species richness of dung beetles remained consistent across the three sessions (11 species in April, 11 in May and 9 in June). But dung beetles' abundance in traps was the highest in April and May and the lowest in June (172 individuals collected in April, 156 in May and 83 in June). Sample coverage was similar among the studied enclosures (enclosure A: 97%, enclosure B: 98%, enclosure C: 98%, figure S1).

Dung beetle species richness was similar among the different baited traps within enclosure A (Kruskal-Wallis test: X2= 1.221, df=3, p-value > 0.05), B enclosure (Mann-Witney test: p-value > 0.05), and enclosure C (Kruskal-Wallis test: X2= 4.9543, df=2, p-value > 0.05; figure 3). Traps baited with *Equidae* droppings in the enclosure A attracted significantly more dung beetles than traps baited with *Bovinae*, *Antilopinae* or *Struthionidae* (Kruskal-Wallis test: X2= 8.53, df= 3, p-value < 0.05; Dunn's test: p-values < 0.01; figure 4). Similarly, traps baited with *Equidae* droppings in the enclosure C attracted significantly more dung beetles than traps baited with *Antilopinae* or *Struthionidae* droppings (Kruskal-Wallis test: X2= 10.8, df= 2, p-value < 0.01; Dunn's test: p-values < 0.01; figure 4). In both the enclosures A and C, *Bovinae*, *Antilopinae* and *Struthionidae* each attracted approximately 20% of all dung beetles caught in the trapping area (Dunn's test: p-values > 0.05; figure 4). In enclosure B, traps baited with both *Bovinae* and *Antilopinae* droppings were equally attractive (Mann-Whitney test: p-value > 0.05; figure 4).

Throughout the trapping sessions, some dung beetle species showed different attractiveness depending on the type of bait used. Notably, four dung beetle species were observed with all the baits employed (A. foetidus, *O. ruficapillus*, *O. taurus*, and *O. vacca*). Among these, *O. vacca* was the most abundant species (40%), followed by *O. ruficapillus* (20%) and A. foetidus (10%). Contrariwise, two dung beetles species were only found once, exclusively in traps baited with zebra droppings (A. constans and E. merdarius), two others were only found once in traps baited with wildebeest droppings (C. erraticus and L. lividus), and one was only found once in traps baited with watusi droppings (*O.* opacicollis).

Additionally, the only significant association was observed between buffalo baited traps and A. luridus (IndVal = 0.577, p-value = 0.031).

Table 2: Detailed inventory results classed by bait's type, from left to right: *Equidae*, *Antilopinae*, *Struthionidae*, *Bovinae*. The mean abundance per trap and the mean specific richness per trap are presented in both last lines respectively. Light gray cells highlight dung beetle's species observed with one bait type only within the enclosures, dark gray lines highlight species observed with all bait types within the enclosures.

					Total
A. constans (Duftschmid, 1805)	1				**1**
A. foetidus (*Herbst, 1783)*	19	11	2	19	**51**
A. luridus (Fabricius, 1775)				2	**2**
B. bubalus (Olivier, 1811)	9		3	1	**13**
B. mahunkaorum (Adam, 1983)	2	2			**4**
C. distinctus (O.F. Müller, 1776)	4			1	**5**
C. erraticus (Linnaeus, 1758)		1			**1**
C. granarius (Linnaeus, 1767)	7	3	6	1	**17**
E. fulvus (Goeze, 1777)	1	1			**2**
E. merdarius (Fabricius, 1775)	3				**3**
L. lividus (Olivier, 1789)		1			**1**
O. opacicollis (Reitter, 1892)				1	**1**
O. ruficapilus (Brullé, 1832)	19	45	11	16	**91**
O. taurus (Schreber, 1759)	1	12	5	10	**28**
O. vacca (Linnaeus, 1767)	67	25	20	68	**180**
T. scrofa (Fabricius, 1787)	1	6		4	**11**
Total	**134**	**107**	**47**	**123**	**411**
Nb. Traps	**12**	**18**	**12**	**12**	**54**
M. abundance	**11.2**	**5.9**	**3.9**	**10.3**	**7.8**
M. rich. Sp.	**3.0**	**2.0**	**2.0**	**2.5**	**2.4**

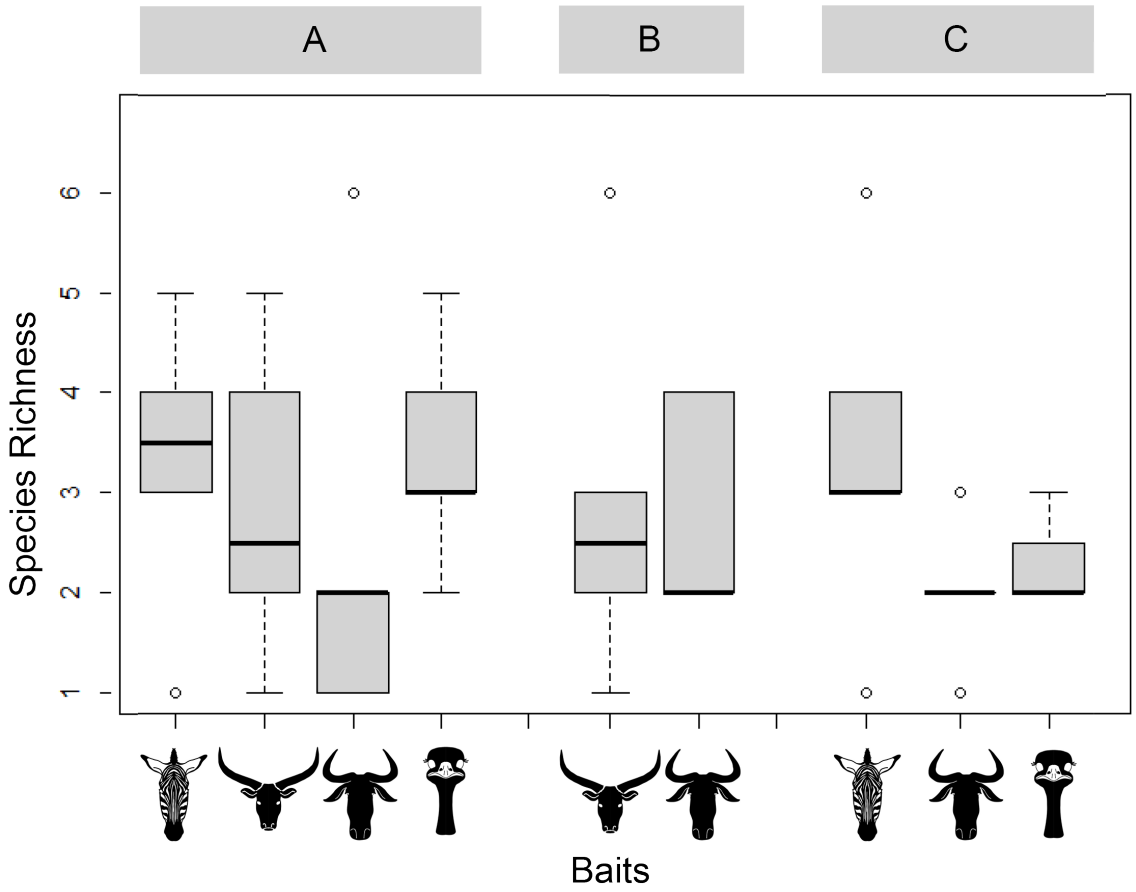


Figure 3: Species richness of dung beetles in each trap depending on the bait used. Baits are presented in order from left to right: *Equidae, Bovinae, Antilopinae, Struthionidae* (enclosures A), *Bovinae* and *Antilopinae* (enclosure B), *Equidae, Antilopinae, Struthionidae* (enclosures C). The horizontal line in the middle of each box represents the median value and whiskers show the minimum and the maximum values. The white circles represent the outsider values. Significativity of Mann-Whitney test for enclosure B or Dunn's post-hoc test for enclosures A and C is indicated by stars on the top of boxplots (* = p-value < 0.05, ** = p-value < 0.01, *** = p-value < 0.001).

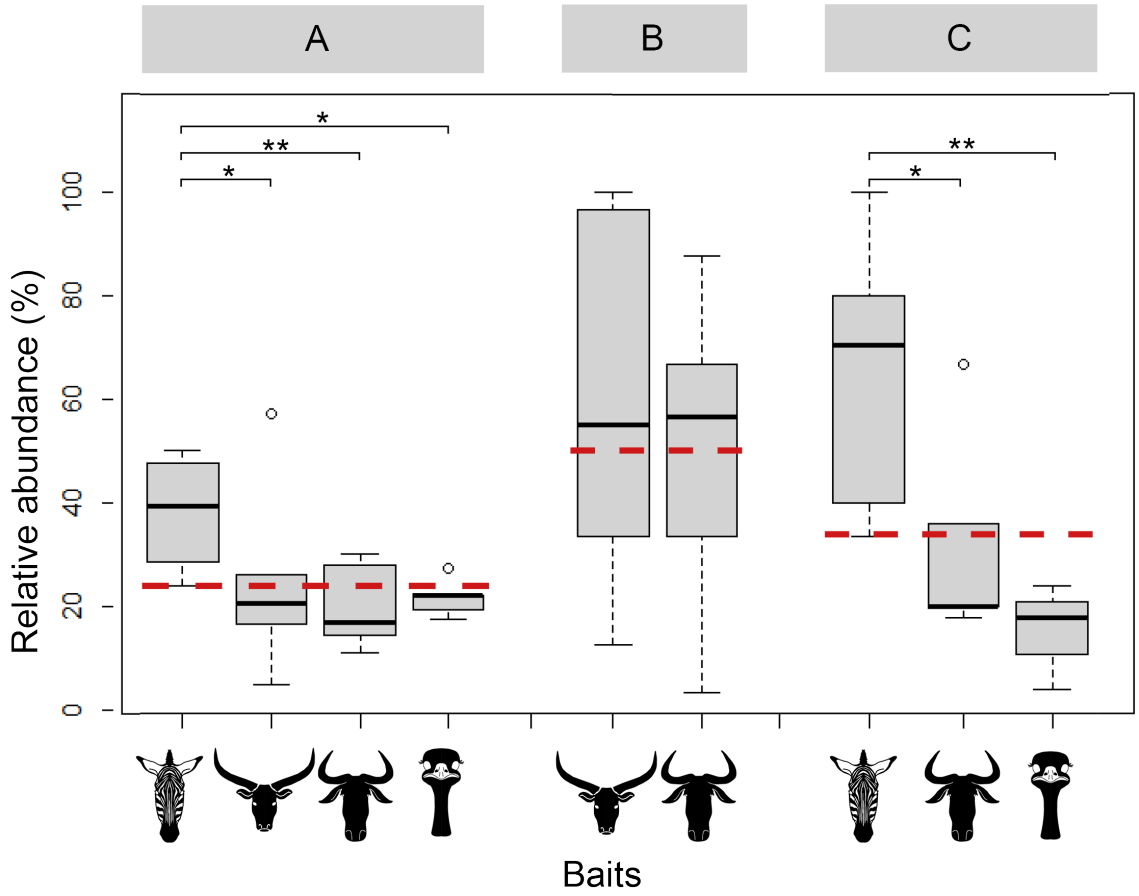


Figure 4: Abundance of dung beetles in each trap depending on the bait used. To ease the reading, the abundance is presented in the mean percentage of specimens captured with one bait proportional to the total specimen captured in the trapping location. Baits are presented in order from left to right: *Equidae, Bovinae, Antilopinae, Struthionidae* (enclosures A), *Bovinae* and *Antilopinae* (enclosure B), *Equidae, Antilopinae, Struthionidae* (enclosures C). The black horizontal line in the middle of each box represents the median value and whiskers show the minimum and the maximum values. The red dotted lines represent the theoretical values that should be observed if all baits were identically attractive. The white circles represent the outsider values. Significativity of Mann-Whitney test for enclosure B or Dunn's post-hoc test for enclosures A and C is indicated by stars on the top of boxplots (* = p-value < 0.05, ** = p-value < 0.01, *** = p-value < 0.001).

Discussion

Our study investigated how the composition of herbivore assemblages, and thus the availability of different trophic resources, may influence the coexistence of species within dung beetle communities. For this purpose, we sampled dung beetles in a zoo that houses different species of large herbivores under similar conditions and diets. We predicted that specific trophic resources would attract different species of dung beetles. This sampling was the first dung beetle inventory conducted in this area.

The trapping method employed yielded a representative sampling of dung beetle diversity (Sample Coverage > 90%) in all enclosures. On average, fewer than seven insects were captured in each trap over the course of the three sessions, a result consistent with previous studies conducted in South America and Germany using similar trapping methods and multiple baits arranged in a choice test configuration (Correa et al., 2020; Frank et al., 2017; Louzada and Carvalho E Silva, 2009). This abundance aligns closely with findings from the Crau plain in southern French semi-arid area (Perrin et al., 2019), but is 5 to 6 times weaker than that observed in the French Mediterranean garrigue (Leandro et al., 2021). The total number of captured species closely resembles observation from the Crau plain (Perrin et al., 2019) and seven out of the 16 species observed in the zoo were also observed in the Crau plain. In southern France, the abundance and diversity of the dung beetle community are higher in landscapes featuring heterogeneous habitats with woody vegetation (P. Jay-Robert et al., 2008; Leandro et al., 2023). However, the zoo's enclosure lawns, characterized by short herbaceous cover and extensive areas of bare ground, exhibit minimal heterogeneity. Woodlands are restricted to the northern part of the enclosure B and absent from the others due to the permanent presence of large herbivores preventing the persistence of shrubby vegetation. Employing a non-lethal trapping device aimed to preserve the dung beetle populations and hinder subsequent sampling sessions. This method enables the release of over 95% of captured individuals after identification. However, a decline in dung beetle abundance over the season was expected, due to Mediterranean weather conditions and the summer drought, which are unsuitable for dung beetle activity (Dormont et al., 2004; Leandro et al., 2021). The drought was particularly severe in 2022, with only 303.1mm of precipitation recorded by the Perpignan weather station 35 km away from the study site ("prevision-meteo," 2024), making it the driest year since 2000. Similarly, the production year of the

dung beetles captured in this study, 2021, experienced relatively severe drought conditions (426.8mm) compared to the 1991-2020 average precipitation of 578.3mm ("meteociel," 2024).

Regardless of the enclosure, the relative abundance of dung beetles within each trap remains consistent despite the use of different baits, except for *Equidae*'s dropping baited traps. Indeed, one third of all captured insects in the zoo were from *Equidae* baited traps, despite accounting for only 22% of the traps. Within enclosures A and C, *Equidae*'s dropping was more attractive than *Bovinae*, *Antilopinae* or *Struthionidae*. Besides, *Bovinae* dropping and *Antilopinae*'s dropping were equally attractive within enclosure B. The higher number of dung beetles captured by *Equidae*'s dropping might explain the slightly larger number of species observed within those traps. Notably, 12 of the 16 species caught in the zoo were captured with zebra droppings. Two low-abundance species (1 and 3 specimens) were exclusively captured with zebra droppings, while similar situations were observed with two species captured by wildebeest's dropping, one species by watusi's dropping and one by buffalo's dropping.

Dormont et al. (Dormont et al., 2004) compared the attractiveness of cow vs horse droppings in lowland dung beetle communities from Southern France. Eleven of the 28 species found in their study were observed in our work. The domestic horse is part of the *Equidae* (Barrón-Ortiz et al., 2019; Cirilli et al., 2021), and the domestic cow is part of the *Bovinae*. Among them, three (A. constans, C. erraticus and *O. vacca*) showed a significant preference for cow dung and four (B. bubalus, E. amyntas, E. fulvus and E. merdarius) for horse dung (Dormont et al., 2004). At higher elevation, with communities mainly composed of geotrupids, Dormont et al. (2007) showed that sheep (i.e. *Antilopinae*) excrement was twice as attractive as cattle (*Bovinae*) dropping, and four times more attractive than horse (*Equidae*) dropping. When they were observed in different communities, species seemed to retain their preferences. For example, Colobopterus erraticus, both common at low and high elevation, still preferred cow dung (Dormont et al., 2007, 2004). In our study, only one species (A. luridus) was significantly associated with a dung type (*Bovinae*). Nevertheless, according to Dormont et al. (2004), this species showed no particular preference between cow and horse dung. Our result must be treated with caution, given the very low number of specimens surveyed.

Despite the absence of marked preferences at the species level, when available,

zebra dung appeared to be more attractive to all dung beetles than other herbivore's dropping within the study area. Similar findings were reported in North America, with completely different dung beetle species, where zebra's droppings were more attractive than those of four other herbivores (Whipple and Hoback, 2012). Our results seemed to confirm the interest of B. bubalus or E. merdarius for *Equidae* droppings (respectively 9 captures out of 13 and 3 out of 3 in zebra droppings). However, our results were not in line with those obtained by Dormont et al. (2004) for *O. vacca*, the most abundant species (44% of our catches), which was as abundantly caught with *Equidae* than with *Bovinae* dung. The phylogenetic closeness, as well as the behavioral and physiological similarities between the species lead us to expect similar results as Dormont's studies (2004 and 2007). The feeding behavior of dung beetles is driven by environmental stressors such as trophic resources availability (deCastro-Arrazola et al., 2023). The prolonged presence of exotic mammals in a matrix where trophic resources for coprophagous insects are limited (Insee, 2024), likely intensified selection pressures on dung beetle's populations. Indeed, traps placed outside the zoo captured even fewer insects (table S1), which was expected as the area is primarily dedicated to vineyards and dung beetle density decreases with increasing distance from pasturelands (Roslin, 2000). The zoo is thus isolated within a matrix where dung beetles are scarce due to the limited availability of trophic resources, mostly produced by a small natural population of wild boar. Our estimates of fecal excretion is congruent with the existing literature for all herbivorous species studied (Boyd et al., 1988; Hirata et al., 2011; Joubert, 1972; Withers, 1983), and indicate that *Equidae* droppings are not the most available resource across all enclosures considered. The composition of herbivorous animals in the zoo remained consistent for many years, and *Equidae* droppings were not predominant for at least the last three decades (unpublished records of the zoo). However, *Equidae*s exhibit a unique behavior of using dung for territory marking, resulting in the formation of large areas, known as litters, constantly covered with old and fresh droppings. This behavior is not observed in *Bovinae*s, *Antilopinae*s or *Struthionidae*s. In the dry environment of our study area, characterized by low precipitation and high winds, the regular deposition of fresh, moist droppings may create microenvironments particularly conducive to the development of endocoprids and paracoprids. We thus hypothesize that the high attraction of dung beetles to *Equidae*'s droppings in this study (60% of captured individuals in enclosures A and C were captured with *Equidae*'s droppings) may be the result of over 30 generations adapting to a highly competitive environment where *Equidae* dropping is the most available

resource. Moreover, human activity was already impacting the ecological landscape thousands of years before our industrial time with agricultural practices. The study area here is well known for the vineyards activities, and its military activities since antiquity (Nin and Sanchez, 2023), both favorable to the development of *Equidae* populations. In addition, the *Equidae* presence was well attested in the middle age through archeological discoveries (Bertin et al., 2017; Duperron et al., 2021; Gailledrat and Gardeisen, 2008). Our findings gain further support from studies in Africa, where zebra droppings was found to be less attractive to diurnal dung beetle species compared to cattle dropping, but more attractive to nocturnal dung beetle species (Sands et al., 2022). This difference suggests a trade-off between nutritional intakes and resource availability. Domesticated cattle likely produce richer and more plentiful droppings due to their diet supplemented by the breeders compared to free ranging zebras, but their confinement at night makes their resources unavailable to nocturnal dung beetles. Consequently, diurnal and nocturnal species face different selection pressures, leading to distinct feeding behaviors. Our results put in perspective the bait choice of previous studies, assessing that *bovinae*'s droppings are the most attractive bait in the mediterranean area (Hajji et al., 2023; Leandro et al., 2023; Lobo et al., 2001b).

The abundance and diversity of species observed in traps baited with ostrich droppings were low but not significantly different from those observed with ruminant droppings with similar diet. This result slightly differed from the observations of Perrin et al. (2019) in the Crau plain where the cecal excrements of little bustard, a partially herbivorous ground-nesting steppe bird, attracted four times fewer insects and half as many species as sheep droppings. In the Crau plain, no dung beetle species showed a significant preference for the bustard excrements. This very low attractiveness of bustard droppings may be related to the small size of this species that prevents it releasing large quantities of dung, contrary to ostriches. These results suggest that although the presence of mammals with different diets enhances diversity among dung beetle's community (Bogoni et al., 2016), the joint presence of various herbivores does not allow for species discrimination within the entomofauna. In the garrigue, where they compared cow vs horse dung attractivity, Dormont et al. ((Dormont et al., 2004)) previously showed that half the species showed no preference between cow and horse baits.

Onthophagus vacca, the most abundant species in this study, has previously

demonstrated a preference for cattle's droppings over horse's droppings (Dormont et al., 2007, 2004). Since 2010 *O. vacca* has been described as part of a complex with *Onthophagus medius* (Kugelann, 1792). Both species are very alike and were observed in the mediterranean area (Roessner et al., 2010). The very recent distinction of the two species put in perspective the results of the previous publications studying diet preferences of *O. vacca* (Dormont et al., 2007, 2004). In the present study we made sure to distinguish both species and only *O. vacca* was observed. However, Dormont et al. might have misidentified *O. vacca* instead of *O. medius* as the distinction was not described yet. This hypothesis is supported by the fact that *O. vacca* was described as more thermophile than *O. medius* (Roessner et al., 2010). Indeed, our study takes place in low altitude (0-10m) open areas, with extremely high temperatures and dryness. On the contrary, the individuals tested in the Dormont et al. studies were captured in altitude, in the garrigue, surrounded by covered areas (Dormont et al., 2007, 2004). We suggest that further studies investigate the distribution area of both species precisely, notably along an altitudinal gradient or temperature gradient. Our study questions the knowledge acquired before 2010 about the diet preferences of *O. vacca*. This could have consequences. In the 1960s Australia started to introduce dung beetle species to control the bush fly infestation caused by the importation of exotic species of livestock. Among the 45 species introduced now in Australia, one was *O. vacca* in 2017 (Edwards et al., 2015). Following, *O. vacca* was then approved for introduction in New Zealand (ERMA, 2011). In both cases, this species was selected for its high spring activity, and its ability to bury large amounts of cattle feces (Galante et al., 1995). Facing the results of this study, *O. vacca* might not have been the best choice for introduction if the cattle feces were the main point of worry in Australia and New Zealand.

Conclusion et ouverture

Nous avons rapporté une faible abondance des insectes capturés au sein de la RAS. Pourtant, l'abondance des ressources trophiques nous aurait plutôt amenés à penser que la faune coprophage allait fortement se développer, et que la diversité de cette ressource permettrait de favoriser le co-développement de plusieurs espèces. Nous avons émis deux hypothèses pour expliquer cette faible abondance de bousiers. La première est liée à l'utilisation intensive d'antiparasitaires. En effet, d'après l'historique vétérinaire du parc, les vermifuges destinés aux zèbres ont été particulièrement intenses dans les années 90-2000 (un à deux vermifuges par an pour tous les animaux présents dans les enclos). Il est possible que les communautés de bousiers, déjà faibles dans la région de part le peu d'herbivores présents avant l'installation de la RAS (cf. conclusion de la partie 2), aient fortement décliné à ce moment-là, et aient eu du mal à se développer par la suite.

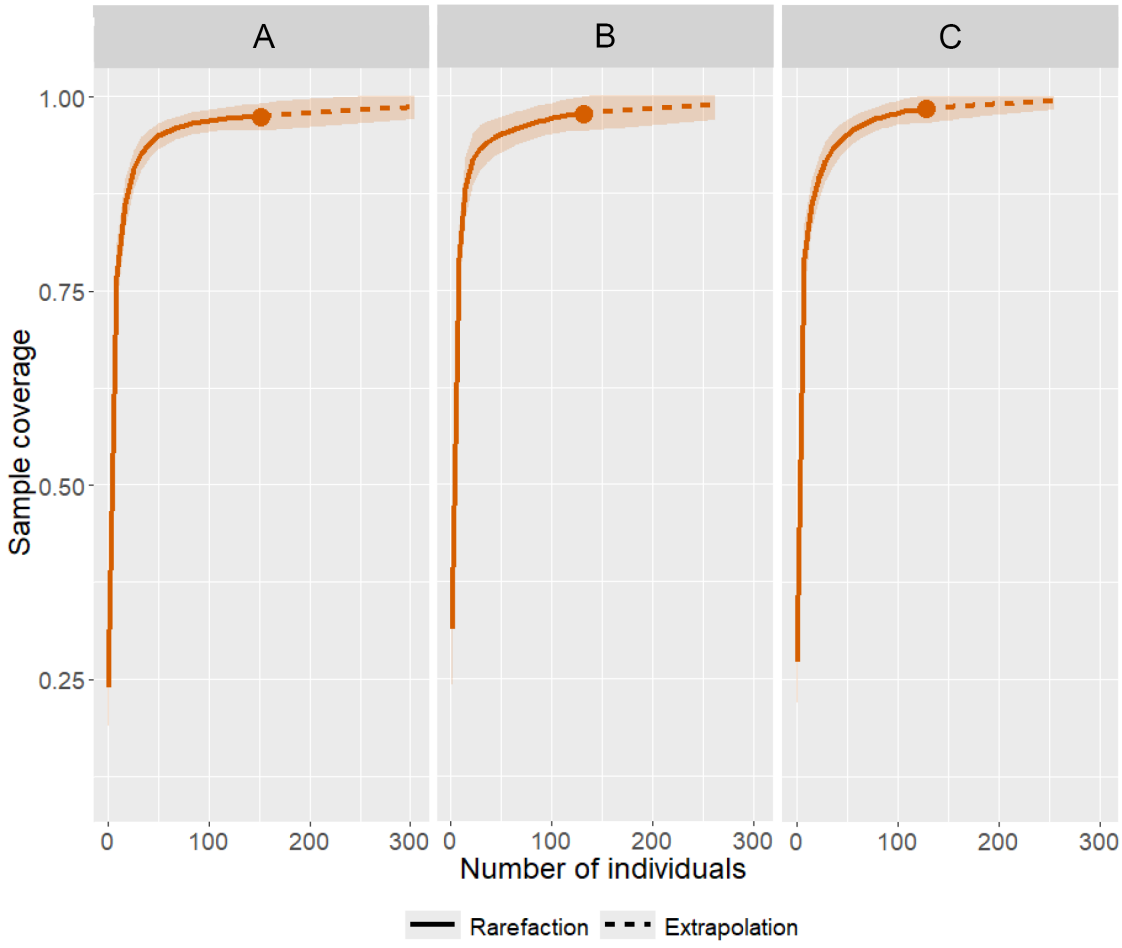
La seconde hypothèse émise pour expliquer la faible abondance de bousiers capturés à la RAS est liée à la surexploitation des sols par les herbivores. Plusieurs études rapportent de forts effets délétères de la densité des herbivores sur les communautés d'insectes, notamment les bousiers. Selon a littérature, pour répondre aux besoins alimentaires des animaux, il faudrait a minima 31 kg d'herbe fraîche par jour et par équidé adulte (Martin-Rosset, 2012), environ 33 kg pour un bovin, et 6 kg pour un petit ruminant (Jarrige, 1988). En extrapolant ces recommandations aux différentes espèces abritées par les enclos étudiés, l'enclos A de l'étude devrait pouvoir produire 1000 kg d'herbage quotidiennement afin de subvenir aux besoin des herbivores présents; l'enclos B, 1000 kg ; l'enclos C, 1300 kg. Les surfaces de pâturages disponibles dans les enclos supportent des charges d'herbivores bien plus importantes que ce qu'elles sont capables de produire en climat méditerranéen. Le couvert végétal est donc éparse dans beaucoup d'enclos, et de petite taille. Enfin, la pression mécanique engendrée par autant d'animaux, mais aussi par le passage d'engins agricoles liés à la gestion des enclos, a probablement compacté le sol. Lors des printemps 2023 et 2024 nous avons donc souhaité examiner l'effet de la densité des herbivores sur les communautés de coléoptères coprophages. Cette étude fait l'objet du chapitre 5.

Cette étude a mis en évidence une attraction forte des bousiers pour les déjections d'équidés par rapport aux déjections de bovins, d'autruches

et d'antilopes. Nous en avons conclu que la diversité d'espèces dans les communautés de bousiers de la RAS n'était pas liée à la diversité des déjections des herbivores dans les enclos. Nos résultats semblent en contradiction avec la littérature disponible, notamment pour le cas de *O. vacca* qui semble préférer les déjections bovines (Dormont et al., 2004). Cette réponse au test de choix *in situ* nous mènera au sixième chapitre de cette thèse, lors duquel nous testerons ce choix en condition *ex situ*.

Supplementary material

Figure S1



Supplementary material 2

In addition to the six trapping locations within the zoo, we selected 3 more trapping locations outside of the zoo. In each trapping location one trap baited with horse dropping (*Equidae*) and one trap baited with sheep dropping (*Antilopinae*) were set up in May and June 2022, simultaneously to the last two inside sessions. Both horse and sheep represented the historical herbivorous production in the region, although both species are currently scarce in the surrounding area. Statistical comparisons between inside and outside of the zoo were tested using the non-parametric Mann-Whitney test. The first inside session is not included in the following statistics.

Table S.1: Detailed inventory results classed by location, all traps from the last two sessions of trapping cumulated. The total number of specimens captured, and number of traps setup are presented in both last lines respectively.

	Inside	Outside
A. foetidus (*Herbst, 1783)*	50	
A. luridus (Fabricius, 1775)	1	
B. bubalus (Olivier, 1811)	5	2
C. distinctus (O.F. Müller, 1776)	2	
C. erraticus (Linnaeus, 1758)	1	
C. granarius (Linnaeus, 1767)	8	
E. fulvus (Goeze, 1777)	2	1
L. lividus (Olivier, 1789)	1	
O. lemur (Fabricius, 1782)	0	1
O. opacicollis (Reitter, 1892)	1	1
O. ruficapilus (Brullé, 1832)	31	9
O. taurus (Schreber, 1759)	28	6
O. vacca (Linnaeus, 1767)	101	8
O. emarginatus (Mulsant, 1842)	0	3
T. scrofa (Fabricius, 1787)	7	
Total	**238**	**31**
Nb. Traps	**36**	**12**

Table S.2: Comparison of the dung beetle captured depending on the location inside or outside of the zoo respectively. Mean abundance per trap and mean species richness are presented with the standard error (SD). Significant differences from Mann-Witney test are presented with stars: * = p <0.05; ** = p <0.01.

	Inside	Outside	Signi.
Mean abundance per trap	6.64	2.58	W=316.5 *
± SD	10.1	4.91	
Mean sp. rich. per trap	2.47	1.17	W=311.5 *
± SD	1.78	1.64	
Mean Shannon Index	0.89	0.245	W = 155 **
± SD	0.55	0.574	

CHAPITRE 5 : DUNG BEETLES DOESN'T LIKE TO PLAY DIRTY

Auteur : Cloé **Joly**, Freddie-Jeanne **Richard**, Alix **Ortega**, Pierre **Jay-Robert**

Soumis à : Ecological Entomology, depuis le 02/08/2024

contexte d'étude

Lors du premier inventaire, nous avons évalué comment la diversité des ressources disponibles pouvait affecter la diversité et l'abondance des communautés de bousiers. Afin de comprendre l'effet de la gestion des enclos sur la faune coprophages, nous avons souhaité compléter le diagnostic par une évaluation de l'effet de la densité des herbivores sur les communautés de bousiers. En effet, la charge en herbivore sur un espace peut avoir des conséquences sur l'habitat, et les bousiers semblent y être sensibles. Plusieurs études récentes ont étudié l'effet de la charge pastorale dans des pâturages de montagnes non clos (Perrin et al., 2021, 2020). Les résultats montrent que la densité des herbivores n'affecte pas ou peu l'abondance et la richesse spécifique des bousiers. Cependant, la densité des herbivores semble façonner les compositions des assemblages de groupes fonctionnels observés au sein des communautés.

Comme présenté en contexte d'étude du chapitre 4, la charge d'herbivores dans les enclos de la RAS est largement supérieure à la capacité de production d'herbe de ces espaces. Les enclos sont donc tous en situation de surpâturage. Cependant, le parc entretient des enclos qui ne sont pas accessibles aux visiteurs, et qui supportent de plus faibles densités d'herbivores. Ce sont généralement des espaces de reproduction ou de vie pour les individus qui ne s'intègrent pas dans les groupes sociaux présents dans les enclos visibles du public. L'organisation du zoo nous permet ainsi de pouvoir comparer des pressions de pâturage différentes, dans des contextes environnementaux identiques et avec des gestions de troupeaux similaires. Les enclos définissent des limites spatiales, contraignant le déplacement des herbivores, mais l'utilisation des espaces au sein de ces mêmes enclos n'est pas homogène. Ainsi, nous pouvons comparer l'effet de la densité des herbivores sur les coléoptères coprophages à plusieurs échelles : entre les enclos, et dans les enclos. Nous nous sommes appuyés sur la caractérisation de l'environnement afin d'évaluer la pression exercée par les herbivores au niveau de l'enclos et au niveau local. Ce travail de terrain a été réalisé avec le soutien d'une stagiaire en dernière année de licence de Biologie des Organismes et des Interactions, nommée Lucie Dewever.

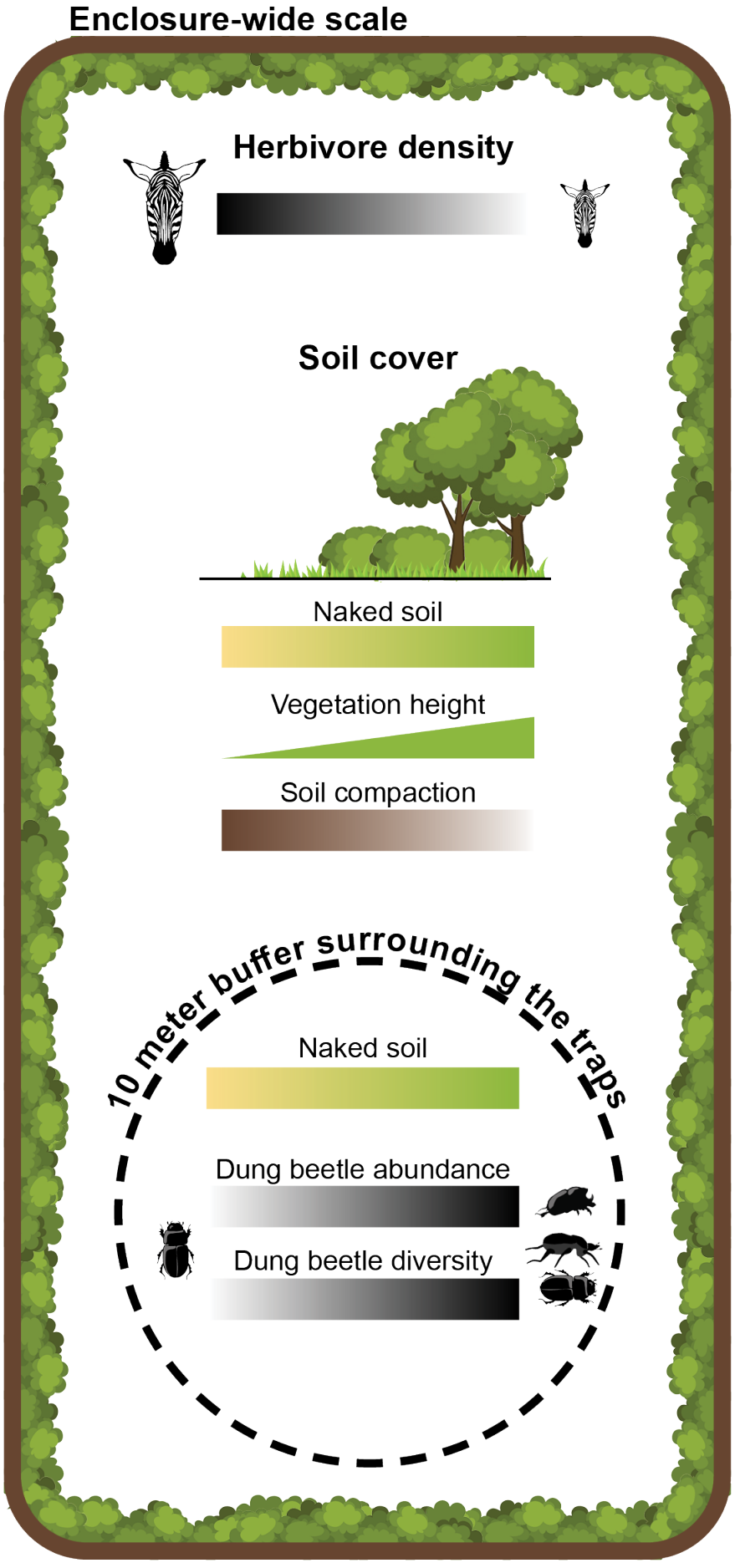
Résumé

Les surfaces consacrées au pâturage diminuent à l'échelle mondiale, tandis que la biomasse du bétail augmente, ce qui entraîne une densité croissante d'herbivores dans les pâturages. Une forte densité d'herbivores a des impacts directs sur la biodiversité et sur les propriétés physiques et chimiques du sol, principalement en raison de la prise alimentaire et du piétinement. Par exemple, une densité croissante d'herbivores entraîne une diminution de la hauteur et de la diversité de la végétation, une augmentation de la compaction du sol et une augmentation de la mortalité accidentelle de la faune du sol. Les bousiers fournissent d'importants services écosystémiques à la production animale, mais leur développement est limité par la densité d'herbivores. Dans cette étude, nous avons examiné l'effet du pâturage sur la communauté de bousiers dans des enclos où les herbivores recevaient la même nourriture. Les variations entre les enclos étudiés dépendent de la densité d'herbivores. Nous avons émis l'hypothèse qu'une densité plus élevée d'herbivores induit une augmentation de la quantité de déjections et une diminution du couvert végétal et de sa hauteur. Nous avons également émis l'hypothèse que les espèces de bousiers paracoprides seraient moins représentées dans les zones à forte densité d'herbivores, par incapacité à se reproduire dans les sols altérés. La communauté de bousiers a été évaluée à l'aide de 66 pièges non létaux aux printemps 2023 et 2024. Nous avons caractérisé la couverture végétale et la compaction du sol à l'échelle de l'enclos, ainsi que la couverture végétale, l'abondance des matières fécales et la diversité de l'habitat dans une zone tampon de 10 mètres autour de chaque piège. Nous avons capturé 830 bousiers, appartenant à 12 espèces. *Onthophagus vacca* (n = 269) et *Onthophagus ruficapillus* (n = 223) représentaient plus de la moitié du nombre total de bousiers capturés. Nos résultats montrent que la surface du sol nu augmente dans les enclos à forte densité d'herbivores, et que la hauteur de la végétation diminue. Nous avons observé que la surface du sol nu à l'échelle du piège a un effet négatif significatif sur l'abondance et la diversité des bousiers, quel que soit l'enclos considéré. Bien qu'ils soient dépendants des ressources, nous avons démontré qu'à forte densité d'herbivores, les bousiers étaient principalement affectés négativement par les pressions mécaniques exercées sur le sol.

Abstract

Surfaces dedicated to grazing activity decrease worldwide, while the biomass of livestock increases, resulting in increasing density of herbivores in enclosed pastures. High herbivore density has direct impacts on the biodiversity and on the physical and chemical properties of the soil, mostly because of grazing and trampling. For example, increasing herbivore density leads to a decrease in vegetation height and diversity, an increase of soil compaction, and an increase of accidental mortality of soil fauna. Dung beetles provide important ecosystemic services to animal production, but their development is limited by the herbivore density. In this study we investigated the grazing effect on the dung beetle community in enclosures where herbivores were fed the same food, and the variations between studied pastures depend on the herbivore density. We hypothesized that higher density of herbivores induces an increase of resource quantity, and a decrease of the vegetation cover and height. We also hypothesized that paracoprids would be less represented in dung beetle communities living in high density of herbivores. Dung beetle community was assessed using 66 non-lethal traps during spring 2023 and 2024. We characterized the vegetation cover and the soil compaction at the enclosure scale, and we characterized the vegetation cover, the feces abundance and the habitat diversity in a 10 meter buffer surrounding the traps. We captured 830 dung beetles, belonging to 12 species. Both *Onthophagus vacca* (n= 269) and *Onthophagus ruficapillus* (n= 223) represented more than half of the abundance. Our results show that the surface of naked soil increased in high herbivore density enclosures, and the vegetation height decreased. We observed that the surface of naked soil at the trap scale has a significant negative effect on abundance and diversity of dung beetles. Despite that they are resource dependent, we demonstrated that at high densities of herbivores, the dung beetles were mostly impacted by the mechanical pressures applied on the soil caused by both trampling and agricultural engines.

Graphical abstract



Introduction

With the growing human population, breeding farms tend to use intensive more than extensive practices with the willingness to always increase productivity. Indeed, grazing areas represent more than 65% of the worldwide surface and tend to decrease (Ritchie and Roser, 2024; Suttie et al., 2005) although the biomass of livestock increases (Ritchie et al., 2024). The impact of large herbivore breeding activities on the surrounding biodiversity is extremely complex and takes place at multiple scales, such as grazing activity, mechanical pressures applied on the soil and the use of veterinary drugs, with mostly negative effects on biodiversity (van Klink et al., 2015).

The grazing effects of livestock on biodiversity mainly depend on three factors: the vegetation type, the herbivore species and the grazing intensity (Török et al., 2024). On one hand, some vegetation types are more resilient to grazing activities than others, and some species even developed resistance mechanisms against grazing (Hempson et al., 2022). On the other hand, the plant species composition found in grassland is affected by diet selection that varies across herbivore species (Tóth et al., 2018). Moreover, mixing different species of livestock might be beneficial for the grassland production performance (Alvarez-Rodriguez et al., 2024; Hübner et al., 2024), and provide many sustainability benefits (Martin et al., 2020). Rotational grazing also seemed to improve soil quality when established after high grazing intensity (Teutscherová et al., 2021). Low grazing intensity can be beneficial for biodiversity as it results in various spots of heterogeneous vegetation types (Bucher et al., 2016; Fumy and Fartmann, 2023). However, the vast majority of breeding farms worldwide are in a situation of overgrazing, i.e. the grazing activity exceeds the environmental capacity for providing enough resources to maintain herbivore populations (Mysterud, 2006). Overgrazing is detrimental to plant biomass and diversity, and to soil fauna biodiversity, particularly in dry areas (Cao et al., 2024; Zhang et al., 2023). Although grazing activity reduces the vegetation height, it doesn't induce the increase of naked soil surface (Oikonomou et al., 2023). Intensive grazing activity led to a decrease of abundance and specific richness of spiders (Berisha and Geci, 2023), nematodes (Pan et al., 2022), earthworms (Hoeffner et al., 2024) and arthropods (Johansson et al., 2024; Wang and Tang, 2019). Grazing activities have different impacts respectively of arthropod species, including unintentional predation and loss of habitat (Bonal and Muñoz, 2007; Gómez and González-Megías, 2007, 2002; Torma et al., 2023). Environmental

recovery after overgrazing activity can be difficult, and in the worst cases almost impossible (Mysterud, 2006; Varga et al., 2021).

Farming activity in the pastures also induces mechanical pressures on the soil, from the livestock trampling or from the farmer's machines, and leads to higher soil compaction (Lai and Kumar, 2020; Milazzo et al., 2023; Zhang et al., 2019). The previous studies observed a degradation in soil chemical properties as the livestock density increased, including the decrease in soil organic carbon (Lai and Kumar, 2020; Zhang et al., 2019) and a higher risk of water erosion as well as less water availability (Daniel et al., 2002; Kairis et al., 2015; Milazzo et al., 2023). Trampling activity also decreases vegetal soil cover, independently of grazing activity (Vanderburg et al., 2020). Mechanical pressures induced by the trampling of high livestock density affect arthropods communities more than any other animal taxon, mostly because of unintentional disturbances and the reduction of resource abundance for herbivore and detritivore insects (van Klink et al., 2015). Urgent action is needed to slow down the insect extinction crisis and preserve the vital ecosystem functions they provide (Cardoso et al., 2020). Besides, identifying new conservation strategies for insects and understanding their associated ecosystem services are characterized as priorities for the coming decades (Luke et al., 2023).

Although some arthropod species are directly dependent on the megafauna, as for dung beetles, their abundance and diversity decrease with the intensification of grazing activity (Hutton and Giller, 2003; Perrin et al., 2020). Thus, dung beetles might be the perfect model to study the intermediate disturbance hypothesis (Gao and Carmel, 2020) as their community both directly depend on livestock presence (Hosler et al., 2021; Tonelli et al., 2019) and suffer from high herbivore density (Perrin et al., 2021, 2020). Indeed, this hypothesis states that arthropod diversity is higher at intermediate disturbances, which minimizes the competition within native species, while creating enough ecological space for new species to establish. With no disturbances at all, the environment is beneficial only for a few highly competitive species, and with high disturbances, the environment applies a high pressure of selection allowing only few species to survive.

Dung beetles are among the most impacted insects by herbivore's density. They belong to the superfamily Scarabaeoidea, feeding exclusively or predominantly on mammal droppings at every stage of their life (Edmonds, 1982; Hanski and

Cambefort, 2014). Thus, in addition to being impacted by grazing activities and the mechanical pressures applied on to the soil, dung beetles are also sensitive to veterinary drugs used on livestock, like anthelmintics (Tonelli et al., 2017). The dose administered is proportionate to the mass of the treated animals. As most of the anthelmintics administered are excreted through the livestock feces (Mesa et al., 2020), the environmental pollution is proportionate to the mass of treated animals too. In addition, the parasite risk of infection increases with the livestock density (Hasik et al., 2024; Joó et al., 2022; Nielsen et al., 2018), thus the treatment frequency might increase as well. In the presence of treated feces, the survival rate of dung beetles at all stages is reduced, as well as the ecosystem services they provide (Verdú et al., 2020, 2018). Indeed, the value of ecosystemic services provided by dung beetles in agrosystems depend on the abundance and the diversity of dung beetle species and functional traits (González-Gómez et al., 2025; Noriega et al., 2023; Piccini et al., 2017; Stanbrook-Buyer et al., 2024). This value has been estimated in different countries in bovine pastures: over USD 380M per year in the United-States (Losey and Vaughan, 2006), £ 367M per year for the United-Kingdom cattle industry (Beynon et al., 2015), and more recently almost USD 1M per year in Florida (Stanbrook-Buyer et al., 2024). By removing herbivorous droppings, these insects significantly reduce the emergence of fecal parasite eggs of large herbivores, as well as the larval dispersion of fecal parasites in the environment (Bergstrom, 1983; Gormally, 1993; Ridsdill-Smith and Edwards, 2011). They interfere in nutrient cycling (Ali Shah and Shah, 2022; Nichols et al., 2008), increases grass growth, height and nutritional quality (Bang et al., 2005; Hanafy and El-Sayed, 2012; Nervo et al., 2017) as well as plant dispersion (Griffiths et al., 2016; Milotić et al., 2018). The dung beetles also contribute to reducing greenhouse gas emission from cattle droppings by up to 32% (Piccini et al., 2017). Finally, coprophagous activity helps maintain space available for grazing, as herbivorous mammals exhibit fecal avoidance behaviors while feeding (Ödberg and Francis-Smith, 1977; Schütz et al., 2019).

In this study we investigated the grazing effect on the dung beetle community in pastures that benefit from a Mediterranean climate, known as a hotspot of dung beetle diversity. Enclosures house multiple species of herbivores, fed the same food, and the variations between studied pastures are mainly the herbivore density. We hypothesized that higher density of herbivores induces an increase of resource quantity, a decrease of the vegetation cover and height, thus a loss of habitat diversity for dung beetles. In this study we question which of the resource amount or the habitat quality shapes the dung beetle community.

Material and method

Study area

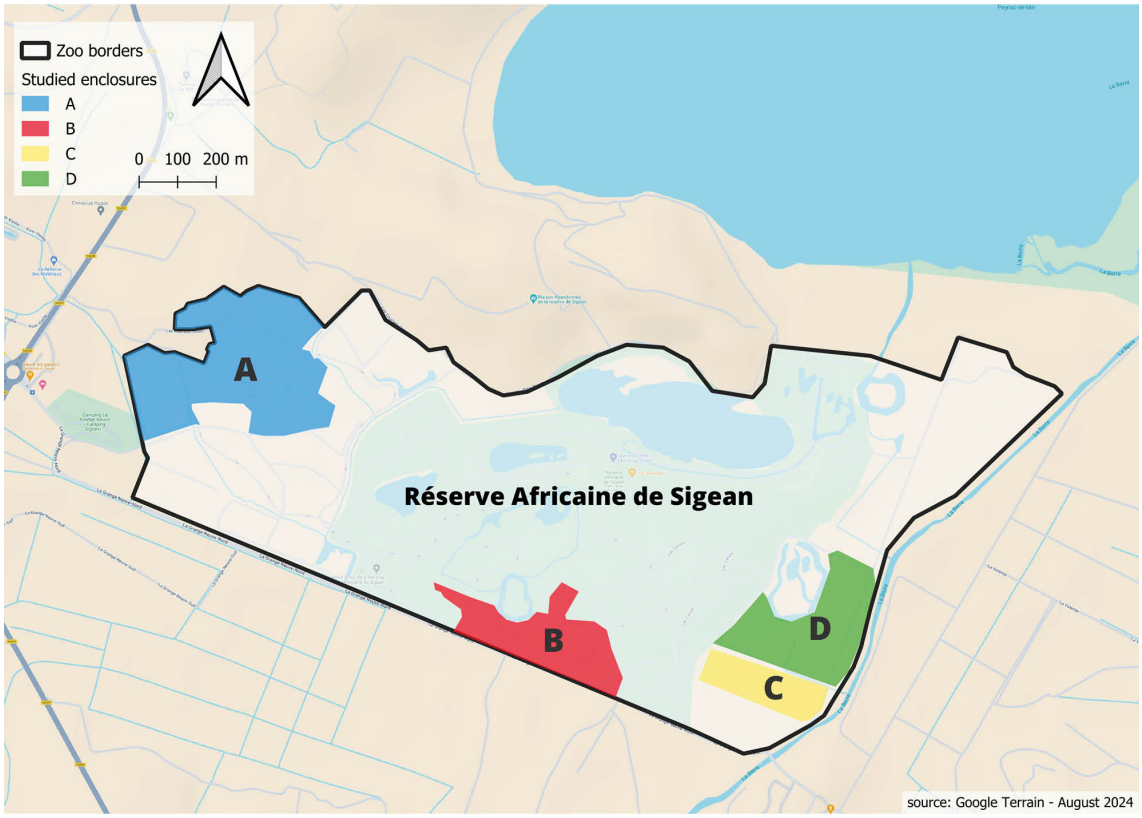
The study was conducted in a zoo called La Réserve Africaine de Sigean, France (43°03’45.5”N 2°57’00.9”E). The park borders old saltworks (figure 1), between the Pyrenean mountains chain and the Mediterranean Sea. The area is characterized by Mediterranean climate. The study took place during spring 2023 and spring 2024, both known periods of highest diversity and activity for dung beetles in Mediterranean regions (Jay-Robert et al., 2008). The monthly average precipitation from April to June were 20.8mm in 2023 and 37.2mm in 2024. The monthly average temperatures from April to June were 18.6°C in 2023, and 17.2°C in 2024.

The zoo houses different species of large herbivores in different compositions amongst the enclosures. All animals are fed with the same food in free access: pellets, vegetables, and ad libitum hay. Besides, animals are free to graze, and water is distributed ad libitum. The study focuses on four different enclosures housing large herbivores in different densities (kg.m-2) creating a gradient of density (fig. 1). As the food intake rate is correlated with the weight of herbivore species, we choose to measure the herbivore density using the average known weight of each species present in the respective enclosure (Shipley et al., 1994). Herbivores were not treated with any veterinary drug during the study and at least 3 months prior. In addition, all enclosures had similar pressure from human activities at the time of the study (roads crossing the entire enclosures for cars, use of trucks for hay and complementary food distribution and for health surveillance of the animals). All the enclosures contain running water slowly changing from sweetwater to salted water from 2023 to 2024 (private data of the zoo), and all enclosures are equally far from the ancient saltworks. In addition, they are situated less than 2km apart from each other at the furthest points (figure 1).

Dung beetles sampling design

Dung beetles were captured using non-destructive baited traps (figure S1), left 24 hours on site (adapted protocol from Perrin, 2019). All traps were baited with Grant’s zebra (*Equus quagga boehmi*) feces as equids present the most attractive dung available within the zoo (JOLY, submitted). We placed 6 traps per enclosure and per session which is enough to have a representative sampling of the dung beetle assemblage (Lobo et al., 1998; Rivera and Favila, 2022). Within each

session, traps from the same enclosure were placed at least 50 meters from each other, guaranteeing independence (Da Silva and Hernández, 2015). The enclosure C was the exception because of its size and the difficulty to access in some parts (dense vegetation), thus traps were placed as far as possible from each other (min = 45 m). In order to homogenize the study, we only considered the areas between 0 and 10 m of altitude. Feces were collected the week before trapping, maximum 3 minutes following excretion, and then stored in hermetic plastic bags at 4°C. All feces were homogenized the day before trapping and



	kg				m²	kg.m⁻²
					surface	Density
Enclosure A	12855	0	2400	2400	138000	0,13
Enclosure B	5580	2100	7250	720	59000	0,26
Enclosure C	920	0	700	0	31000	0,05
Enclosure D	3070	0	2400	1320	68000	0,1

Figure 1: Study site and its surrounding areas (source: Google Terrain August 2024), and enclosure compositions. All the ponds inside the zoo were initially sweet water progressively changing into salted water from 2023 to 2024 (private data of the zoo). The enclosure compositions are given as the total estimated mass of all animals corresponding to the herbivore type, successively from left to right: *Antilopinae*, *Bovinae*, *Equidae*, *Struthionidae*.

divided in portions of 300g and then were kept in hermetic plastic bags at room temperature 24 hours prior trapping. All captured dung beetles were individually identified at the species level using the taxonomic key for French dung beetles (Paulian and Baraud, 1982) and updated nomenclature (http://www.faunaeur.org). Specimens were then released alive in their respective enclosure of capture after identification. The study was initially conducted in tree enclosures in April 2023 and April 2024 (enclosures B, C and D). But, because of the extremely low abundance of dung beetles captured in 2023, we added a fourth enclosure (enclosure A) and a second session in June 2024.

Characterization of the enclosure

In April 2023, all enclosures were characterized except A. We defined one-meter square quadrats, distributed in grids of 50m all over the enclosures (figure S2). In each quadrat, we measured soil compaction and non-woody vegetal height at five points (in each corner of the quadrats and in the middle). A stainless-steel penetrometer from © AGRETO electronics GmbH was used to measure soil compaction (Agreto, n.d.). Such a tool is also used by farmers for soil compaction indication. As it is sensitive to the personnel bias, we made sure that it was always the same experimenter that manipulated the penetrometer. The experimenter pushed the probe equipped with the 13mm tips (diameter recommended for compact soil) into the soil until reaching 300 psi. The compaction measurement corresponds to the probe length that penetrated into the soil. Soil cover was classified in five categories: naked soil, grass, bushes, trees or concrete (figure 2). We defined the soil as “naked soil” when vegetation was absent; “grass” when most of the quadrat was covered with vegetation under 30cm height and mainly composed of Poaceae, regardless of its condition (dry or green); “bushes” when the vegetation was dense, over 30cm height and woody plants stayed under 150cm height, mainly composed of tall grass, bushes and sporadically some small trees; “concrete” when the soil was covered with concrete, corresponding to the roads available for visitors; trees when the soil cover was mainly composed of trees over 150cm height, regardless of the vegetation at their bottom. One quadrat is only characterised by the most represented type of soil cover, and the enclosures are characterized by the frequency of appearance of each soil cover.

Characterization of the adjacent environment of the traps

Soil cover was also characterized in a 10 m buffer area around each trap, and classed in one of the in five categories described previously (figure 2). The

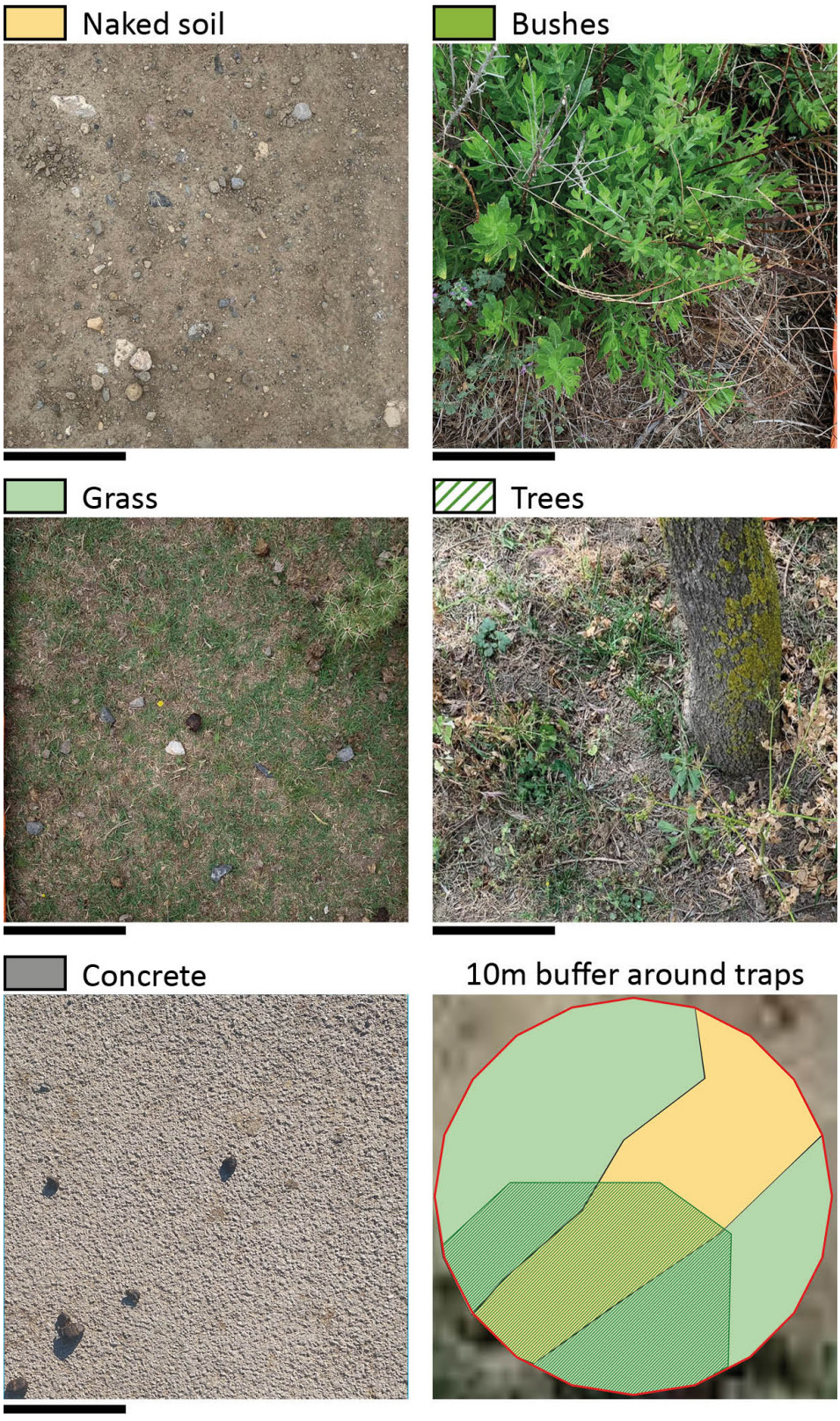


Figure 2: Vegetation cover classes used to characterize the environment at the enclosure level and within the 10 m buffer around traps. Pictures of vegetation cover were taken from top view, the black line under the picture corresponds to approximately 0.2 meters. We used the naked soil surface as a proxy for the use intensity of soil. The bottom left of the figure shows one of the 10m buffer, divided in 4 parcels (1 naked soil, 2 grass, 1 trees) depending on its soil cover.

buffers were divided in patches depending on the soil cover category identified at the time of each trapping session. One patch can only be covered by one of the first four categories, and might additionally be covered by the trees category. Habitat diversity across buffers was evaluated with the shannon index. Finally, we measured the surface covered by feces in a 10 meter-buffer around the traps of the year 2023. This last measure was taken in order to get an indication about the competition that the traps would face among the different enclosures. Cartography was defined with the QGIS software (QGIS Development Team, 2024), using OpenStreetMaps 2024 and Google satellite extensions.

Statistical analysis

All statistical analyses were realized with the software R (R Core Team, 2023; RStudio Team, 2023) and significance was set at the alpha threshold of 0.05. The median of abundance and species richness are presented as (median, IQR). At the enclosure scale, we performed a descriptive analysis comparing the average soil compaction and the average height of vegetation with Kruskal-Wallis tests followed by Dunn's tests as a post hoc test. In addition, we used a Chi2 test to compare soil cover compositions. We compared the Shannon index of both dung beetle community and soil cover, as well as the Pielou evenness of the dung beetle community, across enclosures with Kruskal-Wallis tests followed by Dunn's tests as a post hoc test. Finally, we tested the interaction effect between the year and the enclosure on the dung beetle abundance recorded in April 2023 and April 2024 with a Generalized Mixed Model (GLM), using the glm function. The log link-function and the quasipoisson error distribution were used (McCullagh, 2019). The significance was assessed with the Anova function.

At the local scale, we used the function glmmTMB from the package glmmTMB (Brooks et al., 2017) to fit generalized linear mixed models with abundance and specific richness as response variables. First, we checked for autocorrelation amongst the different factors with the R cor.test function (figure S3). From this previous analysis, we extracted two potential predictors that were not correlated with each other and maximized the variability: the surface of naked soil (continuous) and the surface covered by trees (continuous). As random factors, we used the year of trapping (2 factors: 2023 and 2024) and the enclosure (4 factors: A, B, C and D). Both random factors were considered nested in the model. Models were checked for goodness of fit with the DHARMa package using residual diagnostic controls (Hartig, 2022). All potential predictors were then tested using the likelihood test ratio with the anova function from the car

package (Fox et al., 2001), comparing starting models to replicates without each singular term in turn, and only the significant ones were kept. Model investigating the abundance of dung beetles as the response variable was analyzed assuming a negative binomial distribution nbonim2 (Stoklosa et al., 2022). In addition, we specified the dispersion formula to correct for heteroscedasticity from the surface of naked soil. Model investigating the species richness of dung beetles as the response variable was analyzed assuming a Poisson distribution, after proper investigation using the overdispersion.test function from the DARHMa package and looking at QQplot as well as residuals VS predicted distribution.

Finally, the composition of the dung beetles community was investigated using the package mvabund (Wang et al., 2012). The model was fitted with the manyglm function using a matrix of species abundance as response. We selected only the species corresponding to more than 5 captured individuals. As for the GLMMs previously, the fixed factors were the surface of naked soil (continuous) and the surface covered with trees (continuous). In addition, the year of trapping (2 factors: 2023 and 2024) and the enclosures (4 factors: A, B, C and D) were integrated as fixed factors. All fixed factors were then tested using the likelihood test ratio with the anova function from the car package, comparing starting models to replicates without each singular term in turn, and only the significant ones were kept. We performed the same way for testing interactions between fixed factors. Model was checked for goodness of fit using the different functions provided by the mvabund package, such as plot.manyglm, meanvar.plot and plot.mvabund, as recommended by Wang et al. (2012). Significant associations were assessed with the function anova. manyglm with Wald's statistic adjusted by the PIT-trap method and estimated p-values from 999 bootstrap samples. Finally, a fourth corner analysis was performed using the traitglm function (Brown et al., 2014). The analysis identifies species responding to the different explanatory variables only (surface of naked soil, year of trapping and enclosure), as we did not use trait components. Only dung beetle species observed in more than one trap were considered. We applied a LASSO penalty, using the method glm1path, that shrinks the smaller coefficients of association.

Results

Enclosure description:

Enclosures significantly differed in multiple points. Indeed, enclosure C showed lower soil compaction than B and D (Kruskal-Wallis test: $X2= 6.06$, $df= 2$, $P < 0.05$; Dunn's test: p-values < 0.05, figure 3A). Moreover, enclosure B showed lower vegetation than C and D (Kruskal-Wallis test: $X2= 93.4$, $df= 2$, $P < 0.001$; Dunn's test: $P < 0.001$), and enclosure D showed lower vegetation than C (Kruskal-Wallis test: $X2= 93.4$, $df= 2$, $P < 0.001$; Dunn's test: $P < 0.001$, figure 3B). Soil cover composition in the enclosures B, C and D was significantly associated with the enclosure (Chi-squared test: $X2 = 62.8$, $df = 6$, $P < 0.001$, figure 3C), the most contributing associations being enclosure C/bushes (26.5%), enclosure C/naked soil (21.1%), enclosure D/Trees (19.4%).

Traps' environment description:

There were no significant differences of surface covered by feces across the enclosures B, C and D (Kruskal-Wallis test: $X2= 3.35$, $df= 2$, $P > 0.05$). Habitat diversity in the 10m buffer around traps was similar across all enclosures (Shannon indexes: A:0, 0-0.69; B: 0.69, 0.63-0.69; C: 0.69, 0-0.87; D: 0.69, 0.63-0.96; Kruskal-Wallis test: $X2= 6.26$, $df= 3$, $P > 0.05$). Similar surface of naked soil were observed between the enclosures A and B (Kruskal-Wallis test: $X2= 27.6$, $df= 3$, $P < 0.001$; Dunn's test: $P > 0.05$) and between the enclosures C and D (Kruskal-Wallis test: $X2= 27.6$, $df= 3$, $P < 0.001$; Dunn's test: $P > 0.05$), but the enclosures A and B showed significantly higher surface of naked soil than C or D (Kruskal-Wallis test: $X2= 27.6$, $df= 3$, $P < 0.001$; Dunn's test: $P < 0.01$, figure 4).

Dung beetle community:

In total, we captured 830 dung beetles, belonging to 12 different species. Among them, 4.2% died during the study, and the survivors were released at the capture site after 48h. Most of the mortality appeared in the traps, or were sacrificed by freezing, after identification, for further scientific purposes. The predominant species were *Onthophagus vacca* (n= 269) and *Onthophagus ruficapillus* (n= 223, table S1). The overall abundance of dung beetles was twice as much in April 2023 (n= 423) as in April 2024 (n= 199) or in June 2024 (n=208). But, captures per trap in all enclosures were not significantly different between the trapping session in April 2023 (4.5, 2.25-28.5 specimens), in April 2024 (7, 3.75-10.8 specimens) and in June 2024 (8, 3.5-11.2 specimens; Kruskal-Wallis test: $X2= 0.52$, $df=2$, $P > 0.05$). However, the interaction between the enclosure and

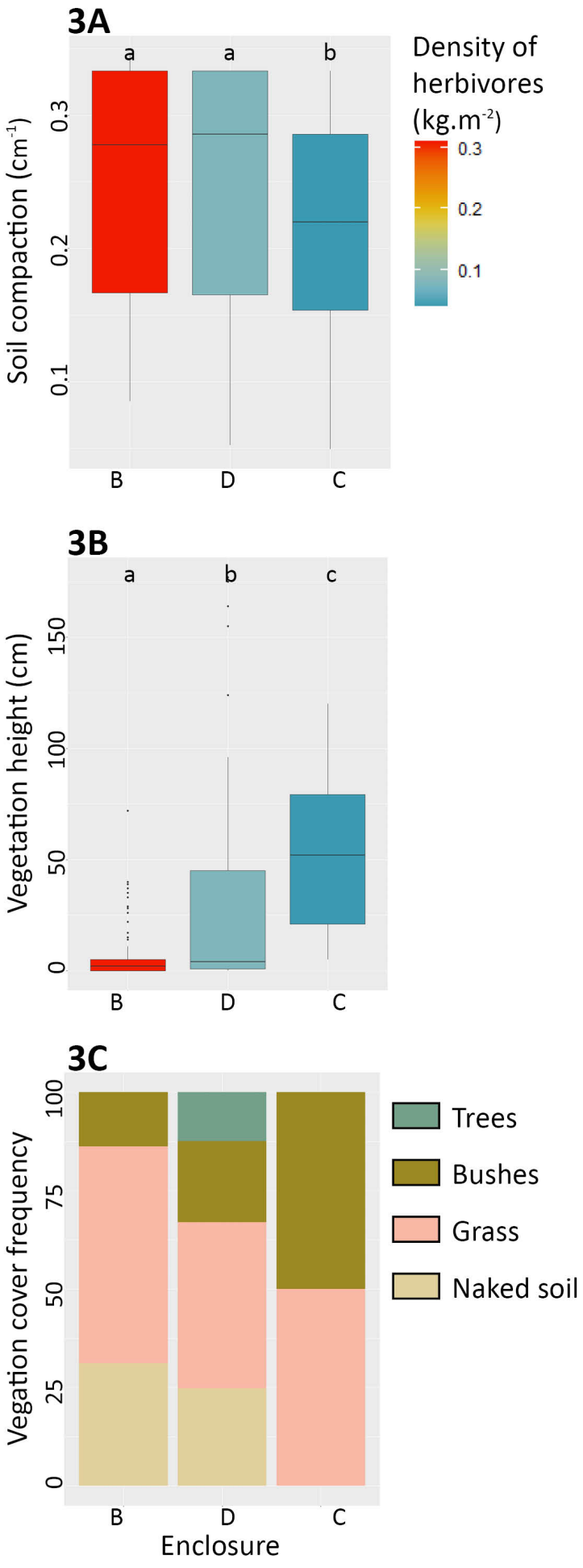


Figure 3: Environmental description of the enclosures. For the demonstration purpose, enclosures are classified in each plot from the higher density of herbivores to the lower density of herbivores from left to right. The horizontal line in the middle of each box of 3A and 3B figures represents the median value and whiskers show the minimum and the maximum values. The black dots represent the outsider values. Boxes crowned with different letters indicate significant differences. Both figures 3A and 3B represent the soil compaction and the vegetation height variation among the enclosures respectively. Figure 3C represents the vegetation cover variation among the enclosures, determined from the quadra observations.

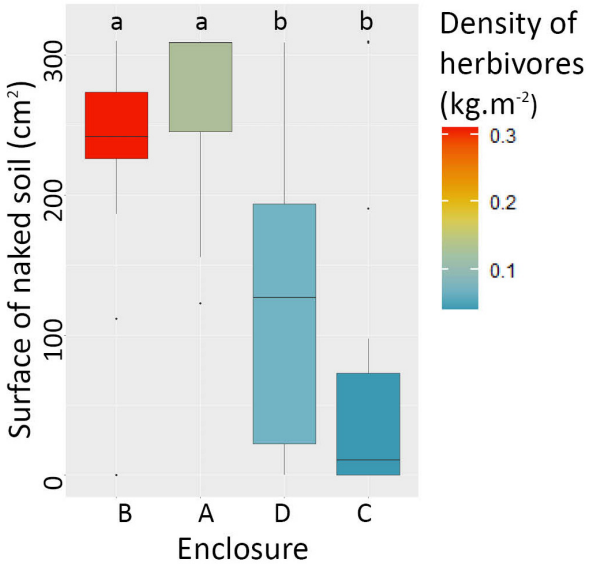


Figure 4: Characterization of the environment in the 10 meter buffer surrounding the traps respectively of the encolure. For the demonstration purpose, enclosures are classified in each plot from the higher density of herbivores to the lower density of herbivores from left to right. The horizontal line in the middle of each box represents the median value and whiskers show the minimum and the maximum values. The black dots represent the outsider values. Boxes crowned with different letters indicate significant differences.

the year of sampling had a significant effect on the mean captures per trap between April 2023 and April 2024 sessions (ANOVA: X2= 89.42, df= 2, P < 0.001, figure 5 and table S2).

Considering all sessions combined, the mean Shannon index of dung beetle captures across traps was significantly higher in enclosure D than B (Shannon indexes: A: 0.86, 0.66-0.97; B: 0.65, 0-0.69; C: 0.66, 0.36-1.04; D: 1.09, 0.85-1.29; Kruskal-Wallis test: X2= 8.9, df= 3, P < 0.05 ; Dunn's test: P < 0.01) and C (Kruskal-Wallis test: X2= 8.9, df= 3, P < 0.05 ; Dunn's test: p-values < 0.05), but Shannon index was similar between enclosures A and B, A and C, A and D, and between C and B. Community evenness within the enclosures was significantly higher in the enclosure B than in all other enclosures (Kruskal-Wallis test: X2= 11.14, df= 3, P < 0.05 ; Dunn's test: p-values < 0.05) but there was no significant difference among the other enclosures (Dunn's test: p-values > 0.05). Species richness of dung beetles showed no significant association with the surface covered by trees (ANOVA: X2= 1.5, df= 2, P > 0.05). Nevertheless, the species richness of dung beetles significantly decreases when the surface of naked

soil in the 10 meter-buffer around the trap increases (model estimate= -0.002 ± 0.0007, X2= 8.67, P < 0.01; figure 6). The abundance of dung beetles showed no significant association with the surface covered by trees (ANOVA: X2= 0.34, df= 2, P > 0.05). However, the abundance significantly decreases when the surface of naked soil increases in the 10 m buffer around the trap (model estimate = -0.007 ± 0.001, X2 = 33.08, P < 0.01; figure 7).

We detected that both the interaction between the enclosure and the year of study, and the surface of naked soil had significant influences on the community composition (table S3) from the manyglm model. The fourth corner analysis revealed that L. lividus, C. granarius and A. foetidus were overrepresented in the enclosure A while B. mahunkaorum was underrepresented. C. granarius was also underrepresented in the enclosure C but overrepresented in the enclosure B. In the 2024 trapping sessions, A. foetidus was overrepresented, and A. foetidus, L. lividus and T. scrofa were overrepresented in naked soils while *O. ruficapillus* was underrepresented (figure 8).

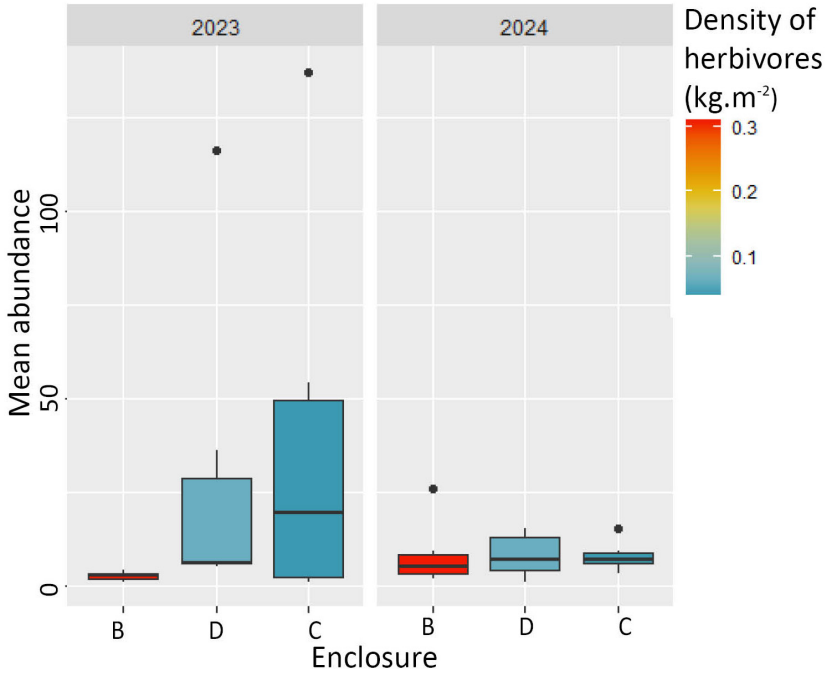


Figure 5: Mean dung beetle abundance captured per trap in April respectively of the enclosure and the year of sampling. For the demonstration purpose, enclosures are classified in each plot from the higher density of herbivores to the lower density of herbivores from left to right. The horizontal line in the middle of each box represents the median value and whiskers show the minimum and the maximum values. The black dots represent the outsider values.

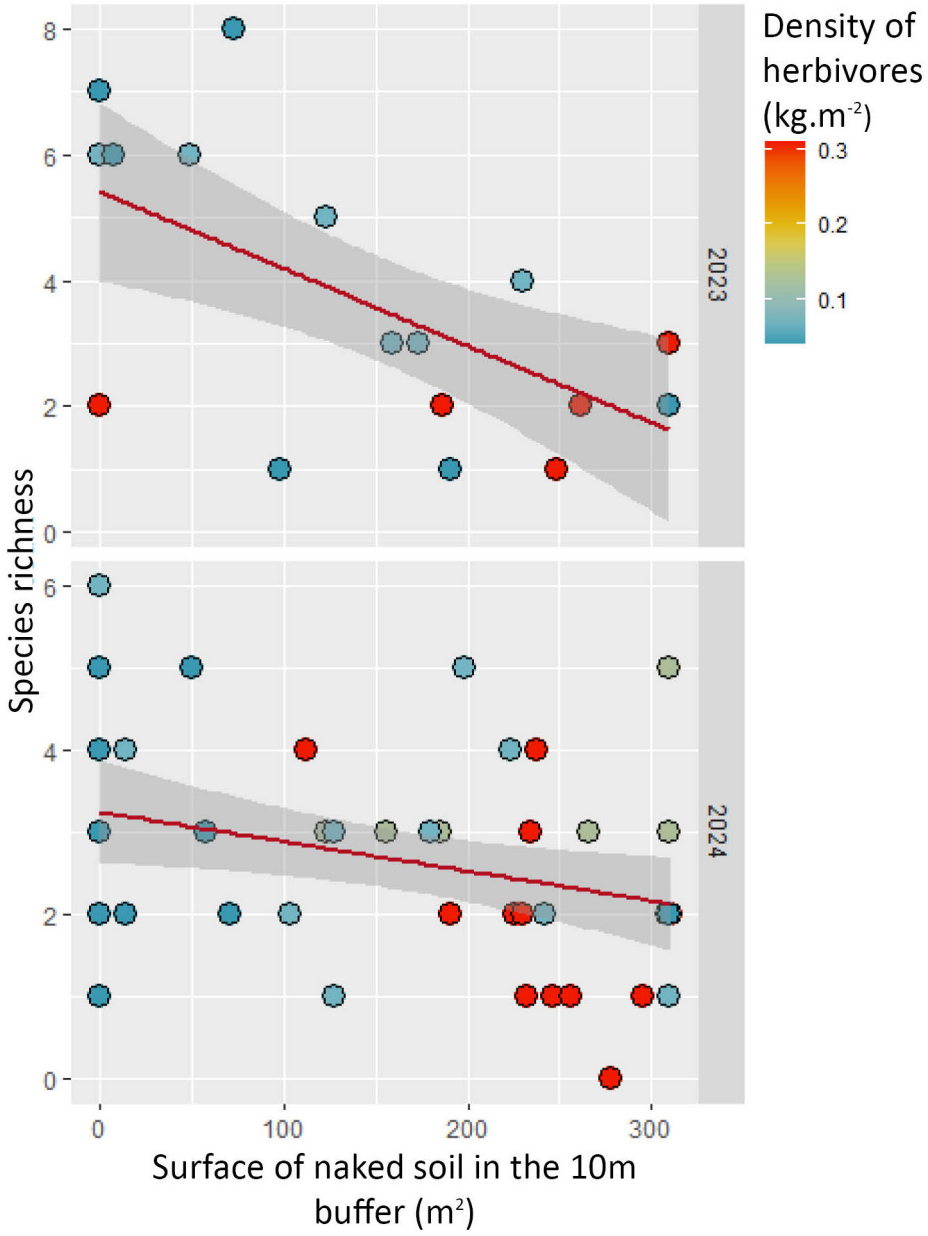


Figure 6: Dung beetle species richness per trap considering the surface of naked soil in the 10 meter-buffer surrounding the trap. The red lines show the model predictions, and the gray areas represent the confidence interval at 95%. Dots are colored depending on the density of herbivores in the respective enclosures.

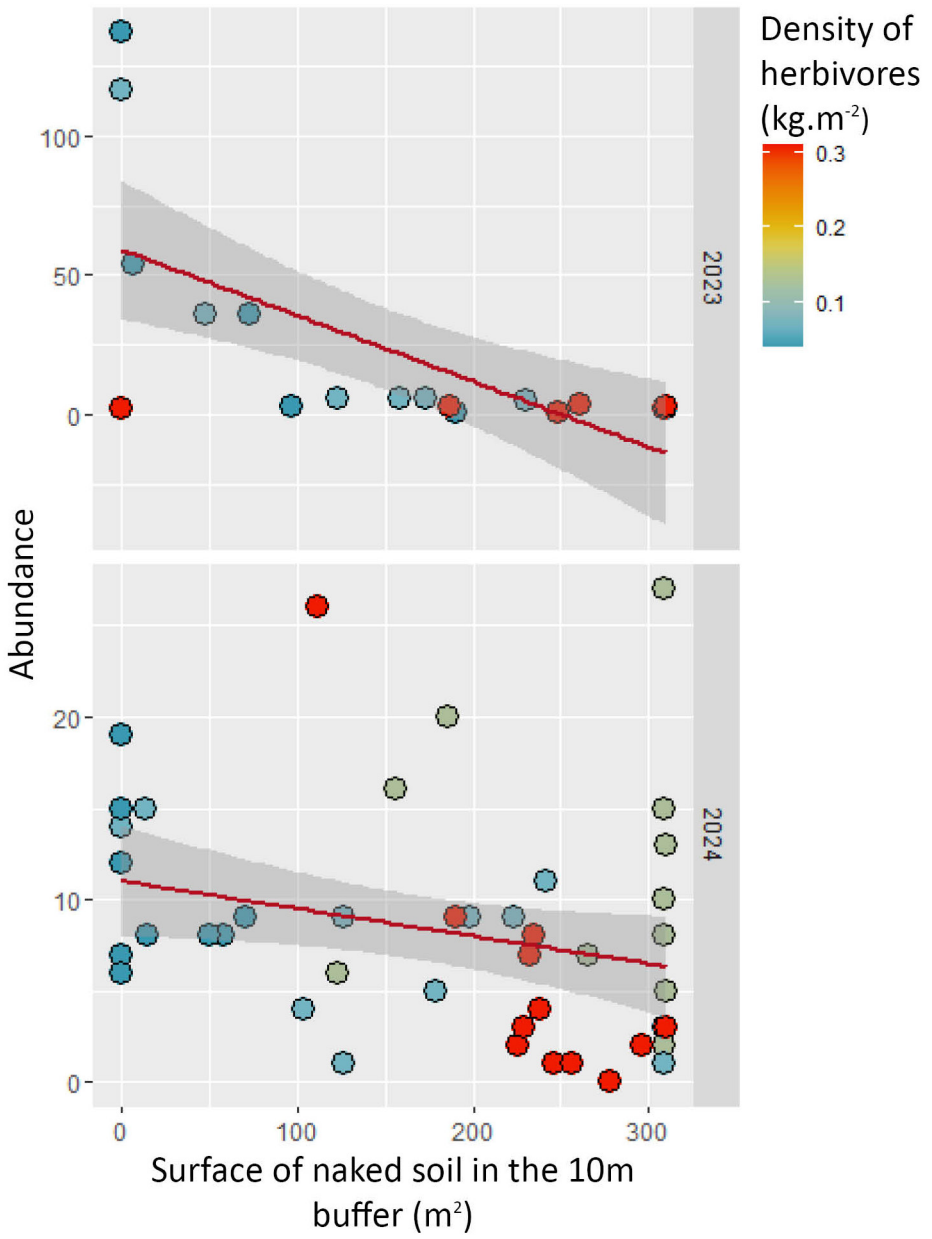


Figure 7: Dung beetle abundance per trap considering the surface of naked soil in the 10 meter-buffer surrounding the trap. The red lines show the model predictions, and the gray areas represent the confidence interval at 95%. Dots are colored depending on the density of herbivores in the respective enclosures.



Figure 8: Results from the fourth-corner analysis estimating associations between dung beetle species VS enclosure, year of capture and surface of naked soil in the 10 m buffer around the trap (Nak.Soil) . One species (*Melinopterus prodromus*, Brahm, 1790) was excluded from this analysis as it was observed only once. Darker colors indicate stronger associations than paler colors; positive associations are indicated by shades of green, negative associations are indicated by shades of pink. Absolute values of coefficients are not comparable between predictors due to differences in units.

Discussion

Grazing activity is the main driver of grassland biodiversity, impacting biotic and abiotic conditions. Arthropods are sensitive to the presence of livestock, and their impacts. For two consecutive years we studied the dung beetle community in a gradient of herbivore density across multi-species enclosures.

Employing a non-lethal trapping device aimed to preserve the dung beetle populations and hinder subsequent sampling sessions. Our protocol enabled the release of over 95% of captured individuals after identification, minimizing the impact of the study on the communities. New sampling methods to further reduce the impacts of dung beetle monitoring are using eDNA, but they are still in development (Leandro et al., 2021). A decline in dung beetle abundance over the season was expected, due to Mediterranean weather conditions and the summer drought, which are unsuitable for dung beetle activity (Dormont et al., 2004; Leandro et al., 2021). However, at an equivalent sampling effort and similar meteorological conditions during the trapping sessions, we captured twice fewer insects in April 2024 than in April 2023 despite the non-lethal trapping device. The production year of the dung beetles captured in this study, 2022 and 2023, experienced the driest years recorded since 2000, with respectively 303.1 mm and 244.9 mm of precipitation recorded by the Perpignan weather station 35 km away from the study site (“prevision-meteo,” 2024). In comparison, for the 1991-2020 periode, the average annual precipitation of the area was 578.3mm (including 287.9 mm for the first half of the year; “meteociel,” 2024). As soil moisture is the main factor determining the survival rate of dung beetle broods (Sowig, 1996, 1995), a decrease in dung beetle abundance between 2023 and 2024 could be expected, and should be alerting on the alarming consequences of the lack of precipitation. In addition, the mean annual temperatures of 2022 and 2023 were the highest recorded since 2000 (2022: 17.6°C; 2023: 17.2°C; 2000-2021: 16.01±0.48°C). The high temperatures could have induced a behavioral response, such as paracoprids burying the broods deeper in the ground and making smaller broods (Holley and Andrew, 2020; Kirkpatrick and Sheldon, 2022), or physiological responses, such as weight loss for the adults (Mamantov and Sheldon, 2024) and a metabolic slowdown for the larvae (Morgan Fleming et al., 2021). Both induce costs for the dung beetles, reducing their survival rate, their size, their fitness and the ecosystemic services provided (Esquivel-Román et al., 2025; Holley and Andrew, 2020; Morgan Fleming et al., 2021). Warming climate is predicted

to have even stronger consequences in overgrazed areas (Rolo and Moreno, 2019), and might induce a shift in the dung beetle community by eliminating the species that can't acclimate (Mamantov and Sheldon, 2024). The drought recorded between 2022 and 2024 would have blurred the organism's responses to our experimental design, and reduce the differences between the conditions tested. This is very well illustrated by the abundance of dung beetles captured per trap that showed an attenuated response across the enclosures in April 2024 compared to April 2023 (fig. 5).

At the enclosure scale, our results show a negative correlation between the vegetation height and both the herbivore density and the surface of naked soil which is congruent with previous studies (Blanco-Sepúlveda et al., 2024; Golodets et al., 2010; Oikonomou et al., 2023). The trees in enclosure D existed before the creation of the enclosure and the arrival of exotic herbivores. Thus the trees reached a size that exceeded the foraging limits of herbivores, allowing them to grow and persist despite the acute appetite of herbivores for tree foliage. Contrasting with the enclosure D, the RAS landscaping team has to heavily protect all the newly planted trees in enclosures A and B against herbivores. The absence of naked soil and the lower soil compaction observed in enclosure C, in addition to the high prevalence of bushes (including small trees in development), suggest that the impact of herbivore density allows the vegetal cover to develop along a succession towards woodland (Listopad et al., 2018; Thalen et al., 1987). An increasing surface of naked soil was recorded in the surroundings of traps located in enclosures with high herbivore densities, showing that local scale conditions of sampling were good representative of enclosure characteristics.

Natural deposits of dung can compete with traps, thus high density of dung might reduce the abundance and species richness of dung beetles captured per trap (Treitler et al., 2017). This is caused by a dilution effect, where higher resource availability leads to the dispersion of the dung beetle community (Yamamura, 1999). However, our results show that the surface covered with feces was similar around all traps, which suppose that an equivalent concurrence between our traps and the surrounding dungs was applied to all traps despite the variation of herbivore density across enclosures. Our results also bring evidence that the dung patches density should not be considered as a proxy for grazing activity (Treitler et al., 2017). In addition, equids and other large herbivores avoid grazing in the surroundings of dung patches (Fleurance et al.,

2007; Michel, 1955). Thus, the areas with the most dung patches are probably the least grazed within the enclosures. Considering the resource producer's behavior should be mandatory to accurately study the trophic relationship with the resource consumers.

Dung beetles are resource dependent, thus we expect that the community captured in the traps would be as rich and diversified as the resource is abundant (Hosler et al., 2021). However our results show the opposite, with less abundant and less diversified communities of dung beetles in the enclosures with the highest density of herbivores. In addition, the functional group composition of communities varies with the herbivore density (Perrin et al., 2021, 2020). Indeed, the endocoprid prevalence increases as the herbivore density increases as well, while the opposite trend is observed for paracoprids (Hutton and Giller, 2003; Negro et al., 2011; Perrin et al., 2020). According to the herbivore density gradient, from the lowest to the highest, in our study we observed 60% of paracoprid in enclosure B, 14% in enclosure A, 64% in enclosure D and 86% in enclosure C. The insects composition of our study area is independent from the large herbivore's composition (Joly et al., submitted), despite previous works describing specialisation of some dung beetle species to some trophic resources (Bogoni et al., 2019; Hosler et al., 2021; Nichols et al., 2009). Trampling compacts the soil and reduces the water availability for soil fauna (Daniel et al., 2002; Kairis et al., 2015; Lai and Kumar, 2020; Milazzo et al., 2023; Zhang et al., 2019). Thus, the soil physical and chemical properties might not be suitable for the soil-digging activity of paracoprids, and the larvae development. In addition, C. granarius and A. foetidus are known indicator species for high herbivore density areas (Perrin et al., 2020) and are overrepresented in the enclosures with the highest herbivore densities. Both are able to process different resources than dung itself, like carrion and manure (Brown, 1940) allowing them to survive in the areas where feces accumulate, like the hay distribution area of the studied enclosures or like the dedicated deposit areas formed as landmarks by equids. As the resource abundance and diversity does not represent a limit, we hypothesize that the mechanical pressures applied on the soil represent the strongest factor of herbivore density restricting the dung beetle community development.

Dung beetles are sensitive to the landscape composition as assessed in the Mediterranean area, with the soil cover as one of the main drivers of the community composition (Leandro et al., 2023). Our traps were able to capture

insects present in the surroundings at a certain time. As the enclosure B, with the highest density of herbivores, was mostly covered with naked soil, the environment was only able to provide a poor community of insects. Thus, insects recorded in this enclosure would most probably be dispersing from areas more suitable for their development. At a finer scale, whatever the enclosure of trapping, the surface of naked soil in the 10m buffer surrounding the trap is limiting the abundance and species richness of the dung beetle community. Thus our study highlights the importance of the soil cover within the immediate surroundings of a dung patch in the dung beetle colonisation and the fine scale impact of the herbivore density on the habitat.

In conclusion, our study brings new clues about how herbivore density affects the dung beetles communities. We demonstrated that at high densities of herbivores, the dung beetles were mostly impacted by the mechanical pressures applied on the soil caused by both trampling and agricultural engines. These results interrogate the role of the herbivore management in the free-ranging species conservation. Our study takes place in a zoo, where the vertebrate's density is conditioned to the visitor's experience. Indeed, the visitors expect to see numerous exotic animals. The enclosure C, which represents the most abundant dung beetle community among the other enclosures studied, also represents the lowest herbivore density and the highest vegetation. Thus, visitors would need a lot of patience to observe one animal among all the bushes. Although the RAS wishes to give a safari experience to the visitor, the zoo needs to find the best trade off between visitor's contentment and environment conservation within the enclosures. Although breeding activity in enclosed pastures, in a zoo context, doesn't seem compatible with the conservation of natural areas, some arrangements could be made, like the creation of refuge areas for the free ranging species, including arthropods and the soil fauna. Finally, as one of the main goals of zoos is the education of their visitors (Kleiman, 1985), we could think of a good communication flow to justify a low density of animals and a higher difficulty to see them. It might become a concept of visit, with a hide and seek game, spotting the maximum number of species in the enclosures.

conclusion et ouverture

Comme expliqué dans la discussion, ce travail de piégeage a été fortement impacté par les deux années de sécheresses que la région a subi en 2022 et 2023, avec des abondances d'insectes encore plus faibles que celles observées à l'occasion de l'étude présentée en chapitre 4. Cependant, nous avons pu observer une réponse intéressante des communautés de bousiers face aux pressions d'herbivores dans les enclos. Nous avons pu mettre en évidence que l'impact des herbivores sur la faune coprophages est plus lié aux pressions mécaniques appliquées au sol qu'à la prise alimentaire elle-même. Nous avons aussi pu mettre en valeur l'importance de l'effet délétère des fortes densités d'herbivores sur la faune coprophage par rapport à l'effet bénéfique de l'abondance de ressource trophique.

Par la suite, nous avons questionné la capacité des insectes à se développer dans le sol des différents enclos. La compaction du sol lié aux fortes densité d'herbivores (Daniel et al., 2002; Kairis et al., 2015; Lai and Kumar, 2020; Milazzo et al., 2023; Zhang et al., 2019), demanderai beaucoup d'énergie pour creuser. Nous pouvions donc faire deux hypothèses contradictoires : les paracoprides enterrent moins profondément leurs pilules pour équilibrer les efforts fournis pour creuser dans des sols plus durs, ou à l'inverse, les paracoprides creuseraient plus profondémment afin de trouver un espaces plus convenable pour la survie des larves (Dabrowskiet al., 2019). L'effet de la densité d'herbivore sur les communautés de bousiers, décrits précédemment, nous amène à faire l'hypothèse que l'élimination des déjections serait moins efficace dans les enclos présentant de fortes densités d'herbivores. Enfin, nous faisions l'hypothèse que les déjections comportant de l'IVM seraient moins dégradées que les déjections sans IVM, notamment à cause des effets paralysants de l'IVM sur les arthropodes (Verdú et al., 2015). Un protocole a été lancé en 2022 dans l'enclos B, et a fait l'objet d'un stage de Master 1 (figure 9). Au cours de cette étude, nous avons déposé des quantités standardisées de déjections sur le sol à trois localisations, et comparé la matière organique restante après 15 jours. Chaque localisation comportait un dépôt de déjection naïf et un dépôt de déjection avec IVM récolté 4 jours après traitement (0.2 mg/kg d'IVM administré en injection intramusculaire par fléchage). En complément, sous la déjection, nous avons enterré un tube fermé rempli de terre dans lequel les bousiers auraient, théoriquement, pu nicher. Malheureusement, le printemps a été extrêmement sec et nous n'avons vu aucune trace de bousiers s'installer

dans nos dispositifs, pourtant testés et approuvés par ailleurs. L'absence de bousiers dans nos dispositifs pourrait aussi résulter d'un sol qui n'est pas propice au développement des endocoprides. En effet, la dureté du sol a été un véritable frein dans la mise en place du dispositif. Il fallait creuser à environ 30 cm de profondeur sur un diamètre de 20 cm au moins, et répéter l'opération 6 fois. Cette étape nous a pris deux journées complètes. Nous aurions pu confirmer ou infirmer cette hypothèse en comparant avec des dispositifs installés dans les autres enclos dont la compaction du sol n'est pas aussi intense. Ainsi, nous pouvons envisager pour une future étude, de réitérer l'expérience avec plus de réplicats, et d'intégrer les différents enclos formant le gradient de densité présenté dans ce chapitre.

Figure 9 : Support visuel en deux pages, distribué aux équipes de soigneurs afin de mobiliser leur intérêt et leurs compétences sur les secteurs étudiés.

Activité des bousiers de la RAS

Cloé JOLY - 15/05/22

Les bousiers impactés par la gestion parasitaire ?

Les bousiers sont particulièrement sensibles aux vermifuges. En effet, lorsque les grands herbivores sont vermifugés, **près de 90% des molécules administrées sont rejetées dans les déjections.**

Plusieures études ont montré que l'utilisation d'ivermectine chez les bovidés était catastrophique pour les bousiers. Ces molécules sont ingérées par les insectes provoquant la paralysie de ceux-ci. La présence d'ivermectine dans les déjections des grands herbivores induit une augmentation de la mortalité des adultes et des oeufs de bousiers, le ralentissement de la maturation de ces derniers, la diminution de la taille des adultes sortants des oeufs mais aussi de leurs atributs sexuels les rendant moins compétitifs lors de la reproduction.

Les bousiers rendent des services écosystémiques importants, dont la dégradation des déjections et l'enrichissement des sols. Cette activité permet aussi une réduction de l'éclosion des oeufs de parasites et une augmentation de leur mortalité. L'usage de molécules antiparasitaire doit donc être finement raisonné afin de ne pas devenir contre-productive.

Le but de cette étude est de mieux comprendre comment l'utilisation de l'ivermectine chez les équidés impacte l'activité de la communauté de bousiers présents sur la Réserve Africaine de Sigean.

Comment l'activité des bousiers est-elle impactée par l'utilisation d'ivermectine pour la vermifugation des zèbres de Grant ?

Nous allons déployer 3 dispositifs expérimentaux en Savane 2, eux même composés de 4 échantillons (cf. schéma ci contre) :

déjection toxique (+IVM) accessible aux bousiers
déjection saine accessible aux bousiers
déjection toxique (+IVM) non accessible aux bousiers
déjection saine non accessible aux bousiers

On comparera : la masse de matière fécale disparue après 15 jours selon les différents paramètres ; les insectes présents dans la déjection restante et les 20 cm sous la surface du sol ; le nombre de pelotes de déjections retrouvées sous chaque déjection.

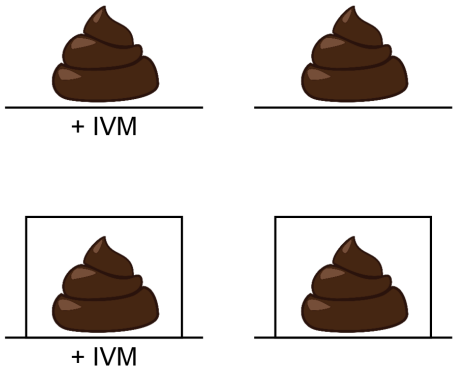
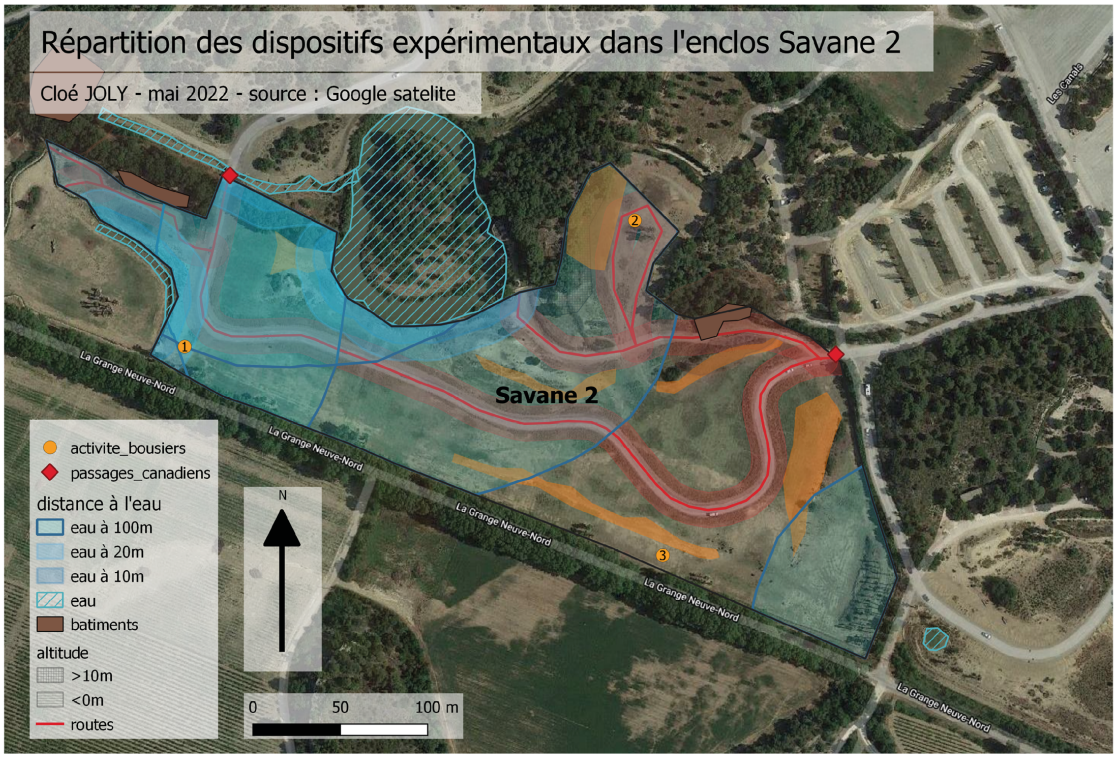
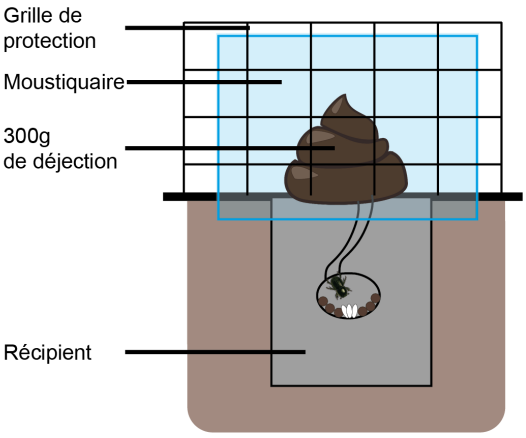


Figure 9 (suite) : Support visuel en deux pages, distribué aux équipes de soigneurs afin de mobiliser leur intérêt et leurs compétences sur les secteurs étudiés.

Inventaire des bousiers de la RAS





Les échantillons de 300g ($m_{initiale}$) seront en place pendant 15 jours. Ils seront ensuite séchés à 80°C pour obtenir la masse sèche ($m_{sèche}$), puis carbonisés à 500°C afin d'obtenir la masse inorganique ($m_{inorganique}$).

Nous estimerons ainsi l'activité des bousiers selon la masse organique restante après les 15 jours d'exposition :

$$m_{bousiers} = m_{initiale} - m_{sèche} - m_{inorganique}$$

Le rôle des soigneurs : vérifier visuellement en passant à côté que les pièges sont toujours en place, en bon état, et qu'ils ne vous dérangent pas ni les animaux. Si il y a un problème, appeler directement Cloé pour faire les vérifications nécessaires et remettre en état le piège.

N'hésitez pas à poser des questions, à donner votre avis et à vous sentir concernés.

Le cas des bousiers est l'affaire de tous !

Cloé J., Pierre J.-R., Freddie-Jeanne R., Samuel D. et Philipine D.

Supplementary material

Figure S1: Illustration of the baited traps used to capture dung beetles. The bait was 300g of equine feces.

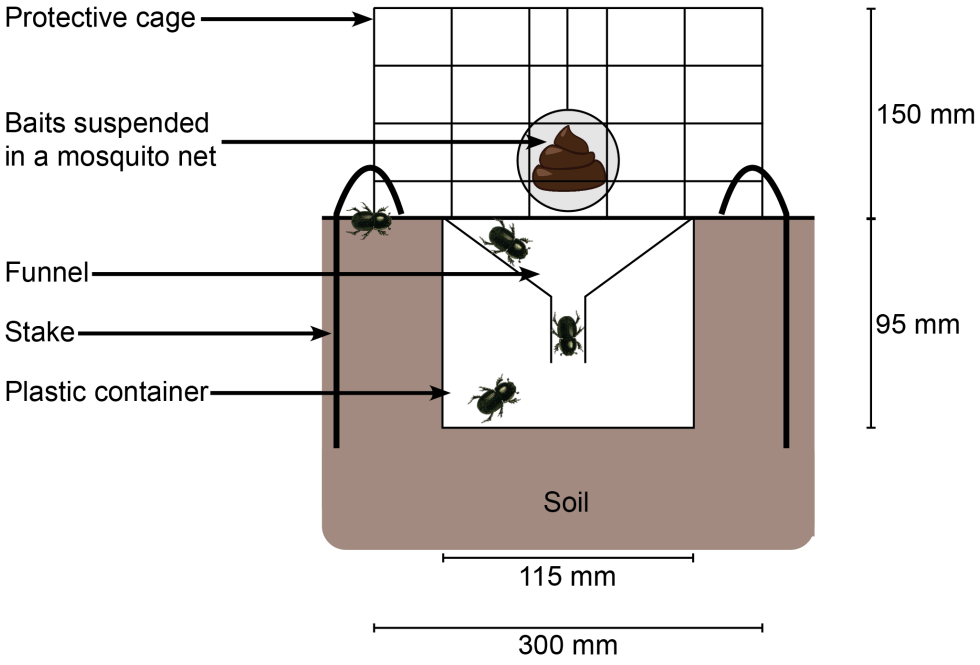


Figure S2: Map of the localisation of each quadrat recorded in the enclosures of the RAS.

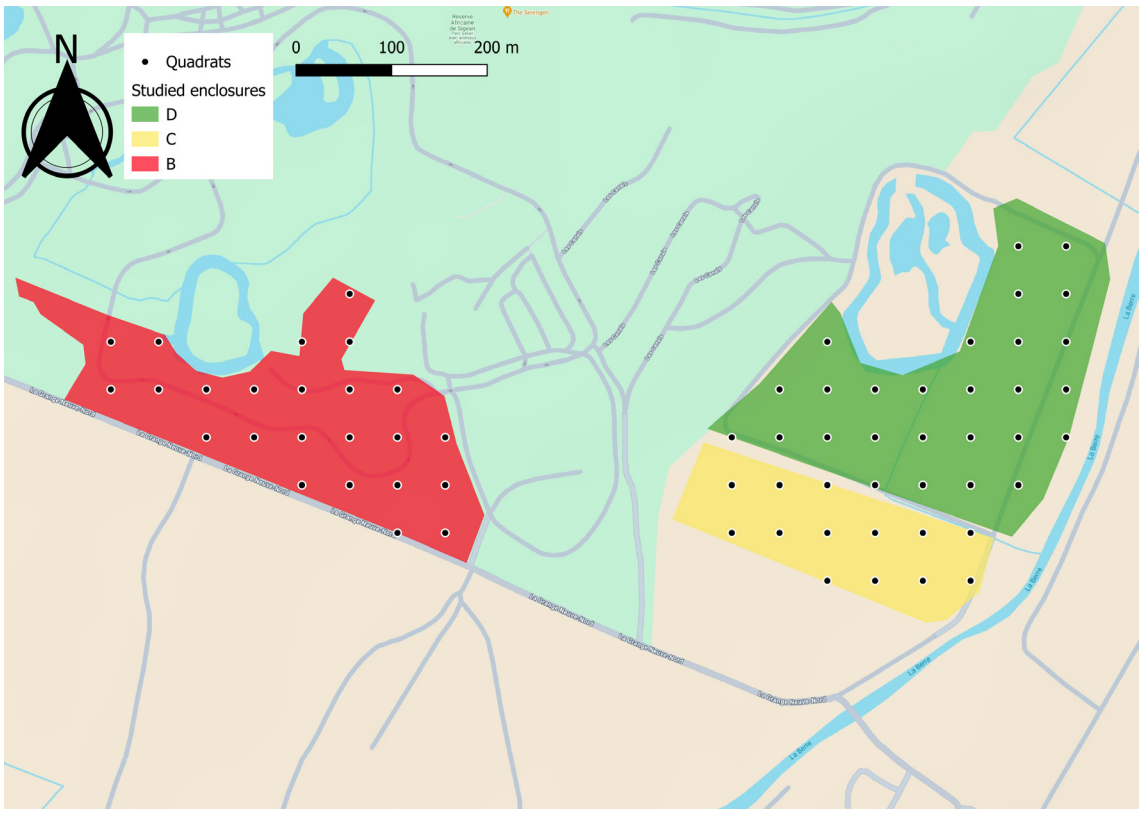


Figure S3: Distribution of the surface covered by each kind of soil cover in the 10m buffer surrounding the traps, in regard with each other. Correlation indices are given by the grey numbers in the upper left side of the table, followed by the correlations within each enclosure. The significance of the relations is given by stars: *: p-value < 0.05, **: p-value < 0.01, ***: p-value < 0.001. In absence of stars the relation is considered non significant.

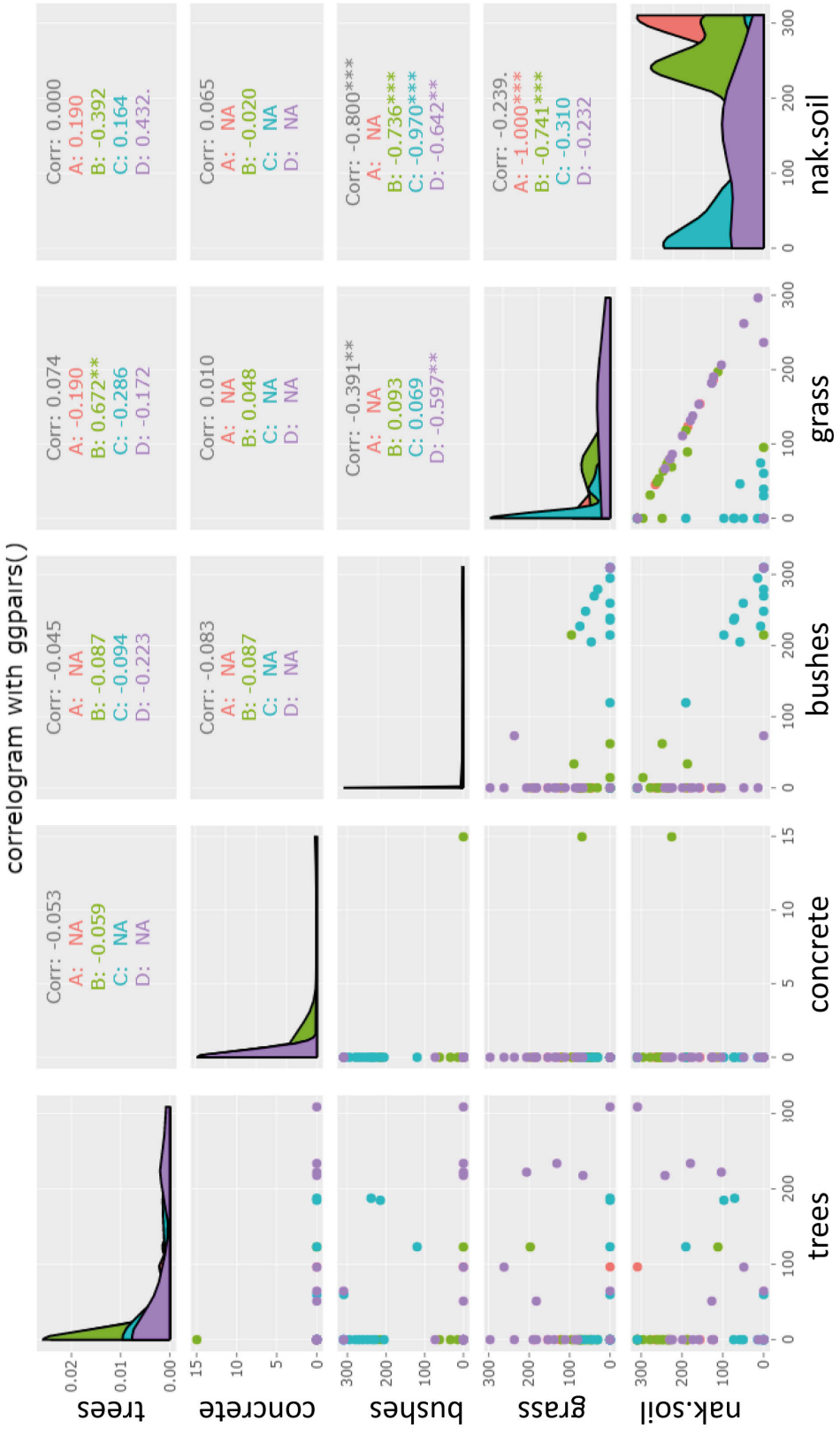


Table S1: Abundance of each species in relation to the enclosure of capture. The last line of the table gives the proportion of endocoprids captured in total in the enclosure.

	A	B	C	D
A. foetidus (Herbst, 1783)¤	63	5	3	18
B. bubalus (Olivier, 1811) *	1	2	19	13
C. distinctus (O.F. Müller, 1776)¤	1	1	3	0
C. granarius (Linnaeus, 1767)¤	38	18	2	11
L. lividus (Olivier, 1789)¤	8	2	2	3
O. ruficapilus (Brullé, 1832) *	2	3	139	79
O. taurus (Schreber, 1759) *	0	0	5	4
O. vacca (Linnaeus, 1767) *	15	44	128	82
E. merdarius (Frabricius, 1775)¤	0	1	20	36
B. mahunkaorum (Adam, 1983)¤	0	2	17	31
M. promodus (Brahm, 1790)¤	0	2	0	0
T. scrofa (Fabricius, 1787)¤	2	1	2	2
Total nb. of specimens	**130**	**81**	**340**	**279**
Total nb. of species	**8**	**11**	**11**	**10**
Nb. traps	**12**	**18**	**18**	**18**
Ratio endocoprid	**0,86**	**0,40**	**0,14**	**0,36**

*: Paracoprids; ¤: endocoprid

Table S2: Results of the ManyGLM model predicting the community structure in relation with the enclosure studied, the surface covered by naked soil in the 10m buffer in the surroundings of the trap and the year of capture.

Response variable	Explenatory variables	Dev	Pr(>Dev)
Community structure	Naked Soil	114.92	**<0,01**
	Enclosure	77.27	**<0,01**
	Year	57.49	**<0,01**
	Enclosure:Year	38.76	**<0,05**

Table S3: Results of the GLM model predicting the dung beetle abundance, fitted with a poisson error structure. Significant results are in bold.

Predictor	Coefficient	Estimate	SE	Z	P
Abundance	**Intercept**	**0,92**	**0,26**	**3,55**	**<0,001**
	Enclosure C	2,74	0,27	10,3	**<0,001**
	Enclosure D	2,46	0,27	9,13	**<0,001**
	Year 2024	1,2	0,29	-7,42	**<0,001**
	Enclosure C:Year 2024	-2,8	0,34	4,1	**<0,001**
	Enclosure D: Year 2024	-2,5	0,34	-8,37	**<0,001**

CHAPITRE 6 : ÉTUDE PRÉLIMINAIRE DE L'EFFET DE LA RESSOURCE TROPHIQUE DISPONIBLE SUR LA FITNESS DE *O. VACCA*

Auteurs : Cloé **Joly**, Benoit **Lapeyre**, Freddie-Jeanne **Richard**, Alix **Ortega**, Pierre **Jay-Robert**, Alberto **Zamprogna**

Contexte d'étude

Après la première année, lors des discussions avec mes trois directeurs de thèse afin de planifier les deux années suivantes, ceux-ci me proposent d'intégrer une partie expérimentale à ma thèse. En effet, jusqu'à maintenant les études menées sont principalement basées sur des observations, sans intervention de ma part. Nous étions très contraints par le mode de gestion du troupeau de zèbres : il ne faut pas que le dispositif expérimental soit visible dans l'enclos, on ne peut pas séparer le groupe, et toute manipulation des animaux demande une anesthésie. De plus, la question de l'attraction des *O. vacca* par les déjections d'équidés avait déjà piqué ma curiosité. Pourquoi est-ce que les insectes de l'étude de Dormont et son équipe (2007) étaient plus attirés par les déjections bovines alors que nous observions l'inverse ? Était-ce un cas isolé ? Est-ce que nous avions affaire à une spécialisation des *O. vacca* de la RAS ? Ou à l'inverse, avions-nous une spécialisation des insectes étudiés par Dormont en 2007 ?

Toutes ces questions nous ont amenés à penser un protocole d'élevage dans lequel nous pourrions observer le cycle complet de *O. vacca*, sur deux générations, et évaluer si l'utilisation d'un type de déjection apportait un avantage évolutif. Et puis quitte à avoir des insectes, pourquoi ne pas essayer de vérifier l'attractivité des déjections en conditions de laboratoire, c'est-à-dire en conditions contrôlées par rapport à nos expériences de terrain présentées en chapitre 4. Nous nous sommes rapprochés de l'équipe du CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Australie) postée à Montpellier. L'équipe était experte de l'élevage de bousiers, notamment de *O. vacca*, dans le but ensuite de les introduire en Australie (Box 5). Nous avons ainsi bénéficié d'un suivi d'élevage, de conseils, de prêt de matériel et même d'un partage de protocole de la part du Dr. Valérie Caron (Senior Research Scientist, Invertebrate Pest Management & Biological Control) et d'Alberto Zamprogna (entomologiste ingénieur de recherche). Enfin, nous nous sommes aussi rapprochés du département Interactions, Ecologie et Sociétés du CEFE, afin de réaliser des expérimentations entomologiques sur l'attractivité des odeurs.

Box 5 : L'histoire des bousiers en Australie, une leçon pour le monde (Ward, 2011).

Lors de la colonisation de l'Australie, les colons ont importé de grands herbivores comme les bovins. Malheureusement, les bousiers présents sur

le continent australien n'étaient pas équipés pour dégrader cette ressource, ayant évolué principalement entourés de marsupiaux. Les élevages s'intensifiant, l'Australie se retrouvait bientôt croulant sous un quantité de déjection importante qui ne se dégradait jamais. Celles-ci représentaient aussi le lieu de reproduction de prédilection de parasites externes comme les mouches, dont certaines sont vectrices de maladies. Les déjections non dégradées couvraient les sols empêchant les herbivores de se nourrir, et empêchant les plantes de pousser.

Dans les années 50, un chercheur nommé George Bornemissza a l'idée d'importer des bousiers d'ailleurs, dont il sait qu'ils sont capables de dégrader les déjections bovines et équines.

Depuis les années 70 environ, plus d'une soixantaine d'espèces ont été introduites, dont *O. vacca*, introduit très récemment, dans les années 2020. Les déjections ont été dégradées bien plus rapidement, et la quantité de parasites externes a été réduite, consolidant le statut de héros des pâturages des bousiers.

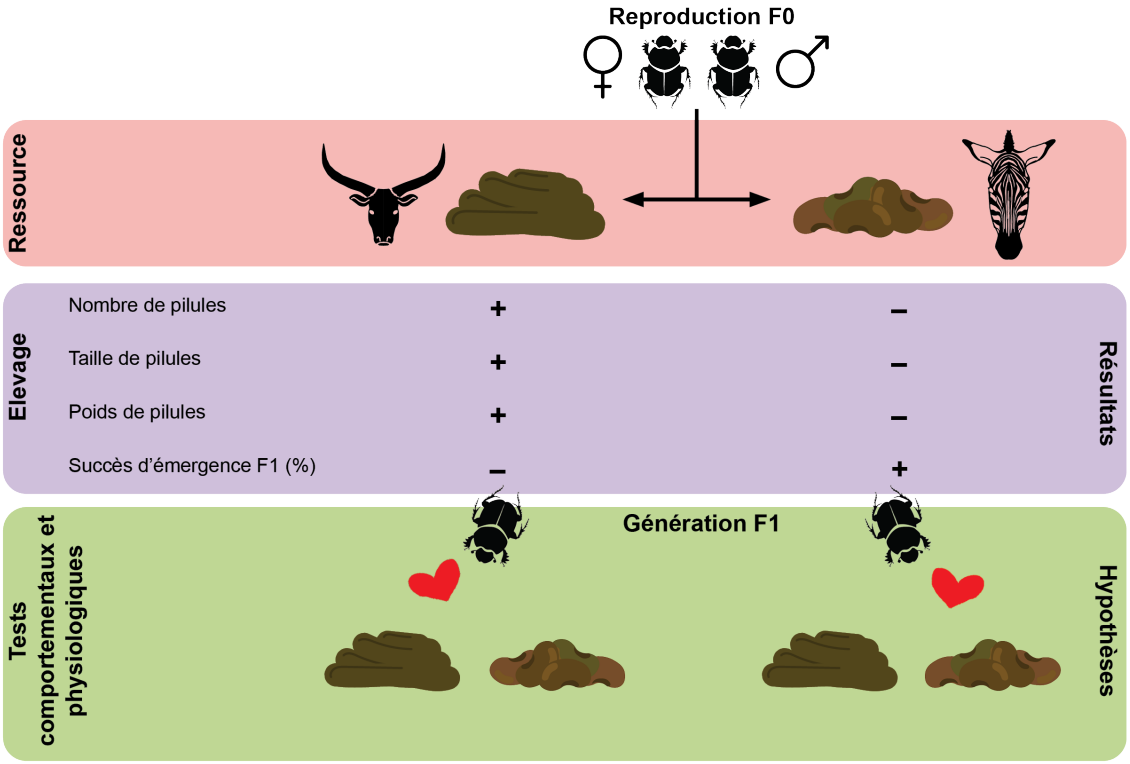
Résumé

La diversité du monde vivant peut s'expliquer par l'adaptation constante des organismes face à des pressions de sélection. Les bousiers se caractérisent par leur utilisation des déjections pour se nourrir ou pour nourrir leur larve. La compétition intra- et inter- spécifique pour les matières fécales disponibles dans leur environnement respectif, est favorable à la diversification des bousiers. Plusieurs études ont mis en évidence la plasticité alimentaire des bousiers, permettant à certaines espèces d'utiliser plusieurs types de déjections, voire même des végétaux ou des carcasses en décomposition. Ce chapitre s'intéresse à l'espèce *O. vacca*, tantôt décrite comme utilisant préférentiellement les déjections bovines, et tantôt décrite comme utilisant préférentiellement les déjections équines. Cette espèce, originaire du bassin méditerranéen, a une importance particulière puisqu'elle a été largement introduite sur le continent australien et en Amérique du Nord. Elle fait partie des paracoprides, c'est-à-dire qu'elle confectionne des pilules à partir de déjections, dans lesquelles la femelle y dépose un œuf. Ces pilules sont enterrées directement sous la déjection utilisée.

Au cours de cette étude, nous essayons de mettre en valeur les mécanismes évolutifs permettant à une espèce généraliste de se spécialiser dans l'utilisation d'un type de déjection. Pour cela, nous avons capturé et élevé des individus *O. vacca* F0, que nous avons contraint à utiliser soit uniquement de la déjection bovine, soit uniquement de la déjection équine pour se nourrir et se reproduire. Nous avons compté, mesuré et pesé chaque pilule confectionnée. Puis nous avons compté et mesuré chaque insecte F1 émergeant de ces mêmes pilules, après le développement larvaire. Enfin, l'étude devait être complétée par des tests comportementaux et physiologiques afin de vérifier l'hypothèse de l'héritage chimique. Cette hypothèse suppose que les insectes exposés à une ressource pendant le stade larvaire auraient tendance à choisir cette même ressource pour leurs besoins alimentaires et pour les soins parentaux de la génération suivante.

Cette étude préliminaire n'a pas permis d'avoir assez d'effectifs de F1 pour rendre les tests comportementaux et physiologiques statistiquement viables. Nous discutons des obstacles méthodologiques rencontrés, et donnons des pistes d'améliorations pour de futurs travaux de recherches.

Synthèse graphique



Introduction

Diversité des bousiers

Le terme de bousiers représente plus de 6000 espèces dans le monde (Simmons and Ridsdill-Smith, 2011). Cette diversité s'explique, entre autres, par l'adaptation constante des organismes à des pressions de sélection (West-Eberhard, 1989). Par exemple, l'exploitation des matières fécales par les bousiers doit avoir lieu rapidement après l'excrétion des matières fécales, avant leur dessèchement (Holter, 2016). Cela augmente les compétitions intra- et inter-spécifiques (Hanski and Cambefort, 2014; Horgan and Fuentes, 2005). Ce contexte concurrentiel est favorable à la diversification des bousiers, autant sur l'aspect phénotypique que reproducteur (Inward et al., 2011). De plus, le système digestif des bousiers adultes est constitué d'un simple tube indifférencié, inadapté à la digestion des molécules dures (Holter et Scholtz, 2013). Dans la plupart des cas, les bousiers sont dotés de pièces buccales efficaces capables de filtrer les particules fines composant les excréments (Holter et Scholtz, 2007 ; Scholtz et al., 2009). On observe tout de même une adaptation morphologique des parties buccales en fonction de l'utilisation de ressources spécifiques (Verdú et Galante, 2004), suggérant que l'accès à une source de nourriture particulière entraîne une pression de sélection (Barbero et al., 1999). Une étude met en évidence une divergence génétique significative entre deux populations de bousiers seulement 50 ans après la séparation de la population mère en Afrique de l'Est, et la population fille en Australie (Rapalai et al., 2024). Cette échelle de temps correspond à ce qui est observé à la RAS, avec non pas une séparation géographique de population mais un bouleversement environnemental brutal dû à l'installation de l'activité du zoo.

La diversité des ressources pour la reproduction

La diversité régionale des bousiers pourrait résulter de la diversité des mammifères (Davis et Scholtz, 2001), tandis que l'absence ou la rareté de mammifères tend à sélectionner les espèces de bousiers généralistes (Jones et al., 2012). Les bousiers produisent plus de pilules, et ont une descendance plus nombreuse lorsqu'ils ont accès à la déjection habituellement présente dans leur environnement, par rapport à une déjection qu'ils n'auraient jamais rencontré (Arellano et al., 2015 ; Heddle et al., 2023). Les résultats d'Arellano et son équipe montrent que les pilules sont plus petites lorsqu'elles sont formées avec les déjections habituelles, que lorsqu'elles sont formées avec des déjections non-habituelles. Chez *Onthophagus lecontei* (Harold, 1871), la taille

des pilules ne semble pas liée à la taille des adultes de cette espèce, il n'y a donc pas d'avantage à former des pilules plus grandes (Arellano et al., 2015). Or on peut supposer que fabriquer une plus petite pilule demande moins d'efforts que de fabriquer une grosse pilule, hypothèse supportée par le fait que les insectes formant de plus petites pilules sont ceux qui en fabriquent le plus grand nombre. C'est en effet ce qui a été observé chez *Onthophagus atripennis* (Waterhouse, 1875) et *Onthophagus taurus*, qui ajustent la quantité de ressources attribuées pour chaque pilule selon la qualité des déjections dont ils ont l'accès. Ces deux espèces compensent alors l'effort supplémentaire demandé par les déjections de moindre qualité en diminuant le nombre de pilules confectionnées (Kishi and Nishida, 2006; Moczek, 1998). De même, *O. vacca* semble adapter le poids des pilules selon la qualité du sol, confectionnant des pilules plus grosses dans des sols plus secs (Sowig, 1996). Enfin, le succès reproducteur des bousiers dépend de la qualité de la ressource. Par exemple, les bousiers émergents sont plus grands lorsqu'ils ont accès à des déjections de bovins nourris avec un mélange de produits dérivés du seigle et du trèfle, plutôt que lorsque les bovins sont nourris avec seulement de l'avoine fourragère (Heddle et al., 2023).

Diversité des comportements de préférence alimentaire

On observe une grande diversité de préférences trophiques au sein des communautés de bousiers. Certaines espèces coprophages sont plus généralistes, allant jusqu'à pouvoir s'alimenter d'autres types de matériaux en décomposition (végétaux, bois, carcasses) plus présents dans leur habitat que les excréments eux-mêmes (Giménez Gómez et al., 2021; Halffter and Halffter, 2009; Ramírez-Restrepo and Halffter, 2016; Verdú et al., 2007), tandis que certaines espèces se spécialisent dans le traitement d'un seul type de déjection en particulier. Des études utilisant des pièges avec différents appâts provenant d'espèces de vertébrés présents dans le milieu ont alternativement montré une plus forte attraction générale par les déjections humaines au Brésil (Correa et al., 2016), de renard en Afrique de l'Est (Bogoni and Hernández, 2014), d'équidés en Méditerranée (chapitre 4), tandis que d'autres ont montré une faible attraction des bousiers par les déjections d'oiseaux (Perrin et al., 2019). Cependant, il semble difficile de faire des généralités sur le groupe "bousiers" puisque leur sensibilité pour les types de ressources varie en fonction des espèces et des groupes fonctionnels des insectes (Carpaneto et al., 2010; Correa et al., 2016; Dormont et al., 2004). Quelques publications étudient la sélection alimentaire par les bousiers en couplant des tests sur le terrain et en laboratoire (Dormont et al., 2004 ; Giménez Gómez et al., 2021 ; Verdú et al., 2007). Les résultats issus

de ces deux conditions expérimentales sont globalement similaires (Giménez Gómez et al., 2021 ; Verdú et al., 2007), bien qu'ils restent complémentaires : La méthode sur le terrain est plus réaliste, prenant en compte tous les facteurs en jeux dans l'écosystème, tandis que la méthode en laboratoire est plus précise, ayant la possibilité de contrôler davantage de variables (température, etc.).

Comme le soulignent Raine et Slade (2019), il est crucial d'identifier la plasticité alimentaire des bousiers. En effet, par rapport aux 6 000 espèces connues de bousiers, peu d'études ont été menées sur leurs préférences alimentaires. De plus, à l'échelle de l'espèce, les bousiers peuvent avoir des réponses différentes aux tests de choix réalisés *in situ*, témoignant d'une flexibilité des préférences alimentaires au sein d'une même espèce suivant la localisation géographique (Barbero et al., 1999). Cela étaye l'hypothèse que la disponibilité des ressources représente une pression de sélection conduisant à une évolution comportementale des communautés de bousiers.

Hypothèse de l'héritage chimique

Chez les insectes, l'hypothèse de "l'héritage chimique" suppose que l'exposition à certains composés chimiques pendant des phases critiques du développement des insectes serait déterminante pour les choix de ressources une fois adultes (Corbet, 1985). Le seul comportement de soin parental des bousiers et donc la seule transmission directe entre la génération F0 et F1 est la ressource dans laquelle les adultes nichent leurs œufs. Les bousiers se dirigent vers les déjections grâce aux odeurs émises par celles-ci. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse qu'une larve élevée dans un certain type de déjection et donc exposées à un bouquet d'odeurs, se dirige préférentiellement vers ce même type de déjection une fois adulte. Cette hypothèse a été testée chez une espèce de bousiers sur une seule génération, mais l'exposition à une ressource alimentaire pendant le stade larvaire n'a eu aucun effet sur la réponse olfactive des adultes (Dormont et al., 2010). Il est plus probable que les mécanismes évolutifs soient plus longs à se mettre en place. Après plus de 50 ans d'implantation de la RAS, soit 50 générations pour l'espèce *O. vacca*, il est plus probable d'observer une adaptation comportementale face à la ressource disponible.

Problématique

L'étude des préférences trophiques chez les bousiers a eu un essor dans les années 1950 mais c'est un sujet qui semble perdre en intérêt depuis les années 1980 (Hemmings et al., 2025). Il est nécessaire de remettre cette thématique

au goût du jour, notamment à cause des changements majeurs qui ont été réalisés dans les cohortes de mammifères présents sur les terres dans le monde (sélection d'espèces animales pour la production, perte d'habitats de grandes espèces emblématiques, etc…). De plus, les avancées technologiques des dernières années permettent d'obtenir des résultats bien plus robustes en utilisant des outils plus sensibles, tels que l'électro-antennographe (EAG). A ce jour, nous n'avons connaissance que de deux études qui ont réalisées des électro-antennogrammes sur le modèle bousier. Une première a étudié les réponses physiologiques de Bubas bison (Linnaeus, 1767), démontrant une préférence significative pour les déjections équines par rapport aux déjections bovines (Perera et al., 2022). Une autre étude récente a testé 14 autres espèces pour des odeurs de déjections de lapin, d'équidé ou de bovin (Urrutia et al., 2022). Parmi ces 14 espèces, une seule a été classée généraliste (pas de préférence significative pour aucune des trois odeurs proposées), et huit ont démontré une préférence significative pour un seul type de déjections. L'étude de Urrutia (2022) et de son équipe ont obtenu des résultats différents de ceux de Perrera et son équipe (2022) à propos de B. bison, puisqu'ils n'ont pas identifié de différence de préférence significative entre les déjections équines ou bovines.

De façon générale, l'EAG n'est pas encore démocratisé dans l'étude des bousiers, probablement à cause de la physionomie particulière des antennes (Bohacz et al., 2020; Perera et al., 2023) qui rendent la manipulation difficile. En effet, les antennes de bousiers sont formées en massue dont l'extrémité est divisée en trois lamelles et la plupart des sensilles sont positionnées entre les lamelles ce qui rend l'accès difficile (Perera et al., 2023). De même, l'utilisation d'olfactomètres avec des bousiers est rare, et semble difficile à standardiser (Dormont et al., 2007, 2004; Giménez Gómez et al., 2021; Perera, 2024; Verdú et al., 2007). La nécessité de tester les bousiers en olfactomètre a pourtant été recommandée depuis longtemps (Errouissi et al., 2004; Frank et al., 2018). Comme indiqué en discussion de l'article présenté au chapitre 4 de cette thèse, il semblerait que *Onthophagus vacca* soit plus attiré par les déjections d'équidés que par celles de bovidés malgré des résultats différents obtenus précédemment en région méditerranéenne (Dormont et al., 2004). Ainsi, nous souhaitions tester plusieurs hypothèses :

-*O. vacca* est plus attiré par les déjections d'équidés, comme suggéré par les résultats du chapitre 4 ;

-*O. vacca* produit une descendance plus nombreuse avec les déjections d'équidés, expliquant un avantage sélectif à choisir cette ressource pour les

soins parentaux ;

-Les larves élevées dans des pilules confectionnées à partir d'une ressource auront tendance à choisir cette même ressource en première intention au stade adulte.

Onthophagus vacca

Pour tester ces 3 hypothèses, nous avons lancé un protocole en 2023 impliquant un élevage d'*O. vacca*, espèce la plus représentée sur le site de la RAS (35% des effectifs totaux piégés entre 2022 et 2024). On compte moins d'une quarantaine d'articles publiés avant 2023 sur la préférence alimentaire chez les bousiers en condition d'élevage en laboratoire (Thotagamuwa et al., 2023), et seulement une sur l'espèce *O. vacca* (Sowig, 1996). Pourtant celle-ci a été élevée et exportée en masse en Australie (Wright et al., 2015).

Ainsi nous souhaitions élever des insectes F0 provenant de l'extérieur de la RAS, en leur permettant l'accès soit à une ressource bovine soit à une ressource équine. Les deux ressources étaient récoltées à la RAS, ce qui garantit que les vertébrés producteurs aient les mêmes conditions d'élevage. Nous devions ainsi évaluer l'avantage évolutif à utiliser l'une ou l'autre des ressources, en mesurant le taux de reproduction, l'effort mis dans le soin parental (taille et poids de la pilule) et le succès de reproduction. Ensuite, nous voulions tester la réponse comportementale des individus de la génération F1 en olfactomètre, en proposant soit une déjection bovine soit une déjection équine comme appât. Enfin, le protocole incluait aussi des essais en CG-EAD afin de déterminer les composés organiques volatiles qui pourraient expliquer des différences de réponses physiologiques.

Matériel et méthode

Collecte des insectes et des déjections

Les *O. vacca* adultes ont été collectés sur le terrain, dans des enclos d'élevages bovins situés sur le littoral français entre Narbonne et Argelès-sur-mer. Les captures ont eu lieu au début du mois de juin 2023. Elles ont été réalisées à vue, en fouillant les bouses de vaches. Les insectes ont été sexés au laboratoire selon les critères morphologiques, puis appariés en couple reproducteurs.

Les déjections ont été récoltées fraîches chaque mois au sein de la RAS (43°03'45.5"N2°57'00.9"E). Elles ont été mélangées, homogénéisées, conservées dans des sachets de congélation hermétiques en plastique alimentaire à -20 °C, puis décongelées à température ambiante la veille de leur utilisation dans l'élevage, ou décongelées le jour même de l'expérimentation comportementale en passant la passant, fermée dans un récipient en aluminium, dans un four à 50 °C pendant une heure et demi. Les animaux producteurs étaient soit des zèbres adultes soit des watussis adultes élevés dans le même enclos et ayant accès aux mêmes ressources alimentaires. Aucun animal producteur de déjection n'a été traité avec un médicament vétérinaire durant l'étude.

Elevage des insectes

Chaque couple reproducteur de bousiers a été installé dans une boîte à spaghetti en plastique remplie d'un substrat de sable humide et de vermiculite (ratio 1:2, figure 1). Cette forme de boîte est particulièrement adaptée à *O. vacca* car elle est assez profonde pour que les insectes puissent creuser les galeries dans lesquelles mettre leurs pilules. Les insectes ont été maintenus en élevage dans ces dispositifs jusqu'à leur mort. Une fois par semaine, les boîtes étaient vidées afin de collecter les pilules formées, vérifier l'état des adultes, nettoyer et humidifier le substrat. Puis une ration d'environ 0.15 L était déposée sur le substrat. Parmi les 32 boîtes mises en place, les couples de 16 boîtes ont été nourris avec des déjections de bovidés, et 16 avec des déjections d'équidés. Les dispositifs étaient entreposés dans deux vitrines ventilées et climatisées afin de maintenir une température constante de 22 °C. L'emplacement des dispositifs dans chaque enceinte est resté identique sur toute la durée de l'expérience, mais afin de limiter un biais d'enceinte, les dispositifs étaient attribués alternativement à l'une ou l'autre, d'une semaine à l'autre. Les cycles diurnes ont été assurés par la lumière naturelle indirecte émanant d'une fenêtre. Les pilules récoltées étaient comptées par couple, mesurées (longueur et diamètre) avec un pied à coulisse digital, pesées sur une balance de précision (± 0.001 g), puis

conservées dans des boîtes en plastique alimentaire d'environs 3 L (12 cm de haut et 20 cm de diamètre) remplies du même substrat que celui utilisé pour les boîtes à spaghetti. Les pilules ont été conservées dans le noir, à 24 °C pendant 8 semaines. A partir de 4 semaines, un petit récipient était installé au centre de la boite afin de récolter les adultes émergeant des pilules, selon la méthode du piège barber. Le piège était relevé une fois par semaine, et au fond était disposé un peu de déjection afin de maintenir les potentiels insectes capturés vivants. Chaque émergent a été sexé, puis pris en photo à la loupe binoculaire afin de pouvoir mesurer la longueur du corps, la largeur du pronotum et la longueur du tibia de la première paire de pattes. Cette dernière étape n'a pas été réalisée avant la fin de la thèse, mais les photos ont été enregistrées (figure 2).

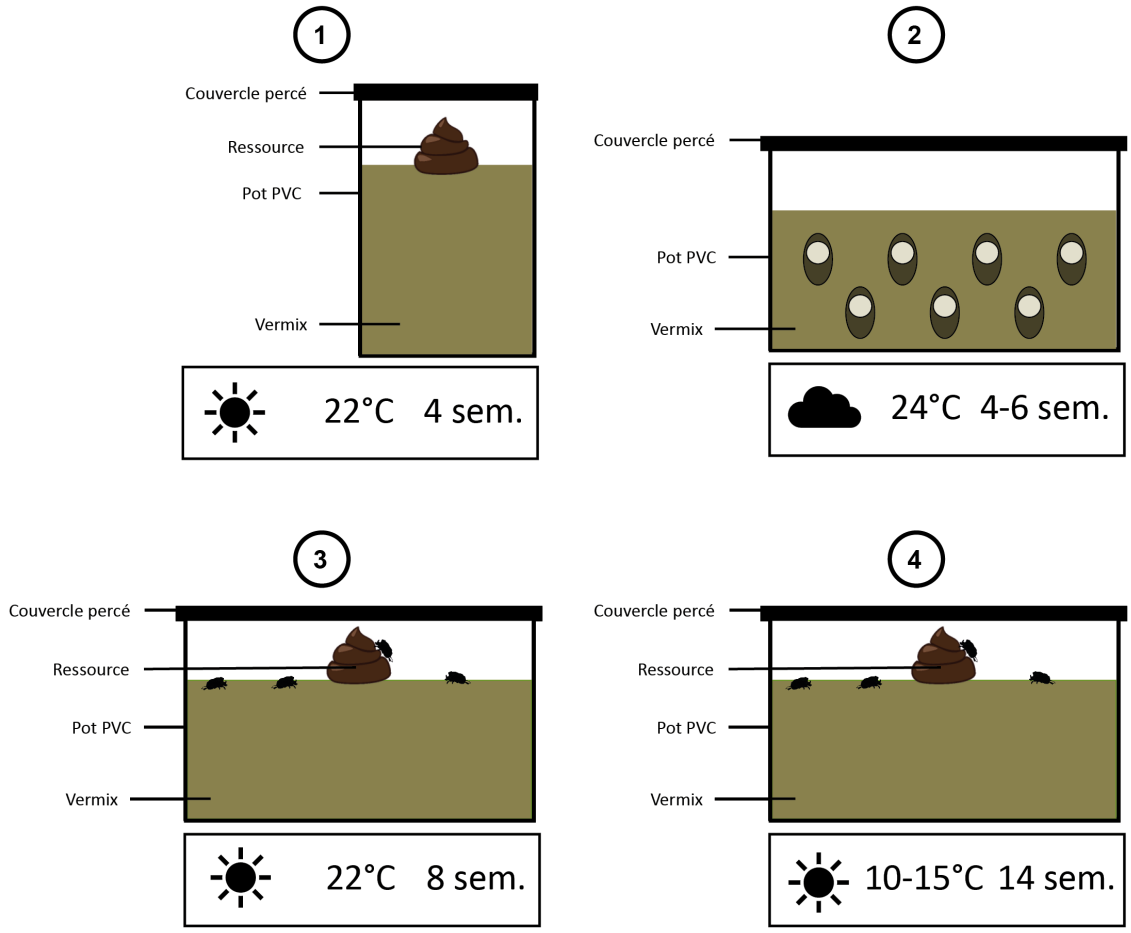


Figure 1 : schéma des grandes étapes du protocole d'élevage défini pour *O. vacca*, adapté selon les recommandations personnelles de A. Zamprogna et V. Caron.



Figure 2 : Exemple des photographies de *O. vacca* émergeants F1. La colonne de gauche correspond à des individus issus de l'élevage aux déjections de zèbres, la colonne de droite correspond à des individus issus de l'élevage aux déjections de watussi. Les deux individus du haut sont des mâles tant dis que les autres sont des femelles. Le trait noir en haut à gauche de chaque insecte correspond à 2 mm. Toutes les photos sont présentées à la même échelle. Les insectes ont été photographiés vivants.

Tests comportementaux

Les déjections étaient ensuite disposées dans deux pots en verre de 500 ml de contenance. Les insectes étaient affamés la veille de l'expérimentation et conservés à température ambiante (25 °C). Nous avons testé plusieurs méthodes. (1) L'olfactomètre consistait en un tube en Y de 40 mm de diamètre, éclairé à la lumière rouge. Chaque branche latérale mesurait 200 mm de long et la branche centrale mesurait 150 mm de long. Les pots contenant les déjections étaient chacun connectés à une branche latérale du Y. Un flux d'air constant, préalablement purifié avec du charbon actif puis humidifié, était maintenu par une pompe et soufflé dans les pots de verre de telle sorte que l'odeur diffusait en direction de la branche centrale du tube en Y. Les tubes étaient nettoyés entre chaque passage d'insecte testé, à l'aide d'acétone. Les odeurs étaient diffusées alternativement dans l'une ou l'autre branche du Y afin d'éviter un biais spatial. Un insecte était déposé au début de la branche centrale et laissé pendant 10 minutes libre dans le Y. Le temps passé dans chacune des branches était chronométré ; on considère que l'odeur la plus attrayante est celle correspondant à la branche dans laquelle l'insecte avait passé le plus de temps. La seconde méthode (2) consistait en un olfactomètre rectangulaire, dont le plancher était troué de chaque côté (Dormont et al., 2010; Perera, 2024). Le plancher était recouvert par 1 cm de substrat (identique à celui utilisé pour l'élevage des insectes). Celui-ci était changé après chaque session et passé à l'autoclave afin de le désinfecter et d'éliminer un maximum d'odeurs. Les pots contenant les déjections étaient chacun connectés à un des trous de l'arène. Un flux d'air constant, préalablement purifié avec du charbon actif puis humidifié, était maintenu par une pompe et soufflé dans les pots de verre de telle sorte que l'odeur diffusait en direction de l'intérieur de l'olfactomètre. Les odeurs étaient diffusées alternativement dans l'un ou l'autre côté de l'arène afin d'éviter un biais spatial. Le dispositif expérimental était enfermé dans un carton afin de garantir une obscurité totale et de limiter un possible biais lié à l'environnement. Un couple d'insectes était déposé au centre de l'arène, puis laissés pendant 1h dans l'olfactomètre, et pouvaient tomber dans les trous, ce qui était considéré comme le choix favoris.

Tests physiologiques

Les échantillons de déjections étaient récoltés dans des feuilles aluminium, puis conservés à -20 °C au congélateur. Les odeurs étaient capturées en mélangeant 25g de déjection de watussi ou de zèbre dans 20 mL d'hexane pendant 48h.

Afin d'analyser la capacité physiologique des bousiers à détecter les molécules odorantes des déjections, nous avons utilisé une technique de GC-EAD couplant un chromatographe en phase gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID ; 8890 GC System, Agilent Technologies, Santa Clara, USA) équipé d'une colonne capillaire optima 5-MS (30 m, 0.25 mm ID, 0.25 µm film thickness, Machery-Nagel, Düren, Germany), et un électro-antennographe (EAD, Syntech IDAC-2, Kirchzarten, Germany). Pour chaque session, 2µL d'odeur étaient introduits dans le GC-FID. L'injecteur était chauffé à 250 °C, selon une méthode splitless pour injecter les composés dans la colonne. La température du four était maintenue à 40 °C pendant 1 minute, augmentait de 12 °C par minute jusqu'à 220 °C, puis était à nouveau maintenue constante à 220 °C pendant 2 minutes. Le gaz de transport utilisé était de l'hélium selon un débit de 1ml par minute. L'effluent était séparé équitablement dans deux colonnes (1 m x 0.25 mm). La première menait au FID tandis que la seconde menait à l'EAD (transfer line, Syntech, Kirchzarten, Germany). Les insectes F0 étaient affamés la veille de l'analyse, et conservés à température ambiante (25°C) dans deux boîtes (une boîte femelles et une boîte mâles) en plastique transparent contenant environ 5 cm d'épaisseur de substrat d'élevage. Les insectes étaient choisis aléatoirement parmi les insectes disponibles, et endormis avec du CO2. Les antennes étaient prélevées sous microscope optique, à l'aide d'un micro-scalpel et d'une micro-pince. La base de l'antenne était retirée afin de limiter le bruit sur l'électro-antennogramme, et l'antenne montée entre deux capillaires de verre remplis avec une solution Ringer (6.0 g·l−1 NaCl, 0.4 g·l−1 KCl, 0.27 g·l−1 CaCl2 et 3.20 g·l−1 de lactate de sodium) et connectés à des électrodes en argent. Le montage était enfermé dans une boîte de téflon afin de réduire les perturbations liées aux mouvements d'air ou à des odeurs résiduelles de la pièce d'expérimentation (figure S1). Plusieurs montages ont été testés : (1) nous avons inséré de petits morceaux de cheveux humains entre les lamelles de l'antenne afin d'ouvrir la massue (figure 3) et de maximiser l'exposition des récepteurs olfactifs aux composés organiques volatiles (COVs) (Perera et al., 2023) ; (2) A l'aide de la seconde électrode, nous avons induit une pression sur le bout de l'antenne afin d'ouvrir les lamelles et de maximiser l'exposition des récepteurs olfactifs aux COVs ; (3) Nous avons créé une petite ouverture au bout de l'antenne afin d'y introduire l'électrode en verre et de limiter le bruit créé par les mécano-récepteurs disposés à la surface de l'antenne. Les odeurs étaient projetées sur l'antenne par un flux constant préalablement humidifié et filtré à travers du charbon actif.

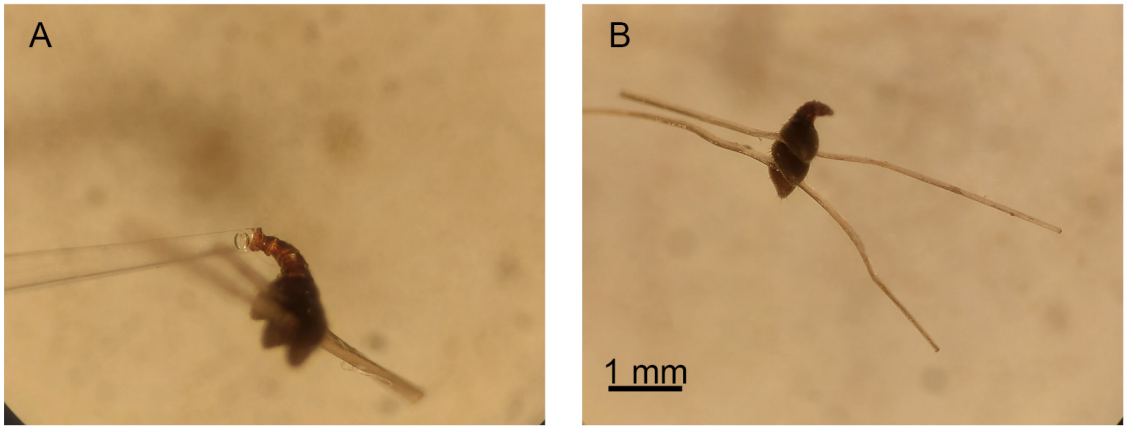


Figure 3 : Photographie à travers un microscope du montage de l'antenne de *O. vacca* sur une électrode de verre (A) ou posée sur le socle du microscope (B), avec des morceaux de cheveux humains intercalés entre les lamelles de l'antenne en massue.

Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (R Core Team, 2023; RStudio Team, 2023) et la significativité a été fixée à la valeur seuil de 0.05. Les données sont présentées par leur moyenne ± erreur standard. Le nombre de pilules confectionnées par couple selon la ressource disponible a été analysé par un test non-paramétrique de Mann-Whitney. Afin d'analyser l'effet de la ressource disponible sur les caractéristiques des pilules, nous avons construit des modèles linéaires mixtes généralisés (GLMM) à l'aide de la fonction glmmTMB du package du même nom (Brooks et al., 2017). Pour tous les modèles nous avons utilisé le type de ressource (valeurs discrètes : bovin ou équin) comme prédicteur, et nous avons permis une variation aléatoire selon les boîtes d'élevage pour prendre en compte la pseudo-réplication. Nous avons construit deux modèles, l'un avec le poids des pilules (valeur continue) en réponse et l'autre avec le volume des pilules (valeur continue) en réponse. Les deux modèles ont été ajustés selon une loi log normale avec un lien "log". La qualité d'ajustement des modèles a été testée avec les fonctions du package DHARMa permettant un diagnostic de contrôle des résidus (Hartig, 2022). Le temps de vie de la génération F0 selon la ressource disponible a été analysé avec un modèle GLMM ajusté selon une loi lognormale. Nous avons utilisé la ressource disponible comme prédicteur du temps de vie, et le sexe des individus comme facteur fixe, et nous avons permis une variation aléatoire selon la boite d'élevage pour prendre en compte la pseudo-réplication.

Résultats

Nous avons extrait 105 pilules des élevages réalisés avec les déjections bovines (6.18 ± 6.44 pilules par couple) et 79 pilules des élevages réalisés avec des déjections équines (4.65 ± 4.96 pilules par couple). Le nombre de pilules produites est similaire quelle que soit la ressource (test de Mann-Witney : $P > 0.05$). Cependant, les pilules formées avec de la déjection bovine étaient significativement plus grandes (GLMM : estimation du modèle = -0.19 ± 0.05, $Z = -4.28$, $P < 0.001$, figure 4A) et plus lourdes (GLMM : estimation du modèle = -0.23 ± 0.06, Zb= -3.73, $P < 0.001$, figure 4B) que les pilules formées avec des déjections équines. La longévité des adultes reproducteurs était similaire quelle que soit la ressource disponible (longévité avec la ressource watussi : 9.13 ± 1.72 semaines, zèbre : 8.50 ± 4.39 semaines ; GLMM : estimation du modèle = -0.23 ± 0.13, $Z = -1.75$, $P > 0.05$) et quel que soit leur sexe (GLMM : estimation du modèle = -0.01 ± 0.07, $Z = -0.13$, $P > 0.05$). Les pilules formées à partir de déjections bovines ont eu un taux d'émergence de 34% (22 femelles et 14 mâles) tandis que celles formées à partir de déjection équine ont eu un taux d'émergence de 22% (9 femelles et 8 mâles). Dans les 4 mois après la première émergence, nous avons observé un taux de mortalité de 47% (8 femelles et 9 mâles) parmi les émergents nourris avec des déjections bovines, et 17% (2 femelles et 1 mâle) parmi les émergents nourris avec des déjections équines.

Les étapes du protocole incluant les expérimentations comportementales et physiologiques n'ont pas permis d'avoir de résultats. Les causes principales sont la forte mortalité des insectes F1, et la difficulté de mise en place des protocoles. Nous évoquons plus en détails ce sujet dans la partie discussion de ce chapitre. Les profils d'odeurs de chacune des déjections sont présentés en figures S2 et S3. Le profil de la déjection de watussi semble beaucoup moins riche que celui de la déjection de zèbre. La préparation des deux mélanges a été réalisée de façon similaire, par le même expérimentateur. Cependant, il semble que le mélange issu de la déjection de watussi soit beaucoup moins concentré que la déjection de zèbre.

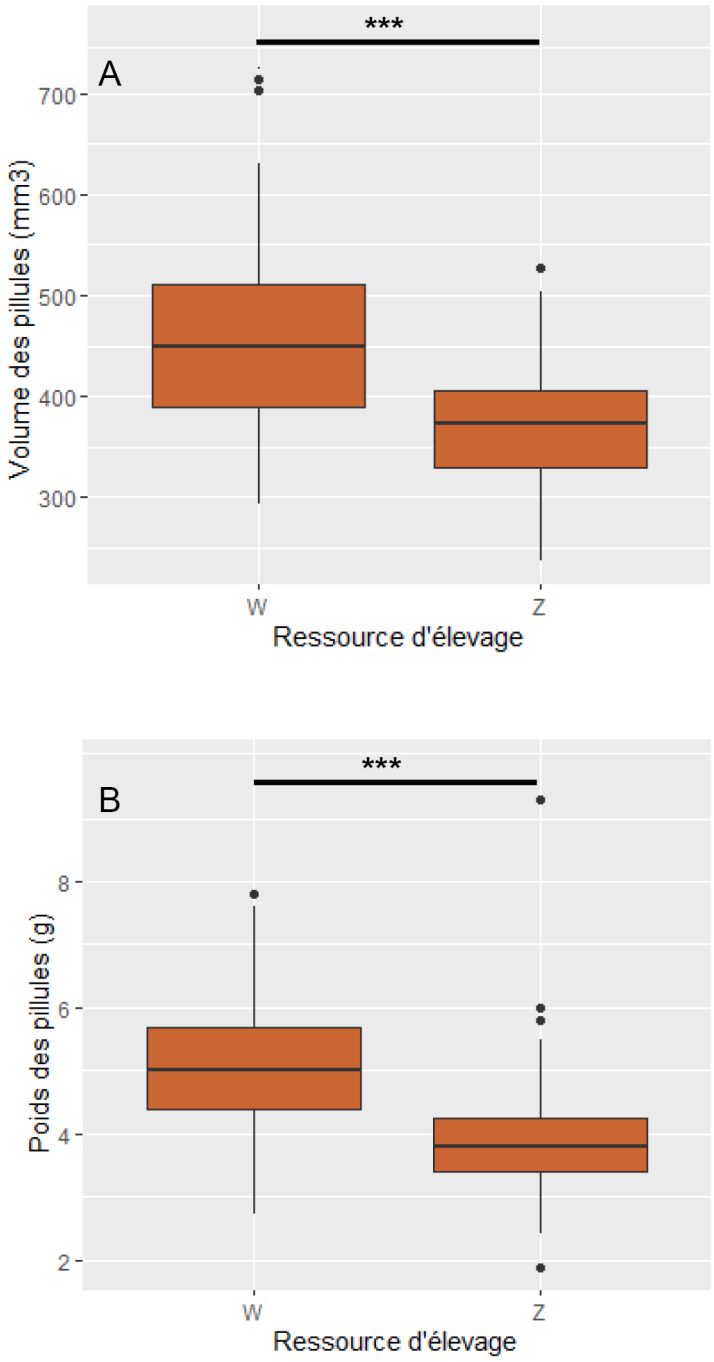


Figure 4 : (A) Volume et (B) poids des pilules récoltées selon les déjections disponibles pour la réalisation des soins parentaux. W : déjection de watussi, Z : déjection de zèbre. La significativité est indiquée par *** : P < 0.001.

Discussion

Elevage des insectes

Le protocole initial prévoyait d'étudier plus d'une soixantaine de couples, mais la sécheresse de l'année n'a pas permis de prélever autant d'individus sur le terrain. Nous avons donc commencé l'élevage avec moins de la moitié des effectifs nécessaires. Cela a eu un fort impact sur la reproduction puisque nous avons dû adapter le protocole en ne mettant qu'un seul couple par boîte d'élevage afin de garder un effectif statistique correct. Mais ce choix a engendré la perte de la compétition sexuelle au sein des boîtes d'élevages, et potentiellement une baisse de motivation des insectes à se reproduire. L'élevage de *O. vacca* est décrit comme relativement facile car c'est une espèce robuste (A. Zamprogna, communication personnelle). Cependant, lors de nos expérimentations nous avons eu quelques difficultés qui ont fortement impacté la survie des insectes. Tout d'abord, les enceintes d'élevages étant assez vieilles, et de faible puissance, le maintien de la température lors des grosses chaleurs a été quelque peu approximatif. Le réchauffage ou refroidissement des enceintes induisaient un séchage important des substrats. De la mortalité a donc été observée dès le début de l'expérimentation, le temps d'ajuster le protocole d'humidification du substrat. Nous avons d'ailleurs observé un fort taux d'infection fongique, probablement causé par une humidité trop importante issue de la volonté d'équilibre la sécheresse précédemment expérimenté. Il y a aussi eu des travaux sur le circuit électrique du bâtiment, et bien que toutes les dispositions aient été prises, les travaux ont tout de même accidentellement arrêté le fonctionnement des enceintes sur une semaine complète, en plein été. Les fortes températures ont été fatales pour plusieurs couples, avoisinant les 35 °C en pleine journée. De plus, les enceintes ne permettaient pas un éclairage suffisant des insectes, et nous faisant suspecter un manque de lumière afin de compléter un cycle circadien complet.

Ces conditions d'élevage ne semblaient donc pas adaptées à la reproduction des insectes, bien que le nombre de pilules confectionnées par couple ait été similaire à ce qui est rapporté chez cette espèce (entre 4 et 5 pilules par couple selon les conditions d'élevage ; Sowig, 1996). Cependant, cela semble très faible par rapport à ce qui a été rapporté par A. Zamprogna, dont les techniques d'élevage semblent bien plus abouties (environ 10 pilules par couple par semaine, communication personnelle). Toutes les boîtes d'élevage ont été soumises aux mêmes conditions. Ainsi, les différences observées au niveau

des pilules sont liées à la nature de la ressource. Or, nous avons observé que les pilules confectionnées avec de la déjection de watussi étaient plus grandes et plus lourdes que les pilules confectionnées avec les déjections de zèbre, bien qu'elles restent inférieures à la masse des pilules observées par Sowig (entre 6 g et 9 g avec des déjections bovines, 1996). La taille des pilules pourrait être corrélée à la taille des adultes qui en émergent (Sowig, 1996). Les insectes de plus grande taille semblent avoir un avantage reproducteur par rapport aux insectes de plus petite taille (Beukeboom, 2018; Pomfret and Knell, 2006). Ainsi, les pilules confectionnées avec de la déjection de watussi pourraient donner de meilleurs reproducteurs. Cependant, nous avons observé une meilleure survie des insectes issus de pilules confectionnées avec des déjections de zèbre, ce qui pourrait contrebalancer la meilleure attractivité sexuelle des insectes de grande taille issus des pilules confectionnées avec des déjections de watussi. Il serait nécessaire de faire une étude similaire, avec de plus grands effectifs et de meilleures conditions d'élevages, afin d'obtenir un plus grand nombre d'émergences et des résultats statistiques plus fiables et plus sensibles.

Tests comportementaux

Les tests comportementaux se sont déroulés en partenariat avec Benoit Lapeyre, assistant ingénieur CNRS du CEFE spécialisé dans les questions d'attractivité des odeurs chez les arthropodes (principalement diptères, hyménoptères, moustiques). L'olfactomètre en Y est largement utilisé avec les modèles diptères et hyménoptères, mais ne semble pas adapté au modèle bousiers. Nous avons rencontré des difficultés similaires à l'équipe de Perera (2022) dans leurs études préliminaires : insectes peu intéressés par les sources d'odeur et tentatives d'envols. Nous avons alors utilisé le matériel décrit par l'équipe de Dormont (2007) pour le dispositif expérimental (2). Les insectes semblaient inconfortables sur la surface lisse de l'olfactomètre rectangulaire, et ils démontraient peu d'intérêt pour les sources d'odeur. Nous avons décidé de mettre un fond de substrat pour qu'ils puissent s'enterrer et nous avons rallongé le temps d'expérimentation afin que les insectes aient le temps de s'habituer à l'espace dans lequel ils étaient. *O. vacca* étant une espèce diurne, nous avons choisi de ne pas laisser les insectes durant la nuit (Perera et al., 2022). Après plusieurs essais il semblait qu'une heure suffisait à piéger les insectes dans les réceptacles correspondant aux odeurs. La difficulté à mettre en place un protocole qui fonctionne avec *O. vacca* confirme l'importance de multiplier les études de choix sur le modèle bousier. En effet, la multitude d'espèces différentes décrites dans le monde conduit à penser qu'il existe

une multitude de biologies différentes, de niches écologiques et de stratégies comportementales différentes chez les bousiers. Un seul protocole ne peut donc pas être la méthode optimale pour toutes les espèces, et la faiblesse des connaissances disponibles dans la littérature rend difficile l'établissement d'un protocole standardisé.

Tests physiologiques

A l'image des tests comportementaux, la littérature est pauvre en matière de tests physiologiques chez les bousiers, et la répétabilité est encore à démontrer (Perera et al., 2022; Urrutia et al., 2022). Nous avons testé plusieurs méthodes mais aucune ne semblait fonctionner correctement. Malgré toutes les précautions prises au cours de l'application de la méthode 1, les morceaux de cheveux humains avaient tendance à créer des interférences dans les signaux électriques. Nous avons déduit que c'était soit lié à des odeurs résiduelles sur le cheveux, soit une plus forte sensibilité aux mouvements d'air ce qui déclenchait les mécanorécepteurs de l'antenne. Pour une prochaine étude, nous pourrions envisager de réitérer l'expérience en utilisant des fils de suture très fins à la place des cheveux. La seconde méthode s'affranchissait donc des cheveux, en ouvrant les lamelles en exerçant une légère pression avec les électrodes de verre. Cependant, les signaux détectés étaient très faibles, où correspondaient plutôt à des signaux de mécanorécepteurs situés à la surface externe de l'antenne. Lors des expérimentations avec des antennes de moustiques ou de bourdon, l'expérimentateur (B. Lapeyre) sectionnait l'extrémité de l'antenne afin de mieux connecter sa matrice avec l'électrode, et de s'affranchir des mécanorécepteurs de surface. Nous avons donc essayé de faire la même chose avec les antennes de bousiers lors de la troisième méthode. Nous avons obtenu des résultats plus pertinents, avec des signaux électriques plus forts et plus clairs. Malheureusement le faible effectif ne nous a pas permis de réaliser de tests statistiques.

Conclusion et ouverture

L'élevage des presque 30 couples a été un véritable défi personnel. J'aimerais m'attarder un peu sur ce point. Cette étude a représenté plusieurs mois de travail en solitaire, dans les transports entre 3 localisations. Ce dernier chapitre me semblait être le plus intéressant de la thèse, celui qui aurait le plus d'impact. Le pression était donc intense, pour finalement très peu voire pas du tout de résultats. Parfois, l'expérience n'est pas positive, et c'est normal. Les résultats ne sont pas proportionnels à l'effort qu'on injecte dans l'expérience. Cette période a été difficile pour le moral, avec beaucoup de fatigue accumulée et beaucoup de déceptions. Je n'avais plus d'énergie pour le terrain, nous avons donc décidé de passer à la rédaction de la thèse. Ce qui a manqué le plus c'était un.e technicien.ne : quelqu'un capable d'être sur place tous les jours pour vérifier l'état d'avancement des élevages, quelqu'un qui pouvait prendre le relais quand je devais partir sur le terrain pour piéger les bousiers pour un autre protocole, ou lorsque j'effectuai les expérimentations comportementales et physiologiques. J'aurais énormément apprécié travailler en plus proche relation avec les spécialistes du CSIRO et réaliser un stage avec eux, pour m'imprégner de leurs habitudes d'experts.

Les quelques résultats observés dans ce chapitre donnent déjà quelques pistes intéressantes pour mieux comprendre la diversification du régime alimentaire des bousiers. Le protocole était particulièrement complet, intégrant l'étude de l'utilisation des ressources, et les conséquences sur le succès reproducteur des couples parents, et les conséquences comportementales voir physiologiques sur la F1. Il aurait été possible d'ajouter encore d'autres modalités, comme la provenance géographique des insectes et tout le bagage historique de la population d'origine. Depuis la fin de cette étude, l'antenne française d'élevage de bousiers du CSIRO a été fermée, mais l'activité continue en Australie. Ils ont le matériel, les protocoles et les experts, ce serait donc un endroit parfait pour tester les hypothèses émises lors de ce dernier chapitre de thèse et bien plus encore. L'élevage est un outil qui permet de mettre les modèles biologiques en situation de stress, et de mesurer leurs réponses et leurs capacités d'adaptation sur le long terme à l'échelle d'un cycle de vie complet ou même de plusieurs générations. C'est un outil qui permet de mettre en évidence les mécanismes d'évolutions qui sont observables sur le terrain.

Le genre *Onthophagus* est le plus introduit (Pokhrel et al., 2021), notamment *Onthophagus vacca*, introduit avec succès en Australie. Ceci rend l'étude de la plasticité de cette espèce particulièrement intéressante, car les enjeux économiques sont importants. A l'image d'une étude réalisée sur *Onthophagus taurus*, espèce introduite avec succès en Australie et aux Etats-Unis, documenter l'évolution des espèces sur le long terme dans des conditions environnementales différentes pourrait apporter plus de compréhension sur les caractéristiques importantes à considérer pour garantir la bonne introduction d'une espèce (Rohner et al., 2024). Étudier la plasticité de ces espèces pourrait donner des indices sur comment éviter les risques associés à l'introduction de bousiers (Pokhrel et al., 2020).

Annexe

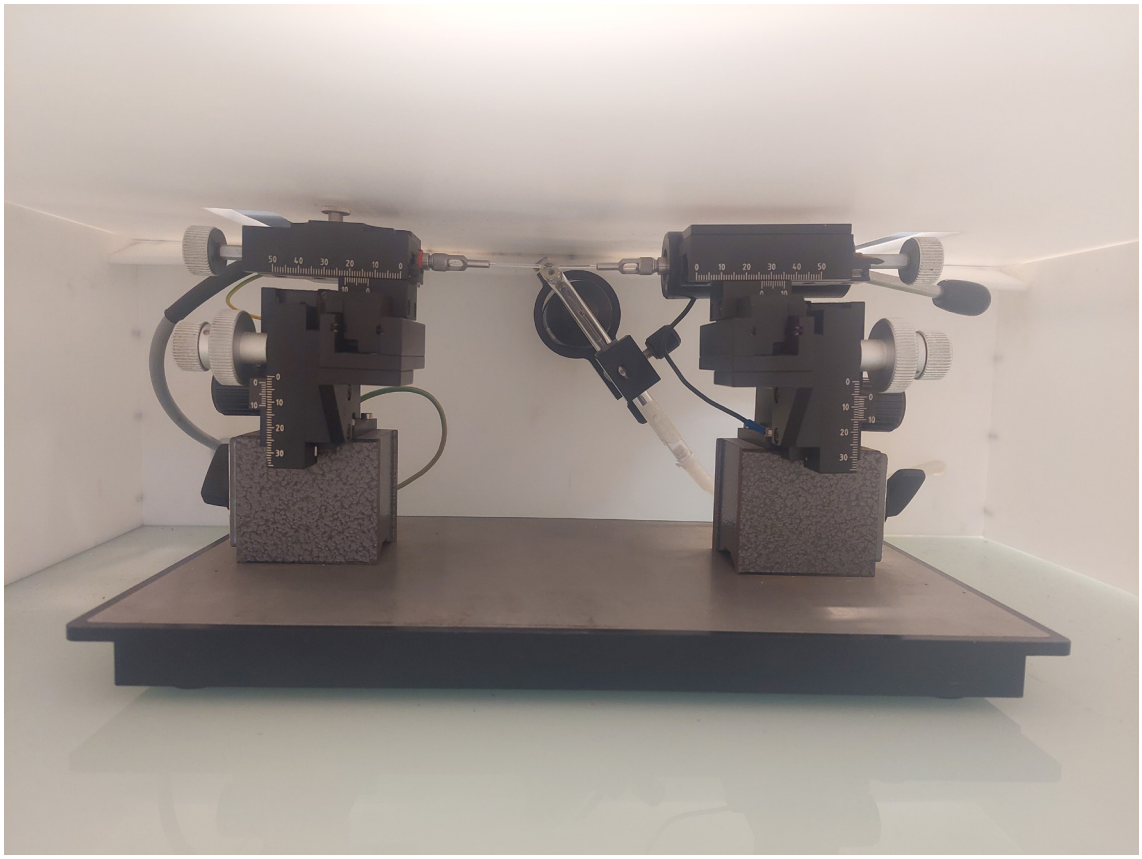


Figure S1 : Montage d'une antenne entre deux électrodes de verre, dans la boîte en téflon

```
================================================================
Acq. Operator   : SYSTEM
Sample Operator : SYSTEM
Acq. Instrument : GC8890                        Location :   1  (F)
Injection Date  : 2/9/2024 3:40:32 PM                Inj :   1
                                                Inj Volume : Manually
Method          : D:\Data\1\Methods\Z_025_splitless_20Hz.M
Last changed    : 12/19/2023 5:52:13 PM by SYSTEM
```

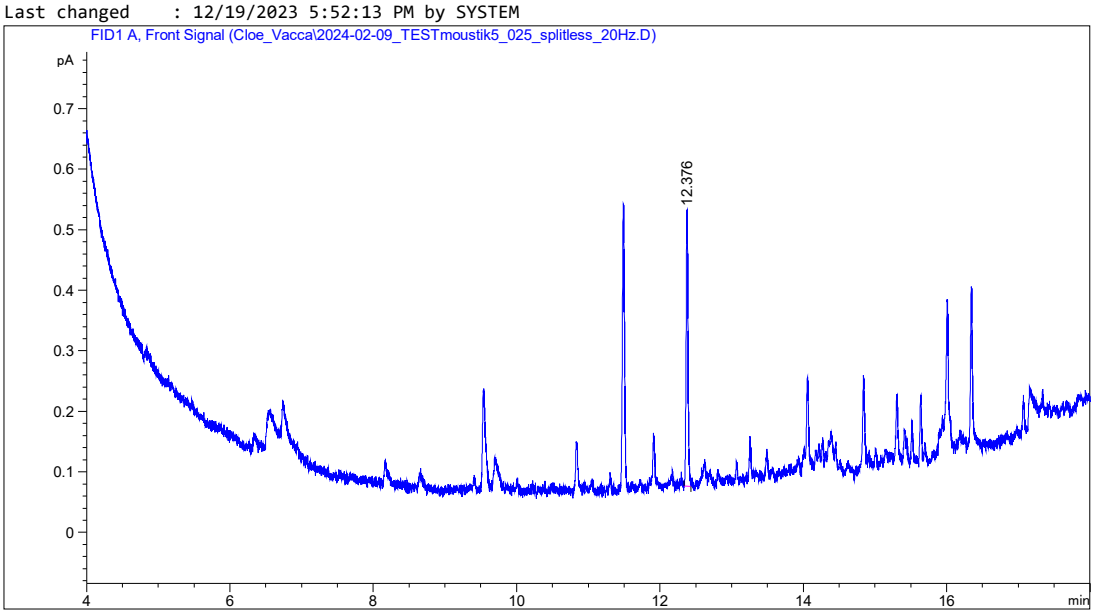


Figure S2 : Profil d'odeur des déjections de watussi, après immersion de 25 grammes de déjections congelées dans 20 mL d'hexane.

```
================================================================
Acq. Operator   : SYSTEM
Sample Operator : SYSTEM
Acq. Instrument : GC8890                        Location :   1  (F)
Injection Date  : 2/9/2024 4:31:04 PM                Inj :   1
                                                Inj Volume : Manually
Method          : D:\Data\1\Methods\Z_025_splitless_20Hz.M
Last changed    : 12/19/2023 5:52:13 PM by SYSTEM
```

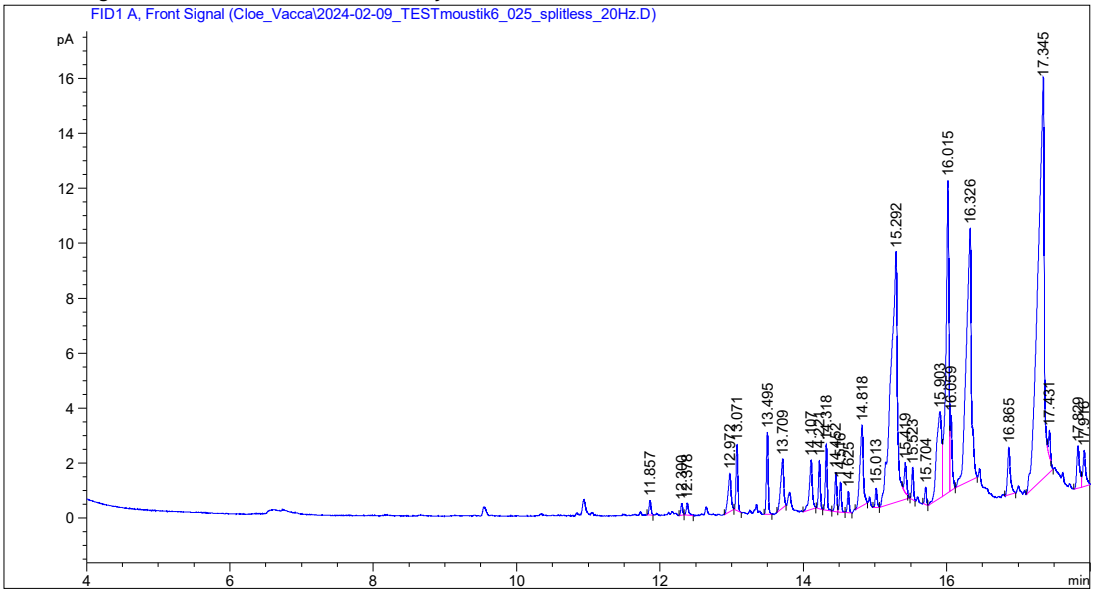


Figure S3 : profils d'odeur des déjections de zèbre, après immersion de 25 grammes de déjections congelées dans 20 mL d'hexane.

Conclusion partie 2

L'évolution des communautés

Les travaux de cette seconde partie ont permis de décrire les communautés de coléoptères coprophages présents à la RAS. Nous avons pu observer que celles-ci sont façonnées par la présence du zoo et la gestion des enclos. Bien que la diversité des herbivores ne semble pas induire de diversité des bousiers, la densité des herbivores dans les enclos semble être un facteur limitant pour le développement des communautés. Ces résultats peuvent être mis en parallèle avec le changement de composition des communautés observées dans les années 2020 lors des travaux de thèse présentés dans cette seconde partie, par rapport à celles observées dans les années 1970, (table 1). Les méthodes d'investigation sont très différentes entre les deux périodes (figure 1), puisque les insectes ont été piégés en 2020, tandis que dans les années 70 les bousiers avaient été inventoriés grâce à une technique de chasse à vue. Les expérimentateurs d'alors chassaient les insectes en décortiquant les déjections présentes sur site et en traquant les milieux propices pour des espèces différentes. Bien qu'un biais de protocole sur les abondances soit envisageable, ce n'est pas le cas sur les assemblages d'espèces dans le cas où le chasseur avait la volonté d'être exhaustif (Doube and Giller, 1990). Les données observées dans les années 70 sont toutes issues du travail de Jean-Pierre Lumaret et son équipe, lors de la constitution d'un atlas des bousiers autour de la méditerranée (Lumaret, 1978). Au-delà de leur devoir scientifique, c'était une équipe réputée pour sa passion entomologique. Nous n'avons donc aucun doute sur la volonté d'exhaustivité.

Entre 1970 et 2020 on observe que neuf espèces se sont maintenues dans le temps, notamment les espèces les plus abondantes dans nos études : *O. vacca*, *O. ruficapillus*, A. foetidus et C. granarius. De plus, on voit assez nettement un changement de groupe fonctionnel entre les communautés. En 1970 les paracoprides étaient le groupe fonctionnel le plus largement représenté, tandis qu'en 2020 ce sont les endocoprides. L'inventaire réalisé dans les années 70 se positionne en amont de la construction de la RAS (1974). Les ressources premières disponibles pour les bousiers étaient donc probablement représentées par des déjections de quelques équidés aidant au travail de la vigne, et aux cheptels de moutons. Il devait aussi y avoir des déjections de sangliers, de cervidés, de petits carnivores comme le renard, le blaireau, la fouine, mais aussi

peut-être des fèces humaines des personnes qui s'arrêtaient en bord de route ou de travailleurs agricoles de la région. Cette composition de la mégafaune peu dense favorisait donc probablement les insectes capables de mobiliser rapidement les ressources et de les mettre à l'abri des prédateurs de bousiers ou de leurs compétiteurs et des dérangements, dans les sols. En écho avec les hypothèses émises dans l'article de ce chapitre, l'apparition des enclos de la RAS a probablement induit des modifications physico-chimiques importantes des sols. Les espèces paracoprides n'ont ainsi pas pu se maintenir dans les sols dégradés. En revanche, l'apport de déjections humides de grande taille (tas de crottins d'équidés, bouses) a probablement favorisé le développement des espèces endocoprides. En effet, ces espèces ont besoin d'une déjection qui reste humide dans le temps et qui est capable d'abriter les larves fragiles pendant tout le temps de leur développement.

Table 1 : comparaison des espèces présentes autour de la RAS (rayon de moins de 10km), dans des milieux similaires, entre les observations de 1970-1980 et celles réalisées lors des travaux de recherches de la thèse. Les espèces surlignées en rose font partie de la catégorie fonctionnelle des paracoprides tandis que les espèces surlignées en vert font partie de la catégorie fonctionnelle des endocoprides.

1970	2020
Espèces communes	
Aphodius foetidus (Herbst, 1783)	*Aphodius foetidus* (Herbst, 1783)
Bubas bubalus (Olivier, 1811)	*Bubas bubalus* (Olivier, 1811)
Calamosternus granarius (Linnaeus, 1767)	*Calamosternus granarius* (Linnaeus, 1767)
Onthophagus emarginatus Mulsant, 1842	*Onthophagus emarginatus* (Mulsant, 1842)
Onthophagus lemur (Fabricius, 1782)	*Onthophagus lemur* (Fabricius, 1782)
Onthophagus opacicollis (Reitter, 1892)	*Onthophagus opacicollis* (Reitter, 1892)
Onthophagus ruficapillus (Brullé, 1832)	*Onthophagus ruficapilus* (Brullé, 1832)
Onthophagus taurus (Schreber, 1759)	*Onthophagus taurus* (Schreber, 1759)
Onthophagus vacca (Linnaeus, 1767)	*Onthophagus vacca* (Linnaeus, 1767)
Espèces différentes	
Bodiloides ictericus ghardimaouensis (Balthasar, 1929)	*Acrossus luridus* (Fabricius, 1775)
Caccobius schreberi (Linnaeus, 1767)	*Biralus mahunkaorum* (Adam, 1983)
Euonthophagus amyntas (Olivier, 1789)	*Chilothorax distinctus* (O.F. Müller, 1776)
Euonthophagus gibbosus (Scriba, 1790)	*Colobopterus erraticus* (Linnaeus, 1758)
Onthophagus coenobita (Herbst, 1783)	*Euoniticellus fulvus* (Goeze, 1777)
Onthophagus furcatus (Fabricius, 1781)	*Esymys merdarius* (Frabricius, 1775)
Onthophagus nuchicornis (Linnaeus, 1758)	*Eupleurus subterraneus* (Linnaeus, 1758)
Sericotrupes niger (Marsham, 1802)	*Labarrus lividus* (Olivier, 1789)
	Melinopterus promodus (Brahm, 1790)
	Trichonotulus scrofa (Fabricius, 1787)

A



B



Figure 1 : Méthodes de capture des insectes. (A) chasse à vue réalisée dans une déjection de rhinocéros blanc. (B) disposition des pièges à appâts.

Perspectives de recherches

Les études menées lors de cette seconde partie de thèse ont été réalisées sur un petit espace géographique, avec des contraintes environnementales strictes liées au cas particulier du zoo dans l'espace méditerranéen. Cette petite échelle nous a permis d'être plus précis dans l'appréciation des mécanismes d'adaptation à des stress locaux. Par exemple, dans le chapitre 4, nous avons pu observer une particularité comportementale des *O. vacca* sur un espace très réduit géographiquement, et le chapitre 6 nous aurait permis de tester les mécanismes qui ont mené à cette particularité locale. J'aurais personnellement été intéressée pour élargir les protocoles sur d'autres espaces géographiques présentant des zoos, mais le temps nous a manqué et nous avons préféré privilégier les travaux expérimentaux en laboratoire.

Une review récente recense plus de 4000 publications à propos des bousiers entre 1933 et 2024 (Hemmings et al., 2025). La très grande majorité des études réalisées sur les bousiers se basent sur des inventaires de terrain, comme les chapitre 4 et 5 présentés ici, ou sont axées sur la taxonomie des insectes. A titre d'indication, seulement 129 articles incluant l'élevage de bousiers étaient recensés entre 1950 et 2020, dont moins d'une quarantaine sur le sujet de l'alimentation des bousiers (Thotagamuwa et al., 2023). N'étant pas moi même naturaliste, j'ai trouvé le modèle biologique particulièrement intéressant pour aller plus loin, et sortir du contexte du terrain. En effet, de par son importance socio-économique et par la diversité des espèces représentées dans la catégorie des bousiers, ce modèle biologique semble parfaitement adapté pour mener des recherches s'incluant dans les problématiques politiques actuelles (Hemmings et al., 2025).

Les expérimentations en laboratoire du chapitre 6 ont été particulièrement difficiles à réaliser, notamment à cause du manque de références disponibles dans la littérature. L'attraction des déjections et les choix de régime alimentaire des bousiers ont été particulièrement étudiés des années 1930 aux années 1960, puis semblent avoir été peu à peu mis au rebut au profit de sujet plus brûlants tels que les services écosystémiques (Hemmings et al., 2025). Pourtant, l'un est lié à l'autre, puisque les services écosystémiques ne s'appliquent que dans le cas où les bousiers sont tout d'abord attirés par la déjection. Le fait que l'étude des habitudes alimentaires des bousiers ait été principalement menée avant 1960 traduit un retard accumulé vis à vis des nouvelles technologies

disponibles. Par exemple, l'utilisation d'EAG a été appliquée aux bousiers dans moins de 5 études à notre connaissance, et l'utilisation de CG-EAD ne semble avoir encore jamais été rapportée. Il semble donc primordial de standardiser l'utilisation d'olfactomètres avec le modèle biologique du bousier, mais aussi de développer une technique afin de fiabiliser les résultats issus d'EAG avec des antennes de bousiers. La diversité des espèces de bousiers pourrait, là encore, être un atout pour comprendre les mécanismes d'évolution des préférences alimentaires.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Synthèse

La sixième extinction touche particulièrement les taxons d'invertébrés. La première cause du déclin de la biodiversité semble être les activités anthropiques et particulièrement les pratiques agricoles. Ces dernières sont pourtant dépendantes du bon fonctionnement des écosystèmes dans lesquels elles s'intègrent. Il est donc nécessaire de mieux connaître leurs besoins physiologiques et les risques de toxicité des produits vétérinaires et phytosanitaires sur les milieux et sur les espèces, et de pérenniser les productions agricoles. Malgré leur historique de ménageries, les zoos actuels sont au cœur des problématiques de conservation, faisant partie intégrante des cinq missions principales qu'ils se sont fixées : éducation, recherche, conservation, divertissement et bien-être animal. Ces parcs zoologiques 3.0 se considèrent ainsi comme médiateurs entre les intérêts de conservation et leur public, et se revendiquent acteurs eux-mêmes de la conservation notamment par le biais de financements importants. Mais les efforts ne se concentrent généralement que sur quelques espèces ambassadrices et bien souvent dans des milieux naturels géographiquement très éloignés du zoo.

Le projet de recherche de cette thèse s'intègre dans le contexte du zoo 4.0 : celui qui engage des actions de conservation locales, et qui souhaite minimiser son impact sur le milieu dont il dépend. En effet, l'activité de zoo a potentiellement un fort impact sur les milieux : imperméabilisation des sols, afflux massif de visiteurs, sur-pâturage, utilisation de produits vétérinaires, etc. Le zoo est pourtant un espace vert servant de refuge à des espèces sauvages locales. Le travail présenté ici fait le lien entre les pratiques de gestion des herbivores, et les organismes vivants du milieu. Il se scinde en deux parties, chacune répondant à un objectif différent, mais liées par un écosystème commun : les enclos multi-espèces d'herbivores. Au cours de la première partie, nous avons cherché à optimiser l'utilisation d'antiparasitaires tout en maintenant le bien-être animal dans les enclos d'équidés. Cette première partie est divisée en trois chapitres correspondant chacun à une étude (chapitres 1, 2 et 3). Celles-ci sont toutes basées sur des suivis individuels parasitaires et comportementaux des zèbres des plaines de la RAS. Au cours de la seconde partie, nous avons examiné les enjeux liés à une gestion des enclos permettant la conservation des communautés de coléoptères coprophages en place, et des services écosystémiques qui leurs sont rattachés. Cette seconde partie est elle aussi divisée en trois chapitres correspondant chacun à une étude (chapitres 4, 5

et 6). Les deux premières sont basées sur le piégeage des bousiers au sein de la RAS, tandis que la dernière étude est basée sur des expérimentations en laboratoire.

Dans le chapitre 1, nous avons abordé le lien hôte-parasite conditionné par un traitement antiparasitaire, avec le modèle du zèbre, des strongles digestifs et des coccidies. Nous avons donc établi un suivi parasitaire individuel du groupe de zèbre des plaines de la RAS sur près de six mois, que nous avons mis en relation avec l'organisation sociale du groupe de zèbre. Pour cela, nous avons défini la hiérarchie, et cartographié le réseau social du groupe. L'étude est divisée selon deux temporalités : avant et après traitement antiparasitaire. Nos résultats ont montré qu'avant le traitement parasitaire il n'y avait pas de différence significative de charge parasitaire entre les individus. Après traitement nous avons observé une diminution significative de la charge parasitaire en strongles chez tous les individus. Cependant, nous rapportons que les individus ayant un plus fort taux de recontamination sont les individus les plus bas dans la hiérarchie et les individus ayant le plus de partenaires sociaux, bien que la hiérarchie et le nombre de partenaires sociaux ne soient pas corrélés entre eux. Nous émettons deux hypothèses afin d'expliquer ces tendances : les individus ayant un fort taux de recontamination ont moins eu accès à l'antiparasitaire distribué dans la nourriture en libre accès, ou ils ont accès à des ressources de moindre qualité et fortement contaminantes. L'application d'antiparasitaire, dans les conditions de l'étude, ne permet donc pas de protéger efficacement tous les individus du groupe.

Dans le chapitre 2, nous avons abordé le lien hôte-parasites chez les zèbres de moins de trois ans au début de l'étude, et ceux nés au cours de l'étude. Nous nous sommes concentrés sur l'infection par les strongles. Pour cela, nous avons évalué les charges parasitaires, la hiérarchie et les réseaux sociaux mensuels du groupe de zèbre des plaines présent à la RAS. Nous avons mis en relation les paramètres parasitaires et les paramètres comportementaux avec l'âge des jeunes et la saison d'échantillonnage. Nos résultats montrent que la variation de la charge parasitaire, dans les trois premières années de vie des zèbres, est dépendante de facteurs sociaux et saisonniers. La charge parasitaire augmente dès la naissance des zèbres jusqu'à leur sixième mois de vie, puis diminue jusqu'à leur premier anniversaire. Puis, on note une dernière phase d'augmentation de la charge parasitaire les derniers mois de leur seconde année de vie. La première phase d'augmentation semble correspondre

à une première infestation. La phase de diminution semble correspondre à un climat défavorable pour le développement des parasites, ainsi qu'à une période de soins maternels importants notamment par la lactation. Enfin, la seconde phase d'augmentation de la charge parasitaire semble correspondre à un bouleversement social, avec notamment le dispersion du jeune et donc une perte des soins maternels, une intensification des interactions agonistiques avec les autres membres du groupe et une position faible dans la hiérarchie. Une étude de l'immunité des individus pendant la période de vie étudiée ici apporterait une meilleure compréhension du lien entre comportements sociaux et charge parasitaire.

Dans le chapitre 3, nous nous sommes intéressés à la variation parasitaire au cours du temps chez les zèbres âgés de plus de trois ans. Pour cela, nous avons évalué les charges parasitaires, la hiérarchie et les réseaux sociaux mensuels du groupe de zèbre des plaines présent à la RAS. Les suivis parasitaires ont été mis en relation avec la saisonnalité et avec les conditions météorologiques enregistrés le mois de l'échantillonnage, ou deux mois auparavant, ou cinq mois auparavant. Nos résultats montrent que la saisonnalité joue un rôle important avec une augmentation de la charge parasitaire entre la fin de l'hiver et le début de l'été, et une diminution de la charge parasitaire de l'été jusqu'à l'automne. Les conditions climatiques semblent expliquer en partie ces variations parasitaires. Considérant les conditions météorologiques du mois d'échantillonnage, on observe un effet négatif des précipitations et de la température sur l'excrétion parasitaire. Considérant la météo deux ou cinq mois avant l'échantillonnage, on observe un effet négatif de la sécheresse sur l'excrétion parasitaire. Au contraire, dans les conditions de l'étude, les paramètres comportementaux ne semblent pas être déterminants de la variation temporelle de charge parasitaire individuelle. Ces résultats sont en opposition avec ceux observés après traitement dans le chapitre 1. Nous pouvons faire l'hypothèse que les mécanismes de re-contamination parasitaire chez les zèbres diffèrent selon s' ils sont dans un contexte post-traitement ou dans un contexte de fluctuation saisonnière.

Dans le chapitre 4, nous nous sommes intéressés à l'attractivité des déjections d'herbivores pour les bousiers. Pour cela, nous avons piégé les bousiers dans les enclos multi-espèces herbivores de la RAS selon un test de choix. Nos résultats montrent que les communautés de bousiers de la RAS sont isolées du reste du littoral par un environnement extérieur au zoo qui n'est

pas propice au développement des bousiers. Nous avons aussi montré une plus forte attractivité des bousiers par les déjections d'équidés, mettant en évidence que la diversité des herbivores ne semble pas affecter la diversité des bousiers dans le cadre de l'étude. Deux hypothèses sont émises pour expliquer le contraste de préférence alimentaire observé dans cette étude par rapport à la littérature existante. La première s'appuie sur l'évolution des espèces de bousiers présents à la RAS, pendant un demi-siècle. La seconde s'appuie sur une précision récente de la taxonomie de *O. vacca*, l'espèce la plus représentée à la RAS, qui s'est différenciée de *O. medius*, une espèce très similaire (Roy et al., 2016).

Dans le chapitre 5, nous nous sommes intéressés à l'effet de l'intensité de la charge des herbivores dans les enclos sur les communautés de bousiers. Pour cela, nous avons piégé les bousiers dans des enclos suivant un gradient de densité des herbivores. Nous avons évalué la couverture végétale du sol à l'échelle de l'enclos et à l'échelle des pièges. Nos résultats montrent que les communautés de bousiers sont largement affectées par le chargement d'herbivores à l'échelle des enclos mais aussi à l'échelle du piège. Les bousiers sont en effet moins abondants dans les enclos à forte densité d'herbivores. De plus, ils sont moins abondants et moins diversifiés dans les espaces comportant plus de sol nu. Nous mettons donc en évidence qu'en dépit de la dépendance des bousiers aux ressources produites par les herbivores, l'impact des herbivores sur le milieu est limitant pour le développement des bousiers.
Dans le chapitre 6, nous nous sommes intéressés aux modalités définissant les choix trophiques de *O. vacca*. Pour cela, nous avons échantillonné l'espèce dans des pâturages extensifs de bovins vivants sur le littoral méditérranéen, représentant la génération F0. Nous les avons ensuite couplés en paires afin de les mettre en élevage. La moitié des couples ont eu accès à une déjection bovine pour se nourrir et se reproduire, tandis que l'autre moitié à eu accès à une déjection équine. Les couples ayant accès à des déjections de watussi n'ont pas produit plus de pilules que les couples ayant accès à des déjections de zèbre. Les pilules produites à partir de déjections de watussi étaient plus grandes et plus lourdes que celles produites à partir de déjections de zèbre. Bien que les pilules produites à partir de déjections de watussi aient montré un légèrement plus haut taux d'émergence, les individus émergents de pilules produites à partir de déjections de zèbres ont montré un meilleur taux de survie. Nous souhaitions ensuite testé les réponses comportementales et physiologiques de cette génération F1 face à un choix entre déjections bovines et déjections

équines, afin de comprendre l'importance de l'hypothèse de l'héritage chimique en une seule génération chez *O. vacca*.

En résumé, ce travail s'est intéressé aux interactions entre différents modèles biologiques de l'écosystème des pâturages. La première partie a mis en valeur la complexité des interactions hôte-parasite entre les zèbres des plaines et les strongles, l'importance des caractéristiques sociales des individus dans la mise en place de protocoles antiparasitaires et l'importance de l'effet des conditions climatiques et météorologiques sur les dynamiques parasitaires. La seconde partie a mis en valeur l'impact de la gestion des enclos d'herbivores sur les communautés de bousiers en étudiant comment la diversité de l'habitat et des ressources disponibles pouvaient affecter leur composition. Cette seconde partie a aussi permis de poser les bases pour de futures expérimentations destinées à mieux comprendre les mécanismes évolutifs qui dirigent le maintien des espèces de bousiers.

En route pour le zoo 4.0 ?

A travers les deux axes de recherches développés dans ce travail de thèse, nous avons montré que les parcs zoologiques peuvent être moteurs de la recherche. De plus, nous avons montré que les zoos ont un rôle direct à jouer dans la conservation, en faisant des efforts à l'échelle locale. L'engagement des zoos sur ces deux points semble être en cohérence avec les tendances comportementales des visiteurs, qui se dirigent vers un tourisme plus responsable (Kruger and Viljoen, 2021; Matiza and and Kruger, 2021).

La recherche est l'un des enjeux majeurs de l'activité des parcs zoologiques (Hutchins and Thompson, 2008). Les sujets de recherche en conservation prennent en effet de l'essor dans les zoos européens depuis les années 2000, jusqu'à devenir proéminents aujourd'hui (Escribano et al., 2021). Cependant, le rôle des zoos en recherche semble encore superficiel, et se focalise principalement à travers des financements externes et l'accès aux modèles biologiques par des équipes externes. Moins d'un tiers des personnels accrédités à la recherche dans les zoos américains dans les années 2000 détiennent un doctorat, et très peu de zoos comptent un poste de recherche à plein temps parmi leurs effectifs permanents (Anderson et al., 2010). Pourtant, créer des postes de chercheur au sein même des établissements permettrait de creuser des questions scientifiques qui concernent directement les zoos. Cela permettrait aussi de réduire les facteurs limitants de leur implication dans la recherche, liés aux collaborations avec le monde universitaire, comme par exemple le risque d'invisibilisation du rôle des zoos dans les publications scientifiques (Schulz et al., 2022).

Le travail présenté ici donne des indices sur l'ampleur de la responsabilité des zoos envers les écosystèmes locaux. En effet, les zoos peuvent jouer le rôle de zones refuges pour les espèces sauvages locales, notamment des espèces à forts enjeux sociétaux comme les bousiers (Leandro, 2018). Comme démontré dans cette thèse, la conservation des espèces sauvages locales au sein des zoos repose principalement sur les choix de gestion des décideurs. Mais ces choix sont contraints par la nécessité de rentabilité de l'activité de divertissement. Le cadre de réalisation du travail de recherche présenté ici est tout à fait particulier, de par la superficie des espaces dédiés aux animaux de collection. Seule une poignée de zoo européens peuvent rendre disponibles des superficies similaires à la RAS, et encore moins d'établissements peuvent se

permettre d'être propriétaires d'espaces qui ne sont pas dédiés aux activités du zoo. Au même titre que le monde agricole, la balance entre les gains économiques et les efforts de conservation dans les zoos doit s'équilibrer afin de garantir la pérennité de ces établissements.

RÉFÉRENCES

REFERENCES

Abbas, G., Ghafar, A., Beasley, A., Stevenson, M.A., Bauquier, J., Koehler, A.V., Wilkes, E.J.A., McConnell, E., El-Hage, C., Carrigan, P., Cudmore, L., Hurley, J., Gauci, C.G., Beveridge, I., Jacobson, C., Nielsen, M.K., Hughes, K.J., Jabbar, A., 2023a. Understanding temporal and spatial distribution of intestinal nematodes of horses using faecal egg counts and DNA metabarcoding. Vet. Parasitol. 110094. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2023.110094

Abbas, G., Ghafar, A., McConnell, E., Beasley, A., Bauquier, J., Wilkes, E.J.A., El-Hage, C., Carrigan, P., Cudmore, L., Hurley, J., Gauci, C.G., Beveridge, I., Ling, E., Jacobson, C., Stevenson, M.A., Nielsen, M.K., Hughes, K.J., Jabbar, A., 2023b. A national survey of anthelmintic resistance in ascarid and strongylid nematodes in Australian thoroughbred horses. Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist. S2211320723000398. https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2023.11.006

Abbas, G., Stevenson, M.A., Bauquier, J., Beasley, A., Jacobson, C., El-Hage, C., Wilkes, E.J.A., Carrigan, P., Cudmore, L., Hurley, J., Beveridge, I., Nielsen, M.K., Hughes, K.J., Jabbar, A., 2023c. Assessment of worm control practices recommended by equine veterinarians in Australia. Front. Vet. Sci. 10, 1305360. https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1305360

ADEME, Artelys, Armines-Persee, Energies Demain, 2016. Mix électrique 100% renouvelable ? Analyses et optimisations (No. 8892), Horizons.

Agreto, n.d. Agreto - Your supplier for electronics in agriculture | Distributors wanted [WWW Document]. URL https://www.agreto.com/ (accessed 3.24.25).

Ahn, S., Redman, E.M., Gavriliuc, S., Bellaw, J., Gilleard, J.S., McLoughlin, P.D., Poissant, J., 2024. Mixed strongyle parasite infections vary across host age and space in a population of feral horses. Parasitology 1–18. https://doi.org/10.1017/S0031182024001185

Albert, J., Lingle, C.J., Marder, E., O'Neil, M.B., 1986. A GABA-activated chloride-conductance not blocked by picrotoxin on spiny lobster neuromuscular preparations. Br. J. Pharmacol. 87, 771–779.

Ali Shah, N., Shah, N., 2022. Ecological Benefits of Scarab beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) on Nutrient Cycles: A Review Article. Adv. Biochem. Biotechnol. 7. https://doi.org/10.29011/2574-7258.010109

Altizer, S., Nunn, C.L., Thrall, P.H., Gittleman, J.L., Antonovics, J., Cunningham, A.A., Dobson, A.P., Ezenwa, V., Jones, K.E., Pedersen, A.B., Poss, M., Pulliam, J.R.C., 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

Altizer, S., Ostfeld, R.S., Johnson, P.T.J., Kutz, S., Harvell, C.D., 2013. Climate Change and Infectious Diseases: From Evidence to a Predictive Framework. Science 341, 514–519. https://doi.org/10.1126/science.1239401

Altmann, J., 1974. Observational Study of Behavior: Sampling Methods. Behaviour 49, 227–265.

Alvarez-Rodriguez, J., Ryschawy, J., Grillot, M., Martin, G., 2024. Circularity and livestock diversity: Pathways to sustainability in intensive pig farming regions. Agric. Syst. 213, 103809. https://doi.org/10.1016/j.agsy.2023.103809

Andersen, K.F., 1992. Size, design and interspecific interactions as restrictors of natural behaviour in multi-species exhibits. 1. Activity and intraspecific interactions of plains zebra (equus burchelli). Appl. Anim. Behav. Sci. 34, 157–174. https://doi.org/10.1016/S0168-1591(05)80064-4

Anderson, U.S., Maple, T.L., Bloomsmith, M.A., 2010. Factors facilitating research: a survey of zoo and aquarium professionals. Zoo Biol. 29, 663–675. https://doi.org/10.1002/zoo.20306

Arneberg, P., 2002. Host population density and body mass as determinants of species richness in parasite communities: comparative analyses of directly transmitted nematodes of mammals. Ecography 25, 88–94. https://doi.org/10.1034/j.1600-0587.2002.250110.x

Aubert, A., Richard, F.-J., 2008. Social management of LPS-induced inflammation in Formica polyctena ants. Brain. Behav. Immun. 22, 833–837. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2008.01.010

Aviruppola, A.J.M.K., Rajapakse, R.P.V.J., Rajakaruna, R.S., 2016. Coprological survey of gastrointestinal parasites of mammals in Dehiwala National Zoological Gardens, Sri Lanka. Ceylon J. Sci. 45, 83. https://doi.org/10.4038/cjs.v45i1.7367

Baena-Díaz, F., Martínez-M, I., Gil-Pérez, Y., González-Tokman, D., 2018. Trans-gener-

ational effects of ivermectin exposure in dung beetles. Chemosphere 202, 637–643. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.109

Ballweber, L.R., Beugnet, F., Marchiondo, A.A., Payne, P.A., 2014. American Association of Veterinary Parasitologists' review of veterinary fecal flotation methods and factors influencing their accuracy and use—Is there really one best technique? Vet. Parasitol., Special Issue: Antiparasitic Drug Use and Resistance in Cattle, Small Ruminants and Equines in the United States - Current Status and Global Perspectives 204, 73–80. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.05.009

Bang, H.S., Lee, J.-H., Kwon, O.S., Na, Y.E., Jang, Y.S., Kim, W.H., 2005. Effects of paracoprid dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) on the growth of pasture herbage and on the underlying soil. Appl. Soil Ecol. 29, 165–171. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2004.11.001

Baratay, E., Hardouin-Fugier, E., 2004. Zoo: A History of Zoological Gardens in the West. Reaktion Books.

Barragán, F., Moreno, C.E., Escobar, F., Halffter, G., Navarrete, D., 2011. Negative Impacts of Human Land Use on Dung Beetle Functional Diversity. PLOS ONE 6. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017976

Barrón-Ortiz, C.I., Avilla, L.S., Jass, C.N., Bravo-Cuevas, V.M., Machado, H., Mothé, D., 2019. What Is Equus? Reconciling Taxonomy and Phylogenetic Analyses. Front. Ecol. Evol. 7.

Baudena, M.A., Chapman, M.R., French, D.D., Klei, T.R., 2000. Seasonal development and survival of equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. Vet. Parasitol. 88, 51–60. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00198-3

Becher, A.M., Mahling, M., Nielsen, M.K., Pfister, K., 2010. Selective anthelmintic therapy of horses in the Federal states of Bavaria (Germany) and Salzburg (Austria): An investigation into strongyle egg shedding consistency. Vet. Parasitol. 171, 116–122. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.03.001

Bello, T.R., 1985. The insidious invasive verminous antigens of the horse. J. Equine Vet. Sci. 5, 163–167. https://doi.org/10.1016/S0737-0806(85)80023-X

Bergstrom, R.C., 1983. Aphodius beetles as biological control agents of elk lungworm, Dictyocaulus hadweni. J HELMINTHOL SOC 50, 236–239.

Berisha, N., Geci, D., 2023. The analysis of the influence of grazing intensity on the diversity and abundance of plants and spiders (Arachnida: Araneae). Eur. J. Environ. Sci. 13, 31–38. https://doi.org/10.14712/23361964.2023.4

Bertin, L., Saladié, P., Lignereux, Y., Moigne, A.-M., Boulbes, N., 2017. The exploitation of equids in the middle ages on the Clos d'Ugnac archaeological site (Pennautier, Aude, France). J. Archaeol. Sci. Rep. 15, 179–193. https://doi.org/10.1016/j.jasrep.2017.07.026

Beynon, S.A., Wainwright, W.A., Christie, M., 2015. The application of an ecosystem services framework to estimate the economic value of dung beetles to the U.K. cattle industry. Ecol. Entomol. 40, 124–135. https://doi.org/10.1111/een.12240

Blanco-Sepúlveda, R., Gómez-Moreno, M.L., Lima, F., 2024. An Approach to the Key Soil Physical Properties for Assessing Soil Compaction Due to Livestock Grazing in Mediterranean Mountain Areas. Sustainability 16, 4279. https://doi.org/10.3390/su16104279

Bloor, J.M.G., Jay-Robert, P., Morvan, A.L., Fleurance, G., 2012. Déjections des herbivores domestiques au pâturage : caractéristiques et rôle dans le fonctionnement des prairies. INRAE Prod. Anim. 25, 45–56. https://doi.org/10.20870/productions-animales.2012.25.1.3196

Boelow, H., Krücken, J., von Samson-Himmelstjerna, G., 2023. Epidemiological study on factors influencing the occurrence of helminth eggs in horses in Germany based on sent-in diagnostic samples. Parasitol. Res. 122, 749–767. https://doi.org/10.1007/s00436-022-07765-4

Bogoni, J.A., da Silva, P.G., Peres, C.A., 2019. Co-declining mammal–dung beetle faunas throughout the Atlantic Forest biome of South America. Ecography 42, 1803–1818. https://doi.org/10.1111/ecog.04670

Bogoni, J.A., Graipel, M.E., de Castilho, P.V., Fantacini, F.M., Kuhnen, V.V., Luiz, M.R., Maccarini, T.B., Marcon, C.B., de Souza Pimentel Teixeira, C., Tortato, M.A., Vaz-de-Mello, F.Z., Hernández, M.I.M., 2016. Contributions of the mammal community, habitat structure, and spatial distance to dung beetle community structure. Biodivers. Conserv. 25, 1661–1675. https://doi.org/10.1007/s10531-016-1147-1

REFERENCES

Bogoni, J.A., Hernández, M.I.M., 2014. Attractiveness of Native Mammal's Feces of Different Trophic Guilds to Dung Beetles (Coleoptera: Scarabaeinae). J. Insect Sci. 14, 299. https://doi.org/10.1093/jisesa/ieu161

Boisseau, M., Dhorne-Pollet, S., Bars-Cortina, D., Courtot, É., Serreau, D., Annonay, G., Lluch, J., Gesbert, A., Reigner, F., Sallé, G., Mach, N., 2023a. Species interactions, stability, and resilience of the gut microbiota - Helminth assemblage in horses. iScience 26. https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106044

Boisseau, M., Mach, N., Basiaga, M., Kuzmina, T., Laugier, C., Sallé, G., 2023b. Patterns of variation in equine strongyle community structure across age groups and gut compartments. Parasit. Vectors 16, 64. https://doi.org/10.1186/s13071-022-05645-5

Bolker, B., 2023. Getting started with the glmmTMB package. R Package Version 10.

Bonal, R., Muñoz, A., 2007. Multi-trophic effects of ungulate intraguild predation on acorn weevils. Oecologia 152, 533–540. https://doi.org/10.1007/s00442-007-0672-8

Bond, W.J., 1994. Keystone Species, in: Schulze, E.-D., Mooney, H.A. (Eds.), Biodiversity and Ecosystem Function. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 237–253. https://doi.org/10.1007/978-3-642-58001-7_11

Bonsi, M., Anderson, N.E., Carder, G., 2023. The Socioeconomic Impact of Diseases of Working Equids in Low and Middle-Income Countries: A Critical Review. Animals 13, 3865. https://doi.org/10.3390/ani13243865

Boughton, C.J., Lancaster, L.T., Morgan, E.R., 2024. Biotic interactions in soil and dung shape parasite transmission in temperate ruminant systems: An integrative framework. Ecol. Appl. 34, e2956. https://doi.org/10.1002/eap.2956

Bowman, D.D., Georgi, J.R., 2014. Georgis' parasitology for veterinarians, 10. ed. ed. Saunders/Elsevier, St. Louis, Mo.

Boyd, L., Scorolli, A., Nowzari, H., Bouskila, A., 2016. Social organization of wild equids. Wild Equids Ecol. Manag. Conserv. 7–22.

Boyd, L.E., 1991. The behaviour of Przewalski's horses and its importance to their management. Appl. Anim. Behav. Sci. 29, 301–318. https://doi.org/10.1016/0168-1591(91)90256-W

Boyd, L.E., 1988. Time budgets of adult Przewalski horses: Effects of sex, reproductive status and enclosure. Appl. Anim. Behav. Sci. 21, 19–39. https://doi.org/10.1016/0168-1591(88)90099-8

Brauman, K.A., Garibaldi, L.A., Polasky, S., Zayas, C.N., Aumeeruddy Thomas, Y., Brancalion, P., Declerck, F., Mastrangelo, M., Nkongolo, N., Palang, H., Shannon, L., Verma, M., Shrestha, U.B., 2020. Chapter 2.3. Status and Trends -Nature's Contributions to People (NCP). Zenodo. https://doi.org/10.5281/zenodo.5519476

Brazik, E.L., Luquire, J.T., Little, D., 2006. Pyrantel pamoate resistance in horses receiving daily administration of pyrantel tartrate. J. Am. Vet. Med. Assoc. 228, 101–103. https://doi.org/10.2460/javma.228.1.101

Brereton, J.E., 2022. Behavioural biology and the zoo as a nature reserve. CRC Press.

Briard, L., 2015. Etude des processus décisionnels lors des déplacements collectifs chez le cheval domestique (Equus ferus caballus) (PhD Thesis). Université de Strasbourg; Université libre de Bruxelles (1970-....).

Briard, L., Ezenwa, V.O., 2021. Parasitism and host social behaviour: a meta-analysis of insights derived from social network analysis. Anim. Behav. 172, 171–182. https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2020.11.010

Brooks, M.E., Kristensen, K., van Benthem, K.J., Magnusson, A., Berg, C.W., Nielsen, A., Skaug, H.J., Machler, M., Bolker, B.M., 2017. glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. R J. 9, 378–400. https://doi.org/10.3929/ethz-b-000240890

Brown, A.M., Warton, D.I., Andrew, N.R., Binns, M., Cassis, G., Gibb, H., 2014. The fourth-corner solution – using predictive models to understand how species traits interact with the environment. Methods Ecol. Evol. 5, 344–352. https://doi.org/10.1111/2041-210X.12163

Brown, W.J., 1940. Notes on the American distribution of some species of Coleoptera comon to the European and North American continents. Can. Entomol. 72, 65–78. https://doi.org/10.4039/Ent7265-4

Bucher, R., Andres, C., Wedel, M.F., Entling, M.H., Nickel, H., 2016. Reprint of "Biodiversity in low-intensity pastures, straw meadows, and fallows of a fen area–A multitrophic comparison." Agric. Ecosyst. Environ., Grazing in European open land-

scapes: how to reconcile sustainable land management and biodiversity conservation? 234, 58–64. https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.10.015

Buse, J., Šlachta, M., Sladecek, F.X.J., Pung, M., Wagner, T., Entling, M.H., 2015. Relative importance of pasture size and grazing continuity for the long-term conservation of European dung beetles. Biol. Conserv. 187, 112–119. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.04.011

Cajaiba, R.L., Périco, E., Silva, W.B. da, Santos, M., 2017. Attractiveness of Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae) to different baits in the Brazilian Amazon region. Rev. Biol. Trop. 65, 917–924. https://doi.org/10.15517/rbt.v65i3.29433

Camuset, P., 2020. Parasitologie appliquée en effectifs équins : comprendre le parasitisme équin pour en proposer une gestion raisonnée au sein d'un effectif.

Cao, F., Li, W., Jiang, Y., Gan, X., Zhao, C., Ma, J., 2024. Effects of grazing on grassland biomass and biodiversity: A global synthesis. Field Crops Res. 306, 109204. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2023.109204

Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., Narwani, A., Mace, G.M., Tilman, D., Wardle, D.A., Kinzig, A.P., Daily, G.C., Loreau, M., Grace, J.B., Larigauderie, A., Srivastava, D.S., Naeem, S., 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. Nature 486, 59–67. https://doi.org/10.1038/nature11148

Cardoso, P., Barton, P.S., Birkhofer, K., Chichorro, F., Deacon, C., Fartmann, T., Fukushima, C.S., Gaigher, R., Habel, J.C., Hallmann, C.A., Hill, M.J., Hochkirch, A., Kwak, M.L., Mammola, S., Ari Noriega, J., Orfinger, A.B., Pedraza, F., Pryke, J.S., Roque, F.O., Settele, J., Simaika, J.P., Stork, N.E., Suhling, F., Vorster, C., Samways, M.J., 2020. Scientists' warning to humanity on insect extinctions. Biol. Conserv. 242, 108426. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108426

Carpaneto, G.M., Mazziotta, A., Piattella, E., 2005. Changes in food resources and conservation of scarab beetles: from sheep to dog dung in a green urban area of Rome (Coleoptera, Scarabaeoidea). Biol. Conserv. 123, 547–556. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2004.12.007

Carstensen, H., Larsen, L., Ritz, C., Nielsen, M.K., 2013. Daily Variability of Strongyle Fecal Egg Counts in Horses. J. Equine Vet. Sci. 33, 161–164. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2012.06.001

Castex, J., Denormandie, J., Dupond-Moretti, E., 2020. Décret n° 2020-1625 du 18 décembre 2020 portant diverses mesures relatives au bien-être des animaux d'élevage et de compagnie, 2020-1625.

Chao, A., Gotelli, N.J., Hsieh, T.C., Sander, E.L., Ma, K.H., Colwell, R.K., Ellison, A.M., 2014. Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. Ecol. Monogr. 84, 45–67. https://doi.org/10.1890/13-0133.1

Chapman, M.R., French, D.D., Klei, T.R., 2003. Prevalence of strongyle nematodes in naturally infected ponies of different ages and during different seasons of the year in louisiana. J. Parasitol. 89, 309–314. https://doi.org/10.1645/0022-3395(2003)089[0309:POSNIN]2.0.CO;2

Chapman, M.R., French, D.D., Klei, T.R., 2001. Seasonal Transmission of Gastrointestinal Parasites of Equids in Southern Louisiana. J. Parasitol. 87, 1371–1378. https://doi.org/10.2307/3285303

Charlier, J., Rinaldi, L., Musella, V., Ploeger, H.W., Chartier, C., Vineer, H.R., Hinney, B., von Samson-Himmelstjerna, G., Băcescu, B., Mickiewicz, M., Mateus, T.L., Martinez-Valladares, M., Quealy, S., Azaizeh, H., Sekovska, B., Akkari, H., Petkevicius, S., Hektoen, L., Höglund, J., Morgan, E.R., Bartley, D.J., Claerebout, E., 2020. Initial assessment of the economic burden of major parasitic helminth infections to the ruminant livestock industry in Europe. Prev. Vet. Med. 182, 105103. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105103

Christensen, J.W., Zharkikh, T., Ladewig, J., Yasinetskaya, N., 2002. Social behaviour in stallion groups (Equus przewalskii and Equus caballus) kept under natural and domestic conditions. Appl. Anim. Behav. Sci. 76, 11–20. https://doi.org/10.1016/S0168-1591(01)00208-8

Cirilli, O., Pandolfi, L., Rook, L., Bernor, R.L., 2021. Evolution of Old World Equus and origin of the zebra-ass clade. Sci. Rep. 11, 10156. https://doi.org/10.1038/s41598-021-89440-9

Cizauskas, C.A., Turner, W.C., Pitts, N., Getz, W.M., 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

Clauset, A., Newman, M.E.J., Moore, C., 2004.

REFERENCES

Finding community structure in very large networks. Phys. Rev. E 70, 066111. https://doi.org/10.1103/PhysRevE.70.066111

Clayton, H.M., Duncan, J.L., 1979. The migration and development of Parascaris equorum in the horse. Int. J. Parasitol. 9, 285–292. https://doi.org/10.1016/0020-7519(79)90076-6

Clayton, S., Luebke, J., Saunders, C., Matiasek, J., Grajal, A., 2014. Connecting to nature at the zoo: implications for responding to climate change. Environ. Educ. Res. 20, 460–475. https://doi.org/10.1080/13504622.2013.816267

Colléony, A., 2016. Evaluating the potential of zoos in reconnecting people with nature and conservation issues What kind of Landscape management can couteract the extinction of experience ? What does "nature" mean at the zoo ? An anthropological exploration of soundscape in zoos : exoticism as e mediator of everyday experiences of nature Can zoo visit link nature connectedness to biodiversity concern ? Comparative analysis between zoos and parks in Paris, France Human preferences for species conservation : Animal charisma trumps endangered status (These de doctorat). Paris, Muséum national d'histoire naturelle.

Connan, R.M., 1976. Effect of lactation on the immune response to gastrointestinal nematodes. Vet. Rec. 99, 476–477. https://doi.org/10.1136/vr.99.24.476

Cooper, R.G., Horbańczuk, J.O., Villegas-Vizcaíno, R., Kennou Sebei, S., Faki Mohammed, A.E., Mahrose, K.M.A., 2010. Wild ostrich (Struthio camelus) ecology and physiology. Trop. Anim. Health Prod. 42, 363–373. https://doi.org/10.1007/s11250-009-9428-2

Corbet, S.A., 1985. Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. Ecol. Entomol. 10, 143–153. https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1985.tb00543.x

Corning, S., 2009. Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. Parasit. Vectors 2, S1. https://doi.org/10.1186/1756-3305-2-S2-S1

Correa, C.M.A., Puker, A., Abot, A.R., 2020. Impacts of Exotic Pasture Establishment on Dung Beetle Assemblages (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) in the Brazilian Cerrado. Environ. Entomol. 49, 1335–1344. https://doi.org/10.1093/ee/nvaa132

Coté, I.M., Poulin, R., 1995. Parasitism and group size in social animals: a meta-analysis. Behav. Ecol. 6, 159–165. https://doi.org/10.1093/beheco/6.2.159

Coulson, G., Cripps, J.K., Garnick, S., Bristow, V., Beveridge, I., 2018. Parasite insight: assessing fitness costs, infection risks and foraging benefits relating to gastrointestinal nematodes in wild mammalian herbivores. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 373, 20170197. https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0197

Cowie, R.H., Bouchet, P., Fontaine, B., 2022. The Sixth Mass Extinction: fact, fiction or speculation? Biol. Rev. 97, 640–663. https://doi.org/10.1111/brv.12816

Craft, M.E., 2015. Infectious disease transmission and contact networks in wildlife and livestock. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 370, 20140107. https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0107

Crawley, J.A.H., Chapman, S.N., Lummaa, V., Lynsdale, C.L., 2016. Testing storage methods of faecal samples for subsequent measurement of helminth egg numbers in the domestic horse. Vet. Parasitol. 221, 130–133. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.03.012

Creel, S., Dantzer, B., Goymann, W., Rubenstein, D.R., 2013. The ecology of stress: effects of the social environment. Funct. Ecol. 27, 66–80. https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2012.02029.x

Cromsigt, J.P.G.M., Prins, H.H.T., Olff, H., 2009. Habitat heterogeneity as a driver of ungulate diversity and distribution patterns: interaction of body mass and digestive strategy. Divers. Distrib. 15, 513–522. https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2008.00554.x

Cruz Rosales, M., Martínez M, I., López-Collado, J., Vargas-Mendoza, M., González-Hernández, H., Fajersson, P., 2012. Effect of ivermectin on the survival and fecundity of Euoniticellus intermedius (Coleoptera: Scarabaeidae). Rev. Biol. Trop. 60, 333–345.

Da Silva, P.G., Hernández, M.I.M., 2015. Spatial Patterns of Movement of Dung Beetle Species in a Tropical Forest Suggest a New Trap Spacing for Dung Beetle Biodiversity Studies. PLOS ONE 10, e0126112. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126112

Dabrowski, J., Venter, G., Truter, W.F., Scholtz, C.H., 2019. Dung beetles can tunnel into highly compacted soils from reclaimed mined sites in eMalahleni, South Africa. Appl. Soil Ecol. 134, 116–119. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.10.015

Dallas, T.A., Laine, A.-L., Ovaskainen, O., 2019. Detecting parasite associations within multi-species host and parasite communities. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 286, 20191109. https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1109

Daniel, Potter, Altom, Aljoe, Stevens, 2002. Longterm grazing density impacts on soil compaction. Trans. ASAE 45. https://doi.org/10.13031/2013.11442

David, H.A., 1987. Ranking from unbalanced paired-comparison data. Biometrika 74, 432–436. https://doi.org/10.1093/biomet/74.2.432

de Vos, C., Leslie, A.J., Ransom, J.I., 2020. Plains zebra (Equus quagga) behaviour in a restored population reveals seasonal resource limitations. Appl. Anim. Behav. Sci. 224, 104936. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2020.104936

de Vries, H., 2009. On using the DomWorld model to evaluate dominance ranking methods. Behaviour 146, 843–869. https://doi.org/10.1163/156853909X412241

de Vries, H., 1998. Finding a dominance order most consistent with a linear hierarchy: a new procedure and review. Anim. Behav. 55, 827–843. https://doi.org/10.1006/anbe.1997.0708

Debeffe, L., Mcloughlin, P.D., Medill, S.A., Stewart, K., Andres, D., Shury, T., Wagner, B., Jenkins, E., Gilleard, J.S., Poissant, J., 2016. Negative covariance between parasite load and body condition in a population of feral horses. Parasitology 143, 983–997. https://doi.org/10.1017/S0031182016000408

DeCastro-Arrazola, I., Andrew, N., Berg, M., Curtsdotter, A., Jean-Pierre, L., Menéndez, R., Nervo, B., Nichols, L., Sánchez-Piñero, F., Santos, A., Sheldon, K., Slade, E., Hortal, J., 2022. A trait-based framework for dung beetle functional ecology. J. Anim. Ecol. 92. https://doi.org/10.1111/1365-2656.13829

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

Deléage, J.-P., 2010. Histoire de l'écologie: Une science de l'homme et de la nature. La Découverte.

Dirzo, R., Young, H.S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N.J.B., Collen, B., 2014. Defaunation in the Anthropocene. Science 345, 401–406. https://doi.org/10.1126/science.1251817

Dobson, A., Lafferty, K.D., Kuris, A.M., Hechinger, R.F., Jetz, W., 2008. Homage to Linnaeus: How many parasites? How many hosts? Proc. Natl. Acad. Sci. 105, 11482–11489. https://doi.org/10.1073/pnas.0803232105

Donald, P.F., Sanderson, F.J., Burfield, I.J., van Bommel, F.P.J., 2006. Further evidence of continent-wide impacts of agricultural intensification on European farmland birds, 1990–2000. Agric. Ecosyst. Environ. 116, 189–196. https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.02.007

Dormont, L., Epinat, G., Lumaret, J.-P., 2004. Trophic Preferences Mediated by Olfactory Cues in Dung Beetles Colonizing Cattle and Horse Dung. Environ. Entomol. 33, 370–377. https://doi.org/10.1603/0046-225X-33.2.370

Dormont, L., Rapior, S., McKey, D.B., Lumaret, J.-P., 2007. Influence of dung volatiles on the process of resource selection by coprophagous beetles. Chemoecology 17, 23–30. https://doi.org/10.1007/s00049-006-0355-7

Doube, B.M., 1990. A functional classification for analysis of the structure of dung beetle assemblages. Ecol. Entomol. 15, 371–383. https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1990.tb00820.x

Doube, B.M., Giller, P.S., 1990. A comparison of two types of trap for sampling dung beetle populations (Coleoptera: Scarabaeidae). Bull. Entomol. Res. 80, 259–263. https://doi.org/10.1017/S0007485300050458

Drudge, J., Lyons, E., 1966. Control of internal parasites of the horse.

Dubey, J.P., Bauer, C., 2018. A review of Eimeria infections in horses and other equids. Vet. Parasitol. 256, 58–70. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.04.010

Dudley, N., Alexander, S., 2017. Agriculture and biodiversity: a review. Biodiversity 18, 45–49. https://doi.org/10.1080/14888386.2017.1351892

Dufrêne, M., Legendre, P., 1997. Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymetrical approach. Ecol. Monogr. 67, 345–366. https://doi.org/10.1890/0012-9615(1997)067[0345:SAAIST]2.0.CO;2

Duncan, J., 1974. Field studies on the epidemiology of mixed strongyle infection in the horse.

Duncan, J.L., 1973. The Life Cycle, Pathogeni-

REFERENCES

sis and Epidemiology of S. vulgaris in the Horse. Equine Vet. J. 5, 20–25. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1973.tb03188.x

Duncan, J.L., Love, S., 1991. Preliminary observations on an alternative strategy for the control of horse strongyles. Equine Vet. J. 23, 226–228. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1991.tb02762.x

Duperron, G., Vaschalde, C., Mureau, C., Bigot, F., Scrinzi, M., Piquès, G., Forest, V., Ros, J., Bardot-Cambot, A., Doniga, A., Chardonneau-Henneuse, J., 2021. Un dépotoir domestique du Moyen Âge central (XIe-XIIe s.) dans l'établissement de Saint-Martin le Bas à Gruissan (Aude). Éclairage pluridisciplinaire des pratiques de consommation et d'exploitation des ressources sur le littoral narbonnais. Archéologie Midi Médiév. 27/38, 69–103.

Dupont, A., 2024. Approche comparative de la prise en charge des animaux sauvages dans les centres de sauvegarde et les parcs zoologiques 235.

Duvauchelle-Waché, A., Ravinet, N., Chauvin, A., Chartier, C., Hoste, H., Lefrileux, Y., Jacquiet, P., Frappat, B., Trou, G., 2017. Le traitement ciblé-sélectif des bovins, ovins et caprins contre les strongles gastro-intestinaux. Innov. Agron. 55, 135–153. https://doi.org/10.15454/1.5137771616610366E12

Ebert, D., Fields, P.D., 2020. Host–parasite co-evolution and its genomic signature. Nat. Rev. Genet. 21, 754–768. https://doi.org/10.1038/s41576-020-0269-1

Edmonds, W.D., 1982. The nesting behavior of dung beetles (Scarabaeinae). An ecological and evolutive approach. Instituto de Ecologia.

Edwards, P., Wilson, P., Wright, J., 2015. Introduced Dung Beetles in Australia: A Pocket Field Guide. https://doi.org/10.1071/9781486300709

Egwang, T.G., Slocombe, J.O.D., 1981. Efficiency and Sensitivity of Techniques for Recovering Nematode Eggs from Bovine Feces. Can. J. Comp. Med. 45, 243–248.

Elghryani, N., Duggan, V., Relf, V., Waal, T. de, 2019. Questionnaire survey on helminth control practices in horse farms in Ireland. Parasitology 146, 873–882. https://doi.org/10.1017/S0031182019000271

Elghryani, N., McOwan, T., Mincher, C., Duggan, V., de Waal, T., 2023. Estimating the Prevalence and Factors Affecting the Shedding of Helminth Eggs in Irish Equine Populations. Animals 13, 581. https://doi.org/10.3390/ani13040581

Elo, A.E., 1978. The Rating of Chessplayers, Past and Present. Arco Pub., New York.

El-Saber Batiha, G., Alqahtani, A., Ilesanmi, O.B., Saati, A.A., El-Mleeh, A., Hetta, H.F., Magdy Beshbishy, A., 2020. Avermectin Derivatives, Pharmacokinetics, Therapeutic and Toxic Dosages, Mechanism of Action, and Their Biological Effects. Pharmaceuticals 13, 196. https://doi.org/10.3390/ph13080196

Elwell, E., Leeson, C., Vaglio, S., 2021. The effects of a zoo environment on free-living, native small mammal species. Zoo Biol. 40, 263–272. https://doi.org/10.1002/zoo.21603

Ememe, M., Ukwueze, C., Onyeabor, A., Isacc, K., 2024. Seasonal effects on the gastrointestinal parasites in horses at Port Harcourt Polo, Rivers State, Nigeria.

Enari, H., Koike, S., Sakamaki, H., 2013. Influences of different large mammalian fauna on dung beetle diversity in beech forests. J. Insect Sci. 13, 54. https://doi.org/10.1673/031.013.5401

Epe, C., Kings, M., Stoye, M., Böer, M., 2001. The Prevalence and Transmission to Exotic Equids (Equus quagga antiquorum, Equus przewalskii, Equus africanus) of Intestinal Nematodes in Contaminated Pasture in Two Wild Animal Parks. J. Zoo Wildl. Med. 32, 209–216.

ERMA, (Environment Risk Management Authority), 2011. Application to release a new organism without controls: cattle, and other herbivore, dung management through the release of 11 species of dung beetle. New Zealand.

Errouissi, F., Haloti, S., Jay-robert, P., Janati-idrissi, A., Lumaret, J.-P., 2004. Effects of the Attractiveness for Dung Beetles of Dung Pat Origin and Size Along a Climatic Gradient. Environ. Entomol. 33, 45–53. https://doi.org/10.1603/0046-225X-33.1.45

Errouissi, F., Lumaret, J.-P., 2010. Field effects of faecal residues from ivermectin slow-release boluses on the attractiveness of cattle dung to dung beetles. Med. Vet. Entomol. 24, 433–440. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2010.00891.x

Escribano, N., Ariño, A.H., Pino-del-Carpio, A., Galicia, D., Miranda, R., 2021. Global trends in research output by zoos and aquariums. Conserv. Biol. 35, 1894–1902. https://doi.org/10.1111/cobi.13757

Esquivel-Román, A., Baena-Díaz, F., Bustos-Segura, C., De Gasperin, O., González-Tokman, D., 2025. Thermal physiology of dung beetles exposed to ivermectin, a veterinary drug. J. Therm. Biol. 128, 104080. https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2025.104080

Ezenwa, V., 2002. Behavioral and nutritional ecology of gastrointestinal parasitism in African bovids. (PhD thesis). Princeton University, New Jersey.

Ezenwa, V.O., 2004. Host social behavior and parasitic infection: a multifactorial approach. Behav. Ecol. 15, 446–454. https://doi.org/10.1093/beheco/arh028

Ezenwa, V.O., Archie, E.A., Craft, M.E., Hawley, D.M., Martin, L.B., Moore, J., White, L., 2016. Host behaviour–parasite feedback: an essential link between animal behaviour and disease ecology. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 283, 20153078. https://doi.org/10.1098/rspb.2015.3078

Ezenwa, V.O., Worsley-Tonks, K.E.L., 2018. Social living simultaneously increases infection risk and decreases the cost of infection. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 285, 20182142. https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2142

Fabiani, J.V., Lyons, E.T., Nielsen, M.K., 2016. Dynamics of Parascaris and Strongylus spp. parasites in untreated juvenile horses. Vet. Parasitol. 230, 62–66. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.11.002

Feh, C., 2005. Relationships and communication in socially natural horse herds. Domest. Horse 83–93.

Feh, C., 1988. Social behaviour and relationships of Prezewalski horses in Dutch semi-reserves. Appl. Anim. Behav. Sci. 21, 71–87. https://doi.org/10.1016/0168-1591(88)90101-3

Ferrari, N., Cattadori, I.M., Rizzoli, A., Hudson, P.J., 2009. Heligmosomoides polygyrus reduces infestation of Ixodes ricinus in free-living yellow-necked mice, Apodemus flavicollis. Parasitology 136, 305–316. https://doi.org/10.1017/S0031182008005404

Fincher, F., 1981. The potential value of dung beetles in pasture ecosystems [Texas]. J. Ga. Entomol. Soc.

Fleurance, G., Duncan, P., Fritz, H., Cabaret, J., Cortet, J., Gordon, I.J., 2007. Selection of feeding sites by horses at pasture: Testing the anti-parasite theory. Appl. Anim. Behav. Sci. 108, 288–301. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.11.019

Forteau, L., Dumont, B., Sallé, G., Bigot, G., Fleurance, G., 2020. Horses grazing with cattle have reduced strongyle egg count due to the dilution effect and increased reliance on macrocyclic lactones in mixed farms. Animal 14, 1076–1082. https://doi.org/10.1017/S1751731119002738

Fox, J., Weisberg, S., Price, B., 2001. car: Companion to Applied Regression. https://doi.org/10.32614/CRAN.package.car

FranceAgriMer, 2019. Les marchés des produits laitiers, carnés et avicoles. Bilan 2019. Perspectives 2020.

Francisco, I., Arias, M., Cortiñas, F.J., Francisco, R., Mochales, E., Dacal, V., Suárez, J.L., Uriarte, J., Morrondo, P., Sánchez-Andrade, R., Díez-Baños, P., Paz-Silva, A., 2009. Intrinsic Factors Influencing the Infection by Helminth Parasites in Horses under an Oceanic Climate Area (NW Spain). J. Parasitol. Res. https://doi.org/10.1155/2009/616173

Frank, K., Brückner, A., Blüthgen, N., Schmitt, T., 2018. In search of cues: dung beetle attraction and the significance of volatile composition of dung. Chemoecology 28, 145–152. https://doi.org/10.1007/s00049-018-0266-4

Frank, K., Brückner, A., Hilpert, A., Heethoff, M., Blüthgen, N., 2017. Nutrient quality of vertebrate dung as a diet for dung beetles. Sci. Rep. 7, 12141. https://doi.org/10.1038/s41598-017-12265-y

Freeman, L.C., 1978. Centrality in social networks conceptual clarification. Soc. Netw. 1, 215–239. https://doi.org/10.1016/0378-8733(78)90021-7

Frolov, A.V., Akhmetova, L.A., Vishnevskaya, M.S., Kiriukhin, B.A., Montreuil, O., Lopes, F., Tarasov, S.I., 2023. Amplicon metagenomics of dung beetles (Coleoptera, Scarabaeidae, Scarabaeinae) as a proxy for lemur (Primates, Lemuroidea) studies in Madagascar. ZooKeys 1181, 29–39.

Fugazzola, M.C., Stancampiano, L., 2012. Host social rank and parasites: Plains zebra (Equus quagga) and intestinal helminths in Uganda. Vet. Parasitol. 188, 115–119. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.019

Fulton, B., Kwong, R., Henderson, J., Luscombe-Newman, R., 2023. Behayve.

Fumy, F., Fartmann, T., 2023. Low-intensity land use fosters species richness of threatened butterflies and grasshoppers in mires and grasslands. Glob. Ecol. Conserv. 41, e02357. https://doi.org/10.1016/j.gec-

REFERENCES

co.2022.e02357

Gailledrat, E., Gardeisen, A., 2008. Assemblages originaux d'équidés du IIIe s. av. n. ère sur le site de Pech Maho (Sigean, Aude). Presented at the Assemblages originaux d'équidés du IIIe s. av. n. ère sur le site de Pech Maho (Sigean, Aude), Association pour le Développement de l'Archéologie en Languedoc, p. 105.

Galante, E., Mena, J., Lumbreras, C., 1995. Dung Beetles (Coleoptera: Scarabaeidae, Geotrupidae) Attracted to Fresh Cattle Dung in Wooded and Open Pasture. Environ. Entomol. 24, 1063–1068. https://doi.org/10.1093/ee/24.5.1063

Gallay-Keller, M., 2019. Les zoos du Muséum national d'Histoire naturelle. Éduquer, mais à quoi ? Quand le récit de la biodiversité et la mise en scène de l'écologie s'invitent aux zoos. Éducation Relat. À Environ. 15.

Gao, J., Carmel, Y., 2020. Can the intermediate disturbance hypothesis explain grazing–diversity relations at a global scale? Oikos 129, 493–502. https://doi.org/10.1111/oik.06338

Garric, J., Vollat, B., Duis, K., Péry, A., Junker, T., Ramil, M., Fink, G., Ternes, T.A., 2007. Effects of the parasiticide ivermectin on the cladoceran Daphnia magna and the green alga Pseudokirchneriella subcapitata. Chemosphere 69, 903–910. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.070

Gay, P., 2016. Une promesse de nature. Du zoo au bioparc, une révolution: Du zoo au bioparc, une révolution. Média Diffusion.

Gay, P., 2005. Des zoos pour quoi faire?: pour une nouvelle philosophie de la conservation. Delachaux et Niestlé.

Geurden, T., Smith, E.R., Vercruysse, J., Yazwinski, T., Settje, T., Nielsen, M.K., 2022. World association for the advancement of veterinary parasitology (WAAVP) guideline for the evaluation of the efficacy of anthelmintics in food-producing and companion animals: general guidelines. Vet. Parasitol. 304, 109698. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109698

Ghafar, A., Abbas, G., Beasley, A., Bauquier, J., Wilkes, E.J.A., Jacobson, C., McConnell, E., El-Hage, C., Carrigan, P., Cudmore, L., Tennent-Brown, B., Hurley, J., Nielsen, M.K., Gauci, C.G., Beveridge, I., Hughes, K.J., Jabbar, A., 2023. Molecular diagnostics for gastrointestinal helminths in equids: Past, present and future. Vet. Parasitol. 313, 109851. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109851

Gibson, T.E., 1953. The Effect of Repeated Anthelmintic Treatment with Phenothiazine on the Faecal Egg Counts of Housed Horses, with Some Observations on the Life Cycle of Trichonema spp. in the Horse. J. Helminthol. 27, 29–40. https://doi.org/10.1017/S0022149X00023488

Giles, C.J., Urquhart, K.A., Longstaffe, J.A., 1985. Larval cyathostomiasis (immature trichonema-induced enteropathy): A report of 15 clinical cases. Equine Vet. J. 17, 196–201. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1985.tb02469.x

Giménez Gómez, V.C., Verdú, J.R., Guerra Alonso, C.B., Zurita, G.A., 2018. Relationship between land uses and diversity of dung beetles (Coleoptera: Scarabaeinae) in the southern Atlantic forest of Argentina: which are the key factors? Biodivers. Conserv. 27, 3201–3213. https://doi.org/10.1007/s10531-018-1597-8

Goachet, A.G., Harris, P., Philippeau, C., Julliand, V., 2014. Effect of physical training on nutrient digestibility and faecal fermentative parameters in Standardbred horses. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 98, 1081–1087. https://doi.org/10.1111/jpn.12177

Golodets, C., Kigel, J., Sternberg, M., 2010. Recovery of plant species composition and ecosystem function after cessation of grazing in a Mediterranean grassland. Plant Soil 329, 365–378. https://doi.org/10.1007/s11104-009-0164-1

Gómez, A., Nichols, E., 2013. Neglected wild life: parasitic biodiversity as a conservation target. Int. J. Parasitol. Parasites Wildl. 2, 222–227.

Gómez, J.M., González-Megías, A., 2007. Long-term effects of ungulates on phytophagous insects. Ecol. Entomol. 32, 229–234. https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2006.00859.x

Gómez, J.M., González-Megías, A., 2002. Asymmetrical Interactions Between Ungulates and Phytophagous Insects: Being Different Matters. Ecology 83, 203–211. https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083[0203:AIBUAP]2.0.CO;2

González Canga, A., Sahagún Prieto, A.M., José Diez Liébana, M., Martínez, N.F., Vega, M.S., Vieitez, J.J.G., 2009. The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. Vet. J. 179, 25–37. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.011

González-Gómez, L., González-Tokman, D.,

García, J.H., Lira-Noriega, A., Escobar, F., 2025. Effect of ivermectin and dung beetle communities on dung removal rate in cattle pastures. Appl. Soil Ecol. 206, 105865. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2025.105865

Gormally, M., 1993. The effect of dung beetle activity on the discharge of Pilobolus sporangia in cattle faeces. Med. Vet. Entomol. 7, 197–198. https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.1993.tb00675.x

Granroth-Wilding, H.M.V., Daunt, F., Cunningham, E.J.A., Burthe, S.J., 2017. Between-individual variation in nematode burden among juveniles in a wild host. Parasitology 144, 248–258. https://doi.org/10.1017/S0031182016001700

Grear, D.A., Luong, L.T., Hudson, P.J., 2013. Network transmission inference: Host behavior and parasite life cycle make social networks meaningful in disease ecology. Ecol. Appl. 23, 1906–1914. https://doi.org/10.1890/13-0907.1

Griffiths, H.M., Bardgett, R.D., Louzada, J., Barlow, J., 2016. The value of trophic interactions for ecosystem function: dung beetle communities influence seed burial and seedling recruitment in tropical forests. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 283, 20161634. https://doi.org/10.1098/rspb.2016.1634

Groves, C., Grubb, P., 2011. Ungulate Taxonomy. JHU Press.

Gulland, F., 1995. The impact of infectious diseases on wild animal populations: a review. Ecol. Infect. Dis. Nat. Popul. 1, 20–51.

Gupta, A., Zaman, L., Strobel, H.M., Gallie, J., Burmeister, A.R., Kerr, B., Tamar, E.S., Kishony, R., Meyer, J.R., 2022. Host-parasite coevolution promotes innovation through deformations in fitness landscapes. eLife 11, e76162. https://doi.org/10.7554/eLife.76162

Habig, B., Doellman, M.M., Woods, K., Olansen, J., Archie, E.A., 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

Hack, M.A., East, R., Rubenstein, D.I., 2002. Status and Action Plan for the Plains Zebra (Equus burchellii), in: Equids: Zebras, Asses and Horses. Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, p. 190.

Hajji, H., Janati-Idrissi, A., Taybi, A.F., Caron, V., Lumaret, J.-P., Mabrouki, Y., 2023. Seasonal Variation in the Organization of Dung Beetle Communities in the Moroccan Middle Atlas (Coleoptera: Scarabaeoidea). Diversity 15, 1138. https://doi.org/10.3390/d15111138

Halffter, G., Arellano, L., 2002. Response of Dung Beetle Diversity to Human–induced Changes in a Tropical Landscape1. Biotropica 34, 144–154. https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2002.tb00250.x

Halley, B.A., Jacob, T.A., Lu, A.Y.H., 1989. The environmental impact of the use of ivermectin: environmental effects and fate. Chemosphere 18, 1543–1563. https://doi.org/10.1016/0045-6535(89)90045-3

Hallmann, C.A., Sorg, M., Jongejans, E., Siepel, H., Hofland, N., Schwan, H., Stenmans, W., Müller, A., Sumser, H., Hörren, T., Goulson, D., de Kroon, H., 2017. More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. PLOS ONE 12, e0185809. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185809

Halvorsen, O., 1986. On the Relationship between Social Status of Host and Risk of Parasitic Infection. Oikos 47, 71. https://doi.org/10.2307/3565921

Hamscher, G., Sczesny, S., Höper, H., Nau, H., 2000. Tetracycline and chlortetracycline residues in soil fertilized with liquid manure. Livest. Farming Environ. Sonderh. 226, 27–31.

Hanafy, H.E.M., El-Sayed, W., 2012. Soil nutrient as affected by activity of dung beetles, Scarabaeus sacer (Coleoptera: Scarabaeidae) and toxicity of certain herbicides on beetles. J. Appl. Sci. Res. 4752–4758.

Hanski, I., Cambefort, Y., 2014. Dung Beetle Ecology. Princeton University Press.

Hanski, I., Wirta, H., Nyman, T., Rahagalala, P., 2008. Resource shifts in Malagasy dung beetles: contrasting processes revealed by dissimilar spatial genetic patterns. Ecol. Lett. 11, 1208–1215. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01239.x

Hartig, F., 2022. DHARMa: residual diagnostics for hierarchical (multi-level/mixed) regression models.

Hasik, A.Z., Butt, S., Maris, K., Morris, S., Morris, A., Turner, R.S., Pemberton, J.M., Albery, G.F., 2024. Population density drives increased parasitism via greater exposure and reduced resource availability in wild hosts. https://doi.org/10.1101/2024.07.08.602460

Hawley, D.M., Etienne, R.S., Ezenwa, V.O., Jolles, A.E., 2011. Does Animal Behavior

REFERENCES

Underlie Covariation Between Hosts' Exposure to Infectious Agents and Susceptibility to Infection? Implications for Disease Dynamics. Integr. Comp. Biol. 51, 528–539. https://doi.org/10.1093/icb/icr062

Hawley, D.M., Gibson, A.K., Townsend, A.K., Craft, M.E., Stephenson, J.F., 2021. Bidirectional interactions between host social behaviour and parasites arise through ecological and evolutionary processes. Parasitology 148, 274–288. https://doi.org/10.1017/S0031182020002048

Haynes, R.J., Williams, P.H., 1993. Nutrient Cycling and Soil Fertility in the Grazed Pasture Ecosystem, in: Sparks, D.L. (Ed.), Advances in Agronomy. Academic Press, pp. 119–199. https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60794-4

Hayward, A.D., Behnke, J.M., Childs, D.Z., Corripio-Miyar, Y., Fenton, A., Fraser, M.D., Kenyon, F., McNeilly, T.N., Pakeman, R.J., Pedersen, A.B., Pemberton, J.M., Sweeny, A.R., Wilson, K., Pilkington, J.G., 2022. Long-term temporal trends in gastrointestinal parasite infection in wild Soay sheep. Parasitology 149, 1749–1759. https://doi.org/10.1017/S0031182022001263

He, Y., Nadeau, J., Reed, S., Hoagland, T., Bushmich, S., Aborn, S., Jones, A.K., Martin, D., 2020. The Effect of Season on Muscle Growth, Fat Deposition, Travel Patterns, and Hoof Growth of Domestic Young Horses. J. Equine Vet. Sci. 85, 102817. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.102817

Hedberg Alm, Y., Halvarsson, P., Martin, F., Osterman-Lind, E., Törngren, V., Tydén, E., 2023. Demonstration of reduced efficacy against cyathostomins without change in species composition after pyrantel embonate treatment in Swedish equine establishments. Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist. 23, 78–86. https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2023.11.003

Hemelrijk, Wantia, Gygax, 2005. The Construction of Dominance Order: Comparing Performance of Five Methods Using an Individual-Based Model. Behaviour 142, 1037–1058.

Hemmings, Z., Evans, M.J., Andrew, N.R., 2025. Spatial and temporal trends in dung beetle research. PeerJ 13, e18907. https://doi.org/10.7717/peerj.18907

Hempson, G.P., Parr, C.L., Lehmann, C.E.R., Archibald, S., 2022. Grazing lawns and overgrazing in frequently grazed grass communities. Ecol. Evol. 12, e9268. https://doi.org/10.1002/ece3.9268

Herd, R.P., 1990. Equine parasite control - Problems associated with intensive anthelmintic therapy. Equine Vet. Educ. 2, 41–47. https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.1990.tb01378.x

Herd, R.P., Willardson, K.L., Gabel, A.A., 1985. Epidemiological approach to the control of horse strongyles. Equine Vet. J. 17, 202–207. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1985.tb02470.x

Hernandez, A.D., Sukhdeo, M.V.K., 1995. Host Grooming and the Transmission Strategy of Heligmosomoides polygyrus. J. Parasitol. 81, 865–869. https://doi.org/10.2307/3284031

Hinney, B., Wirtherle, N.C., Kyule, M., Miethe, N., Zessin, K.-H., Clausen, P.-H., 2011. A questionnaire survey on helminth control on horse farms in Brandenburg, Germany and the assessment of risks caused by different kinds of management. Parasitol. Res. 109, 1625–1635. https://doi.org/10.1007/s00436-011-2434-0

Hirata, M., Higashiyama, M., Hasegawa, N., 2011. Diurnal pattern of excretion in grazing cattle. Livest. Sci. 142, 23–32. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.06.015

Hoeffner, K., Louault, F., Lerner, L., Pérès, G., 2024. Management of grassland: A necessary tool to maintain plant and earthworm diversity. Eur. J. Soil Biol. 120, 103589. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2023.103589

Hogan, E.S., Houpt, K.A., Sweeney, K., 1988. The effect of enclosure size on social interactions and daily activity patterns of the captive Asiatic wild horse (Equus przewalskii). Appl. Anim. Behav. Sci., Behavior of Przewalski horses 21, 147–168. https://doi.org/10.1016/0168-1591(88)90105-0

Holley, J.M., Andrew, N.R., 2020. Warming effects on dung beetle ecosystem services: brood production and dung burial by a tunnelling dung beetle, (Coleoptera: Scarabaeidae), is reduced by experimental warming. Austral Entomol. 59, 353–367. https://doi.org/10.1111/aen.12448

Holter, P., 2016. Herbivore dung as food for dung beetles: elementary coprology for entomologists. Ecol. Entomol. 41, 367–377. https://doi.org/10.1111/een.12316

Holter, P., Scholtz, C.H., 2007. What do dung beetles eat? Ecol. Entomol. 32, 690–697. https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2007.00915.x

Hosler, S.C., Jones, H.P., Nelson, M., Barber,

N.A., 2021. Management actions shape dung beetle community structure and functional traits in restored tallgrass prairie. Ecol. Entomol. 46, 175–186. https://doi.org/10.1111/een.12950

Houpt, K.A., Keiper, R., 1982. The Position of the Stallion in the Equine Dominance Hierarchy of Feral and Domestic Ponies. J. Anim. Sci. 54, 945–950. https://doi.org/10.2527/jas1982.545945x

Hsieh, T.C., Ma, K.H., Chao, A., 2016. iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). Methods Ecol. Evol. 7, 1451–1456. https://doi.org/10.1111/2041-210X.12613

Hübner, S., Schanz, L., Winckler, C., Barth, K., 2024. Mix it—cograzing with cattle reduces broiler losses and increases broiler range use. Poult. Sci. 103, 103906. https://doi.org/10.1016/j.psj.2024.103906

Hughes, R.D., Ferrar, P., Macqueen, A., Durie, P., McKinney, G.T., Morley, F.H.W., 1975. Introduced Dung Beetles and Australian Pasture Ecosystems: Papers Presented at a Symposium During the Meeting of the Australia and New Zealand Association for the Advancement of Science at Canberra in January 1975. J. Appl. Ecol. 12, 819–837. https://doi.org/10.2307/2402093

Hutchins, M., Thompson, S.D., 2008. Zoo and aquarium research: priority setting for the coming decades. Zoo Biol. 27, 488–497. https://doi.org/10.1002/zoo.20167

Hutchinson, G.W., Abba, S.A., Mfitilodze, M.W., 1989. Seasonal translation of equine strongyle infective larvae to herbage in tropical Australia. Vet. Parasitol. 33, 251–263. https://doi.org/10.1016/0304-4017(89)90135-0

Hutton, S.A., Giller, P.S., 2003. The effects of the intensification of agriculture on northern temperate dung beetle communities. J. Appl. Ecol. 40, 994–1007. https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2003.00863.x

Iglesias, L.E., Saumell, C., Sagüés, F., Sallovitz, J.M., Lifschitz, A.L., 2018. Ivermectin dissipation and movement from feces to soil under field conditions. J. Environ. Sci. Health Part B 53, 42–48. https://doi.org/10.1080/03601234.2017.1371554

Insee, 2024. Transformation de l'agriculture et des consommations alimentaires.

IUCN, 2003. An assessment of progress 2002 : the IUCN programme. IUCN.

IUCN, S., 2023. Position Statement on the role of botanic gardens, aquariums, and zoos in species conservation. IUCN Species Surviv. Comm. SSC Gland Switz.

Jaenike, J., 2002. Time-Delayed Effects of Climate Variation on Host–Parasite Dynamics. Ecology 83, 917–924. https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083[0917:TDEOCV]2.0.CO;2

Jagła, E., Śpiewak, J., Zaleśny, G., Popiołek, M., 2013. Effect of Storage and Preservation of Horse Faecal Samples on the Detectability and Viability of Strongylid Nematode Eggs and Larvae. Bull. Vet. Inst. Pulawy 57, 161–165. https://doi.org/10.2478/bvip-2013-0030

Jarrige, R., 1988. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Paris (France) INRA.

Jasso del Toro, C., Nekaris, K.A.-I., 2019. Affiliative Behaviors, in: Vonk, J., Shackelford, T. (Eds.), Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior. Springer International Publishing, Cham, pp. 1–6. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47829-6_1040-1

Jay-Robert, P., Errouissi, F., Lumaret, J.P., 2008. Temporal coexistence of dung-dweller and soil-digger dung beetles (Coleoptera, Scarabaeoidea) in contrasting Mediterranean habitats. Bull. Entomol. Res. 98, 303–316. https://doi.org/10.1017/S0007485307005615

Jochmann, R., Blanckenhorn, W.U., 2016. Non-target effects of ivermectin on trophic groups of the cow dung insect community replicated across an agricultural landscape. Basic Appl. Ecol. 17, 291–299. https://doi.org/10.1016/j.baae.2016.01.001

Johansson, V., Säwenfalk, D.S., Bergman, K.-O., Kindvall, O., Askling, J., Franzén, M., 2024. Oviposition preferences and larval survival of the marsh fritillary butterfly: The adverse impact of grazing. Insect Conserv. Divers. 17, 642–650. https://doi.org/10.1111/icad.12734

Johnson, P.T.J., de Roode, J.C., Fenton, A., 2015. Why infectious disease research needs community ecology. Science 349, 1259504. https://doi.org/10.1126/science.1259504

Joly, C., Ortega, A., Maravat, C., Jay-Robert, P., Richard, F.-J., submitted. The ups and downs of parasite infections, from birth to three-years-old zebras. Behav. Ecol.

Joly, C., Rachid Martin, L., Ortega, A., Richard, F.-J., 2023. Social behavior impacts parasite infection risk in equid groups. Appl. Anim. Behav. Sci. 269, 106091. https://doi.

org/10.1016/j.applanim.2023.106091

Joly, D., Brossard, T., Cardot, H., Cavailhes, J., Hilal, M., Wavresky, P., 2010. Les types de climats en France, une construction spatiale. Cybergeo. https://doi.org/10.4000/cybergeo.23155

Joó, K., Trúzsi, R.L., Kálmán, C.Z., Ács, V., Jakab, S., Bába, A., Nielsen, M.K., 2022. Evaluation of risk factors affecting strongylid egg shedding on Hungarian horse farms. Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep. 27, 100663. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100663

Joubert, E., 1972. Activity Patterns Shown by Mountain Zebra Equus Zebra Hartmannae in South West Africa With Reference to Climatic Factors. Zool. Afr. 7, 309–331. https://doi.org/10.1080/00445096.1972.11447447

Juarez-Estrada, M.A., Graham, D., Hernandez-Velasco, X., Tellez-Isaias, G., 2023. Editorial: Parasitism: the good, the bad and the ugly. Front. Vet. Sci. 10. https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1304206

Kairis, O., Karavitis, C., Salvati, L., Kounalaki, A., Kosmas, K., 2015. Exploring the Impact of Overgrazing on Soil Erosion and Land Degradation in a Dry Mediterranean Agro-Forest Landscape (Crete, Greece). Arid Land Res. Manag. 29, 360–374. https://doi.org/10.1080/15324982.2014.968691

Kamath, P.L., Turner, W.C., Küsters, M., Getz, W.M., 2014. Parasite-mediated selection drives an immunogenetic trade-off in plains zebras (Equus quagga). Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 281, 20140077. https://doi.org/10.1098/rspb.2014.0077

Kaplan, R.M., Nielsen, M.K., 2010. An evidence-based approach to equine parasite control: It ain't the 60s anymore. Equine Vet. Educ. 22, 306–316. https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2010.00084.x

King, S., Moehlman, P., 2016. IUCN Red List of Threatened Species: Equus quagga. IUCN Red List Threat. Species.

Kirkpatrick, W.H., Sheldon, K.S., 2022. Experimental increases in temperature mean and variance alter reproductive behaviours in the dung beetle Phanaeus vindex. Biol. Lett. 18, 20220109. https://doi.org/10.1098/rsbl.2022.0109

Klei, T.R., 2000. Equine Immunity to Parasites. Vet. Clin. North Am. Equine Pract., Immunology 16, 69–78. https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30119-0

Klei, T.R., Chapman, M.R., 1999. Immunity in equine cyathostome infections. Vet. Parasitol. 85, 123–136. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00093-X

Kleiman, D.G., 1985. Criteria for the evaluation of zoo research projects. Zoo Biol.

Klingel, H., 1969. The Social Organisation and Population Ecology of the Plains Zebra (Equus Quagga). Zool. Afr. 4, 249–263. https://doi.org/10.1080/00445096.1969.11447374

Knowles, S.C.L., Fenton, A., Petchey, O.L., Jones, T.R., Barber, R., Pedersen, A.B., 2013. Stability of within-host–parasite communities in a wild mammal system. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 280, 20130598. https://doi.org/10.1098/rspb.2013.0598

Kolbert, E., 2014. The Sixth Extinction: An Unnatural History. Henry Holt and Company.

Kools, S.A.E., Moltmann, J.F., Knacker, T., 2008. Estimating the use of veterinary medicines in the European union. Regul. Toxicol. Pharmacol. 50, 59–65. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.06.003

Kornaś, S., Cabaret, J., Skalska, M., Nowosad, B., 2010. Horse infection with intestinal helminths in relation to age, sex, access to grass and farm system. Vet. Parasitol. 174, 285–291. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.09.007

Kornaś, S., Sallé, G., Skalska, M., David, I., Ricard, A., Cabaret, J., 2015. Estimation of genetic parameters for resistance to gastro-intestinal nematodes in pure blood Arabian horses. Int. J. Parasitol. 45, 237–242. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.11.003

Krause, J., James, R., Franks, D.W., Croft, D.P. (Eds.), 2015. Animal Social Networks. Oxford University Press, Oxford. https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199679041.001.0001

Krause, J., Ruxton, I.G., 2002. Living in Groups. OUP Oxford.

Krueger, K., Flauger, B., Farmer, K., Hemelrijk, C., 2014. Movement initiation in groups of feral horses. Behav. Processes 103, 91–101. https://doi.org/10.1016/j.beproc.2013.10.007

Krüger, K., Flauger, B., 2008. Social feeding decisions in horses (Equus caballus). Behav. Processes 78, 76–83. https://doi.org/10.1016/j.beproc.2008.01.009

Kruger, M., Viljoen, A., 2021. Managing Travellers' Predicted Future Travel Behaviour in

a post-COVID-19 World: A Tourism Supplier Perspective. Afr. J. Hosp. Tour. Leis. 1048–1062. https://doi.org/10.46222/ajhtl.19770720-148

Ksenofontova, A.A., Voinova, O.A., Ivanov, A.A., Ksenofontov, D.A., Sakovtseva, T.V., 2022. Influence of Rank Stress on Behavior and Blood Indicators of A Young Horse. Int. J. Vet. Sci. 420–426. https://doi.org/10.47278/journal.ijvs/2022.153

Kuzmina, T.A., Dzeverin, I., Kharchenko, V.A., 2016. Strongylids in domestic horses: Influence of horse age, breed and deworming programs on the strongyle parasite community. Vet. Parasitol. 227, 56–63. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.07.024

Kuzmina, T.A., Kharchenko, V.A., Zvegintsova, N.S., Zhang, L., Liu, J., 2013. Strongylids (Nematoda: Strongylidae) in two zebra species from the "Askania-Nova" Biosphere Reserve, Ukraine: biodiversity and parasite community structure. Helminthologia 50, 172–180. https://doi.org/10.2478/s11687-013-0128-0

Kuzmina, T.A., Königová, A., Antipov, A., Kuzmin, Y., Kharchenko, V., Syrota, Y., 2024. Changes in equine strongylid communities after two decades of annual anthelmintic treatments at the farm level. Parasitol. Res. 123, 394. https://doi.org/10.1007/s00436-024-08417-5

Kuzmina, T.A., Kuzmin, Y.I., Kharchenko, V.A., 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

Kyselý, R., Peške, L., 2022. New discoveries change existing views on the domestication of the horse and specify its role in human prehistory and history – a review. Archeol. Rozhl. 74, 299–345. https://doi.org/10.35686/AR.2022.15

Lafferty, K.D., Dobson, A.P., Kuris, A.M., 2006. Parasites dominate food web links. Proc. Natl. Acad. Sci. 103, 11211–11216. https://doi.org/10.1073/pnas.0604755103

Lai, L., Kumar, S., 2020. A global meta-analysis of livestock grazing impacts on soil properties. PLOS ONE 15, e0236638. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236638

Laroche, N., Grimm, P., Julliand, S., Sorci, G., 2024. Diet modulates strongyle infection and microbiota in the large intestine of horses. PLOS ONE 19, e0301920. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0301920

Larousse, É., n.d. Larousse.fr : encyclopédie et dictionnaires gratuits en ligne [WWW Document]. URL https://www.larousse.fr/infos/credits (accessed 2.24.25).

Larsen, T.H., Forsyth, A., 2005. Trap Spacing and Transect Design for Dung Beetle Biodiversity Studies1. Biotropica 37, 322–325. https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2005.00042.x

Lathuilliere, A., 2018. Réalisation d'un atlas corposcopique sur des herbivores de parcs animaliers en France. (PhD thesis). Université Claude Bernard - Lyon 1, Vetagro Sup campus vétérinaire de Lyon.

Leandro, C., 2018. Conservation de l'entomofaune ordinaire : enjeux scientifiques et sociétaux (These de doctorat). Montpellier 3.

Leandro, C., Jay-Robert, P., 2025. Scarab'Obs.

Leandro, C., Jones, M., Perrin, W., Jay-Robert, P., Ovaskainen, O., 2023. Dung beetle community patterns in Western Europe: responses of Scarabaeinae to landscape and environmental filtering. Landsc. Ecol. https://doi.org/10.1007/s10980-023-01711-0

Leandro, Dejean, Valentini, Jean, Jay-Robert, 2021. A novel trap design for non-lethal monitoring of dung beetles using eDNA metabarcoding. J. Insect Conserv. 25, 629–642. https://doi.org/10.1007/s10841-021-00329-4

Leathwick, D.M., Donecker, J.M., Nielsen, M.K., 2015. A model for the dynamics of the free-living stages of equine cyathostomins. Vet. Parasitol. 209, 210–220. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.02.031

Leathwick, D.M., Sauermann, C.W., Nielsen, M.K., 2019a. Managing anthelmintic resistance in cyathostomin parasites: Investigating the benefits of refugia-based strategies. Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist. 10, 118–124. https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2019.08.008

Leathwick, D.M., Sauermann, C.W., Reinemeyer, C.R., Nielsen, M.K., 2019b. A model for the dynamics of the parasitic stages of equine cyathostomins. Vet. Parasitol. 268, 53–60. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.03.004

Lehtonen, J., Jaatinen, K., 2016. Safety in numbers: the dilution effect and other drivers of group life in the face of danger. Behav. Ecol. Sociobiol. 70, 449–458.

Lemanski, N.J., Williams, N.M., Winfree, R.,

REFERENCES

2022. Greater bee diversity is needed to maintain crop pollination over time. Nat. Ecol. Evol. 6, 1516–1523. https://doi.org/10.1038/s41559-022-01847-3

Lester, H.E., Bartley, D.J., Morgan, E.R., Hodgkinson, J.E., Stratford, C.H., Matthews, J.B., 2013. A cost comparison of faecal egg count-directed anthelmintic delivery versus interval programme treatments in horses. Vet. Rec. 173, 371–371. https://doi.org/10.1136/vr.101804

Lester, H.E., Matthews, J.B., 2014. Faecal worm egg count analysis for targeting anthelmintic treatment in horses: Points to consider. Equine Vet. J. 46, 139–145. https://doi.org/10.1111/evj.12199

Lester, H.E., Morgan, E.R., Hodgkinson, J.E., Matthews, J.B., 2018. Analysis of Strongyle Egg Shedding Consistency in Horses and Factors That Affect It. J. Equine Vet. Sci. 60, 113-119.e1. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.04.006

Levine, N.D., Mehra, K.N., Clark, D.T., Aves, I.J., 1960. A comparison of nematode egg counting techniques for cattle and sheep feces. Am. J. Vet. Res. 21, 511–515.

Lia, R.P., Traversa, D., Laricchiuta, P., Dantas-Torres, F., Paradies, R., Alvinerie, M., Krecek, R.C., Otranto, D., 2010. Efficacy of an in-feed formulation containing ivermectin for the control of intestinal strongyles in captive zebras (Equus burchelli (Gray, 1824)). Vet. Parasitol. 169, 133–137. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.028

Librado, P., Orlando, L., 2021. Genomics and the Evolutionary History of Equids. Annu. Rev. Anim. Biosci. 9, 81–101. https://doi.org/10.1146/annurev-animal-061220-023118

Lichtenfels, J.R., Kharchenko, V.A., Dvojnos, G.M., 2008. Illustrated identification keys to strongylid parasites (strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). Vet. Parasitol., Identification Keys to Strongylid Nematode Parasites of Equids 156, 4–161. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.04.026

Liebig, M., Fernandez, Á.A., Blübaum-Gronau, E., Boxall, A., Brinke, M., Carbonell, G., Egeler, P., Fenner, K., Fernandez, C., Fink, G., Garric, J., Halling-Sørensen, B., Knacker, T., Krogh, K.A., Küster, A., Löffler, D., Cots, M.Á.P., Pope, L., Prasse, C., Römbke, J., Rönnefahrt, I., Schneider, M.K., Schweitzer, N., Tarazona, J.V., Ternes, T.A., Traunspurger, W., Wehrhan, A., Duis, K., 2010. Environmental risk assessment of ivermectin: A case study. Integr. Environ. Assess. Manag. 6, 567–587. https://doi.org/10.1002/ieam.96

Linklater, W.L., 2000. Adaptive explanation in socio-ecology: lessons from the Equidae. Biol. Rev. 75, 1–20. https://doi.org/10.1017/S0006323199005411

Listopad, C.M.C.S., Köbel, M., Príncipe, A., Gonçalves, P., Branquinho, C., 2018. The effect of grazing exclusion over time on structure, biodiversity, and regeneration of high nature value farmland ecosystems in Europe. Sci. Total Environ. 610–611, 926–936. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.018

Lloyd, P.H., Rasa, O.A.E., 1989. Status, reproductive success and fitness in Cape mountain zebra (Equus zebra zebra). Behav. Ecol. Sociobiol. 25, 411–420. https://doi.org/10.1007/BF00300187

Lloyd, S., Smith, J., Connan, R.M., Hatcher, M.A., Hedges, T.R., Humphrey, D.J., Jones, A.C., 2000. Parasite control methods used by horse owners: factors predisposing to the development of anthelmintic resistance in nematodes. Vet. Rec. 146, 487–492. https://doi.org/10.1136/vr.146.17.487

Lobo, J., Lumaret, J., Jay-Robert, P., others, 1998. Sampling dung beetles in the French Mediterranean area: effects of abiotic factors and farm practices. Pedobiologia 42, 252–266.

Lobo, J.M., 2001. Decline of roller dung beetle (Scarabaeinae) populations in the Iberian peninsula during the 20th century. Biol. Conserv. 97, 43–50. https://doi.org/10.1016/S0006-3207(00)00093-8

Lobo, J.M., Cuesta, E., 2021. Seasonal variation in the diel activity of a dung beetle assemblage. PeerJ 9, e11786. https://doi.org/10.7717/peerj.11786

Lobo, J.M., Lumaret, J.-P., Jay-Robert, P., 2001. Diversity, distinctiveness and conservation status of the Mediterranean coastal dung beetle assemblage in the Regional Natural Park of the Camargue (France). Divers. Distrib. 7, 257–270. https://doi.org/10.1046/j.1366-9516.2001.00122.x

Loh, T.-L., Larson, E.R., David, S.R., de Souza, L.S., Gericke, R., Gryzbek, M., Kough, A.S., Willink, P.W., Knapp, C.R., 2018. Quantifying the contribution of zoos and aquariums to peer-reviewed scientific research. FACETS 3, 287–299. https://doi.org/10.1139/facets-2017-0083

Losey, J.E., Vaughan, M., 2006. The Economic

Value of Ecological Services Provided by Insects. BioScience 56, 311–323. https://doi.org/10.1641/0006-3568(2006)56[311:TEVOES]2.0.CO;2

Louzada, J.N.C., Carvalho E Silva, P.R., 2009. Utilisation of introduced Brazilian pastures ecosystems by native dung beetles: diversity patterns and resource use. Insect Conserv. Divers. 2, 45–52. https://doi.org/10.1111/j.1752-4598.2008.00038.x

Love, S., Murphy, D., Mellor, D., 1999. Pathogenicity of cyathostome infection. Vet. Parasitol. 85, 113–122. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00092-8

Luke, S.H., Roy, H.E., Thomas, C.D., Tilley, L.A.N., Ward, S., Watt, A., Carnaghi, M., Jaworski, C.C., Tercel, M.P.T.G., Woodrow, C., Aown, S., Banfield-Zanin, J.A., Barnsley, S.L., Berger, I., Brown, M.J.F., Bull, J.C., Campbell, H., Carter, R.A.B., Charalambous, M., Cole, L.J., Ebejer, M.J., Farrow, R.A., Fartyal, R.S., Grace, M., Highet, F., Hill, J.K., Hood, A.S.C., Kent, E.S., Krell, F.-T., Leather, S.R., Leybourne, D.J., Littlewood, N.A., Lyons, A., Matthews, G., Mc Namara, L., Menéndez, R., Merrett, P., Mohammed, S., Murchie, A.K., Noble, M., Paiva, M.-R., Pannell, M.J., Phon, C.-K., Port, G., Powell, C., Rosell, S., Sconce, F., Shortall, C.R., Slade, E.M., Sutherland, J.P., Weir, J.C., Williams, C.D., Zielonka, N.B., Dicks, L.V., 2023. Grand challenges in entomology: Priorities for action in the coming decades. Insect Conserv. Divers. 16, 173–189. https://doi.org/10.1111/icad.12637

Lumaret, J.-P., 1978. Biogéographie et écologie des Scarabéides coprophages du sud de la France (PhD Thesis). Université des Sciences et Techniques du Languedoc.

Lumaret, J.-P., Alvinerie, M., Hempel, H., Schallnaß, H.-J., Claret, D., Römbke, J., 2007. New screening test to predict the potential impact of ivermectin-contaminated cattle dung on dung beetles. Vet. Res. 38, 15–24. https://doi.org/10.1051/vetres:2006041

Lumaret, J.-P., Errouissi, F., Floate, K., Römbke, J., Wardhaugh, K., 2012. A Review on the Toxicity and Non-Target Effects of Macrocyclic Lactones in Terrestrial and Aquatic Environments. Curr. Pharm. Biotechnol. 13, 1004–1060. https://doi.org/10.2174/138920112800399257

Lumaret, J.-P., Kadiri, N., Bertrand, M., 1992. Changes in resources: consequences from the dynamics of dung beetle communities. J. Appl. Ecol. 29. https://doi.org/10.2307/2404504

Lumaret, J.P., Kirk, A., 1987. Ecology of dung beetlles in the French Mediterranean region (Coleoptera: Scarabaeidae). ACTA Zool. Mex. NS 1–55. https://doi.org/10.21829/azm.1987.19242038

Lymbery, A.J., Smit, N.J., 2023. Conservation of parasites: A primer. Int. J. Parasitol. Parasites Wildl. 21, 255–263. https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2023.07.001

Lynsdale, C.L., Mon, N.O., Franco dos Santos, D.J., Aung, H.H., Nyein, U.K., Htut, W., Childs, D., Lummaa, V., 2020. Demographic and reproductive associations with nematode infection in a long-lived mammal. Sci. Rep. 10, 9214. https://doi.org/10.1038/s41598-020-66075-w

Lynsdale, C.L., Seltmann, M.W., Mon, N.O., Aung, H.H., Nyein, Uk., Htut, W., Lahdenperä, M., Lummaa, V., 2022. Investigating associations between nematode infection and three measures of sociality in Asian elephants. Behav. Ecol. Sociobiol. 76, 87. https://doi.org/10.1007/s00265-022-03192-8

Lyons, E.T., Tolliver, S.C., 2015. Review of some features of the biology of Strongyloides westeri with emphasis on the life cycle. Helminthologia 52, 3–5. https://doi.org/10.1515/helmin-2015-0004

Lyons, E.T., Tolliver, S.C., Drudge, J.H., 1999. Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. Vet. Parasitol. 85, 97–112. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00091-6

Macedo, R., Audino, L.D., Korasaki, V., Louzada, J., 2020. Conversion of Cerrado savannas into exotic pastures: The relative importance of vegetation and food resources for dung beetle assemblages. Agric. Ecosyst. Environ. 288, 106709. https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106709

Mahieu, M., 2013. Effects of stocking rates on gastrointestinal nematode infection levels in a goat/cattle rotational stocking system. Vet. Parasitol. 198, 136–144. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.029

Maina, L.G., Maingi, N., Waruiru, R.M., Gakuya, F., Kanduma, E.G., others, 2023. Molecular Studies of Gastrointestinal Strongyle Nematodes in Migratory, Resident, and Sedentary Plains Zebras (Equus quagga) in Kenya: Gastrointestinal Strongyle Nematodes in Zebras. Int. J. Equine Sci. 2, 47–55.

Mamantov, M.A., Sheldon, K.S., 2024. Higher heat acclimation ability in a non-native versus a native dung beetle (Onthophagus

spp.). Biol. Invasions 27, 47. https://doi.org/10.1007/s10530-024-03511-2

Manning, P., Slade, E.M., Beynon, S.A., Lewis, O.T., 2016. Functionally rich dung beetle assemblages are required to provide multiple ecosystem services. Agric. Ecosyst. Environ. 218, 87–94. https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.11.007

Manns, S., Holley, J., Hemmings, Z., Andrew, N., 2020. Behavioral Ecology and Secondary Seed Dispersal by Two Roller Dung Beetles, Sisyphus rubrus (Paschalidis, 1974) and Sisyphus spinipes (Thunberg, 1818) (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae). Coleopt. Bull. 74. https://doi.org/10.1649/0010-065X-74.4.849

Martin, G., Barth, K., Benoit, M., Brock, C., Destruel, M., Dumont, B., Grillot, M., Hübner, S., Magne, M.-A., Moerman, M., Mosnier, C., Parsons, D., Ronchi, B., Schanz, L., Steinmetz, L., Werne, S., Winckler, C., Primi, R., 2020. Potential of multi-species livestock farming to improve the sustainability of livestock farms: A review. Agric. Syst. 181, 102821. https://doi.org/10.1016/j.agsy.2020.102821

Martinez-Bakker, M., Helm, B., 2015. The influence of biological rhythms on host–parasite interactions. Trends Ecol. Evol. 30, 314–326. https://doi.org/10.1016/j.tree.2015.03.012

Martínez-Hernández, N.J., Rangel-Acosta, J.L., Beltrán-Díaz, H.J., Daza-Guerra, C.A., 2022. ¡El tamaño sí importa! Incidencia del tamaño del cebo en la captura de escarabajos coprófagos en el bosque seco tropical.

Martín-Piera, F., Lobo, J., 1996. A comparative discussion of trophic preferences in dung beetle communities. Miscel· Lània Zoològica 13–31.

Martin-Rosset, W., 2012. Alimentation des chevaux: tables des apports alimentaires Inra 2011. Editions Quae.

Matiza, T., and Kruger, M., 2021. Ceding to their fears: a taxonomic analysis of the heterogeneity in COVID-19 associated perceived risk and intended travel behaviour. Tour. Recreat. Res. 46, 158–174. https://doi.org/10.1080/02508281.2021.1889793

Matthews, J.B., 2014. Anthelmintic resistance in equine nematodes. Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist., Includes articles from two meetings: "Anthelmintics: From Discovery to Resistance", pp. 218--315, and "Global Challenges for New Drug Discovery Against Tropical Parasitic Diseases", pp. 316--357 4, 310–315. https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2014.10.003

Maxwell, S.L., Fuller, R.A., Brooks, T.M., Watson, J.E.M., 2016. Biodiversity: The ravages of guns, nets and bulldozers. Nature 536, 143–145. https://doi.org/10.1038/536143a

McCullagh, P., 2019. Generalized Linear Models, 2nd ed. Routledge, New York. https://doi.org/10.1201/9780203753736

McDonnell, S.M., Haviland, J.C.S., 1995. Agonistic ethogram of the equid bachelor band. Appl. Anim. Behav. Sci. 43, 147–188. https://doi.org/10.1016/0168-1591(94)00550-X

McDonnell, S.M., Poulin, A., 2002. Equid play ethogram. Appl. Anim. Behav. Sci., Equine Behavior 78, 263–290. https://doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00112-0

Mena, J., Galante, E., Lumbreras, C.-J., 1989. Daily flight activity of Scarabaeidae and Geotrupidae (Col.) and analysis of the factors determining this activity. Ecol. Mediterr. 15, 69–80. https://doi.org/10.3406/ecmed.1989.1635

Merlin, A., Larcher, N., Vallé-Casuso, J.-C., 2024a. The first report of triple anthelmintic resistance on a French Thoroughbred stud farm. Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist. 24, 100528. https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2024.100528

Merlin, A., Ravinet, N., Briot, L., Chauvin, A., Hébert, L., Valle-Casuso, J.-C., Delerue, M., 2024b. Prevalence and seasonal dynamic of gastrointestinal parasites in equids in France during two years. Prev. Vet. Med. 223, 106100. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2023.106100

Merlin, A., Ravinet, N., Sévin, C., Bernez-Romand, M., Petry, S., Delerue, M., Briot, L., Chauvin, A., Tapprest, J., Hébert, L., 2022. Effect of temperature on the development of the free-living stages of horse cyathostomins. Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep. 28, 100687. https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2022.100687

Merridale-Punter, M.S., Wiethoelter, A.K., El-Hage, C.M., Patrick, C., Hitchens, P.L., 2024. Common clinical findings identified in working equids in low- and middle-income countries from 2005 to 2021. PLOS ONE 19, e0304755. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0304755

Mesa, L., Gutiérrez, Ma.F., Montalto, L., Perez, V., Lifschitz, A., 2020. Concentration and environmental fate of ivermectin in floodplain wetlands: An ecosystem approach.

Sci. Total Environ. 706, 135692. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135692

meteociel [WWW Document], 2024. URL https://www.meteociel.fr/obs/clim/normales_records.php?code=66136001

Michel, J.F., 1955. Parasitological Significance of Bovine Grazing Behaviour. Nature 175, 1088–1089. https://doi.org/10.1038/1751088a0

Milazzo, F., Francksen, R.M., Zavattaro, L., Abdalla, M., Hejduk, S., Enri, S.R., Pittarello, M., Price, P.N., Schils, R.L.M., Smith, P., Vanwalleghem, T., 2023. The role of grassland for erosion and flood mitigation in Europe: A meta-analysis. Agric. Ecosyst. Environ. 348, 108443. https://doi.org/10.1016/j.agee.2023.108443

Mills, D.S., McDonnell, S.M., 2005. The Domestic Horse: The Origins, Development and Management of Its Behaviour. Cambridge University Press.

Milotić, T., Baltzinger, C., Eichberg, C., Eycott, A.E., Heurich, M., Müller, J., Noriega, J.A., Menendez, R., Stadler, J., Ádám, R., Bargmann, T., Bilger, I., Buse, J., Calatayud, J., Ciubuc, C., Boros, G., Hauso, M., Jay-Robert, P., Kruus, M., Merivee, E., Miessen, G., Must, A., Ardali, E.O., Preda, E., Rahimi, I., Rohwedder, D., Rose, R., Slade, E.M., Somay, L., Tahmasebi, P., Ziani, S., Hoffmann, M., 2018. Dung beetle assemblages, dung removal and secondary seed dispersal: data from a large-scale, multi-site experiment in the Western Palaearctic. Front. Biogeogr. 10. https://doi.org/10.21425/F5FBG37289

Miranda, R., Escribano, N., Casas, M., Pino-del-Carpio, A., Villarroya, A., 2023. The Role of Zoos and Aquariums in a Changing World. Annu. Rev. Anim. Biosci. 11, 287–306. https://doi.org/10.1146/annurev-animal-050622-104306

Mirck, M.H., 1977. [Strongyloides westeri Ihle, 1917 (Nematoda: Strongyloididae). I. Parasitological features of natural infection (author's transl)]. Tijdschr. Diergeneeskd. 102, 1039–1043.

Moerman, T.M., Albon, S.D., Coulson, S.J., Loe, L.E., 2023. Climate change effects on terrestrial parasitic nematodes: Where are the knowledge gaps? J. Helminthol. 97, e94. https://doi.org/10.1017/S0022149X23000652

Morgan, E.R., Aziz, N.-A.A., Blanchard, A., Charlier, J., Charvet, C., Claerebout, E., Geldhof, P., Greer, A.W., Hertzberg, H., Hodgkinson, J., Höglund, J., Hoste, H., Kaplan, R.M., Martínez-Valladares, M., Mitchell, S., Ploeger, H.W., Rinaldi, L., von Samson-Himmelstjerna, G., Sotiraki, S., Schnyder, M., Skuce, P., Bartley, D., Kenyon, F., Thamsborg, S.M., Vineer, H.R., de Waal, T., Williams, A.R., van Wyk, J.A., Vercruysse, J., 2019. 100 Questions in Livestock Helminthology Research. Trends Parasitol. 35, 52–71. https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.10.006

Morgan Fleming, J., Carter, A.W., Sheldon, K.S., 2021. Dung beetles show metabolic plasticity as pupae and smaller adult body size in response to increased temperature mean and variance. J. Insect Physiol. 131, 104215. https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2021.104215

Moss, A., Esson, M., 2013. The Educational Claims of Zoos: Where Do We Go from Here? Zoo Biol. 32, 13–18. https://doi.org/10.1002/zoo.21025

Müller-Klein, N., Heistermann, M., Strube, C., Morbach, Z.M., Lilie, N., Franz, M., Schülke, O., Ostner, J., 2019. Physiological and social consequences of gastrointestinal nematode infection in a nonhuman primate. Behav. Ecol. 30, 322–335. https://doi.org/10.1093/beheco/ary168

Murphy, D., Keane, M.P., Chandler, K.J., Goulding, R., 1997. Cyathostome-associated disease in the horse: Investigation and management of four cases. Equine Vet. Educ. 9, 247–252. https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.1997.tb01318.x

Mysterud, A., 2006. The concept of overgrazing and its role in management of large herbivores. Wildl. Biol. 12, 129–141. https://doi.org/10.2981/0909-6396(2006)12[129:TCOOAI]2.0.CO;2

Nápravníková, J., Petrtýl, M., Stupka, R., Vadlejch, J., 2019. Reliability of three common fecal egg counting techniques for detecting strongylid and ascarid infections in horses. Vet. Parasitol. 272, 53–57. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.07.001

Negro, M., Rolando, A., Palestrini, C., 2011. The Impact of Overgrazing on Dung Beetle Diversity in the Italian Maritime Alps. Environ. Entomol. 40, 1081–1092. https://doi.org/10.1603/EN11105

Nekolnỳ, L., Fialová, D., 2018. Zoo tourism: what actually is a zoo? Czech J. Tour. 7, 153–166.

Nervo, B., Caprio, E., Celi, L., Lonati, M., Lombardi, G., Falsone, G., Iussig, G., Palestrini, C., Said-Pullicino, D., Rolando, A., 2017. Ecological functions provided by dung bee-

tles are interlinked across space and time: evidence from 15N isotope tracing. Ecology 98, 433–446. https://doi.org/10.1002/ecy.1653

Neumann, C., Duboscq, J., Dubuc, C., Ginting, A., Irwan, A.M., Agil, M., Widdig, A., Engelhardt, A., 2011. Assessing dominance hierarchies: validation and advantages of progressive evaluation with Elo-rating. Anim. Behav. 82, 911–921. https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.07.016

Neumann, C., Kulik, L., 2014a. EloRating-a brief tutorial. R Package Version 43, 1–26.

Neumann, C., Kulik, L., 2014b. EloRating: Animal Dominance Hierarchies by Elo Rating. https://doi.org/10.32614/CRAN.package.EloRating

Newman, M., 2010. Networks. Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199206650.001.0001

Nichols, E., Gardner, T.A., Peres, C.A., Spector, S., The Scarabaeinae Research Network, 2009. Co-declining mammals and dung beetles: an impending ecological cascade. Oikos 118, 481–487. https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17268.x

Nichols, E., Gómez, A., 2011. Conservation education needs more parasites. Biol. Conserv. 144, 937–941.

Nichols, E., Spector, S., Louzada, J., Larsen, T., Amezquita, S., Favila, M.E., 2008. Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. Biol. Conserv. 141, 1461–1474. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.04.011

Nielsen, M., Reinemeyer, C., 2018. Chapter 1. Biology and Life Cycles of Equine Parasites, in: Handbook of Equine Parasite Control. pp. 1–23. https://doi.org/10.1002/9781119382829.ch1

Nielsen, M.K., 2022. Parasite faecal egg counts in equine veterinary practice. Equine Vet. Educ. 34, 584–591. https://doi.org/10.1111/eve.13548

Nielsen, M.K., 2012. Sustainable equine parasite control: Perspectives and research needs. Vet. Parasitol. 185, 32–44. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.10.012

Nielsen, M.K., Branan, M.A., Wiedenheft, A.M., Digianantonio, R., Garber, L.P., Kopral, C.A., Phillippi-Taylor, A.M., Traub-Dargatz, J.L., 2018a. Parasite control strategies used by equine owners in the United States: A national survey. Vet. Parasitol. 250, 45–51. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.12.012

Nielsen, M.K., Branan, M.A., Wiedenheft, A.M., Digianantonio, R., Scare, J.A., Bellaw, J.L., Garber, L.P., Kopral, C.A., Phillippi-Taylor, A.M., Traub-Dargatz, J.L., 2018b. Risk factors associated with strongylid egg count prevalence and abundance in the United States equine population. Vet. Parasitol. 257, 58–68. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.05.006

Nielsen, M.K., Gee, E.K., Hansen, A., Waghorn, T., Bell, J., Leathwick, D.M., 2021a. Monitoring equine ascarid and cyathostomin parasites: Evaluating health parameters under different treatment regimens. Equine Vet. J. 53, 902–910. https://doi.org/10.1111/evj.13374

Nielsen, M.K., Kaplan, R.M., Thamsborg, S.M., Monrad, J., Olsen, S.N., 2007. Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: Implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. Vet. J. 174, 23–32. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.05.009

Nielsen, M.K., Lyons, E.T., 2017. Encysted cyathostomin larvae in foals – progression of stages and the effect of seasonality. Vet. Parasitol. 236, 108–112. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.02.013

Nielsen, M.K., Martin, A.N., Scare, J.A., Steuer, A.E., 2021b. Precision and spatial variation of cyathostomin mucosal larval counts. Vet. Parasitol. 290, 109349. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109349

Nielsen, M.K., Mittel, L., Grice, A., Erskine, M., Graves, E., Vaala, W., Tully, R.C., French, D.D., Bowman, R., Kaplan, R.M., 2016. AAEP parasite control guidelines, Am. Assoc. Equine Pract.

Nielsen, M.K., Reinemeyer, C.R., Donecker, J.M., Leathwick, D.M., Marchiondo, A.A., Kaplan, R.M., 2014. Anthelmintic resistance in equine parasites—Current evidence and knowledge gaps. Vet. Parasitol., Special Issue: Antiparasitic Drug Use and Resistance in Cattle, Small Ruminants and Equines in the United States - Current Status and Global Perspectives 204, 55–63. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.11.030

Nielsen, M.K., Sauermann, C.W., Leathwick, D.M., 2019. The effect of climate, season, and treatment intensity on anthelmintic resistance in cyathostomins: A modelling exercise. Vet. Parasitol. 269, 7–12. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.04.003

Nielsen, M.K., Slusarewicz, P., Kuzmina, T.A., Denwood, M.J., 2024. US-wide equine strongylid egg count data demonstrate seasonal and regional trends. Parasitology 1–8. https://doi.org/10.1017/S0031182024000489

Nin, N., Sanchez, C., 2023. Continuités et discontinuités à la fin du IIe siècle avant J.-C. dans le sud de la Gaule, in: Guichard, V. (Ed.), Continuités et Discontinuités à La Fin Du IIe Siècle Avant Notre Ère Dans l'espace Celtique et à Sa Périphérie. pp. 33–68.

Noriega, J.A., Hortal, J., deCastro-Arrazola, I., Alves-Martins, F., Ortega, J.C.G., Bini, L.M., Andrew, N.R., Arellano, L., Beynon, S., Davis, A.L.V., Favila, M.E., Floate, K.D., Horgan, F.G., Menéndez, R., Milotic, T., Nervo, B., Palestrini, C., Rolando, A., Scholtz, C.H., Senyüz, Y., Wassmer, T., Ádam, R., Araújo, C. de O., Barragan-Ramírez, J.L., Boros, G., Camero-Rubio, E., Cruz, M., Cuesta, E., Damborsky, M.P., Deschodt, C.M., Rajan, P.D., D'hondt, B., Díaz Rojas, A., Dindar, K., Escobar, F., Espinoza, V.R., Ferrer-Paris, J.R., Gutiérrez Rojas, P.E., Hemmings, Z., Hernández, B., Hill, S.J., Hoffmann, M., Jay-Robert, P., Lewis, K., Lewis, M., Lozano, C., Marín-Armijos, D., de Farias, P.M., Murcia-Ordoñez, B., Karimbumkara, S.N., Navarrete-Heredia, J.L., Ortega-Echeverría, C., Pablo-Cea, J.D., Perrin, W., Pessoa, M.B., Radhakrishnan, A., Rahimi, I., Raimundo, A.T., Ramos, D.C., Rebolledo, R.E., Roggero, A., Sánchez-Mercado, A., Somay, L., Stadler, J., Tahmasebi, P., Triana Céspedes, J.D., Santos, A.M.C., 2023. Dung removal increases under higher dung beetle functional diversity regardless of grazing intensification. Nat. Commun. 14, 8070. https://doi.org/10.1038/s41467-023-43760-8

Northover, A.S., Lymbery, A.J., Wayne, A.F., Godfrey, S.S., Thompson, R.C.A., 2018. The hidden consequences of altering host-parasite relationships during fauna translocations. Biol. Conserv. 220, 140–148. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.12.037

Numa, C., Tonelli, M., Lobo, J.M., Verdú, J.R., Lumaret, J.-P., Sánchez-Piñero, F., Ruiz, J.L., Dellacasa, M., Ziani, S., Arriaga, A., Cabrero, F., Labidi, I., Barrios, V., Şenyüz, Y., Anlaş, S., 2020. The conservation status and distribution of Mediterranean dung beetles. IUCN, Gland, Switzerland. https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2020.RA.1.en

Nunn, C.L., Jordán, F., McCabe, C.M., Verdolin, J.L., Fewell, J.H., 2015. Infectious disease and group size: more than just a numbers game. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 370, 20140111. https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0111

Ödberg, F.O., Francis-Smith, K., 1977. Studies on the formation of ungrazed eliminative areas in fields used by horses. Appl. Anim. Ethol. 3, 27–34. https://doi.org/10.1016/0304-3762(77)90068-2

Ogbein, K.E., Dogo, A.G., Oshadu, D.O., Edeh, E.R., 2022. Gastrointestinal parasites of horses and their socio-economic impact in Jos Plateau – Nigeria. Appl. Vet. Res. 1, 2022010–2022010. https://doi.org/10.31893/avr.2022010

Ogbourne, C.P., 1973. Survival on Herbage Plots of Infective Larvae of Strongylid Nematodes of the Horse. J. Helminthol. 47, 9–16. https://doi.org/10.1017/S0022149X00023695

O'hea, N.M., Kirwan, L., Giller, P.S., Finn, J.A., 2010. Lethal and sub-lethal effects of ivermectin on north temperate dung beetles, Aphodius ater and Aphodius rufipes (Coleoptera: Scarabaeidae). Insect Conserv. Divers. 3, 24–33. https://doi.org/10.1111/j.1752-4598.2009.00068.x

Oikonomou, D., Vrahnakis, M., Yiakoulaki, M., Xanthopoulos, G., Kazoglou, Y., 2023. Grazing as a Management Tool in Mediterranean Pastures: A Meta-Analysis Based on A Literature Review. Land 12, 1290. https://doi.org/10.3390/land12071290

Olson, R.S., Haley, P.B., Dyer, F.C., Adami, C., 2015. Exploring the evolution of a trade-off between vigilance and foraging in group-living organisms. R. Soc. Open Sci. 2, 150135. https://doi.org/10.1098/rsos.150135

Oppel, J., Broll, G., Löffler, D., Meller, M., Römbke, J., Ternes, T., 2004. Leaching behaviour of pharmaceuticals in soil-testing-systems: a part of an environmental risk assessment for groundwater protection. Sci. Total Environ. 328, 265–273. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.02.004

Outhwaite, C.L., McCann, P., Newbold, T., 2022. Agriculture and climate change are reshaping insect biodiversity worldwide. Nature 605, 97–102. https://doi.org/10.1038/s41586-022-04644-x

Ozogány, K., Kerekes, V., Fülöp, A., Barta, Z., Nagy, M., 2023. Fine-scale collective movements reveal present, past and future dynamics of a multilevel society in Przewalski's horses 5096.

Paine, R.T., 1995. A Conversation on Refining the Concept of Keystone Species. Conserv. Biol. 9, 962–964.

REFERENCES

Paine, R.T., 1969. A Note on Trophic Complexity and Community Stability. Am. Nat. 103, 91–93. https://doi.org/10.1086/282586

Palomero, A.M., Hernández, J.A., Cazapal-Monteiro, C.F., Balán, F.A., Silva, M.I., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., Vázquez, M.S.A., 2018. Implementation of Biological Control to the Integrated Control of Strongyle Infection among Wild Captive Equids in a Zoological Park. BioMed Res. Int. 2018, e4267683. https://doi.org/10.1155/2018/4267683

Pan, F., Yan, R., Zhao, J., Li, L., Hu, Y., Jiang, Y., Shen, J., McLaughlin, N.B., Zhao, D., Xin, X., 2022. Effects of grazing intensity on soil nematode community structure and function in different soil layers in a meadow steppe. Plant Soil 471, 33–46. https://doi.org/10.1007/s11104-021-05096-4

Panel (OHHLEP), O.H.H.-L.E., Adisasmito, W.B., Almuhairi, S., Behravesh, C.B., Bilivogui, P., Bukachi, S.A., Casas, N., Becerra, N.C., Charron, D.F., Chaudhary, A., Zanella, J.R.C., Cunningham, A.A., Dar, O., Debnath, N., Dungu, B., Farag, E., Gao, G.F., Hayman, D.T.S., Khaitsa, M., Koopmans, M.P.G., Machalaba, C., Mackenzie, J.S., Markotter, W., Mettenleiter, T.C., Morand, S., Smolenskiy, V., Zhou, L., 2022. One Health: A new definition for a sustainable and healthy future. PLOS Pathog. 18, e1010537. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010537

Patterson, J.E.H., Ruckstuhl, K.E., 2013. Parasite infection and host group size: a meta-analytical review. Parasitology 140, 803–813. https://doi.org/10.1017/S0031182012002259

Paulian, R., Baraud, J., 1982. Faune des coléoptères de France. Tome 2: Lucanoidéa et scarabaéoidea. Dunod, Paris.

Pedersen, A.B., Antonovics, J., 2013. Anthelmintic treatment alters the parasite community in a wild mouse host. Biol. Lett. 9, 20130205. https://doi.org/10.1098/rsbl.2013.0205

Pedersen, A.B., Fenton, A., 2007. Emphasizing the ecology in parasite community ecology. Trends Ecol. Evol. 22, 133–139. https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.005

Peng, Z., Shen, D., Zhang, D., Li, X., Wang, L., Zhai, Q., Hou, Z., Li, H., 2019. Genetic characteristics and phylogenetic relationship of Parascaris spp. from Equus zebra, E. caballus, and E. asinus. Vet. Parasitol. 271, 76–79. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.06.013

Peregrine, A.S., Molento, M.B., Kaplan, R.M., Nielsen, M.K., 2014. Anthelmintic resistance in important parasites of horses: Does it really matter? Vet. Parasitol. 201, 1–8. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.01.004

Perera, N.N., Weston, P.A., Barrow, R.A., Weston, L.A., Gurr, G.M., 2022. Contrasting Volatilomes of Livestock Dung Drive Preference of the Dung Beetle Bubas bison (Coleoptera: Scarabaeidae). Molecules 27, 4152. https://doi.org/10.3390/molecules27134152

Pérez, R., Cabezas, I., Sutra, J.F., Galtier, P., Alvinerie, M., 2001. Faecal Excretion Profile of Moxidectin and Ivermectin after Oral Administration in Horses. Vet. J. 161, 85–92. https://doi.org/10.1053/tvjl.2000.0521

Perrin, W., Fontana, S., Coq, S., Berlioz, L., Jay-Robert, P., Moretti, M., 2021. The Influence of Fine-Scale Grazing Heterogeneity on Dung Beetle Assemblages: What Trait Analysis Teaches Us. Environ. Entomol. 50, 1332–1343. https://doi.org/10.1093/ee/nvab091

Perrin, W., Jay-Robert, P., Buatois, B., Tatin, L., 2019. A Comparative Analysis of Dung Beetle Assemblages (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae, Aphodiinae) Attracted to Sheep and Little Bustard Excrement in Southern France. Coleopt. Bull. 73, 185–192. https://doi.org/10.1649/0010-065X-73.1.185

Perrin, W., Moretti, M., Vergnes, A., Borcard, D., Jay-Robert, P., 2020. Response of dung beetle assemblages to grazing intensity in two distinct bioclimatic contexts. Agric. Ecosyst. Environ. 289, 106740. https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106740

Piccini, I., Arnieri, F., Caprio, E., Nervo, B., Pelissetti, S., Palestrini, C., Roslin, T., Rolando, A., 2017. Greenhouse gas emissions from dung pats vary with dung beetle species and with assemblage composition. PLOS ONE 12, e0178077. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178077

Pimm, S.L., Jenkins, C.N., Abell, R., Brooks, T.M., Gittleman, J.L., Joppa, L.N., Raven, P.H., Roberts, C.M., Sexton, J.O., 2014. The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection. Science 344. https://doi.org/10.1126/science.1246752

Pineaux, M., Grateau, S., Lirand, T., Aupinel, P., Richard, F.-J., 2023. Honeybee queen exposure to a widely used fungicide disrupts reproduction and colony dynamic.

Environ. Pollut. 322, 121131. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121131

Pluháček, J., Bartoš, L., Čulík, L., 2006. High-ranking mares of captive plains zebra Equus burchelli have greater reproductive success than low-ranking mares. Appl. Anim. Behav. Sci. 99, 315–329. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2005.11.003

Podgórski, T., Apollonio, M., Keuling, O., 2018. Contact rates in wild boar populations: Implications for disease transmission. J. Wildl. Manag. 82, 1210–1218. https://doi.org/10.1002/jwmg.21480

Pokhrel, M.R., Cairns, S.C., Andrew, N.R., 2020. Dung beetle species introductions: when an ecosystem service provider transforms into an invasive species. PeerJ 8, e9872. https://doi.org/10.7717/peerj.9872

Pokhrel, M.R., Cairns, S.C., Hemmings, Z., Floate, K.D., Andrew, N.R., 2021. A Review of Dung Beetle Introductions in the Antipodes and North America: Status, Opportunities, and Challenges. Environ. Entomol. 50, 762–780. https://doi.org/10.1093/ee/nvab025

Popova, I.E., Bair, D.A., Tate, K.W., Parikh, S.J., 2013. Sorption, Leaching, and Surface Runoff of Beef Cattle Veterinary Pharmaceuticals under Simulated Irrigated Pasture Conditions. J. Environ. Qual. 42, 1167–1175. https://doi.org/10.2134/jeq2013.01.0012

Poulin, R., 2007. Are there general laws in parasite ecology? Parasitology 134, 763–776. https://doi.org/10.1017/S0031182006002150

Power, M.E., Tilman, D., Estes, J.A., Menge, B.A., Bond, W.J., Mills, L.S., Daily, G., Castilla, J.C., Lubchenco, J., Paine, R.T., 1996. Challenges in the Quest for Keystones: Identifying keystone species is difficult—but essential to understanding how loss of species will affect ecosystems. BioScience 46, 609–620. https://doi.org/10.2307/1312990

Preston, D.L., Mischler, J.A., Townsend, A.R., Johnson, P.T.J., 2016. Disease Ecology Meets Ecosystem Science. Ecosystems 19, 737–748. https://doi.org/10.1007/s10021-016-9965-2

prevision-meteo [WWW Document], 2024. URL https://www.prevision-meteo.ch/climat/annuel/perpignan-rivesaltes

Priel, A., Silberberg, S.D., 2004. Mechanism of Ivermectin Facilitation of Human P2X4 Receptor Channels. J. Gen. Physiol. 123, 281–293. https://doi.org/10.1085/jgp.200308986

Purvis, A., Molnár, Z., Obura, D., Ichii, K., Willis, K., Chettri, N., Dulloo, M., Hendry, A., Gabrielyan, B., Gutt, J., Jacob, U., Keskin, E., Niamir, A., Öztürk, B., Salimov, R., Jaureguiberry, P., 2019. Chapter 2.2 Status and Trends – Nature. Zenodo. https://doi.org/10.5281/zenodo.5517457

QGIS Development Team, 2024. QGIS Geographic Information System.

Quéméré, E., Hessenauer, P., Galan, M., Fernandez, M., Merlet, J., Chaval, Y., Morellet, N., Verheyden, H., Gilot-Fromont, E., Charbonnel, N., 2021. Pathogen-mediated selection favours the maintenance of innate immunity gene polymorphism in a widespread wild ungulate. J. Evol. Biol. 34, 1156–1166. https://doi.org/10.1111/jeb.13876

R Core Team, 2023. R: A Language and Environment for Statistical Computing.

Raine, E.H., Mikich, S.B., Lewis, O.T., Riordan, P., Vaz-de-Mello, F.Z., Slade, E.M., 2018. Extinctions of interactions: quantifying a dung beetle–mammal network. Ecosphere 9, e02491. https://doi.org/10.1002/ecs2.2491

Ransom, J., Cade, B., 2009. Quantifying Equid Behavior—A Research Ethogram for Free-Roaming Feral Horses. Publ. US Geol. Surv.

Ransom, J.I., Kaczensky, P., 2016. Wild Equids: Ecology, Management, and Conservation. JHU Press.

Raven, P.H., Wagner, D.L., 2021. Agricultural intensification and climate change are rapidly decreasing insect biodiversity. Proc. Natl. Acad. Sci. 118, e2002548117. https://doi.org/10.1073/pnas.2002548117

Reid, S.W.J., Mair, T.S., Hillyer, M.H., Love, S., 1995. Epidemiological risk factors associated with a diagnosis of clinical cyathostomiasis in the horse. Equine Vet. J. 27, 127–130. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1995.tb03048.x

Reinemeyer, C.R., Smith, S.A., Gabel, A.A., Herd, R.P., 1986. Observations on the population dynamics of five cyathostome nematode species of horses in northern USA. Equine Vet. J. 18, 121–124. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1986.tb03564.x

Relf, V.E., Morgan, E.R., Hodgkinson, J.E., Matthews, J.B., 2013. Helminth egg excretion with regard to age, gender and management practices on UK Thoroughbred studs. Parasitology 140, 641–652. https://doi.org/10.1017/S0031182012001941

Relf, V.E., Morgan, E.R., Hodgkinson, J.E.,

REFERENCES

Matthews, J.B., 2012. A questionnaire study on parasite control practices on UK breeding Thoroughbred studs. Equine Vet. J. 44, 466–471. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2011.00493.x

Rendle, D., Austin, C., Bowen, M., Cameron, I., Furtado, T., Hodgkinson, J., McGorum, B., Matthews, J., 2019. Equine de-worming: a consensus on current best practice. UK-Vet Equine 3, 1–14. https://doi.org/10.12968/ukve.2019.3.S.3

Rendle, D., Hughes, K., Bowen, M., Bull, K., Cameron, I., Furtado, T., Peachey, L., Sharpe, L., Hodgkinson, J., 2024. BEVA primary care clinical guidelines: Equine parasite control. Equine Vet. J. 56, 392–423. https://doi.org/10.1111/evj.14036

Ridsdill-Smith, T.J., Edwards, P.B., 2011. Biological Control: Ecosystem Functions Provided by Dung Beetles, in: Ecology and Evolution of Dung Beetles. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 245–266. https://doi.org/10.1002/9781444342000.ch12

Rigal, S., Dakos, V., Alonso, H., Auniņš, A., Benkő, Z., Brotons, L., Chodkiewicz, T., Chylarecki, P., de Carli, E., del Moral, J.C., Domşa, C., Escandell, V., Fontaine, B., Foppen, R., Gregory, R., Harris, S., Herrando, S., Husby, M., Ieronymidou, C., Jiguet, F., Kennedy, J., Klvaňová, A., Kmecl, P., Kuczyński, L., Kurlavičius, P., Kålås, J.A., Lehikoinen, A., Lindström, Å., Lorrillière, R., Moshøj, C., Nellis, R., Noble, D., Eskildsen, D.P., Paquet, J.-Y., Pélissié, M., Pladevall, C., Portolou, D., Reif, J., Schmid, H., Seaman, B., Szabo, Z.D., Szép, T., Florenzano, G.T., Teufelbauer, N., Trautmann, S., van Turnhout, C., Vermouzek, Z., Vikstrøm, T., Voříšek, P., Weiserbs, A., Devictor, V., 2023. Farmland practices are driving bird population decline across Europe. Proc. Natl. Acad. Sci. 120, e2216573120. https://doi.org/10.1073/pnas.2216573120

Rimbach, R., Bisanzio, D., Galvis, N., Link, A., Di Fiore, A., Gillespie, T.R., 2015. Brown spider monkeys (Ateles hybridus): a model for differentiating the role of social networks and physical contact on parasite transmission dynamics. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 370, 20140110. https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0110

Ritchie, H., Rosado, P., Roser, M., 2024. Meat and Dairy Production. Our World Data.

Ritchie, H., Roser, M., 2024. Land Use. Our World Data.

Rivera, J.D., Favila, M.E., 2022. Good news! Sampling intensity needed for accurate assessments of dung beetle diversity may be lower in the Neotropics. Front. Ecol. Evol. 10, 999488. https://doi.org/10.3389/fevo.2022.999488

Roberts, L., Janovy, J., Nadler, S., Gardner, S., 2024. Concepts in Animal Parasitology, Chapter 50: Ascaridoidea (Superfamily): Large Intestinal Nematodes. Concepts Anim. Parasitol. Textb.

Rocha, R.A., Bresciani, K.D.S., Barros, T.F.M., Fernandes, L.H., Silva, M.B., Amarante, A.F.T., 2008. Sheep and cattle grazing alternately: Nematode parasitism and pasture decontamination. Small Rumin. Res. 75, 135–143. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.09.001

Roe, K., McConney, A., Mansfield, C.F., 2014. The Role of Zoos in Modern Society—A Comparison of Zoos' Reported Priorities and What Visitors Believe They Should Be. Anthrozoös 27, 529–541. https://doi.org/10.2752/089279314X14072268687808

Roessner, E., Schoenfeld, J., Ahrens, D., 2010. Onthophagus (Palaeonthophagus) medius (Kugelann, 1792)–a good western palaearctic species in the Onthophagus vacca complex (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae: Onthophagini). Zootaxa 2629, 1–28.

Rohner, P.T., Jones, J.A., Moczek, A.P., 2024. Plasticity, symbionts and niche construction interact in shaping dung beetle development and evolution. J. Exp. Biol. 227, jeb245976. https://doi.org/10.1242/jeb.245976

Rolo, V., Moreno, G., 2019. Shrub encroachment and climate change increase the exposure to drought of Mediterranean wood-pastures. Sci. Total Environ. 660, 550–558. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.029

Römbke, J., Coors, A., Fernández, Á.A., Förster, B., Fernández, C., Jensen, J., Lumaret, J.-P., Cots, M.Á.P., Liebig, M., 2010. Effects of the parasiticide ivermectin on the structure and function of dung and soil invertebrate communities in the field (Madrid, Spain). Appl. Soil Ecol. 45, 284–292. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.05.004

Rose, P.E., Riley, L.M., 2022. Expanding the role of the future zoo: Wellbeing should become the fifth aim for modern zoos. Front. Psychol. 13. https://doi.org/10.3389/fpsyg.2022.1018722

Roslin, T., 2000. Dung beetle movements at two spatial scales. Oikos 91, 323–335. https://doi.org/10.1034/j.1600-

0706.2000.910213.x

Roux, S., 2023. L'Utilisation des nouvelles technologies, telle que la réalité virtuelle, dans les parcs animaliers à des fins de sensibilisation et d'éducation aux enjeux de conservation: le cas des orques (orcinus orca).

Roy, L., Bon, M.-C., Cesarini, C., Serin, J., Bonato, O., 2016. Pinpointing the level of isolation between two cryptic species sharing the same microhabitat: a case study with a scarabaeid species complex. Zool. Scr. 45, 407–420. https://doi.org/10.1111/zsc.12166

Rózsa, L., Garay, J., 2023. Definitions of parasitism, considering its potentially opposing effects at different levels of hierarchical organization. Parasitology 150, 761–768. https://doi.org/10.1017/S0031182023000598

RStudio Team, 2023. RStudio 2023.06.1+524 "Mountain Hydrangea" Release.

Rubenstein, D.I., 2010. Chapter 7 - Ecology, Social Behavior, and Conservation in Zebras, in: Macedo, R. (Ed.), Advances in the Study of Behavior, Behavioral Ecology of Tropical Animals. Academic Press, pp. 231–258. https://doi.org/10.1016/S0065-3454(10)42007-0

Rubenstein, D.I., Hack, M., 2004. Natural and sexual selection and the evolution of multi-level societies: insights from zebras with comparisons to primates, in: van Schaik, C.P., Kappeler, P.M. (Eds.), Sexual Selection in Primates: New and Comparative Perspectives. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 266–279. https://doi.org/10.1017/CBO9780511542459.017

Sallé, G., Guillot, J., Tapprest, J., Foucher, N., Sevin, C., Laugier, C., 2020. Compilation of 29 years of postmortem examinations identifies major shifts in equine parasite prevalence from 2000 onwards. Int. J. Parasitol. 50, 125–132. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2019.11.004

Salomão, R.P., Correa, C.M. de A., Santorelli Junior, S., Lima, A.P., Magnusson, W.E., Arruda, E.F., de Oliveira, A.P.V., Cabral, R.C.C., 2023. Species diet and the effect of different spatial bait distribution on assemblage of dung beetles in Amazonian white-sand forest. Int. J. Trop. Insect Sci. 43, 1153–1162. https://doi.org/10.1007/s42690-023-01012-8

Sanders, A.F.P., Baum, G.L., Harms, M.P., Kandala, S., Bookheimer, S.Y., Dapretto, M., Somerville, L.H., Thomas, K.M., Van Essen, D.C., Yacoub, E., Barch, D.M., 2022. Developmental trajectories of cortical thickness by functional brain network: The roles of pubertal timing and socioeconomic status. Dev. Cogn. Neurosci. 57, 101145. https://doi.org/10.1016/j.dcn.2022.101145

Šandlová, K., Komárková, M., Ceacero, F., 2020. Daddy, daddy cool: stallion–foal relationships in a socially-natural herd of Exmoor ponies. Anim. Cogn. 23, 781–793. https://doi.org/10.1007/s10071-020-01388-x

Sands, B., Mgidiswa, N., Curson, S., Nyamukondiwa, C., Wall, R., 2022. Dung beetle community assemblages in a southern African landscape: niche overlap between domestic and wild herbivore dung. Bull. Entomol. Res. 112, 131–142. https://doi.org/10.1017/S0007485321000742

Sargison, N., Chambers, A., Chaudhry, U., Costa Júnior, L., Doyle, S.R., Ehimiyein, A., Evans, M., Jennings, A., Kelly, R., Sargison, F., Sinclair, M., Zahid, O., 2022. Faecal egg counts and nemabiome metabarcoding highlight the genomic complexity of equine cyathostomin communities and provide insight into their dynamics in a Scottish native pony herd. Int. J. Parasitol. 52, 763–774. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2022.08.002

Sauermann, C.W., Nielsen, M.K., Luo, D., Leathwick, D.M., 2019. Modelling the development of anthelmintic resistance in cyathostomin parasites: The importance of genetic and fitness parameters. Vet. Parasitol. 269, 28–33. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.04.007

Saunders, M.E., Janes, J.K., O'Hanlon, J.C., 2020. Moving On from the Insect Apocalypse Narrative: Engaging with Evidence-Based Insect Conservation. BioScience 70, 80–89. https://doi.org/10.1093/biosci/biz143

Scala, A., Tamponi, C., Sanna, G., Predieri, G., Dessì, G., Sedda, G., Buono, F., Cappai, M.G., Veneziano, V., Varcasia, A., 2020. Gastrointestinal Strongyles Egg Excretion in Relation to Age, Gender, and Management of Horses in Italy. Animals 10, 2283. https://doi.org/10.3390/ani10122283

Scheuerle, M.C., Stear, M.J., Honeder, A., Becher, A.M., Pfister, K., 2016. Repeatability of strongyle egg counts in naturally infected horses. Vet. Parasitol. 228, 103–107. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.08.021

REFERENCES

Schilder, M.B.H., Boer, P.L., 1987. Ethological investigations on a herd of plains zebra in a safari park: Time-budgets, reproduction and food competition. Appl. Anim. Behav. Sci. 18, 45–56. https://doi.org/10.1016/0168-1591(87)90253-X

Schmucker, S., Preisler, V., Marr, I., Krüger, K., Stefanski, V., 2022. Single housing but not changes in group composition causes stress-related immunomodulations in horses. PLOS ONE 17, e0272445. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272445

Scholtz, C., Davis, A., Kryger, U., 2009. Evolutionary Biology and Conservation of Dung Beetle.

Schulz, A.K., Shriver, C., Aubuchon, C., Weigel, E.G., Kolar, M., Mendelson III, J.R., Hu, D.L., 2022. A Guide for Successful Research Collaborations between Zoos and Universities. Integr. Comp. Biol. 62, 1174–1185. https://doi.org/10.1093/icb/icac096

Schütz, K.E., Cave, V.M., Cox, N.R., Huddart, F.J., Tucker, C.B., 2019. Effects of 3 surface types on dairy cattle behavior, preference, and hygiene. J. Dairy Sci. 102, 1530–1541. https://doi.org/10.3168/jds.2018-14792

Seeber, P.A., Franz, M., Greenwood, A.D., East, M.L., 2019. Life history stage and extrinsic factors affect behavioural time allocation in plains zebras (Equus quagga) in the Serengeti ecosystem. Behav. Ecol. Sociobiol. 73, 126. https://doi.org/10.1007/s00265-019-2738-0

Seeber, P.A., Morrison, T., Ortega, A., East, M.L., Greenwood, A.D., Czirják, G.Á., 2020. Immune differences in captive and free-ranging zebras (Equus zebra and E. quagga). Mamm. Biol. 100, 155–164. https://doi.org/10.1007/s42991-020-00006-0

Shanebeck, K.M., Besson, A.A., Lagrue, C., Green, S.J., 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

Shearer, C.L., Ezenwa, V.O., 2020. Rainfall as a driver of seasonality in parasitism. Int. J. Parasitol. Parasites Wildl. 12, 8–12. https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2020.04.004

Shipley, L.A., Gross, J.E., Spalinger, D.E., Hobbs, N.T., Wunder, B.A., 1994. The Scaling of Intake Rate in Mammalian Herbivores. Am. Nat. 143, 1055–1082. https://doi.org/10.1086/285648

Shoop, W., Soll, M., 2002. Chemistry, pharmacology and safety of the macrocyclic lactones: ivermectin, abamectin and eprinomectin., in: Vercruysse, J., Rew, R.S. (Eds.), Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy. CABI, Wallingford, pp. 1–29. https://doi.org/10.1079/9780851996172.0001

Sigurjónsdóttir, H., Snorrason, S., Dierendonck, M. van, Thórhallsdóttir, A., 2003. Social relationships in a group of horses without a mature stallion. Behaviour 140, 783–804. https://doi.org/10.1163/156853903322370670

Sih, A., Spiegel, O., Godfrey, S., Leu, S., Bull, C.M., 2018. Integrating social networks, animal personalities, movement ecology and parasites: a framework with examples from a lizard. Anim. Behav. 136, 195–205. https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2017.09.008

Silk, M.J., Hodgson, D.J., Rozins, C., Croft, D.P., Delahay, R.J., Boots, M., McDonald, R.A., 2019. Integrating social behaviour, demography and disease dynamics in network models: applications to disease management in declining wildlife populations. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 374, 20180211. https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0211

Simmons, L.W., Ridsdill-Smith, T.J., 2011. Ecology and Evolution of Dung Beetles. John Wiley & Sons.

Simpson, G.L., 2019. gratia: Graceful 'ggplot'-Based Graphics and Other Functions for GAMs Fitted Using "mgcv." https://doi.org/10.32614/CRAN.package.gratia

Simpson, H.I., Rands, S.A., Nicol, C.J., 2012. Social structure, vigilance and behaviour of plains zebra (Equus burchellii): a 5-year case study of individuals living on a managed wildlife reserve. Acta Theriol. (Warsz.) 57, 111–120. https://doi.org/10.1007/s13364-011-0061-x

Smith, H.J., 1976. Strongyle infections in ponies. II. Reinfection of treated animals. Can. J. Comp. Med. 40, 334–340.

Soulsbury, C.D., Halsey, L.G., 2018. Does Physical Activity Age Wild Animals? Front. Ecol. Evol. 6. https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00222

Sowig, P., 1996. Brood care in the dung beetle Onthophagus vacca (Coleoptera: Scarabaeidae): the effect of soil moisture on time budget, nest structure, and reproductive success. Ecography 19, 254–258. https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.1996.tb01252.x

Sowig, P., 1995. Habitat selection and off-

spring survival rate in three paracoprid dung beetles: the influence of soil type and soil moisture. Ecography 18, 147–154. https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.1995.tb00335.x

Stanbrook-Buyer, R., Bhat, M., King, J.R., 2024. Economic value of dung removal by dung beetles in US sub-tropical pastures. Basic Appl. Ecol. 79, 123–130. https://doi.org/10.1016/j.baae.2024.07.001

Stancampiano, L., Gras, L.M., Poglayen, G., 2010. Spatial niche competition among helminth parasites in horse's large intestine. Vet. Parasitol. 170, 88–95. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.01.031

Stancampiano, L., Usai, F., 2015. The role of density-dependent arrested larval stages on parasite dynamics and stability: Lessons from nematodes and donkeys. Ecol. Model. 297, 69–79. https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2014.11.001

Steinfeld, H., Wassenaar, T., Jutzi, S., 2006. Livestock production systems in developing countries: status, drivers, trends 25(2), 505. https://doi.org/10.20506/rst.25.2.1677

Steuer, A.E., Anderson, H.P., Shepherd, T., Clark, M., Scare, J.A., Gravatte, H.S., Nielsen, M.K., 2022. Parasite dynamics in untreated horses through one calendar year. Parasit. Vectors 15, 50. https://doi.org/10.1186/s13071-022-05168-z

Stratford, C.H., McGORUM, B.C., Pickles, K.J., Matthews, J.B., 2011. An update on cyathostomins: Anthelmintic resistance and diagnostic tools. Equine Vet. J. 43, 133–139. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2011.00397.x

Strong, L., James, S., 1993. Some effects of ivermectin on the yellow dung fly, Scatophaga stercoraria. Vet. Parasitol. 48, 181–191. https://doi.org/10.1016/0304-4017(93)90154-F

Sueur, C., Petit, O., De Marco, A., Jacobs, A.T., Watanabe, K., Thierry, B., 2011. A comparative network analysis of social style in macaques. Anim. Behav. 82, 845–852. https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.07.020

Sutherland, W.J., Armstrong-Brown, S., Armsworth, P.R., Tom, B., Brickland, J., Campbell, C.D., Chamberlain, D.E., Cooke, A.I., Dulvy, N.K., Dusic, N.R., Fitton, M., Freckleton, R.P., Godfray, H.C.J., Grout, N., Harvey, H.J., Hedley, C., Hopkins, J.J., Kift, N.B., Kirby, J., Kunin, W.E., Macdonald, D.W., Marker, B., Naura, M., Neale, A.R., Oliver, T., Osborn, D., Pullin, A.S., Shardlow, M.E.A., Showler, D.A., Smith, P.L., Smithers, R.J., Solandt, J.-L., Spencer, J., Spray, C.J., Thomas, C.D., Thompson, J., Webb, S.E., Yalden, D.W., Watkinson, A.R., 2006. The identification of 100 ecological questions of high policy relevance in the UK. J. Appl. Ecol. 43, 617–627. https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2006.01188.x

Suttie, J.M., Reynolds, S.G., Batello, C., Food and Agriculture Organization of the United Nations (Eds.), 2005. Grasslands of the world, Plant production and protection series. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome.

Sweeny, A.R., Albery, G.F., 2022. Exposure and susceptibility: The Twin Pillars of infection. Funct. Ecol. 36, 1713–1726. https://doi.org/10.1111/1365-2435.14065

Tallamy, D.W., Shriver, W.G., 2021. Are declines in insects and insectivorous birds related? Ornithol. Appl. 123, duaa059. https://doi.org/10.1093/ornithapp/duaa059

Tansley, A.G., 1935. The Use and Abuse of Vegetational Concepts and Terms. Ecology 16, 284–307. https://doi.org/10.2307/1930070

Taraborelli, P., Gregorio, P., Moreno, P., Novaro, A., Carmanchahi, P., 2012. Cooperative vigilance: The guanaco's (Lama guanicoe) key antipredator mechanism. Behav. Processes 91, 82–89. https://doi.org/10.1016/j.beproc.2012.06.002

Teutscherová, N., Vázquez, E., Sotelo, M., Villegas, D., Velásquez, N., Baquero, D., Pulleman, M., Arango, J., 2021. Intensive short-duration rotational grazing is associated with improved soil quality within one year after establishment in Colombia. Appl. Soil Ecol. 159, 103835. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103835

Thalen, D.C.P., Poorter, H., Lotz, L.A.P., Oosterveld, P., 1987. Modelling the structural changes in vegetation under different grazing regimes, in: Van Andel, J., Bakker, J.P., Snaydon, R.W. (Eds.), Disturbance in Grasslands: Causes, Effects and Processes. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 167–183. https://doi.org/10.1007/978-94-009-4055-0_11

Thamsborg, S.M., Leifsson, P.S., Grøndahl, C., Larsen, M., Nansen, P., 1998. Impact of mixed strongyle infections in foals after one month on pasture. Equine Vet. J. 30, 240–245. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1998.tb04494.x

Thotagamuwa, A., Noriega, J.A., Webb, S.,

REFERENCES

Weston, P., Doube, B.M., Caron, V., Gleeson, P., Forgie, S.A., Favila, M.E., Burgess, G., 2023. Rearing dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae): Identifying knowledge gaps and future challenges. Entomol. Gen.

Titcomb, G.C., Pansu, J., Hutchinson, M.C., Tombak, K.J., Hansen, C.B., Baker, C.C.M., Kartzinel, T.R., Young, H.S., Pringle, R.M., 2022. Large-herbivore nemabiomes: patterns of parasite diversity and sharing. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 289, 20212702. https://doi.org/10.1098/rspb.2021.2702

Tombak, K.J., Easterling, L.A., Martinez, L., Seng, M.S., Wait, L.F., Rubenstein, D.I., 2022. Divergent water requirements partition exposure risk to parasites in wild equids. Ecol. Evol. 12, e8693. https://doi.org/10.1002/ece3.8693

Tombak, K.J., Hansen, C.B., Kinsella, J.M., Pansu, J., Pringle, R.M., Rubenstein, D.I., 2021. The gastrointestinal nematodes of plains and Grevy's zebras: Phylogenetic relationships and host specificity. Int. J. Parasitol. Parasites Wildl. 16, 228–235. https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2021.10.007

Tonelli, M., Verdú, J.R., Morelli, F., Zunino, M., 2020. Dung beetles: functional identity, not functional diversity, accounts for ecological process disruption caused by the use of veterinary medical products. J. Insect Conserv. 24, 643–654. https://doi.org/10.1007/s10841-020-00240-4

Tonelli, M., Verdú, J.R., Zunino, M., 2019. Grazing abandonment and dung beetle assemblage composition: Reproductive behaviour has something to say. Ecol. Indic. 96, 361–367. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.09.010

Tonelli, M., Verdú, J.R., Zunino, M.E., 2017. Effects of grazing intensity and the use of veterinary medical products on dung beetle biodiversity in the sub-mountainous landscape of Central Italy. PeerJ 5, e2780. https://doi.org/10.7717/peerj.2780

Torabian, S., Leffler, A.J., Perkins, L., 2024. Importance of restoration of dung beetles in the maintenance of ecosystem services. Ecol. Solut. Evid. 5, e12297. https://doi.org/10.1002/2688-8319.12297

Torfs, J.R.R., Eens, M., Laméris, D.W., Staes, N., 2021. Respiratory Disease Risk of Zoo-Housed Bonobos Is Associated with Sex and Betweenness Centrality in the Proximity Network. Animals 11, 3597. https://doi.org/10.3390/ani11123597

Torma, A., Révész, K., Gallé-Szpisjak, N., Šeat, J., Szél, G., Kutasi, C., Malenovský, I., Batáry, P., Gallé, R., 2023. Differences in arthropod communities between grazed areas and grazing exclosures depend on arthropod groups and vegetation types. Agric. Ecosyst. Environ. 341, 108222. https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108222

Török, P., Lindborg, R., Eldridge, D., Pakeman, R., 2024. Grazing effects on vegetation: Biodiversity, management, and restoration. Appl. Veg. Sci. 27, e12794. https://doi.org/10.1111/avsc.12794

Torres Borda, L., Auer, U., Jenner, F., 2023. Equine Social Behaviour: Love, War and Tolerance. Animals 13, 1473. https://doi.org/10.3390/ani13091473

Tóth, E., Deák, B., Valkó, O., Kelemen, A., Miglécz, T., Tóthmérész, B., Török, P., 2018. Livestock Type is More Crucial Than Grazing Intensity: Traditional Cattle and Sheep Grazing in Short-Grass Steppes. Land Degrad. Dev. 29, 231–239. https://doi.org/10.1002/ldr.2514

Treitler, J.T., Buse, J., Carpaneto, G.M., Zerbe, S., Mantilla-Contreras, J., 2017. Effects of dung-pad conditions and density on coprophagous beetle assemblages in a Mediterranean rangeland. Biodivers. Conserv. 26, 1431–1444. https://doi.org/10.1007/s10531-017-1308-x

Turner, W.C., Getz, W.M., 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

Tydén, E., Jansson, A., Ringmark, S., 2019. Parasites in Horses Kept in A 2.5 Year-Round Grazing System in Nordic Conditions without Supplementary Feeding. Animals 9, 1156. https://doi.org/10.3390/ani9121156

Tyrnenopoulou, P., Boufis, P.T., Fthenakis, G.C., Papadopoulos, E., 2021. Interactions between Parasitic Infections and Reproductive Efficiency in Horses. Parasitologia 1, 148–157. https://doi.org/10.3390/parasitologia1030016

Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jenning, F.W., 1996. Veterinary Parasitology, 2nd ed. ed. Blacwell Publishing, Oxford.

van Dierendonck, M.C., Sigurjónsdóttir, H., Colenbrander, B., Thorhallsdóttir, A.G., 2004. Differences in social behaviour between late pregnant, post-partum and barren mares in a herd of Icelandic horses. Appl.

Anim. Behav. Sci. 89, 283–297. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.06.010

van Klink, R., van der Plas, F., van Noordwijk, C.G.E. (Toos), WallisDeVries, M.F., Olff, H., 2015. Effects of large herbivores on grassland arthropod diversity. Biol. Rev. 90, 347–366. https://doi.org/10.1111/brv.12113

Vanderburg, K.L., Steffens, T.J., Lust, D.G., Rhoades, M.B., Blaser, B.C., Peters, K., Ham, M.J., 2020. Trampling and Cover Effects on Soil Compaction and Seedling Establishment in Reseeded Pasturelands Over Time. Rangel. Ecol. Manag. 73, 452–461. https://doi.org/10.1016/j.rama.2020.01.001

VanderWaal, K.L., Ezenwa, V.O., 2016. Heterogeneity in pathogen transmission: mechanisms and methodology. Funct. Ecol. 30, 1606–1622. https://doi.org/10.1111/1365-2435.12645

Varga, K., Csízi, I., Monori, I., Valkó, O., 2021. Threats and challenges related to grazing paddocks: Recovery of extremely overgrazed grassland after grazing exclusion. Arid Land Res. Manag. 35, 346–357. https://doi.org/10.1080/15324982.2020.1869120

Verdú, J.R., Cortez, V., Ortiz, A.J., González-Rodríguez, E., Martinez-Pinna, J., Lumaret, J.-P., Lobo, J.M., Numa, C., Sánchez-Piñero, F., 2015. Low doses of ivermectin cause sensory and locomotor disorders in dung beetles. Sci. Rep. 5, 13912. https://doi.org/10.1038/srep13912

Verdú, J.R., Lobo, J.M., Sánchez-Piñero, F., Gallego, B., Numa, C., Lumaret, J.-P., Cortez, V., Ortiz, A.J., Tonelli, M., García-Teba, J.P., Rey, A., Rodríguez, A., Durán, J., 2018. Ivermectin residues disrupt dung beetle diversity, soil properties and ecosystem functioning: An interdisciplinary field study. Sci. Total Environ. 618, 219–228. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.331

Verdú, J.R., Sánchez-Piñero, F., Lobo, J.M., Cortez, V., 2020. Evaluating long-term ivermectin use and the role of dung beetles in reducing short-term CH4 and CO2 emissions from livestock faeces: a mesocosm design under Mediterranean conditions. Ecol. Entomol. 45, 109–120. https://doi.org/10.1111/een.12777

Vervaecke, H., Stevens, J.M.G., Vandemoortele, H., Sigurjónsdóttir, H., De Vries, H., 2007. Aggression and dominance in matched groups of subadult Icelandic horses (Equus caballus). J. Ethol. 25, 239–248. https://doi.org/10.1007/s10164-006-0019-7

Vincelette, A., 2024. The Value and Ethical Status of Zoos. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.114119

Vitet, C., Duncan, P., Gimenez, O., Mabika, C., Chamaillé-Jammes, S., 2020. Plains zebras bring evidence that dilution and detection effects may not always matter behaviorally and demographically. Ecosphere 11, e03288. https://doi.org/10.1002/ecs2.3288

Vokřál, I., Michaela, Š., Radka, P., Jiří, L., Lukáš, P., Dominika, S., Kateřina, L., Barbora, S., Lenka, S., 2019. Ivermectin environmental impact: Excretion profile in sheep and phytotoxic effect in Sinapis alba. Ecotoxicol. Environ. Saf. 169, 944–949. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.097

Vokřál, I., Podlipná, R., Matoušková, P., Skálová, L., 2023. Anthelmintics in the environment: Their occurrence, fate, and toxicity to non-target organisms. Chemosphere 345, 140446. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140446

Wadgymar, S.M., Sheth, S., Josephs, E., DeMarche, M., Anderson, J., 2024. Defining Fitness in Evolutionary Ecology. Int. J. Plant Sci. 185, 218–227. https://doi.org/10.1086/729360

Wagner, D.L., Grames, E.M., Forister, M.L., Berenbaum, M.R., Stopak, D., 2021. Insect decline in the Anthropocene: Death by a thousand cuts. Proc. Natl. Acad. Sci. 118. https://doi.org/10.1073/pnas.2023989118

Wallace, J., 2022. Equine endoparasite resistance and its management – a vet practice perspective. Vet. Rec. 191, e2512. https://doi.org/10.1002/vetr.2512

Wan, N.-F., Fu, L., Dainese, M., Kiær, L.P., Hu, Y.-Q., Xin, F., Goulson, D., Woodcock, B.A., Vanbergen, A.J., Spurgeon, D.J., Shen, S., Scherber, C., 2025. Pesticides have negative effects on non-target organisms. Nat. Commun. 16, 1360. https://doi.org/10.1038/s41467-025-56732-x

Wang, C., Tang, Y., 2019. A global meta-analyses of the response of multi-taxa diversity to grazing intensity in grasslands. Environ. Res. Lett. 14, 114003. https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab4932

Wang, Y., Naumann, U., Wright, S.T., Warton, D.I., 2012. mvabund– an R package for model-based analysis of multivariate abundance data. Methods Ecol. Evol. 3, 471–474. https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2012.00190.x

Ward, C., 2011. Dung beetle program [WWW Document]. CSIROpedia. URL https://

REFERENCES

csiropedia.csiro.au/dung-beetle-program/ (accessed 4.16.25).

Wardhaugh, K.G., 2005. Insecticidal activity of synthetic pyrethroids, organophosphates, insect growth regulators, and other livestock parasiticides: An Australian perspective. Environ. Toxicol. Chem. 24, 789–796. https://doi.org/10.1897/03-588.1

Wascher, C.A.F., 2021. Association between social factors and gastrointestinal parasite product excretion in a group of non-cooperatively breeding carrion crows. Behav. Ecol. Sociobiol. 75, 30. https://doi.org/10.1007/s00265-021-02967-9

WAZA, 2005. Building a Future for Wildlife: The World Zoo and Aquarium Conservation Strategy. s.n., Berne.

Webber, Q.M.R., Brigham, R.M., Park, A.D., Gillam, E.H., O'Shea, T.J., Willis, C.K.R., 2016. Social network characteristics and predicted pathogen transmission in summer colonies of female big brown bats (Eptesicus fuscus). Behav. Ecol. Sociobiol. 70, 701–712. https://doi.org/10.1007/s00265-016-2093-3

Webster, M.S., Tarvin, K.A., Tuttle, E.M., Pruett-Jones, S., 2004. Reproductive promiscuity in the splendid fairy-wren: effects of group size and auxiliary reproduction. Behav. Ecol. 15, 907–915. https://doi.org/10.1093/beheco/arh093

Weinstein, M., Kaplan, H., Lane, M.A., 2014. Sociality, Hierarchy, Health: Comparative Biodemography, in: Sociality, Hierarchy, Health: Comparative Biodemography: A Collection of Papers. National Academies Press (US).

Went, H.A., Scare, J.A., Steuer, A.E., Nielsen, M.K., 2018. Effects of homogenizing methods on accuracy and precision of equine strongylid egg counts. Vet. Parasitol. 261, 91–95. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.09.001

Whipple, S.D., Hoback, W.W., 2012. A Comparison of Dung Beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) Attraction to Native and Exotic Mammal Dung. Environ. Entomol. 41, 238–244. https://doi.org/10.1603/EN11285

White, L.A., Forester, J.D., Craft, M.E., 2017. Using contact networks to explore mechanisms of parasite transmission in wildlife. Biol. Rev. 92, 389–409. https://doi.org/10.1111/brv.12236

Whitehead, H., 2008. Analyzing Animal Societies: Quantitative Methods for Vertebrate Social Analysis. University of Chicago Press. https://doi.org/10.7208/chicago/9780226895246.001.0001

Wiedner, E.B., Lindsay, W.A., Isaza, R., 2012. Management of zebras and zebra hybrids (zebroids). Compend. Contin. Educ. Vet. 34.

Williams, A.E., Worsley-Tonks, K.E.L., Ezenwa, V.O., 2017. Drivers and consequences of variation in individual social connectivity. Anim. Behav. 133, 1–9. https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2017.08.021

Wilson, D.E., Reeder, D.M., 2005. Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference. JHU Press.

Wilson, K.H., Bjørnstad, O.N., Dobson, A.P., Merler, S., Poglayen, G., Randolph, S.E., Read, A.F., Skorping, A., 2002. Chapter 2 : Heterogeneities in macroparasite infections : patterns and processes 1.

Windsor, D.A., 1997. Equal Rights for Parasites. Perspect. Biol. Med. 40, 222–229.

Withers, P.C., 1983. Energy, Water, and Solute Balance of the Ostrich Struthio camelus. Physiol. Zool. 56, 568–579. https://doi.org/10.1086/physzool.56.4.30155880

Wohde, M., Blanckenhorn, W.U., Floate, K.D., Lahr, J., Lumaret, J.-P., Römbke, J., Scheffczyk, A., Tixier, T., Düring, R.-A., 2016. Analysis and dissipation of the antiparasitic agent ivermectin in cattle dung under different field conditions. Environ. Toxicol. Chem. 35, 1924–1933. https://doi.org/10.1002/etc.3462

Wood, E.L.D., Matthews, J.B., Stephenson, S., Slote, M., Nussey, D.H., 2013. Variation in fecal egg counts in horses managed for conservation purposes: individual egg shedding consistency, age effects and seasonal variation. Parasitology 140, 115–128. https://doi.org/10.1017/S003118201200128X

Wood, S., 2023. mgcv: Mixed GAM Computation Vehicle with Automatic Smoothness Estimation. https://doi.org/10.32614/CRAN.package.mgcv

Wood, S.N., 2017. Generalized Additive Models: An Introduction with R, Second Edition, 2nd ed. Chapman and Hall/CRC, New York. https://doi.org/10.1201/9781315370279

Woods, B., 2002. Good zoo/bad zoo: Visitor experiences in captive settings. Anthrozoös 15, 343–360. https://doi.org/10.2752/089279302786992478

Woolhouse, M.E.J., Dye, C., Etard, J.-F., Smith, T., Charlwood, J.D., Garnett, G.P., Hagan, P., Hii, J.L.K., Ndhlovu, P.D., Quinnell, R.J.,

Watts, C.H., Chandiwana, S.K., Anderson, R.M., 1997. Heterogeneities in the transmission of infectious agents: Implications for the design of control programs. Proc. Natl. Acad. Sci. 94, 338–342. https://doi.org/10.1073/pnas.94.1.338

Wurmitzer, C., Blüthgen, N., Krell, F.-T., Maldonado, B., Ocampo, F., Müller, J.K., Schmitt, T., 2017. Attraction of dung beetles to herbivore dung and synthetic compounds in a comparative field study. Chemoecology 27, 75–84. https://doi.org/10.1007/s00049-017-0232-6

Yamamura, K., 1999. Relation between plant density and arthropod density in cabbage fields. Popul. Ecol. 41, 177–182. https://doi.org/10.1007/s101440050020

Yang, L.H., Gratton, C., 2014. Insects as drivers of ecosystem processes. Curr. Opin. Insect Sci., Ecology 2, 26–32. https://doi.org/10.1016/j.cois.2014.06.004

Zhang, M., Delgado-Baquerizo, M., Li, G., Isbell, F., Wang, Yue, Hautier, Y., Wang, Yao, Xiao, Y., Cai, J., Pan, X., Wang, L., 2023. Experimental impacts of grazing on grassland biodiversity and function are explained by aridity. Nat. Commun. 14, 5040. https://doi.org/10.1038/s41467-023-40809-6

Zhang, Z., Hou, G., Liu, M., Wei, T., Sun, J., 2019. Degradation induces changes in the soil C:N:P stoichiometry of alpine steppe on the Tibetan Plateau. J. Mt. Sci. 16, 2348–2360. https://doi.org/10.1007/s11629-018-5346-y

ZIMS, Z.I.M.S., 2024. Species 360.

Zuur, A.F. (Ed.), 2009. Mixed effects models and extensions in ecology with R, Statistics for biology and health. Springer, New York, NY.

Zynda, H.M., Scare, J.A., Steuer, A.E., Anderson, H.P., Nielsen, M.K., 2019. Encysted cyathostomin larval counts: Mucosal digestion revisited. Vet. Parasitol. 273, 86–89. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.08.009

LISTE DES COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

Article scientifique

C. Joly, L. Rachid, A. Ortega, F.-J. Richard, 2023. «Social behaviour impacts parasitic infection risk in equid groups», Applied Animal Behaviour Science.

Congrès et événements :

Oral : C. Joly, P. Jay-Robert, S. Barantal, L. De Wever, A. Ortega, F.J. Richard, Dung beetles' trophic preference in 50 years old multispecies pastures, International congress in Ecology and Evolution, 21-25 octobre 2024 (Lyon - 69)

Oral : C. Joly, P. Jay-Robert, H. Ferté, A. Ortega, F.J. Richard, Parasite intensity in the largest group of Plains zebra kept in a european zoo, EAZA Annual Conference 2024, 7-12 octobre 2024 (Leipzig - Allemagne)

Oral : C. Joly, P. Jay-Robert, S. Barantal, L. De Wever, A. Ortega, F.J. Richard, The arthropods in herbivore exhibits: the case of dung beetles, EAZA Annual Conference 2024

Poster : C. Joly, P. Jay-Robert, S. Barantal, L. De Wever, A. Ortega, F.J. Richard, Is herbivore's diversity a factor of dung beetle's diversity?, 7th ECCB, 17-21 juin 2024 (Bologne - Italie)

Oral : Joly, C., Rachid, L., Ortega, A., Richard, F.-J., Etudier l'hôte afin de mieux gérer le parasite, 52ème colloque de la SFECA, 23- 25 mai 2023 (Tours - 37)
Oral : Joly, C., Rachid, L., Ortega, A., Richard, F.-J., Un parasite peut en cacher un autre !, REID, 10-12 mai 2023 (Poitiers - 86)

Poster : Joly, C., Rachid, L., Ortega, A., Richard, F.-J., Suivi du parasitisme à travers une étude comportementale des zèbres des plaines (Equus quagga boehmi), 51ème Colloque de la SFECA, 31 mai-2 juin 2022 (Clermont-Ferrand - 63)

Oral : Joly, C., Rachid, L., Ortega, A., Richard, F.-J., Social Behaviour impacts parasitic contamination risk in equid groups, 15ème édition des rencontres Ecology & Behaviour, 21-24 mars 2022 (Strasbourg - 67)

Poster : Joly, C., Rachid, L., Ortega, A., Richard, F.-J., A behavioral study about parasite burden of Plain's zebras (Equus quagga boehmi), Animal Behaviour Live Annual online conference, 18-19 Novembre 2021

Vulgarisations scientifiques

Documentaire : Joly, C., Noss, G., (2022). Savane en Noir et Blanc, 7min 40sec, 1er prix au festival Sud de Sciences - du 23 au 28 Novembre 2022 (Montpellier - 34) dans la catégorie courts métrages. Diffusion lors du 52ème colloque de la SFECA – du 23 au 25 mai 2023, (Tours - 37).

Poster : Joly, C., Les bousiers, sauveurs/victimes de nos pâturages, Doctoriales de la biodiversité, Bioséna – du 28 février au 3 mars 2023 (Biarritz - 64)

Article : Joly, C., Ortega, A., Joris, A., Quel point commun entre un zèbre et un bousier ? La recherche !, La Licorne, couverture du n°21, septembre 2023

Concours MT180 : 1er prix finale locale 2024 et participation à la finale régionnale Nouvelle-Aquitaine