Parasitisme et structuration génétique et spatiale : exemple chez le mouflon méditerranéen, Ovis gmelini musimon x Ovis sp

Elodie Portanier

▶ **To cite this version:**

Elodie Portanier. Parasitisme et structuration génétique et spatiale : exemple chez le mouflon méditerranéen, Ovis gmelini musimon x Ovis sp. Génétique des populations [q-bio.PE]. Université Montpellier, 2018. Français. NNT : 2018MONTG038 . tel-01954652

HAL Id: tel-01954652
https://theses.hal.science/tel-01954652

Submitted on 13 Dec 2018

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

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

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

En Écologie, Évolution, Ressources Génétiques, Paléobiologie

École doctorale GAIA - Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau

Unité de recherche UMR5558 Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive

Parasitisme et structuration génétique et spatiale. Exemple chez le mouflon Méditerranéen (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.).

Présentée par Elodie PORTANIER

Le 29 Novembre 2018

Sous la direction de Daniel MAILLARD

Devant le jury composé de

Emmanuelle GILOT-FROMONT, Professeur, LBBE-VetAgro-Sup, Université de Lyon	Présidente - Examinatrice
Anne LOISON, Directrice de Recherche, LECA, Université de Savoie	Rapporteur
Fanie PELLETIER, Full Professeur, Université de Sherbrooke	Rapporteur
Stephanie MANEL, Directrice d'Etude EPHE, CEFE, Université de Montpellier	Examinatrice
Daniel MAILLARD, Ingénieur de Recherche, ONCFS	Directeur de thèse
Gilles BOURGOIN, Maitre de conférences, LBBE-VetAgro-Sup, Université de Lyon	Co-encadrant de thèse
Sébastien DEVILLARD, Maitre de conférences, LBBE, Université de Lyon	Invité
Mathieu GAREL, Ingénieur de Recherche, ONCFS	Invité

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

Remerciements

Un travail ne s'effectue jamais seul et c'est pourquoi, avant de vous présenter celui que j'ai réalisé durant ma thèse, je tiens à remercier un certain nombre de personnes.

Tout d'abord, je voudrais remercier les membres de mon jury, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail : Mesdames Anne Loison, Fanie Pelletier, Emmanuelle Gilot-Fromont et Stéphanie Manel. Merci également aux membres de mes comités de pilotage et de suivi individuel : Emmanuelle, Glenn Yannic, Erwan Quéméré, Simon Chamaillé-James, Matthieu Guillemain. Merci pour vos conseils, idées et encouragement aux cours de ces comités et pour Simon et Matthieu, merci pour votre aide indéfectible quant aux différentes règles de l'école doctorale. Je voudrais aussi remercier l'ONCFS et VetAgro Sup, pour avoir financé ce travail et permis d'obtenir les données nécessaires à sa réalisation. Merci à Jeanne Duhayer, Christian Itty, Fréderic Sanchis, Pierre Benedetti, Marie-Thérèse Poirel, Slimania Benabed, Hélène Henry, Corinne Régis, Pauline Gélin, Julie Andru, Elodie Bonneau, Libby Redman, Jocelyn Poissant, Alain Savary, Dominique Odier, ainsi qu'à tous les membres des cellules techniques et services départementaux héraultais et corse de l'ONCFS et aux nombreux stagiaires. Merci à tous d'avoir permis la récolte et l'analyse des précieuses données sur les mouflons ainsi que pour les bons moments passés ensemble, pour ceux que j'ai eu l'occasion de rencontrer « en vrai », que ce soit en salle de manip, sur le terrain, autour d'un café, en réunion, en métropole ou en Corse.

Je voudrais aussi adresser un immense MERCI à mes encadrants, Messieurs Daniel Maillard, Mathieu Garel, Sébastien Devillard et Gilles Bourgoin, sans qui tout cela n'aurait pas été possible. Merci de m'avoir fait confiance et confié ce travail. Merci de m'avoir soutenue, aidée, orientée et encouragée à chaque étape de la thèse. Mathieu, au tout début de ma thèse tu m'avais dit « La thèse c'est une aventure scientifique, mais c'est avant tout une aventure humaine ». Je sais que ce n'est pas vrai pour toutes les thèses et je ne vous remercierai jamais assez d'avoir fait en sorte que ce soit le cas pour moi. Merci d'être des encadrants humains, bienveillants, compréhensifs, encourageants (je pourrai continuer cette liste encore, vous savez comme je suis bavarde, mais mon manuscrit est déjà long…). En bref, merci pour tout, pour cette aventure et celles à venir. J'en profite ici pour remercier également

mes encadrants « non-officiels », Pascal Marchand et Pascale Chevret, pour les mêmes choses. Pascal, je n'ai pas oublié que je te dois des bières, puisque tu as refusé les « fières chandelles », pour toute l'aide que tu m'as apporté au cours de ces 3 ans.

Toujours dans le cadre « professionnel » je voudrais remercier les (bio-)informaticiens du LBBE (Vincent, Bruno, Stéphane, Lionel et Simon) pour leur aide avec le cluster, leur patience quant à mes questions naïves et ma non-maitrise du langage LINUX (qui ne s'appelle probablement pas comme ça, c'est vous dire ce qu'ils ont dû traverser). Merci aussi au pôle administratif du LBBE, de toujours nous faciliter la tâche face aux mystères de l'administration, de nous aider à trouver des solutions et de nous recevoir avec sourire et gentillesse, même quand on fait des bêtises. Enfin, de manière plus générale, merci à tous les membres du laboratoire pour votre accueil, merci à toutes les personnes rencontrées (Hélène, Corinne, Anna, Bénédicte, Aurélie, Sabrina…) pour les bons moments passés ensembles. Merci aussi aux membres des 2 équipes pédagogiques dans lesquelles j'ai eu la chance de pouvoir enseigner et qui m'ont permis de découvrir que j'adorais ça (Emilien, Nathalie, Anne-Béatrice, Julien…).

Merci aussi à tous les doctorants ou permanents en infiltration que j'ai pu rencontrer. Je vais tenter un ordre (à peu près) chronologique pour n'oublier (j'espère presque) personne. Merci à Jérémy, Marion, Coraline, Pierre, Célia, Verane, Morgane, Nico, Jen, Etienne, Sylvia, Jeanne, Laurent, Marie-Pauline, Salomé, Laura, Tim, Valentine, Sylvie, Victor, Elise, Seb, Kamal, Juliette, Becky, Floflo, et tous ceux que j'oublie probablement. Merci pour toutes ces pauses et autres bons moments passés à rire, déprimer, boire des coups mais toujours se soutenir. Je passe ici une dédicace spéciale à mes co-bureaux (Louise, Victor, Sylvie, Eliane et Laura avant que nous lâche), merci d'avoir supporté mes coups de gueule, mes soupirs et autres méfaits que j'aurai pu vous imposer. Le bureau 152 est le meilleur de tous. Je profite d'être dans la « LBBE-mood » pour remercier plus particulièrement Miko, Eliane, Louise et Thibault, pour votre soutien infini, votre bonne humeur, votre gentillesse et tout ce que vous m'apportez chaque jour. Longue vie à nos amitiés !

En sortant du labo, si on traverse la pelouse, on arrive au LEHNA et y ~~résident~~ travaillent (ou travaillaient) également des êtres chers que je voudrais remercier. Les amis des apéros (évidemment, on en a pas fait beaucoup, on est en thèse…), Jérémy et Mathilde, les amis de plus longue date, Marion et Mylène, ou plus récents, les Nonos (Arnaud de Miribel et Nolwenn[1]). Merci à tous pour tous ces bons moments et pour votre amitié. Merci aux Nonos

[1] Spéciale dédicace pour les relectures ;-)

pour la découverte de ma patrie de cœur (Armorique for ever). Puissent ces bonnes choses durer *ad vitam aeternam*.

Merci à tous les amis chers à mon cœur qui, par leur soutien et leur présence dans ma vie depuis de nombreuses années m'ont ainsi aider à mener à bien ce travail: les puéchabonnais de toujours (Coco, Dumbo[2], Jule, Yuyu, Thibault, Lydia), les ONCF (Sophie Roz., Claire), les inclassables (Sophie Rou., J-Marine, Mandie Bibi, Eolia), les chaponoists (qui sont trop nombreux pour être listés !), les BOP (Théo, Pierre, Etienne, Théotime…). Un ENORME merci à mes poules des 400 coups (Dynamo, Audread, Dioukdiouk), pour être toujours là, pour me faire rire depuis tant d'années, merci pour tout ce qu'on a partagé et traversé et ce qui nous attend encore ! Je tiens aussi à remercier tous les personnels soignants que j'ai rencontré au cours de cette thèse, suite aux aléas de santé inhérents à ma chance légendaire[3] : Merci chirurgiens, infirmières et kinés de m'avoir remis sur pied pour que je puisse terminer ce travail !

Nous en arrivons enfin à la partie concernant ma famille, qui a participé à ce travail en faisant de moi la personne que je suis et à qui je dois, par conséquent, énormément. Merci maman, papa, Philippe, de m'avoir créée, élevée, de m'avoir appris l'humanité, la gentillesse et de m'avoir appris à toujours faire passer ces valeurs avant tout le reste. Même si c'est parfois difficile, je pense que c'est la bonne façon d'être. Merci ensuite à mon frère, mon Jutjut, de m'épauler et de croire en moi depuis ma naissance. On traversera toujours tout ensemble. Merci à mes frères et sœurs de cœur, Kiki, Yannick, Val, Amandine (oui tu es là aussi !), Benoit, Manu : merci d'être toujours là et de me permettre de savoir que vous le serez toujours. Merci à papi et mamie Balsan, Aurélie, Hélène, Alain et tous les autres de m'avoir accepté dans votre famille pour me permettre d'en avoir une plus grande. Merci aux membres de la famille au sens plus traditionnel du terme, côté Portanier (papi, mamie, Lionel, Seb…) ou Refregiers (mamie, tatie Aline, Rémy, Denis…). On forme tous une sacré équipe, merci à tous pour tout ça. Merci de m'avoir construite.

Enfin, la partie la plus courte mais pas la moins importante, merci à Jaja. Les quelques lignes qui suivront ne suffiront pas pour exprimer ce que je ressens, alors ne m'en veut pas d'être succincte. Merci de m'avoir tant apporté depuis que l'on s'est rencontré, merci de m'apaiser, de m'épauler et d'être toujours là, peu importe ce que la vie nous réserve. Merci de faire en sorte que ma vie soit plus simple et plus belle chaque jour. Je te dois beaucoup.

À tous, MERCI !

[2] Arrête de râler parce-que tu es dans les puéchabonnais

[3] 3 interventions chirurgicales en 3 ans de thèse, je laisse un record à battre. À vos murs d'escalade et autres sports dangereux pour faire mieux !

PS : Si quelqu'un n'est pas cité ici mais estime qu'il aurait dû l'être, je m'en excuse. Une permanence des réclamations aura lieu entre le 29/11/2018 18h et le 30/11/2018 00h. Nous pourrons alors discuter des dédommagements.

À papa…

À papi…

À tous les êtres chers qui ont rejoint les étoiles…

Table des matières

Table des figures 18

Liste des tableaux 24

PARTIE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE 30

Préface 32

Chapitre 1 De l'importance de la génétique pour les individus et les populations 36

1. Diversité génétique : Origine et rôles 38

1.1. La diversité génétique, qu'est-ce c'est ? 38

1.2. La diversité génétique individuelle 39

1.3. La diversité génétique populationnelle 41

1.4. Les forces évolutives déterminant la diversité génétique 42

1.4.1. La mutation 42

1.4.2. La dérive génétique 43

1.4.3. La sélection naturelle 45

1.4.4. La migration, la dispersion et les flux de gènes 47

2. La structure génétique des populations 49

2.1. La différenciation génétique et la structure génétique des populations 49

2.2. Dépression de consanguinité et dépression hybride 50

2.3. Dans un contexte sanitaire, pourquoi étudier la structure génétique des populations ? 52

3. Facteurs déterminants la diversité génétique, les flux de gènes et la structure génétique spatiale 52

3.1. Distance géographique 52

3.2. Paysage 53

3.2.1. Effet zone 54

3.2.2. Effet bordure 55

3.2.3. Effet isolant 56

3.3. Structure socio-spatiale 57

3.4. Histoire démographique 58

Chapitre 2 De l'importance du parasitisme pour les individus et les populations 62

1. Les interactions hôtes-parasites 64

1.1. Les effets des parasites sur les hôtes et leurs populations 64

1.2. Les effets des parasites sur le comportement des hôtes 67

2. Les stratégies de défense contre le parasitisme 68

2.1. Avant l'établissement de la relation 69

2.2. Après l'établissement de la relation 70

2.2.1. L'immunité 70

2.2.2. Le cas particulier des strongles digestifs 73

2.3. Principaux facteurs déterminants la résistance 74

2.3.1. La condition corporelle 74

2.3.2. Le sexe 75

2.3.3. L'âge 76

2.3.4. Les caractéristiques génétiques 76

Chapitre 3 Objectifs et structure de la thèse : étude de cas chez le mouflon Méditerranéen et de Corse 80

1. Contexte général 82

2. Objectifs et structure de la thèse 83

PARTIE II : CONTEXTE MÉTHODOLOGIQUE 86

Chapitre 4 Le modèle biologique : Le mouflon (*Ovis gmelini musimon*) 88

1. Systématique, taxonomie, origine et répartition 90

2. Biologie de l'espèce 92

2.1. Morphologie 92

2.2. Utilisation de l'habitat et comportement 93

2.3. Structure sociale, spatiale et reproduction 94

2.4. Le parasitisme intestinal chez le mouflon 96

Chapitre 5 Les sites d'études 100

1. Sur le continent 102

1.1. Le massif du Caroux-Espinouse : situation, climat, habitat 102

1.2. La population de mouflons Méditerranéens du Caroux-Espinouse 104

2. En Corse 108

2.1. Bavella et Cinto : situation, climat, habitat 108
2.2. Les populations de mouflons Corses 110

Chapitre 6 Les données disponibles 114

PARTIE III : STRUCTURE GÉNÉTIQUE SPATIALE ET IMPACTS DU PAYSAGE SUR LES FLUX DE GENES 118

Avant-propos 120

Chapitre 7 Structure génétique spatiale 124

1. L'histoire d'introduction est un facteur plus important que la structure sociale dans le déterminisme de la structure génétique spatiale des femelles mouflons Méditerranéens (Article 1). 126
1.1. Introduction 128
1.2. Material and Methods 130
1.2.1. Study population, species and data collection 130
1.2.2. Microsatellite genotyping 132
1.2.3. Genotyping errors 133
1.2.4. Genetic structure of the population 134
1.2.5. Socio-spatial structure of the population 135
1.2.6. Basic population genetics 136
1.2.7. Measurement of history footprint on the current population 136
1.3. Results 137
1.3.1. Genetic data 137
1.3.2. Genetic clustering 137
1.3.3. Spatial genetic structure 138
1.3.4. Socio-spatial structure of the population 139
1.3.5. Correspondence between socio-spatial and genetic structures 142
1.4. Discussion 143
1.4.1. Genetic diversity 143
1.4.2. Influence of socio-spatial structure on genetic structure 144
1.4.3. Influence of introduction history on genetic structure 145
1.5. Conclusion 146
1.6. Acknowledgments 147
1.7. Appendices 148
1.7.1. Microsatellite description and Fluorescent DYE used for genotyping 148

1.7.2. Is the trap-based socio-spatial unit a good approximation of the individual-based one? 149
1.7.3. Defining genetic clusters thanks to a DAPC. 150
1.7.4. sPCA axis selection. 151
1.7.5. Genetic variability per locus. 152
1.7.6. Allelic richness and observed heterozygosity calculated on the four loci in common with Guerrini et al. (2015). 154
1.7.7. Spatial disconnection between individuals from the north and the south of the reserve. 154

2. Et avec d'autres méthodes de clustering génétique ? (Addendum 1) 156
2.1. Introduction 156
2.2. Matériel et méthodes 157
2.3. Résultats 158
2.3.1. Femelles 158
2.3.2. Mâles 161
2.4. Discussion 164

3. Investigation du signal historique Nord-Sud détecté chez les femelles (Addendum 2) 166
3.1. Introduction 166
3.2. Matériel et méthodes 167
3.3. Résultats 168
3.3.1. Avec les microsatellites 168
3.3.2. Avec l'ADN mitochondrial 171
3.4. Discussion et perspectives 172

4. Comment se structurent génétiquement les populations de mouflons Corses ? (Addendum 3) 175
4.1. Bavella 176
4.2. Cinto 179
4.3. Conclusions 182

Chapitre 8 Impacts du paysage sur les flux de gènes 186

1. Génétique du paysage et écologie comportementale s'accordent, apportant de nouvelles connaissances sur la connectivité fonctionnelle chez le mouflon Méditerranéen (Article 2). 188
1.1. Introduction 190
1.2. Material & Methods 193
1.2.1. Study population, data collection and species 193

1.2.2. Microsatellites genotyping 196
1.2.3. Landscape genetics analyses 197
1.3. Results 200
1.3.1. IBR model optimization and driver of the genetic differentiation 200
1.4. Discussion 201
1.4.1. Landscape impacts on female movements and gene flow 202
1.4.2. Behavioral ecology and landscape genetics are complementary for males 204
1.5. Conclusions and perspectives 206
1.6. Acknowledgments 207
1.7. Appendices 208
1.7.1. Proportions of the different landscape elements in the study area 208
1.7.2. Correlations between IBD and IBR matrices calculated based on different number of scenarios 209
1.7.3. Relative support of the 100 scenarios having the highest relative support 210
1.7.4. Mantel r for the scenarios having the highest Mantel r for males and females 214
1.7.5. Power analysis performed to assess the impact of the lower male's sample size on landscape genetics results. 215

2. Les éléments du paysage freinant ou favorisant les flux de gènes en Corse sont-ils les mêmes qu'au Caroux-Espinouse ? (Addendum 1) 220
2.1. Introduction 220
2.2. Matériel et méthodes 220
2.3. Résultats 222
2.4. Discussion 222

PARTIE IV : INTERACTIONS HÔTES-PARASITES 226

Chapitre 9 Co-structure génétique et spatiale des hôtes et leurs parasites 228

1. Pourquoi comparer les structures génétiques spatiales des hôtes et leurs parasites ? 230

2. Co-structure des *Haemonchus contortus* et de leurs hôtes 231
2.1. Matériel et méthodes 231
2.2. Résultats 237

3. L'apport pour la dynamique parasitaire dans la population 241

4. Addendum 244

Chapitre 10 Résistance génétique des hôtes face à leurs parasites 246

1. Gène candidat et diversité génétique neutre sont corrélés avec la résistance face aux parasites chez les femelles mouflons Méditerranéens (Article 3). 248
1.1. Introduction 250
1.2. Material and Methods 253
1.2.1. Study population and data collection 253
1.2.2. Genetic analyses 254
1.2.3. Fecal parasite egg and oocysts counts 255
1.2.4. Statistical analyses 256
1.3. Results 258
1.3.1. Genetic diversity 258
1.3.2. Parasite prevalence and abundance 258
1.3.3. Non-genetic variables 259
1.3.4. HFC and locus-specific effects 259
1.4. Discussion 263
1.4.1. Different characteristics are determining different parasite resistances 264
1.4.2. Neutral genetic diversity effects on nematode resistance 264
1.4.3. Candidate gene effects on nematode resistance 266
1.5 Conclusions and management implications 267
1.6. Acknowledgements 268
1.7. Appendices 269
1.7.1. Results of non-genetic model selection 269
1.7.2. Normality tests of (non)-genetic models 273
1.7.3. Variance Inflation Factors and quadratic terms selection 276

2. Et avec d'autres marqueurs et mesures de diversité génétique ? (Addendum 1) 277
2.1. Introduction 277
2.2. Matériels et méthodes 278
2.3. Résultats 278
2.3.1. Modèles non génétiques 278
2.3.2. Modèles génétiques 282
2.4. Discussion 289

PARTIE V : SYNTHÈSE GÉNÉRALE 292

Chapitre 11 Discussion des principaux résultats et perspectives 294

1. Structure génétique et spatiale des hôtes 296
1.1. À propos de l'histoire d'introduction et de la structure socio-spatiale 296

1.2. À propos du paysage et des implications pour la gestion des populations 298
1.3. Importance de l'échelle spatiale dans les études de structures génétiques 301
1.4. Perspectives méthodologiques en génétique du paysage 304

2. Impact de la structure spatiale des hôtes sur l'agrégation des parasites 305

3. Résistance face aux parasites 307
3.1. Synthèse des résultats et implications pour la gestion des populations 307
3.2. Perspectives en immunogénétique 310

4. Perspectives en lien avec la chasse 312
4.1. Effets de la chasse sur la résistance face aux parasites 312
4.2. Effets de la chasse sur la structure génétique 314

BIBLIOGRAPHIE 316

Table des figures

Figure 1: Évolution de la fréquence de l'allèle « wild type » dans des populations de petit vers de farine (Tribolium castaneum) de différents effectifs (N) au cours de générations successives (reproduit depuis Rich et al. 1979). 44

Figure 2: Illustration des différents types de sélection naturelle. Modifié depuis Toussaint et al. 2012. 46

Figure 3: Représentations possibles d'un paysage et leurs implications en termes de modification du paysage. Reproduit depuis Holderegger & Wagner 2008. 54

Figure 4: Pertes d'hétérozygotie et d'allèles suite à un goulot d'étranglement d'effectif N = 2 simulé à partir de fréquences alléliques d'une population d'ours bruns (Ursus arctos) d'Alaska (données issues de Luikart & Cornuet 1998, reproduit depuis Allendord et al. 2013). 59

Figure 5: Évolution du taux d'hétérozygotie dans une population ayant subi un bottleneck (reproduit depuis Nei 1975). 60

Figure 6: Influences d'un effet fondateur sur le nombre d'allèles (reproduit depuis Allendorf et al. 2013). 61

Figure 7: Variation du nombre d'individus dans le tableau de chasse entre 1987 et 1996 dans les populations non traitées par un anthelminthique (A), traitées une fois en 1983 (B) et traitées 2 fois en 1989 et 1993 (C) (reproduit depuis Hudson et al. 1998). 66

Figure 8: Leucochloridium spp. dans son hôte intermédiaire, un escargot (© Dick Belgers, at waarneming.nl, a source of nature observations in the Netherlands. [CC BY 3.0 (https://creativecommons.org/licenses/by/3.0)], via Wikimedia Commons)). 68

Figure 9: Schématisation simplifiée des deux voies immunitaires cellulaire (Lymphocytes T Th1) et humorale (Lymphocytes T Th2 et B) et des cellules et molécules impliquées dans la réponse immunitaire (reproduit depuis Goater et al. 2013). 72

Figure 10: Photographie (© Daniel Maillard) d'un mâle mouflon Méditerranéen illustrant l'enroulement des cornes avec l'âge. 92

Figure 11: Photographies (© Daniel Maillard) de deux femelles mouflon Méditerranéen, l'une cornue (à gauche) l'autre non (à droite). 93

Figure 12: Cycle de vie des trichostrongylidés (Euzéby 1963). 98

Figure 13: Cycle de vie des coccidies du genre Eimeria (modifié depuis Taylor et al. 2015) 99

Figure 14: Massif du Caroux-Espinouse (Hérault). Reproduit depuis Marchand (2013).....102

Figure 15: Evolution des classes d'habitats ouverts, fermés ou en cours de fermeture entre 1955 et 2005 dans le massif du Caroux-Espinouse. Reproduit depuis Tronchot 2008......104

Figure 16: A) Carte de la Réserve Nationale de Chasse et de Faune Sauvage du Caroux-Espinouse. B) Aire de répartition de la population de mouflons Méditerranéens dans le massif du Caroux-Espinouse en 2007 (zone grisée, bordures oranges). 105

Figure 17: Origine des populations souches de mouflons Méditerranéens. Reproduit et modifié d'après Corti et al. 2011. 106

Figure 18: Evolution du plan de chasse et de sa réalisation pour les mouflons du Caroux-Espinouse entre 1973 (mise en place) et 2016. Source données : Tableaux de chasse départementaux grand ongulés ONCFS......107

Figure 19: Répartition géographique des mouflons Corses et des réserves de chasses et de faune sauvage en Corse. Au nord, la population de Cinto, au sud celle de Bavella. Reproduit depuis Sanchis 2018. 109

Figure 20: Map of the traps and sites of release in the Caroux-Espinouse massif, southern France......132

Figure 21: Genetic proximity among the 161 Mediterranean mouflon females and 69 males from the Caroux-Espinouse area obtained by discriminant analysis of principal component (DAPC). 138

Figure 22: Geographic map of the first global lag scores of sPCA for females (left) and males (right) of the Mediterranean mouflon population of Caroux-Espinouse massif. 139

Figure 23: Cluster dendrograms resulting from hierarchical clustering applied on pairwise trap distances calculated based on relocation of individuals data (right: for females, left: for males). 140

Figure 24: BIC values associated with each K value tested from the K-means procedure of the DAPC for females in the Caroux-Espinouse mouflon population. It indicated as an optimal number of genetic cluster of K = 3 or K = 4. 150

Figure 25: BIC values associated with each K value tested from the K-means procedure of the DAPC for males in the Caroux-Espinouse mouflon population. It indicates an optimal number of cluster of K = 2......150

Figure 26: sPCA eigenvalues for females of the Mediterranean mouflon population of the Caroux-Espinouse massif. 151

Figure 27: Valeurs d'AIC et de BIC obtenues avec la méthode de clustering SNAPCLUST pour les femelles mouflons de la population du Caroux-Espinouse. 158

Figure 28: Delta K d'Evanno et al. (2005, panel A) et vraisemblance du nombre de cluster K (panel B) inférés par le logiciel STRUCTURE pour les femelles de la population de mouflons du Caroux-Espinouse. 159

Figure 29: Probabilités d'appartenance des femelles dans chaque groupe génétique inférées par le logiciel STRUCTURE. 159

Figure 30: Chaine de Markov Monte-Carlo (MCMC, panel A) et nombre de clusters génétiques déterminés par la MCMC après burn-in (panel B) obtenus dans le meilleur jeu de simulation de GENELAND pour les femelles. 160

Figure 31: Carte des probabilités postérieures d'assignation inférées par GENELAND pour K = 5 (A) et représentation des assignations sur le scan 25 du massif (B) pour les femelles mouflons du Caroux-Espinouse. 161

Figure 32: Valeurs d'AIC et de BIC obtenues avec la méthode de clustering SNAPCLUST pour les mâles mouflons de la population du Caroux-Espinouse. 162

Figure 33: Delta K d'Evanno et al. (2005, panel A) et vraisemblance du nombre de cluster K (panel B) inférés par le logiciel STRUCTURE pour les mâles de la population de mouflons du Caroux-Espinouse. 163

Figure 34: Probabilités d'appartenance des mâles dans chaque groupe génétique inférées par le logiciel STRUCTURE. 163

Figure 35: Chaine de Markov Monte-Carlo (MCMC, panel A) et nombre de clusters génétiques déterminés par la MCMC après burn-in (panel B) obtenus dans le meilleur jeu de simulation de GENELAND pour les mâles. 163

Figure 36: Proximité génétique entre les mouflons échantillonnés dans les populations de Cadarache, du Caroux-Espinouse (Nf, Cf, Sf, respectivement, pour les groupes du nord, centre et sud), de Corse (Bavella et Cinto) et de Chambord, obtenus grâce à une DAPC. .. 170

Figure 37: Proportion de chaque haplotype dans chaque population échantillonnée. 172

Figure 38: Valeurs de BIC obtenues avec la DAPC pour les femelles et les mâles de la population de Bavella. 177

Figure 39: Assignations des mâles et femelles dans leurs clusters génétiques tels qu'inférés par la DAPC dans la population de Bavella. 177

Figure 40: Carte géographique des scores de la sPCA sur le premier axe global (A) et probabilités postérieures d'assignation inférées par GENELAND pour K = 2 (B) pour les mouflons de la population de Bavella en Corse. 179

Figure 41: Valeurs de BIC obtenues avec la DAPC pour les femelles et les mâles de la population de mouflons de Cinto. 180

Figure 42: Assignations des mâles et femelles dans leurs clusters génétiques tels qu'inférés par la DAPC dans la population de mouflons de Cinto. 181

Figure 43: Carte géographique des scores de la sPCA sur le premier axe global (A) et probabilités postérieures d'assignation inférées par GENELAND pour K = 3 (B) pour les mouflons de la population de Cinto en Corse. 182

Figure 44:Répartition géographique des haplotypes du Cytb identifiés dans la population de Cinto en Corse. 184

Figure 45 : Description of the Caroux-Espinouse massif where landscape resistance was investigated for Mediterranean mouflon. (A) Geographic location of the Caroux-Espinouse massif in France. (B) Land-cover classes considered in landscape genetics analyses. (C) Linear landscape features considered in landscape genetics analyses. (D) Digital elevation model represented with spatial locations of individuals as defined in the main text. 194

Figure 46: Resistance values obtained in the best scenario for each of the landscape elements considered in landscape genetics analyses for females (A). A resistance value of 100 refers to totally resistant landscape element while a value of 1 refers to totally permeable landscape elements. (B) Variation of resistance values between the first top scenario (highest RS) and the resistance values obtained after averaging across 4906 best scenarios for females Mediterranean mouflon. Variation was calculated as the absolute value of the difference: v_1-v_{av}. 201

Figure 47: Relative support (RS) of the 100 scenarios having the highest RS for females. No unimodal peak of support can be observed but a slight break in slope appears after 11 scenarios (red line). 210

Figure 48: Mantel r of the 100 scenarios having the highest Mantel r for females. 214

Figure 49: Mantel r of the 100 scenarios having the highest Mantel r for males. 214

Figure 50: Catégories d'habitats (A) et structures linéaires (B) prises en compte dans les analyses de génétique du paysage dans la population de mouflons de Cinto. Le panel C représente la position des individus dans le massif. 221

Figure 51: Photographie des différents trichostrongylidés présents dans les caillettes des mouflons. © Julien Maerten 232

Figure 52: Bourse caudale d'Haemonchus contortus mâle observée à la loupe binoculaire. © Julien Maerten 232

Figure 53: Cordons génitaux et languette supra-vulvaire chez les Haemonchus contortus femelles. © Julien Maerten. 233

Figure 54: Répartition des individus Haemonchus contortus génotypés sur le massif du Caroux-Espinouse. 237

Figure 55: Valeurs de BIC de la DAPC réalisée sur les H. contortus du Caroux-Espinouse. 239

Figure 56:Proximité génétique entre les H. contortus génotypés dans le Caroux-Espinouse, obtenue grâce à la DAPC. Deux clusters génétiques ont été conservés. 239

Figure 57: Répartition géographique des H. contortus génotypés dans le massif du Caroux-Espinouse et assignation aux clusters génétiques identifiés grâce à la DAPC. 240

Figure 58: Carte géographique des scores lissés de la sPCA sur le premier axe global (A) et interpolation de ces scores illustrant la proximité génétique (B). 240

*Figure 59: Predicted GINs burdens (FEC) values as a function of scaled sMLH from each best genetic model in each model set: (i) sMLH + DRB1 heterozygosity status, (ii) sMLH + presence of DRB1*0114 allele and (iii) sMLH + DRB1genotypes.* 260

*Figure 60: Predicted GINs burden (FEC) values obtained from best genetic models for (A) DRB1 heterozygous and homozygous individuals, (B) for individuals carrying or not carrying the DRB1*0114 allele or (C) individuals carrying one of the DRB1 genotype.* 262

Figure 61:Predicted Eimeria spp. burden (FOC) values a function of age-classes (A), scaled time lapse (scaled number of days) between sampling and coproscopic analyses (B), SMI (C) and scaled Julian day of sampling (D) from the best non genetic model. Individuals of 2 (3) years are grouped in the class "2" ("3") while class ">4" grouped individuals 4 and more years old. 272

Figure 62: Predicted GINs burden (FEC) values a function of scaled SMI from the best non genetic model. 273

Figure 63: QQplot of GINs in non-genetic model 274

Figure 64: Residuals of best non-genetic models for Eimeria spp. (A) and GINs (B) plotted against fitted values. 274

Figure 65: QQplot of GINs in genetic model set (i) testing the effects of DRB1 heterozygosity. 275

*Figure 66: Residuals of best genetic models for GINs plotted against fitted values for model sets (i) sMLH + DRB1 heterozygosity status (A), (ii) sMLH + DRB1*0114 alleles (B) and (iii) sMLH + DRB1genotypes (C).* 275

Liste des tableaux

Tableau 1: Date, origine, site (voir aussi Figure 16A), sexe et nombre des individus fondateurs lâchés dans la Réserve Nationale de Chasse et de Faune Sauvage du Caroux-Espinouse (Cugnasse & Houssin 1993). 105

Tableau 2: Origin, year, site (see localizations on Figure 20), sex and number of founder individuals released in the National Fauna Reserve of Caroux-Espinouse massif (from Cugnasse & Houssin 1993 as cited in Garel 2006). 132

Tableau 3: Sample size (n), number of allele (Na), allelic richness (Ar), observed and expected heterozygosity (Ho and He respectively) averaged overall loci ± standard error, and Fis values for the different socio-spatial units of the Mediterranean mouflon population of Caroux-Espinouse massif. 141

Tableau 4: Pairwise Fst values between female and male socio spatial units of the Mediterranean mouflon population of the Caroux-Espinouse massif. 141

Tableau 5: Unilateral Wilcoxon tests p-values of heterozygote excess detection tests (bottleneck detection test) performed for each sex in the Caroux-Espinouse mouflon population (within each socio-spatial unit as defined in the text for females). 142

Tableau 6: Proportion of individuals assigned with a membership probability higher than 0.80 from each socio-spatial unit in each genetic cluster determined in DAPC. Bold values represent the largest values for each socio-spatial unit. 143

Tableau 7: Microsatellite markers multiplex, size, fluorescent dyes and final concentrations used for genotyping of Mediterranean mouflon individuals from the Caroux-Espinouse massif population.The 3 different multiplex created are identified as "B", "C" and "E". 148

Tableau 8: : Number of individuals from each individual-based cluster captured in each trap-based cluster. UPGMA was based on Euclidean distances between averaged locations of each animal (individuals-based analysis) or of each trap (trap-based analysis). 149

Tableau 9: Genetic variability per locus as computed for each socio-spatial unit of females and Fis values. 152

Tableau 10: Genetic variability per locus as computed for each socio-spatial unit of males. 153

Tableau 11: Averaged allelic richness (Ar) and observed heterozygosity (Ho) calculated on the four loci in common with Guerrini et al. (2015) (i.e. SRCRSP9, MAF70, OarJMP58 and OarFCB304) for Mediterranean mouflon from the Caroux-Espinouse massif population... 154

Tableau 12: Allelic richness (Ar) and observed heterozygosity (Ho) from Guerrini et al. (2015) for the four loci in common with the present study. 154

Tableau 13: Overlap among the home ranges of different female socio-spatial units based on female or on male data. 156

Tableau 14:Proportions (%) de femelles de chaque unité socio-spatiale (Chapitre 7, Article 1) dans chaque groupe génétique définit par SNAPCLUST. 158

Tableau 15 : Proportions (%) de mâles de chaque unité socio-spatiale (Chapitre 7, Article 1) dans chaque groupe génétique définit par SNAPCLUST. 162

Tableau 16: Tableau synthétique des nombres de clusters optimaux déterminés par différentes méthodes de clustering génétique pour les mâles et les femelles mouflons de la population du Caroux-Espinouse. 164

Tableau 17:Tests d'isolement par la distance réalisés pour les femelles et les mâles à l'aide de tests de Mantel entre différentes distances génétiques et la distance géographique en ligne droite (Dgéo ligne droite) ou corrigée pour la topographie (Dgéo topographie, voir Chapitre 8, Article 2). 165

Tableau 18: Fst par paires entre les populations de mouflons du Caroux-Espinouse, de Corse, de Chambord et de Cadarache. 170

Tableau 19:Nombre de paires de bases différentes entre 2 haplotypes mitochondriaux identifiés dans la présente étude et dans Guerrini et al. (2015). 171

Tableau 20: Description of the nine landscape elements used in landscape genetics analyses (reproduced with permission from Marchand et al. 2015b, 2017a; see also Figure 45b, c). 195

Tableau 21: IBD (EuD), IBR (LCDtop) and causal modeling tests performed for female and male Mediterranean mouflon. G refers to genetic (âr), EuD to Euclidean and LCDtop to least-cost distances matrices. Bold values indicate significant ($p<0.01$) simple (G ~ D1) or partial Mantel tests (G ~ D1 | D2, with D1 and D2 standing for IBD or IBR). For females IBR appeared as the principal driver of genetic structure (t3 significant and t4 non-significant) while for males no genetic structure was detected (all tests non-significant). 201

Tableau 22: Proportion of each landscape feature in the habitat map used in landscape genetics analyses. 208

Tableau 23: Correlation between the IBD and IBR models considered in landscape genetics analyses for males and females. In IBD model, the EuD matrix was used (Euclidean distance) while in the IBR models, LCDtop (top scenario only) and LCDav (scenarios were averaged across different numbers of scenarios chosen arbitrarily) have been used for females. For males, only one scenario had a significant and positive Mantel r. 209

Tableau 24: Resistance values obtained after averaging across different numbers of scenarios arbitrarily chosen for females (averaged values ± SD). 211

Tableau 25: Causal modeling results performed on LCDav obtained after model averaging for females (see Tableau 24). 212

Tableau 26: Description of landscape elements used for building IBR models (see Marchand et al. 2015a, 2017 for details). 213

Tableau 27: Causal modeling results performed on LCDav obtained after model averaging for females in one of the two sub-sample having significant and positive Mantel r in the power analysis. 216

Tableau 28: Causal modeling results performed on LCDav obtained after model averaging for females in the second sub-sample having significant and positive Mantel r in the power analysis. 217

Tableau 29: Resistance values obtained after averaging across different numbers of scenarios arbitrarily chosen for females in one of the two sub-sample having significant and positive Mantel r in the power analysis (averaged values ± SD). 218

Tableau 30: Resistance values obtained after averaging across different numbers of scenarios arbitrarily chosen for females in the second sub-sample having significant and positive Mantel r in the power analysis (averaged values ± SD). 219

Tableau 31: Valeur de résistance pour les différents éléments paysagers considérés dans les analyses de génétique du paysage dans la population de mouflons de Cinto pour le premier meilleur et différents nombres de scénarios considérés (moyenne ± erreur standard). 224

Tableau 32:Résultats du causal modeling réalisé sur les distances de moindre coût calculées en utilisant les valeurs de résistance du premier meilleur scénario, ou bien les valeurs obtenues en moyennant divers nombres de scénarios. 225

Tableau 33: Caractéristiques des 7 marqueurs microsatellites choisis pour le génotypage des Haemonchus contortus du Caroux-Espinouse. 236

Tableau 34: Nombre d'allèles (Na), richesse allélique (Ar), hétérozygoties observée (Ho) et attendue (He) et valeurs de Fis pour chaque locus, et, en moyenne ± écart-type pour tous les loci, pour les Haemonchus contortus du Caroux-Espinouse. 238

Tableau 35: DRB1 alleles, genotypes and number of individuals in each class (n). 258

Tableau 36: Model selection of mixed-effects models based on corrected Akaike's Information Criterion (AICc) for testing the effects of sMLH and DRB1 gene on parasite resistance as measured by FOC and FEC. 261

Tableau 37: Model estimates and goodness of fit (R^2c and R^2m) of the best genetic model for model sets (i) testing the effects of sMLH and DRB1 heterozygosity status (H_DRB1), (ii) testing the effects of sMLH and the presence of specific DRB1 alleles and (iii) testing the effects of MLH and DRB1genotypes (G_DRB1) on FEC. 263

Tableau 38: Variables used in non-genetic mixed-effects linear models and relative Variance Inflation Factors values (VIF) for both FEC and FOC......270

Tableau 39:Model selection of mixed-effects models based on corrected Akaike's Information Criterion (AICc) for testing the effects of quadratic terms of continuous non-genetic predictors on parasite resistance as measured by FOC and FEC. 270

Tableau 40: Model selection of mixed-effects models based on corrected Akaike's Information Criterion (AICc) for testing the effects of non-genetic predictors on parasite resistance as measured by FOC and FEC. 271

*Tableau 41: Variables used in genetic mixed-effects linear models and relative Variance Inflation Factors values (VIF) for both FEC and FOC in the three model sets: (i) sMLH + DRB1 heterozygosity status (H_DRB1), (ii) sMLH + presence of specific DRB1 alleles (R1, R2 and R3, for *0324, *07012 * and *0114, respectively) and (iii) sMLH + DRB1genotypes (G_DRB1).*.....276

*Tableau 42: Model selection of mixed-effects models based on corrected Akaike's Information Criterion (AICc) for testing the effects of quadratic terms of sMLH on parasite resistance as measured by FOC and FEC in the three model sets: (i) sMLH + DRB1 heterozygosity status (H_DRB1), (ii) sMLH + presence of specific DRB1 alleles (R1, R2 and R3, for *0324, *07012 * and *0114, respectively) and (iii) sMLH + DRB1genotypes (G_DRB1).* 277

Tableau 43: Sélection des modèles mixtes sur la base de l'AICc pour tester, dans les analyses où DYMS1 et d² ont été inclus, les effets des termes quadratiques des variables continues non génétiques sur la résistance face aux parasites (FEC et FOC). 280

Tableau 44: Variance Inflation Factors des variables non génétiques incluses dans les modèles mixtes pour FEC et FOC et les analyses incluant DYMS1 et d². 281

Tableau 45: Sélection de modèles mixtes sur la base de l'AICc pour tester, dans les analyses ou DYMS1 et d² ont été inclus, les effets des variables non génétiques sur la résistance face aux parasites (FOC et FEC)......281

Tableau 46: Variance inflation factors (VIF) des variables génétiques ou non, incluses dans les modèles mixtes pour FOC et FEC dans les 3 jeux de modèles pour les analyses incluant DYMS1 et d² : (i) sMLH + d² + génotype au DYMS1 (G_DY) + Hétérozygotie au DRB1 (H_DRB), (ii) sMLH + d² + G_DY + Allèles au DRB1 et (iii) sMLH + d² + G_DY + génotype au DRB1 (G_DRB1)......283

*Tableau 47: Sélection de modèles mixtes sur la base de l'AICc pour tester, dans les analyses où DYMS1 et d² ont été inclus, les effets des termes quadratiques de sMLH et d² sur la résistance face aux parasites (FOC et FEC), pour les 3 sets de modèles génétiques : (i) sMLH + d² + génotype au DYMS1 (G_DY) + Hétérozygotie au DRB1 (H_DRB), (ii) sMLH + d² + G_DY + Allèles au DRB1 (R1, R2 et R3 pour *0324, *07012 * et *0114, respectivement)et (iii) sMLH + d² + G_DY + génotype au DRB1 (G_DRB1).* 284

*Tableau 48: Sélection de modèles mixtes sur la base de l'AICc pour tester, dans les analyses où DYMS1 et d² ont été inclus, les effets des variables génétiques sur la résistance face aux parasites (FOC et FEC), pour les 3 sets de modèles génétiques : (i) sMLH + d² + génotype au DYMS1 (G_DY) + Hétérozygotie au DRB1 (H_DRB), (ii) sMLH + d² + G_DY + Allèles au DRB1 (R1, R2 et R3 pour *0324, *07012 * et *0114, respectivement)et (iii) sMLH + d² + G_DY + génotype au DRB1 (G_DRB1).* 285

*Tableau 49: Estimations des coefficients pour les meilleurs modèles génétiques pour FEC. "H_DRB1" représente l'hétérozygotie au DRB et R1, R2, R3 sont les allèles au DRB1 (*0324, *07012 * et*0114, respectivement).* 289

Tableau 50: Proportion d'individus portant les différents allèles identifiés au gène du DRB1 dans les différentes unités socio-spatiales femelles de la population de mouflons du Caroux-Espinouse (Nf, Cf et Sf, voir Article 1)...... 307

PARTIE I :
INTRODUCTION GÉNÉRALE

Préface

Le parasitisme est défini comme une relation écologique entre espèces de types différents dans laquelle le parasite vit sur, ou dans le corps de l'hôte, en est nutritionellement dépendant et a des effets néfastes sur lui, pouvant aller jusqu'à la mortalité des individus très fortement parasités (Crofton 1971, Anderson & May 1978). Le parasite influence la biologie de son hôte, de même que l'hôte influence celle des parasites qu'il porte. Il en résulte une interdépendance des fonctionnements biologiques des espèces hôtes et parasites.

Les effets des parasites sur la dynamique et l'évolution des populations hôtes sont aujourd'hui bien connus (Anderson & May 1978, 1979, May & Anderson 1979, Grenfell 1992, Grenfell & Gulland 1995, Gulland 1995, Barrett et al. 2008, Tompkins et al. 2011). Les parasites peuvent notamment impacter, dans nombres de taxons, la survie et le succès reproducteur des hôtes (e.g. chez les invertébrés : Minchella 1981, les oiseaux : Hudson et al. 1998, Ilmonen et al. 2000, les poissons : Forrester & Finley 2006, les mammifères : Newey & Thirgood 2004, Schwanz 2008). Parallèlement, les hôtes influencent la dynamique et l'évolution des parasites via les variations d'effectifs (modèle de Lotka-Voltera, Volterra 1928, Lotka 1932, voir Papkou et al. 2016) ou de densité de leurs populations (Arneberg et al. 1998), leur comportement (e.g. Bohn et al. 2017), leur structure spatiale (Barrett et al. 2008, Gilleard & Redman 2016) et sociale (Altizer et al. 2003, van Schaik & Kerth 2017) et leurs mécanismes de résistance (Fenner & Fantini 1999).

Du fait de cette interdépendance, hôtes et parasites coévoluent (Barrett et al. 2008). L'une des composantes majeures de la coévolution est la résistance qu'hôte et parasite ont vis-à-vis l'un de l'autre. Notamment, les pressions de sélection imposées par le parasite vont sélectionner les hôtes avec une résistance optimale face au pathogène, forçant ainsi l'évolution des stratégies du pathogène (Barrett et al. 2008). Une course à l'armement se met ainsi en place entre hôtes et parasites (Combes 2001). Parmi les exemples les plus connus de coévolution, on peut citer l'introduction du lapin de garenne (*Oryctolagus cuniculus cuniculus*) en Australie, à des fins cynégétiques. Suite à cette introduction, les lapins sont devenus si nombreux qu'ils ont été considérés comme une espèce nuisible. Afin de réguler leurs effectifs, le virus de la myxomatose (*Myxoma virus*) a été introduit. Au départ, les effectifs des populations de lapins ont drastiquement décrus, ce qui s'est accompagné d'une forte sélection directionnelle (voir Chapitre 1, 1.4.3) favorisant les lapins génétiquement résistants au virus. Cette augmentation de la résistance a eu pour conséquence de sélectionner les souches de virus moins virulentes, une moindre virulence maximisant la probabilité d'être transmis. Le virus n'assurait alors plus son rôle de régulateur car la mortalité associée à l'infection a drastiquement diminuée (Fenner & Fantini 1999). Le phénomène s'est répété

depuis l'introduction d'un autre virus (le Rabbit Hemorrhagic Disease Virus) et les lapins sont aujourd'hui toujours un problème en Australie (Schwensow et al. 2017).

Le matériel sur lequel agit la sélection naturelle, aboutissant à l'adaptation et l'évolution des populations et des espèces, est la diversité génétique (Lande & Shanon 1996, DiBattista 2008). La diversité génétique se mesure à deux échelles, celle de la population et celle de l'individu. À l'échelle de la population, une plus grande diversité génétique confère un plus grand potentiel adaptatif en maximisant les chances d'avoir des individus ayant des phénotypes leur permettant de faire face aux changements environnementaux (Lande 1998). Une grande diversité est donc considérée comme une caractéristique avantageuse. La diversité génétique individuelle est quant à elle liée à la valeur sélective (e.g. Slate et al. 2000) et à la résistance face aux pathogènes (e.g. Brambilla et al. 2015, Schwensow et al. 2017). Elle a donc un rôle important dans la coévolution entre hôtes et parasites. La diversité génétique (populationnelle et individuelle) est déterminée par divers facteurs tels que l'histoire des populations (e.g. Biebach & Keller 2012, Kekkonen & Brommer 2015) et les flux de gènes entre et au sein des populations (Segelbacher et al. 2010, Říčanová et al. 2011). Les flux de gènes sont quant à eux impactés par différents facteurs tels que le paysage et les capacités de dispersion des espèces (Slatkin 1987, Wilson et al. 2015). Par ailleurs, les mouvements des hôtes (y compris ceux aboutissant à des échanges génétiques) vont participer à déterminer les flux de parasites dans les populations (Biek & Real 2010, Gilleard & Redman 2016), et de ce fait, les flux de gènes entre parasites, modulant ainsi leur propre diversité génétique et capacités d'adaptation (Barrett et al. 2008). Ainsi, tout élément pouvant impacter les flux d'individus et de gènes peut impacter la diversité génétique et la dynamique parasitaire dans les populations.

Dans un tel contexte, on comprend alors que le fonctionnement des populations hôtes est indissociable du fonctionnement des populations de parasites et *vice versa*, et que la génétique tient une place importante dans les interactions hôtes-parasites. Si l'on souhaite comprendre le fonctionnement des populations, on doit donc étudier conjointement hôtes et parasites, et plus particulièrement la distribution de la variabilité génétique et son lien avec les risques sanitaires dans les populations. C'est ce que nous nous proposons de faire dans la suite de ce manuscrit. La Partie I repositionnera la génétique et le parasitisme dans leurs contextes théoriques et illustrera leurs importances au travers d'exemples pris dans le règne animal. La partie II aura quant à elle pour but de présenter le contexte méthodologique dans lequel s'est déroulé le travail accompli durant cette thèse. Les résultats obtenus seront exposés dans les parties III et IV puis la partie V sera consacrée à la synthèse et la discussion générale.

Chapitre 1

De l'importance de la génétique pour les individus et les populations

1. Diversité génétique : Origine et rôles

1.1. La diversité génétique, qu'est-ce c'est ?

L'une des raisons qui fait de la génétique un élément majeur pour les individus, les populations et les espèces, est qu'il existe un lien entre ADN (Acide DésoxyriboNucléique) et phénotype[4] d'un individu. L'ADN est une chaine de nucléotides (bases de l'ADN, A, T, C, G pour Adénine, Thymine, Cytosine et Guanine, respectivement). Au sein d'un individu, cet ADN est divisé en plusieurs morceaux, les chromosomes, qui sont par paires chez les organismes diploïdes (excepté dans les gamètes). Le nombre de chromosomes peut varier d'une espèce à l'autre et la taille du génome (ADN total d'un individu) aussi (e.g. le génome humain est composé de 3 400 000 000 paires de bases contre « seulement » 120 000 000 pour la plante *Arabidopsis thaliana*, Gautheret 2012). Chaque cellule nucléée contient une copie complète du génome. Les séquences d'ADN sont propres à chaque individu (séquence unique) et sont constituées de régions codantes et non codantes. La position d'une portion spécifique d'ADN (e.g. d'un gène) sur le chromosome s'appelle le locus. Chez les organismes diploïdes, comme deux copies de chaque chromosome sont présentes, deux copies de l'ADN de chaque locus sont également présentes. On parle d'allèles pour désigner les différentes copies d'un même gène. À un locus donné, un individu peut porter deux allèles identiques, on dira alors qu'il est homozygote, ou différents, et l'individu est alors hétérozygote à ce locus. La lecture des séquences d'ADN entraîne la production d'autres molécules (e.g. protéines, enzymes) qui peuvent avoir un impact biochimique, morphologique ou encore comportemental sur le phénotype de l'individu chez qui elles sont produites (Frankham et al. 2004).

La diversité génétique est la diversité en séquences d'ADN existant dans un individu ou un ensemble d'individus (populations, espèces, groupes d'espèces). La plupart des variations existant entre les séquences de deux individus sont neutres (Kimura 1968, 1983), c'est-à-dire qu'elles n'induisent aucune différence de phénotypes. Cependant, si la variation est dans une partie du génome contrôlant un trait phénotypique, alors deux individus ayant des séquences différentes pourront avoir des phénotypes différents. Selon que l'on considère un individu ou un ensemble d'individus (e.g. une population), la diversité génétique peut être mesurée à plusieurs niveaux. On peut par exemple considérer le nombre de paires de bases différentes entre deux séquences ou dans un ensemble de séquences, le nombre de loci

[4] Le phénotype est l'ensemble des caractéristiques observables d'un individu.

polymorphes[5] parmi les loci échantillonnés, le nombre d'allèles présents dans l'individu ou l'ensemble d'individus, le nombre de loci auxquels un individu est hétérozygote (hétérozygotie individuelle) ou encore le nombre moyen de loci auxquels les individus d'une population sont hétérozygotes (hétérozygotie populationnelle). Un ensemble d'individus peut également être caractérisé par la fréquence des différents allèles portés par les individus le constituant.

1.2. La diversité génétique individuelle

À l'échelle de l'individu, la diversité génétique est liée à la valeur sélective[6] (de manière directe ou indirecte) car elle détermine la valeur de différents traits phénotypiques. Par exemple, la complexité du chant des mâles phragmite des joncs (*Acrocephalus schoenobaenus*), un trait sexuellement sélectionné chez cet oiseau, est positivement corrélée à la diversité génétique individuelle (Marshall et al. 2003). Chez le faucon crécerellette (*Falco naumanni*) et le cerf élaphe (*Cervus elaphus*), ce sont, respectivement, le nombre d'œufs et le succès reproducteur qui sont plus forts chez les individus les plus hétérozygotes (Ortego et al. 2007c, Slate et al. 2000). Le comportement de dispersion est également lié à la diversité génétique ou à la présence de certains génotypes (e.g. chez les macaques rhésus *Macaca mulatta*, Trefilov et al. 2000, la mésange charbonnière, *Parus major*, Fidler et al. 2007, les écureuils volants, *Pteromys volans*, Selonen & Hanski 2010).

Ces liens entre diversité génétique et traits d'histoire de vie[7] peuvent passer par divers mécanismes. Par exemple, le succès reproducteur chez le cerf élaphe est lié à la masse à la naissance (Kruuk et al. 1999), et la masse à la naissance est, entre autres, impactée par la diversité génétique (Coulson et al. 1998). L'effet de la diversité génétique sur le succès reproducteur peut donc passer par la condition corporelle des juvéniles (Slate et al. 2000). De la même manière, les effets de la diversité génétique sur les caractères sexuels secondaires peuvent être liés à la résistance face aux parasites (e.g. Brambilla et al. 2015). En effet, d'après la théorie de la sélection sexuelle conditionnée par les parasites (« *Parasited Mediated Sexual Selection* », PMSS, en anglais, Hamilton & Zuk 1982), les caractères sexuels secondaires sont un signal honnête de la qualité d'un individu et retranscrivent ainsi ses capacités de résistance face aux pathogènes. Cette résistance étant liée à la diversité génétique (e.g. Coltman et al. 1999, Luikart et al. 2008), les caractères sexuels secondaires peuvent

[5] Le polymorphisme est le fait qu'il existe de la variation. Si dans une population un seul allèle existe pour un locus donné alors ce locus est dit monomorphe. Si plusieurs allèles existent alors ce locus est dit polymorphe.
[6] La valeur sélective d'un individu représente sa capacité à passer ses gènes à la génération suivante. Elle est égale au produit de la fécondité et de la survie.
[7] Traits individuels liés la survie et/ou à la reproduction des individus.

également l'être. Si l'on revient sur l'exemple du phragmite des joncs, les mâles avec la plus grande diversité génétique ont un répertoire de chant plus varié, et sont préférentiellement choisis par les femelles pour s'accoupler (Marshall et al. 2003). Par ailleurs, la complexité du chant chez cette espèce est un indicateur de différentes caractéristiques individuelles, et notamment de la charge parasitaire (Catchpole 2000). Le chant renseigne ainsi les femelles sur la qualité des mâles (voir aussi Chapitre 11, 4.1) et leur permet de s'accoupler avec les individus ayant une grande diversité génétique. Les femelles maximisent alors la diversité génétique de leur descendance, et confèrent à leur couvée les avantages évolutifs d'un « bon » père.

L'effet de la diversité génétique sur la dispersion peut également passer par la condition corporelle (e.g. Barbraud et al. 2003) et son interaction avec la résistance face aux parasites (Vanpé et al. 2016). Chez le chevreuil (*Capreolus capreolus*) par exemple, les individus hétérozygotes au locus du Toll-Like Receptor 3, qui est lié à l'immunité, sont plus résistants que les homozygotes face au toxoplasme (*Toxoplasma gondii*). Dans la même population, il existe un lien entre résistance face aux nématodes intestinaux, condition corporelle et propension à disperser (Debeffe et al. 2014). Ainsi, les effets de la diversité génétique sur la dispersion pourraient être induits par la condition corporelle et le parasitisme (Vanpé et al. 2016).

Bien que le nombre d'allèles (e.g. Vanpé et al. 2016, Wegner et al. 2003a, Kloch et al. 2010) puisse également être l'une des mesures de diversité génétique liée à la valeur sélective, c'est souvent l'hétérozygotie que l'on retrouve dans la bibliographie (e.g. Slate et al. 2000, Acevedo-Whitehouse et al. 2005, Selonen & Hanski 2010, Ruiz-Lopez et al. 2012, Brambilla et al. 2015, Mitchell et al. 2017). On fait alors référence aux corrélations hétérozygotie-valeur sélective (HFCs en anglais, pour *Heterozygosity-Fitness Correlation*). Les HFCs peuvent être dues à des effets directs de l'hétérozygotie aux loci considérés sur la valeur sélective (*Hypothèse de l'effet direct*, Hansson & Westerberg 2002), comme c'est le cas par exemple lorsque l'on considère les effets d'un gène lié à l'immunité sur la résistance face aux parasites (e.g. Coltman et al. 2001, Oliver et al. 2009). Le lien entre hétérozygotie et valeur sélective peut également être indirect (*Hypothèse de l'effet indirect*, ou *de l'effet local*, Hansson & Westerberg 2002), c'est-à-dire que les loci que l'on considère sont en déséquilibre de liaison[8] avec d'autres loci qui eux-mêmes sont directement liés à la valeur sélective. L'HFC détectée

[8] Association non aléatoire d'allèles à différents loci. Ces allèles sont transmis « en lot » même s'ils appartiennent à des loci différents. Par exemple, un locus non soumis à sélection mais étant proche d'un locus soumis à sélection peut « bénéficier » de la sélection du second et ainsi être indirectement sélectionné (auto-stop génétique). Les allèles de ces 2 loci seront alors associés ensemble plus souvent qu'au hasard, créant un déséquilibre de liaison.

est alors le reflet de cette association. Enfin, l'hétérozygotie globale (à l'échelle du génome) pourrait être liée à la valeur sélective des individus à travers l'avantage global que peut procurer le fait d'être génétiquement plus variable que la moyenne (*Hypothèse de l'effet global*, Hansson & Westerberg 2002). Une grande diversité génétique individuelle est effectivement souvent vue comme un avantage évolutif (bien que des corrélations négatives entre diversité génétique et valeur sélective existent, e.g. Ilmonen et al. 2007, Szulkin & David 2011, Acevedo-Whitehouse et al. 2018).

Sans être une liste exhaustive (voir par exemple les effets de la diversité génétique sur la survie, e.g. Velando et al. 2015), les exemples précédemment cités illustrent l'importance de la diversité génétique pour de nombreux traits d'histoire de vie. En modulant la valeur sélective des individus, la diversité génétique peut également avoir des conséquences à l'échelle des populations.

1.3. La diversité génétique populationnelle

Une population est constituée d'un ensemble d'individus et comporte donc une certaine diversité génétique que l'on peut quantifier. À l'échelle de la population, la diversité génétique représente le matériel sur lequel agit la sélection naturelle, permettant aux populations de s'adapter aux changements qu'elles peuvent rencontrer (Hedrick 2011). En effet, la diversité génétique individuelle participe à la création de diversité phénotypique, ces variations phénotypiques pouvant induire des différences de valeur sélective entre les individus. Lors d'un changement environnemental, certains individus peuvent avoir un phénotype leur conférant un avantage sélectif dans les nouvelles conditions (court-terme). Ces individus survivront et se reproduiront mieux que ceux n'ayant pas ce phénotype. Ces caractéristiques génétiques, si elles sont héréditaires, pourront être incluses dans le processus de sélection naturelle (voir Chapitre 1, 1.4.3) et se répandront alors dans la population au détriment des caractéristiques désormais mal adaptées. Le phénotype majoritaire présent dans la population sera déplacé (voir Chapitre 1, 1.4.3) et la population sera mieux adaptée (e.g. meilleure survie) aux nouvelles conditions environnementales (long-terme). Il est important de noter ici que l'on parle de population et non d'espèce. Cela est dû au fait que le potentiel évolutif d'une espèce peut-être divisé en populations (Hedrick 2011). Les pressions de sélection correspondent à des conditions particulières, appliquées localement à un certain groupe d'individus, et s'exercent donc à l'échelle d'une population plus souvent qu'à l'échelle d'une espèce entière (i.e. sur son aire de répartition globale). Plusieurs facteurs peuvent agir sur les fréquences alléliques et la diversité génétique dans une population, et notamment les 4

grandes forces évolutives[9] : la mutation, la dérive génétique, la sélection et la migration/dispersion.

1.4. Les forces évolutives déterminant la diversité génétique

1.4.1. La mutation

Une mutation est définie comme un changement dans la séquence génétique (Nature Education 2014a), qui peut apparaître de manière aléatoire, ou être favorisée par des facteurs environnementaux mutagènes (e.g. l'exposition aux rayons ultra-violets, Pfeifer et al. 2005). Certaines mutations peuvent être sans conséquences phénotypiques (mutations silencieuses) alors que d'autres peuvent modifier le phénotype des individus (mutations non silencieuses). Si la mutation se produit dans l'ADN contenu dans des cellules germinales (i.e. gamètes ou cellules produisant les gamètes), alors elle pourra être transmise à la descendance des individus. En modifiant les séquences d'ADN la mutation crée de nouveaux allèles et est ainsi la source de la diversité génétique dans les populations. Cette diversité sera alors régulée (conservée, propagée ou non) par les autres forces évolutives. La mutation est un processus lent (e.g. 1×10^{-5} nouvelle mutation par locus et génération chez les eucaryotes) dont le taux peut varier selon le type de locus considéré (Frankham et al. 2004).

Une mutation non silencieuse dans une cellule germinale peut ainsi créer un nouveau phénotype qui se répandra éventuellement dans la population. Chez les otaries de Kerguelen (*Arctocephalus gazella*), la perte de pigmentation de certains individus est due à une mutation sur un seul nucléotide dans le gène du récepteur de la mélanocortine de type 1 (Peters et al. 2017). Les mutations peuvent également avoir d'importantes conséquences sanitaires sur les populations et la résistance des parasites face aux traitements antiparasitaires. C'est notamment ce processus qui permet aujourd'hui d'expliquer la résistance de la malaria (causée par le parasite protozoaire *Plasmodium falciparum*) aux traitements antifolates (Gregson & Plowe 2005). De la même manière, l'apparition, au sein des hôtes d'un allèle de résistance face aux parasites (i.e. un allèle induisant un taux de parasites plus bas chez les individus porteurs que chez les individus ayant d'autres allèles, voir Chapitres 2 et 10, Article 3), suite à une mutation, peut impacter la dynamique parasitaire dans une population.

[9] Les forces évolutives ne sont pas les seuls facteurs déterminant la diversité génétique. Par exemple, le *crossing-over* (échange de matériel génétique entre 2 molécules d'ADN lors de la méiose) crée de nouvelles combinaisons génétiques. Un autre exemple peut-être la consanguinité (reproduction entre individus apparentés) qui induit une perte de diversité génétique (voir Chapitre 1, 2.2).

1.4.2. La dérive génétique

La dérive génétique est la variation aléatoire des fréquences alléliques entre deux générations dans une population (Wright 1931, Masel 2011). Ce phénomène est lié au fait que les populations ont un effectif fini. En effet, lorsque les individus d'une population se reproduisent, seulement un échantillon aléatoire de tous les gamètes parentaux est impliqué. C'est donc seulement un sous-échantillon de la diversité allélique disponible qui est transmis à la génération suivante. Plus l'effectif de la population (et notamment le nombre d'individus reproducteurs) est petit, plus le sous-échantillon sera petit, et donc, plus la dérive génétique sera forte (Lande & Barrowclough 1987, Lande 1988). La dérive peut ainsi causer la disparition ou la fixation aléatoires d'allèles dans les populations : si un seul allèle est échantillonné lors de la formation de la génération suivante, à la disparition des parents, les autres allèles seront perdus, et le seul allèle échantillonné sera fixé (fréquence = 1), cela même si cet allèle confère un désavantage sélectif.

Dans une étude expérimentale sur le petit vers de farine (*Tribolium castaneum*), Rich et al. (1979) illustrent le phénomène de perte de diversité génétique causé par la dérive génétique. Les auteurs ont créé 12 réplicats de populations d'effectifs variables (N = 10, 20, 50 et 100) et ont maintenu les effectifs constants en échantillonnant aléatoirement N parents afin de former les générations successives. Ils ont ensuite observé la variation des fréquences alléliques dans ces populations, dans lesquelles les deux allèles considérés étaient initialement présents en proportions égales (f = 0.5). La Figure 1 représente l'évolution de la fréquence de l'allèle responsable du morphotype sauvage (« *wild type* ») au cours de ces générations successives. Elle montre bien que, plus l'effectif de la population considérée est petit, plus les variations de fréquences alléliques sont importantes. Pour N = 10, on observe la fixation de l'allèle « sauvage » dans 6 populations sur 12, la perte de cet allèle dans une population et le maintien des deux allèles dans 5 populations (Figure 1). La dérive génétique a ainsi causé la perte de diversité génétique dans la population N = 10, alors que dans les populations d'effectifs plus grands, beaucoup moins de fixations sont observées (et même aucune pour N = 100)[10].

Dans cet exemple, les fréquences alléliques initiales étaient de 0.5. Cependant, dans les populations naturelles il existe des allèles rares, présents à faibles fréquences, et ces allèles ont donc encore plus de chance d'être perdus que les allèles plus fréquents. Dans le cas de

[10] Il est à noter ici que si la dérive génétique est aléatoire, elle peut néanmoins être compensée par d'autres forces évolutives (e.g. sélection, flux de gènes, voir 1.4.3, 1.4.4). Dans l'étude de Rich et al. (1979) cela est illustré par le fait que, malgré la dérive, pour toutes les populations, la fréquence de l'allèle « *wild-type* » a tendance à augmenter. La sélection agit à l'encontre de l'allèle « non-sauvage ».

fixation comme de perte d'allèles, la dérive génétique réduit la diversité génétique et cela peut avoir des conséquences dramatiques dans les petites populations (e.g. celles ayant subi un goulot d'étranglement[11]) qui voient alors leur probabilité d'extinction augmenter (Lande 1994, 1998, Saccheri et al. 1998)[12]. Dans un contexte sanitaire, on imagine aussi facilement les conséquences de la perte d'allèles de résistance face à un pathogène (voir Chapitres 2 et 10).

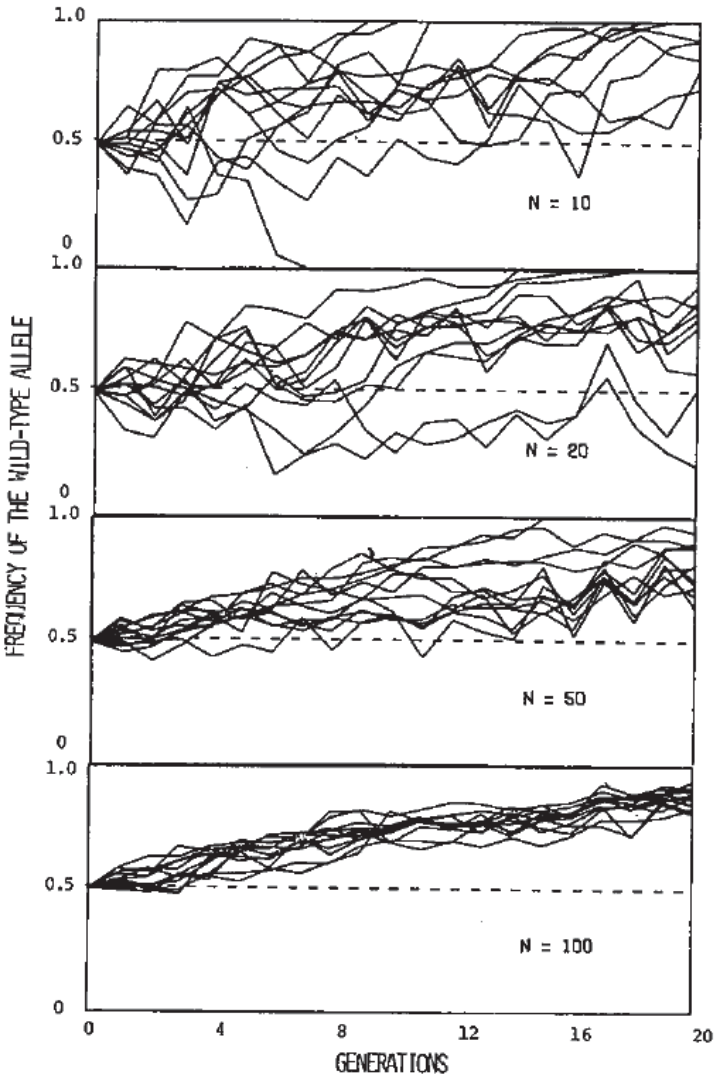

Figure 1: Évolution de la fréquence de l'allèle « wild type » dans des populations de petit vers de farine (Tribolium castaneum) de différents effectifs (N) au cours de générations successives (reproduit depuis Rich et al. 1979).

[11] Un goulot d'étranglement arrive dans une population lorsque l'effectif est drastiquement réduit ou qu'une part importante des individus ne peut pas se reproduire (e.g. des suites d'une maladie) (Nature Education, 2014b)
[12] Dans les petites populations, l'accumulation de mutations délétères est également un facteur augmentant le risque d'extinction (Lynche et al. 1995)

1.4.3. La sélection naturelle

La sélection naturelle, introduite par Charles Darwin dans son œuvre « L'origine des espèces » parue en 1859, est le processus par lequel les caractères avantageux d'un individu vont se répandre dans une population, alors que la fréquence des caractères désavantageux va diminuer. Elle repose sur plusieurs principes (Breed & Moore 2015). Premièrement, la sélection naturelle nécessite l'existence de variabilité interindividuelle au niveau phénotypique et génotypique dans la population ou l'espèce. Il faut ensuite que les individus les plus adaptés à l'environnement dans lequel ils évoluent survivent et se reproduisent mieux que les autres. Enfin, il faut que les caractères avantageux, favorisant la survie et la reproduction de ces individus, soient héréditaires. Si ces trois conditions sont réunies alors sous l'action de la sélection naturelle, un caractère avantageux verra sa fréquence augmenter dans la population au fil des générations alors que les caractères délétères seront éliminés ou minoritaires.

Il existe différents types de sélection (voir Lande & Barrowclough 1987, Nielsen 2005, Figure 2) :

- La sélection directionnelle (positive ou négative). La sélection positive favorise la valeur du trait phénotypique qui confère un avantage aux individus porteurs. Au niveau moléculaire on observe donc une augmentation de la fréquence de l'allèle avantageux dans la population. La sélection négative (ou purifiante) fera quant à elle diminuer la fréquence des allèles délétères dans la population.

- La sélection stabilisante favorise les phénotypes intermédiaires. Ce processus est en lien avec la sélection négative car les variants génétiques ayant des phénotypes « extrêmes » (i.e. en queue de distribution) seront éliminés, faisant diminuer la variance du trait phénotypique.

- La sélection diversifiante (ou balancée) permet le maintien du polymorphisme en favorisant plusieurs valeurs de phénotypes. La sélection diversifiante peut notamment être due au fait que le génotype hétérozygote confère un avantage aux individus porteurs : les 2 allèles sont alors maintenus car les individus hétérozygotes survivent et se reproduisent mieux que les homozygotes.

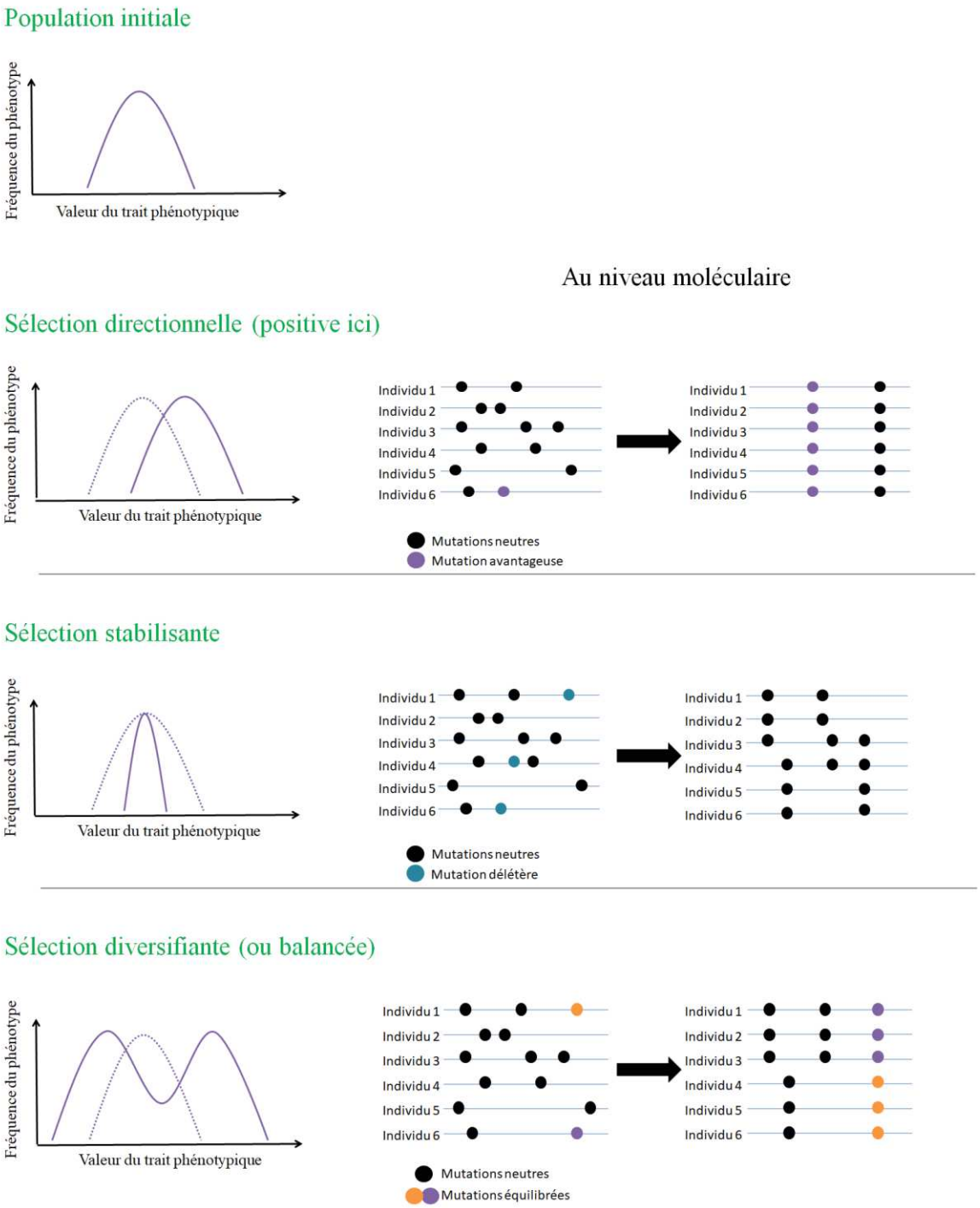

Figure 2: Illustration des différents types de sélection naturelle. Modifié depuis Toussaint et al. 2012.

La sélection directionnelle positive permet à la mutation avantageuse de se répandre dans la population, déplaçant la valeur du phénotype moyen (pointillés → trait plein). La sélection stabilisante élimine quant à elle les mutations délétères responsables des valeurs phénotypiques « différentes de la moyenne », réduisant ainsi la variance autour de cette moyenne. Enfin, la sélection diversifiante permet aux deux mutations équilibrées de se répandre induisant la présence de deux valeurs optimales de phénotype.

La sélection est un processus crucial pour la viabilité des populations puisqu'elle assure la non-prolifération des allèles délétères et contrecarre les variations aléatoires de fréquences alléliques créées par la dérive génétique. Elle assure ainsi l'adaptation des populations à leur environnement (Breed & Moore 2015). Dans le cadre de la résistance face aux parasites, si une mutation apparaît et produit un allèle rendant les individus porteurs plus résistants face aux parasites, alors cet allèle sera soumis à une sélection positive.

1.4.4. La migration, la dispersion et les flux de gènes

La migration, en génétique des populations[13], fait référence à l'échange d'individus et de gamètes entre populations (ou sous-populations). Endler (1977) est l'un des premiers à distinguer « migration », « dispersion » et « flux de gènes ». Il définit la migration comme « les mouvements de relativement longue distance faits par un grand nombre d'individus dans approximativement la même direction et approximativement au même moment et est habituellement suivie par une migration retour ». Cette définition fait donc référence aux espèces migratrices, qui migrent régulièrement mais qui retournent également régulièrement sur leur lieu de reproduction. Cela concerne de nombreuses espèces dans tous les groupes (Robinson et al. 2009). La dispersion est quant à elle définie comme « les mouvements à petite échelle approximativement aléatoires et non-directionnels fait par des individus plutôt que des groupes, plutôt continuellement que périodiquement, comme résultat de leur activité quotidienne ». Enfin, il définit les flux de gènes comme « le mouvement des gènes ou des complexes de gènes, et leur établissement, dans des pools génétiques allochtones ». Dans les définitions d'Endler, migration et dispersion ne sont donc pas systématiquement synonymes de flux de gènes mais elles peuvent y aboutir si elles sont suivies d'un événement de reproduction. Et c'est donc ce qui est supposé dans la définition de la migration comme force évolutive.

D'autres auteurs (e.g. Howard 1960) font cependant référence à la dispersion comme au « mouvement qu'un animal fait depuis son point d'origine à l'endroit où il se reproduit ou se serait reproduit s'il avait survécu et trouvé un partenaire », liant ainsi étroitement flux de gènes et dispersion. Il est à noter que la dispersion peut prendre plusieurs formes et notamment la « dispersion natale » et la « dispersion de reproduction ». La dispersion natale est définie comme « le mouvement par lequel un individu quitte son lieu de naissance pour s'engager dans l'accouplement ou la reproduction ailleurs » et la dispersion de reproduction fait référence aux « mouvements entre deux événements de reproduction pour le même

[13] La génétique des populations est la discipline qui consiste en étudier la distribution de la variabilité génétique dans l'espace et le temps pour déterminer la structure des populations.

individu » (Ronce 2007). Dans sa synthèse bibliographique, Ronce (2007) propose une définition du mot dispersion qui englobe la dispersion natale et de reproduction : « n'importe quel mouvement des individus ou propagules qui ont des conséquences potentielles sur les flux de gènes dans l'espace ». C'est à cette définition de la dispersion à laquelle nous ferons référence par la suite et définirons les mouvements des gènes comme les « flux de gènes » qui peuvent être assurés par cette dispersion.

En créant des flux de gènes entre différentes (sous-)populations, la dispersion permet d'augmenter la diversité génétique en apportant de nouveaux allèles. Elle modifie aussi les fréquences des allèles déjà présents dans la population « receveuse » (Breed & Moore 2015) et contribue ainsi, contrairement aux autres forces évolutives, à homogénéiser les fréquences alléliques entre (sous-)populations (Slatkin 1985, voir Chapitre 1, 2). Indépendamment de la taille de la population considérée, seulement 10 individus dispersant par génération peuvent suffire à créer une homogénéité entre noyaux de populations sans laisser les forces évolutives créer de la différenciation (voir Chapitre 1, 2, Frankham et al. 2004). Étant donné l'importance des flux de gènes dans le déterminisme de la structure des populations et de la diversité génétique, nous reviendrons plus en détails sur ces aspects fondamentaux dans une partie dédiée (voir Chapitre 1, 2).

Dans le cadre de la parasitologie, on peut notamment évoquer l'importance que peut revêtir la diffusion des allèles de résistance des hôtes face aux parasites (voir Chapitres 2, 10 et 11) entre les sous-populations[14] d'une population grâce à la dispersion. Même si, dans ce cas particulier, les flux de gènes sont déterminés par l'homme, les programmes de reproduction mis en place chez les moutons domestiques pour accroître leur résistance face aux nématodes gastro-intestinaux représentent un exemple de l'impact sanitaire des flux de gènes sur les populations (Sayers & Sweeney 2005). D'un autre côté, les échanges d'individus (sans forcément qu'ils soient liés à des flux de gènes) peuvent également représenter un moyen d'échanger des pathogènes. L'introduction de pathogènes allochtones contre lesquels les individus résidents n'ont pas de défense peut avoir de lourdes conséquences sur les populations. Par exemple, l'extinction et le déclin de nombreuses populations d'oiseaux dans l'archipel d'Hawaii sont associés à l'introduction de la malaria aviaire via des introductions d'espèces d'oiseaux non natives au début du XX^{ème} siècle (Atkinson & Lapointe 2009). La migration/dispersion peut ainsi avoir des effets positifs comme négatifs sur l'état sanitaire d'une population.

[14] Une sous-population est une partie de population, un groupe d'individus qui se ressemblent plus entre eux qu'aux individus du reste de la population. En génétique des populations, ces individus sont plus proches génétiquement entre eux que d'autres individus (voir Chapitre 1, 2).

Parmi les 4 forces évolutives, les flux de gènes et la mutation sont les 2 forces susceptibles d'augmenter la diversité génétique dans une population. La sélection diversifiante peut aider au maintien de la diversité mais n'en crée pas. La dispersion a quant à elle le potentiel de permettre l'acquisition de nouveaux allèles et de conserver les existants en modulant leurs fréquences (e.g. maintien des allèles rares et contre-balancement de la dérive grâce à un apport constant de ces allèles dans les individus dispersant). Contrairement à la mutation, la dispersion a des effets rapides sur les fréquences alléliques et est donc l'un des éléments les plus importants dans le maintien de la diversité génétique et dans le déterminisme de la structure des populations (Slatkin 1985, 1987). Aux vues de l'importance de la diversité génétique pour les individus et populations (voir Chapitre 1, 1.2 et 1.3), étudier les flux de gènes et leur impact est primordial pour la gestion et la conservation des populations.

2. La structure génétique des populations

2.1. La différenciation génétique et la structure génétique des populations

Les individus ne se répartissent pas aléatoirement dans l'espace, du fait par exemple de contraintes géographiques ou environnementales, et les populations (ou espèces sur leur aire de répartition) sont alors souvent divisées en plusieurs groupes (Slatkin 1987). Les individus d'un même groupe ont alors plus de chances de se reproduire entre eux qu'avec d'autres individus. Ces associations non aléatoires créent des groupes d'individus plus proches génétiquement entre eux que d'autres individus, ce sont des sous-populations (Excoffier 2006).

Chaque sous-population est alors soumise aux forces évolutives précédemment décrites qui feront évoluer les fréquences alléliques. Par exemple, la dérive génétique fera varier aléatoirement les fréquences alléliques créant des différences entre les sous-populations. De la même manière, les pressions de sélection rencontrées par les individus de chaque sous-population peuvent différer et les fréquences alléliques divergeront d'une sous-population à l'autre sous l'action de la sélection. Cette divergence des fréquences alléliques est appelée la différenciation génétique. Plus les fréquences alléliques sont différentes et plus les différentes sous-populations sont différenciées génétiquement. Si les sous-populations sont connectées par des flux de gènes réguliers, alors la circulation des allèles permet d'homogénéiser les fréquences alléliques, et de limiter la différenciation génétique entre sous-populations (Slatkin 1985).

Afin d'avoir des indices sur le fonctionnement d'une population, le principe fondamental de la génétique des populations est de comparer la distribution des fréquences alléliques observées, aux fréquences alléliques théorique que l'on aurait dans une population idéale (proportions d'Hardy-Weinberg (HW), voir Encadré 1). Si ce n'est pas le cas, cela indique que les hypothèses d'HW ne sont pas respectées. L'une des causes d'une déviation à l'HWE est l'association non-aléatoire des individus et/ou des gamètes (voir Encadré 1). Les croisements non-aléatoires peuvent résulter du système d'appariement (e.g. autofécondation) ou encore de l'existence de sous-populations dans les populations. La présence de barrières, physiques (e.g. autoroute chez l'orignal, *Alces alces*, Wilson et al. 2015) ou comportementales (Article 2, Chapitre 8), peuvent notamment contraindre les animaux à ne s'accoupler qu'avec une partie des individus de la population, créant ainsi de la différenciation génétique entre les différents groupes.

Encadré 1 : Le principe d'Hardy Weinberg

Le principe d'Hardy-Weinberg, nommé d'après ses découvreurs (Hardy 1908, Weinberg 1908), énonce que dans une population idéale, les fréquences alléliques et génotypiques sont constantes d'une génération sur l'autre. Une population idéale est définie comme une population :

- d'effectif infini, i.e. non soumise à la dérive génétique
- non soumise aux autres forces évolutives (i.e. pas de sélection, mutation ou dispersion)
- dans laquelle les accouplements entre individus se font au hasard (panmixie)
- dans laquelle les associations entre gamètes se font au hasard (pangamie)
- avec des générations non chevauchantes.

Les populations naturelles ne peuvent pas respecter ces hypothèses mais elles peuvent s'en approcher. Par exemple, une grande population panmictique et pangamique pourra avoir des fréquences alléliques proches de celles que l'on aurait dans une population idéale ayant les mêmes caractéristiques. Si c'est le cas, on dira alors que cette population est « à l'équilibre d'Hardy-Weinberg ». L'hypothèse la plus forte du modèle d'Hardy-Weinberg est la panmixie (qui inclue la pangamie) et tout écart à l'équilibre d'Hardy-Weinberg (HWE) peut donc indiquer que les accouplements ne sont pas aléatoires.

2.2. Dépression de consanguinité et dépression hybride

L'une des conséquences de la subdivision des populations et des appariements non-aléatoires peut être la consanguinité. La consanguinité résulte de l'accouplement entre individus apparentés et cause une diminution de la diversité génétique dans les populations, notamment du taux d'hétérozygotie, car les individus sont alors porteurs d'allèles issus d'un

même individu ancestral (dits « allèles identiques par descendance »)[15]. En effet, si l'on reprend le cas d'une population divisée en plusieurs sous-populations, les individus nés dans une sous-population auront plus de chances de se reproduire avec des individus auxquels ils sont apparentés. Cela peut avoir de lourdes conséquences sur les populations, favorisant par exemple l'apparition et l'expression des génotypes récessifs, qui peuvent réduire la valeur sélective des individus (on parle alors de « dépression de consanguinité », Keller & Waller 2002). Dans une population de Kiwi d'Owen (*Apteryx owenii*), formée à partir de 2 individus mais ayant un taux de croissance positif, Taylor et al. (2017) ont notamment montré que la dépression de consanguinité impactait le succès reproducteur et le recrutement des jeunes. Des effets de la consanguinité sur la résistance face aux parasites ont également été observés (e.g. chez les Maki catta, *Lemur catta*, Charpentier et al. (2008), chez le mouton féral de Soay, *Ovis aries*, Coltman et al. 1999).

Une grande diversité génétique est donc souvent considérée comme quelque chose de positif, procurant des avantages aux individus et déterminant la capacité des populations à faire face aux menaces qui pèsent sur elles (e.g. prédation, pathogènes, changements environnementaux, Amos & Harwood 1998, voir aussi Chapitre 1, 1.2 et 1.3). Il est cependant important de noter que dans certains cas, les croisements entre individus très différenciés peuvent causer une diminution de la valeur sélective : c'est la dépression hybride (Edmands 2007). Par exemple, dans une expérience de croisements entre deux populations génétiquement différenciées de perche noire (*Micropterus salmoides*), Golberg et al. (2005) ont mis en évidence que les descendants de seconde génération issus de ce croisement avaient une mortalité et une charge virale supérieure à celle des descendants de première génération et des parents. La dépression hybride peut être expliquée par plusieurs choses : (i) la sous-dominance, c'est-à-dire que le génotype hétérozygote a une valeur sélective inférieure à celle des homozygotes, (ii) l'épistasie, lorsque les interactions entre différents gènes causent un désavantage évolutif et (iii) la perte d'adaptation locale, quand les individus issus du croisement de deux individus bien adaptés à leurs environnements ne sont adaptés à aucun des environnements parentaux (Edmands 2007). La dépression hybride est cependant un phénomène supposé être de courte durée (quelques générations seulement) car la sélection naturelle agissant, la population hybride tendra vers une meilleure adaptation à son environnement (Frankham et al. 2004). Finalement, dépression de consanguinité et dépression

[15] Il est important de noter que la consanguinité en elle-même ne modifie pas les fréquences alléliques mais les fréquences génotypiques, c'est-à-dire qu'elle modifie les associations entre allèle au sein des individus (Keller & Waller 2002).

hybrides sont des phénomènes qui peuvent affecter les populations simultanément (Edmands 2007, Chapitre 10, Article 3).

2.3. Dans un contexte sanitaire, pourquoi étudier la structure génétique des populations ?

Du fait de leur rôle dans le maintien de la diversité génétique, via notamment leur effet compensatoire de la dépression de consanguinité et autres éléments pouvant impacter la diversité génétique dans les populations (e.g. dérive génétique), les flux de gènes sont un élément crucial dans la dynamique parasitaire des populations et la coévolution hôtes-parasites. Par ailleurs, les mouvements assurés par les hôtes déterminent, en partie au moins, les mouvements et les flux de gènes des parasites et donc leur structure génétique spatiale, leur diversité génétique et une partie de leur transmission entre hôtes (Gilleard & Redman 2016). Étudier la structure et la diversité génétique des populations hôtes et parasites permet donc de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à la dynamique parasitaire (e.g. résistance, transmission des parasites) et de prédire son évolution dans le temps et les enjeux qui y sont liés pour les populations. La structure génétique d'une population et les flux de gènes au sein de cette population peuvent être impactés par de nombreux facteurs et nous en détaillerons certains dans la partie suivante.

3. Facteurs déterminants la diversité génétique, les flux de gènes et la structure génétique spatiale

3.1. Distance géographique

La distance géographique existant entre les individus d'une population peut constituer un facteur structurant très important. Historiquement, deux modèles de structure de populations ont été introduits en lien avec l'isolement par la distance. Le premier est le modèle de Wright (1943, 1946). Dans ce modèle, les individus sont considérés comme répartis aléatoirement et uniformément dans l'espace et la reproduction se fait entre voisins séparés par une courte distance. Cette association non aléatoire des individus aboutit à une augmentation de la différenciation génétique avec la distance géographique. Le second est le modèle de Kimura, le modèle de population en treillis (*stepping stone model* en anglais, Kimura 1953), qui considère que deux sous-populations géographiquement proches échangent plus d'individus entre eux qu'avec les sous-populations plus éloignées. Contrairement au modèle de Wright, c'est un modèle discret puisque l'on considère une population comme étant divisée en plusieurs sous-populations. Que l'on raisonne en sous-populations ou bien à

l'échelle de l'individu, la distance géographique est un élément structurant dans de nombreuses populations et dans de nombreux taxons (e.g. le mouflon d'Amérique et sous-espèces *Ovis canadensis* spp., Gutiérrez-Espeleta et al. 2000, la martre d'Amérique *Martes americana*, Williams & Scribner 2010, le cerf de Virginie *Odocoileus virginianus*, Robinson et al. 2012, mouflon de Dall *Ovis dalli dalli*, Roffler et al. 2014, la Gélinotte des bois *Bonasa bonasia*, Rozsa et al. 2016, la marmotte alpine *Marmota marmota*, Bichet et al. 2016).

Les structures d'isolement par la distance et leur détection peuvent varier en fonction de plusieurs éléments, et notamment, des capacités de dispersion de l'espèce considérée. La dispersion peut elle-même varier d'une population à l'autre en fonction des conditions locales rencontrées (e.g. densité de la population, Matthysen 2005). L'isolement par la distance peut donc apparaître à différentes échelles spatiales. Dans le cas du mouflon d'Amérique (Gutiérrez-Espeleta et al. 2000), c'est à une grande échelle spatiale que l'étude a été menée (plusieurs centaines de kilomètres) alors que dans certaines populations (e.g. chez le sanglier *Sus scrofa*, Podgorski et al. 2014, ou la gélinotte des bois, Rozsa et al. 2016), quelques dizaines de kilomètres suffisent à observer un signal.

3.2. Paysage

Le paysage peut être un autre facteur structurant les populations. Un paysage est défini comme une aire spatialement hétérogène pour au moins un facteur (Turner 2005). Il existe plusieurs manières de décrire un paysage (Holderegger & Wagner 2008) : (i) de manière binaire ou (ii) comme une mosaïque. Dans la vision binaire, les patches d'habitat hospitalier[16] sont répartis dans une matrice d'habitat inhospitalier, sans distinction entre les différents types d'habitat, excepté la notion de « favorable » (Figure 3A, B). Dans la vision en mosaïque, les différents types d'habitats sont considérés indépendamment les uns des autres et comme plus ou moins favorables à l'espèce considérée (Figure 3C, D). La vision en mosaïque est plus réaliste que la vision binaire pour les populations sauvages qui rencontrent différents types d'habitats plus ou moins favorables dans leur milieu de vie.

Comme les organismes dépendent du paysage dans lequel ils vivent, ce dernier impacte la dynamique, les flux de gènes et l'évolution des populations (Johnson et al. 1992, Wiens et al. 1993). Les trois principales caractéristiques au travers desquelles le paysage (sa composition et sa structure) affecte les processus dans les populations sont « l'effet de zone »

[16] Ici un habitat est défini comme hospitalier ou favorable par rapport à l'activité des individus dans cet habitat, par exemple, un habitat peut être favorable ou défavorable à leurs déplacements.

(*area effect* en anglais), « l'effet bordure » (*edge effect*) et « l'effet isolant » (*isolation effect*, Cushman et al. 2016).

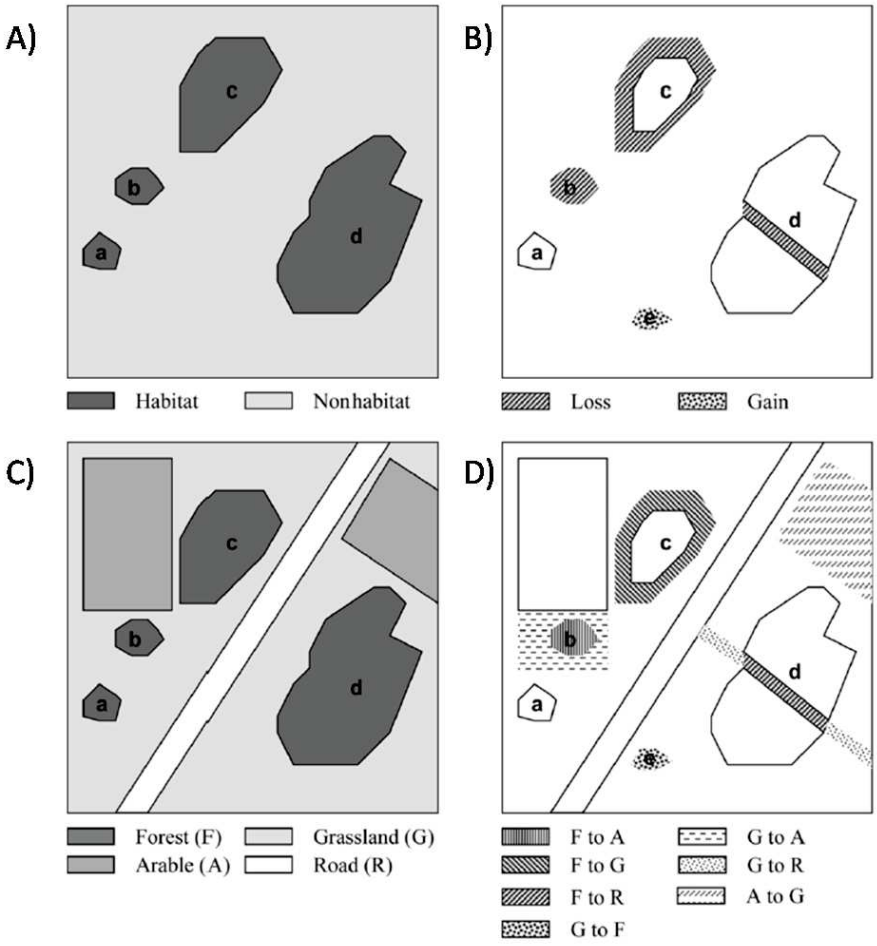

Figure 3: Représentations possibles d'un paysage et leurs implications en termes de modification du paysage. Reproduit depuis Holderegger & Wagner 2008.

A : paysage représenté comme une matrice inhospitalière dans laquelle des patches d'habitat favorable (a-d) sont présentes. Dans cette représentation du paysage, les modifications sont exprimées en termes de gains et de pertes d'habitat favorable (B) et peuvent se faire par extension ou rétrécissement (c), apparition (e), disparition (b) et subdivision (d). C : paysage représenté comme une mosaïque d'habitats différents qui peuvent être plus ou moins favorables. Dans cette représentation les changements dans le paysage sont exprimés en termes de gains et pertes mais aussi en termes de transition d'un type d'habitat vers un autre (D).

3.2.1. Effet zone

La taille des patches d'habitat est un critère important pour le maintien de la biodiversité et de la richesse spécifique (Farhig 2003, Debinski & Holt 2000), mais aussi des

populations (Bender et al 1998). La taille des patches d'habitat détermine, en effet, la quantité des ressources disponibles pour les individus et peut ainsi impacter le nombre d'individus qui seront présents dans chaque patch (Waits & Storfer 2016). Si les patches sont très isolés les uns des autres (voir Chapitre 1, 3.2.3), des répercussions sur la diversité et la structure génétique peuvent être attendues (e.g. consanginité, différenciation, voir Chapitre 1, 1, 2). Par ailleurs, en impactant la condition corporelle des individus (limitation des ressources, e.g. Garel et al 2007), la taille des patches peut impacter la dispersion des individus (e.g. Barbraud et al. 2003, Debeffe et al. 2014). De même, la densité en individus présents dans le patch dépend de la taille de ce dernier, et la la densité peut également impacter le comportement de dispersion (Matthysen 2005). Au travers de ses effets sur la condition corporelle, la diversité génétique et les flux de gènes, la taille des patches d'habitat peut donc impacter la susceptibilité des individus face aux parasites et la transmission de ces derniers dans la population, et donc leurs flux de gènes et leur diversité génétique (voir Préface, Chapitres 1, 2, 9 et 10).

3.2.2. Effet bordure

Les bordures sont produites par les discontinuités dans le paysage (e.g. jonction entre deux portions du paysage ayant des caractéristiques différentes), et peuvent être permanentes (e.g. cours d'eau) ou transitoires (e.g. perturbations anthropiques, Cushman et al. 2016). Elles peuvent impacter la qualité de l'habitat en déterminant, en partie, les conditions microclimatiques dans le patch et en bordure (Saunders et al. 1991). De plus, dans un contexte de fragmentation, l'augmentation du nombre de bordures dans le paysage aura également pour effet de réduire la quantité d'habitats favorables disponibles et cela pourra avoir les conséquences génétiques précédemment décrites (voir Chapitre 1, 3.2.1). Il faut toutefois noter que les bordures peuvent avoir des effets négatifs pour certaines espèces, mais positifs pour d'autres, en fonctions de leurs besoins écologiques et de leur comportement. Par exemple, chez le cerf sika (*Cervus nippon*), la longueur des lisières de forêts est positivement corrélée avec le taux de femelles gestantes (Miyashita et al. 2008). Les bordures peuvent ainsi impacter de nombreux processus populationnels et constituent donc un élément du paysage à part entière.

Les bordures, et de manière plus générale, les structures linéaires, naturelles ou anthropiques, peuvent également impacter les mouvements et les flux de gènes dans de nombreux taxons (e.g. Harris & Reed 2002, Cullingham et al. 2009, Robinson et al. 2012, Chapitre 8, Article 2). De la même manière que pour l'effet de zone, l'effet bordure peut avoir des conséquences en termes sanitaires en modulant la diversité génétique et les flux de gènes

(Chapitre 1, 2), mais également la transmission des pathogènes dans les populations. Chez le cerf de virginie, Blanchong et al. (2008) relient l'effet barrière de la rivière Winconsin (réduisant les flux de gènes des hôtes) et la propagation de la maladie débilitante chronique (*chronic wasting disease*, en anglais).

3.2.3. Effet isolant

L'effet isolant fait référence à l'effet du paysage sur les mouvements des individus, ayant pour conséquence l'isolement d'individus et de sous populations (Cushman et al. 2016). Cet effet isolant peut réduire les flux de gènes entre patches d'habitats favorables et, dans ce cas, la distribution des patches dans l'espace déterminera alors la distribution de la variabilité génétique et donc la structure génétique spatiale des populations (Waits & Storfer 2016). Cela peut passer par les mécanismes abordés précédemment (e.g. effet barrière, voir Chapitre 1, 3.2.2) mais dépendra également de la connectivité du paysage. La connectivité du paysage est décrite par deux composantes : la connectivité structurelle et la connectivité fonctionnelle. La connectivité structurelle fait référence aux caractéristiques physiques du paysage et à l'organisation spatiale des différents types d'habitat dans le paysage (Taylor et al. 2006, Crooks & Sanjayan 2006, Baguette & Van Dyck 2007). Elle peut par exemple être caractérisée par la distance entre patches d'habitat ou la présence de corridors écologiques (Taylor et al. 2006). Cependant, ces mesures ne tiennent pas compte de comment les organismes interagissent avec les caractéristiques physiques du paysage (Taylor et al. 2006). A l'inverse, la connectivité fonctionnelle fait référence à la réponse comportementale des organismes face à la structure physique du paysage (Taylor et al. 2006, Crooks & Sanjayan 2006). Elle tient donc compte de l'effet des capacités de dispersion, de l'abondance et de la distribution des individus sur le degré d'isolement. Elle peut ainsi varier d'une espèce à l'autre, d'une population à l'autre et d'une classe d'individus (e.g. âge, sexe) à l'autre (e.g. Larroque et al. 2016a, b). Elle dépend également du degré de fragmentation et de la configuration spatiale des patches d'habitat (Ezard & Travis 2006, Fischer & Lindenmayer 2007). Ainsi, deux patches d'habitats peuvent être structurellement mais pas fonctionnellement connectés et *vice versa* (e.g. corridors non utilisés, Taylor et al. 2006, Imong et al. 2014).

Afin de mesurer la connectivité fonctionnelle d'un paysage il faut identifier quels éléments du paysage (e.g. quels types d'habitats, quelles caractéristiques structurelles) sont « perméables » aux mouvements (Ray et al. 2002, Beyer et al. 2016, Panzacchi et al. 2016). Plusieurs méthodologies existent (voir Moilanen & Hanski 2006, Tournant 2013, Kool et al. 2013) et l'un des moyens les plus utilisés pour estimer la connectivité fonctionnelle est la

génétique du paysage (connectivité génétique, Manel et al. 2003, Frankham 2006, Kool et al. 2013, voir Encadré 2). Dans un contexte sanitaire, la connectivité dans les populations peut avoir d'importants effets sur la transmission des pathogènes (McCallum & Dobson 2006) et la résistance des hôtes face aux pathogènes puisqu'elle est participe à déterminer la diversité génétique en impactant les flux de gènes (voir Chapitre 1.4.4).

Encadré 2 : La génétique du paysage

La génétique du paysage est une discipline à l'interface de l'écologie du paysage, de la génétique des populations et des statistiques spatiales (Manel et al. 2003) qui est devenue un sujet de recherche central dans le contexte actuel de fragmentation du paysage qui accroît les besoins des scientifiques de mesurer la connectivité des paysages (Richardson et al. 2016). L'objectif est de caractériser les patrons génétiques spatiaux et de mesurer leur corrélation avec les caractéristiques du paysage (Manel et al. 2003). Cette corrélation peut être déterminée (i) visuellement, en représentant la structure génétique sur une carte du paysage et en déterminant les éléments responsables de la différenciation génétique, ou (ii) statistiquement. Dans l'approche statistique, des méthodes (e.g. tests de Mantel) sont utilisées pour mesurer la corrélation entre structure du paysage et structure génétique. La structure du paysage peut être déterminée via plusieurs approches parmi lesquelles l'utilisation de distances dites « écologiques ». Ces approches reposent sur le fait que la traversée de certains éléments paysagers induit des coûts (e.g. en termes d'énergie, mortalité ou encore de vigilance) pour les individus. Plus l'élément paysager considéré est résistant aux mouvements, plus le coût relatif de la traversée est important. Le calcul des distances écologiques tient compte des coûts liés aux déplacements dans le paysage (e.g. chemins de moindre coûts ou la théorie des circuits (Adriaensen et al. 2003, McRae & Beier 2007, McRae et al. 2008). À la différence de la génétique des populations classique qui teste les effets de la distance géographique Euclidienne sur la différenciation génétique (voir Chapitre 1, 3.1), la génétique du paysage tient compte, en plus, de la perméabilité des éléments du paysage et permet de déterminer si le paysage impacte les flux de gènes, et si oui, quels éléments sont les plus perméables (e.g. Larroque et al. 2016a, Chapitre 8, Article 2).

3.3. Structure socio-spatiale

Dans de nombreuses espèces, les individus ne se répartissent pas aléatoirement dans l'espace, créant une structure spatiale qui peut dépendre des contraintes environnementales (e.g. paysage, voir Chapitre 1, 3.2) mais aussi de l'organisation sociale et du comportement spatial des individus (Perrin et al. 1993, Storz 1999). Cette structure socio-spatiale[17] peut être un déterminant important des flux de gènes et donc de la structure génétique des populations car elle peut induire des accouplements non aléatoires, si par exemple, les individus se

[17] Définie ici comme la structure spatiale résultant du comportement social et spatial des individus, par exemple la vie en groupe chez les organismes grégaires pour qui une part des individus serait philopatrique.

reproduisent plus entre eux qu'avec des individus d'autres groupes socio-spatiaux (Slatkin 1987, Storz 1999). Au sein des mammifères, par exemple, les femelles sont souvent plus philopatriques que les mâles (Greenwood 1980), et la philopatrie est un déterminant important de la structure génétique spatiale chez de nombreuses espèces (e.g. Chesser 1991, Coltman et al. 2003, Hazlitt et al. 2004, Archie et al. 2008, Podgorski et al. 2014). Cette structure socio-spatiale peut avoir d'importantes conséquences en termes de dynamique et génétique des populations (Chapitre 7, Article 1), surtout si les groupes socio-spatiaux sont petits et isolés, augmentant le risque de consanguinité et d'extinctions locales (voir Chapitre 1, 1, 2, Storz et al. 1999, Crooks & Sanjayan 2006). Dans un contexte sanitaire, les interactions socio-spatiales et le contact entre individus sont déterminants pour la transmission des pathogènes (McCallum & Dobson 2016). La structure socio-spatiale, en plus de son effet sur les flux de gènes et la diversité génétique (liés à la résistance face aux pathogènes) peut donc avoir de forts impacts sur la dynamique parasitaire dans les populations (Préface, Chapitres 1, 2, 9 et 10).

3.4. Histoire démographique

La démographie et son évolution sont l'un des principaux déterminants de la diversité génétique dans les populations. L'effectif d'une population va effectivement déterminer le taux de dérive génétique et donc, conjointement avec tous les autres éléments déjà abordés, la diversité génétique (Chapitre 1, 1.4.2). Plus l'effectif est petit, plus les variations de diversité génétique sont attendues pour être fortes. Lorsqu'une population subit un goulot d'étranglement, le taux d'hétérozygotie et le nombre d'allèles diminuent. Les deux ne sont toutefois pas perdus à la même vitesse, et l'effet de la réduction d'effectifs dépend d'autres facteurs tels que le taux de croissance des populations (Nei et al. 1975, Hedrick 2011, Allendorf et al. 2013, Figure 4, Figure 5). La perte d'allèles et d'individus s'accompagne de modifications des fréquences alléliques (England 1997, Hedrick 2011, Allendorf et al. 2013, Figure 6). De façon similaire aux goulots d'étranglement, les événements fondateurs (e.g. lorsqu'un groupe d'individus est relâché dans l'objectif de fonder une nouvelle population) impactent l'hétérozygotie, la diversité et les fréquences alléliques, car ils concernent généralement un nombre limité d'individus, retenant seulement un sous-échantillon de la diversité génétique de la population source (Hedrick et al. 2001a, Biebach & Keller 2009, Allendorf et al. 2013, Figure 6). Ces modifications de fréquences alléliques peuvent causer une importante différenciation génétique entre les populations introduites et leurs populations ancestrales (Hedrick et al. 2001a, Hedrick 2011).

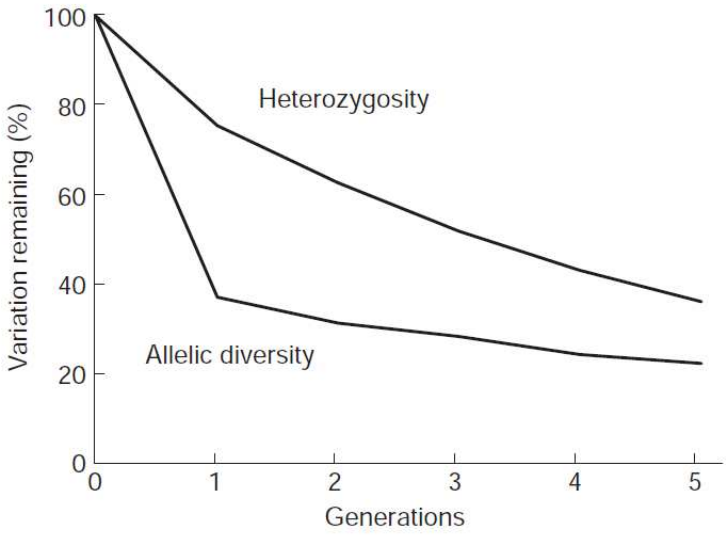

Figure 4: Pertes d'hétérozygotie et d'allèles suite à un goulot d'étranglement d'effectif N = 2 simulé à partir de fréquences alléliques d'une population d'ours bruns (Ursus arctos) d'Alaska (données issues de Luikart & Cornuet 1998, reproduit depuis Allendord et al. 2013).

Les effets des introductions peuvent perdurer durant de nombreuses générations (Nei 1975, Latch & Rhodes 2005, Biebach & Keller 2009, Figure 5). C'est par exemple le cas pour le bétail Américain (Amérique du Nord et du Sud) au sein duquel persiste l'empreinte génétique du bétail ibérique introduit sur le continent américain près de cinq siècles auparavant (Martinez et al. 2012). L'histoire d'introduction peut également laisser une empreinte sur la structure génétique spatiale au sein d'une population. Cela a notamment été observé dans une population d'écureuils roux (*Sciurus vulgaris*) sur l'île de Jersey (îles Anglo-Normandes) dans laquelle la différenciation génétique entre les individus correspond avec l'histoire d'introduction (voir aussi Chapitre 7, Article 1 pour des résultats similaires).

Dans un contexte sanitaire, les goulots d'étranglement et les introductions ou translocations peuvent avoir de nombreux effets. Tout d'abord, la perte de diversité génétique peut induire une susceptibilité accrue face aux pathogènes (Chapitres 1, 2, 10, Article 3). Par ailleurs, la diminution d'effectif peut modifier la distribution spatiale de la variabilité génétique dans le paysage, et impacter, de ce fait, les flux de gènes en rendant, par exemple, les échanges entre sous-populations plus difficiles et rares (Chapitre 1, 3.2). Ensuite, dans le cas d'introductions et de translocations, le pool de pathogènes de départ dépendra des individus transférés ou introduits, et pourra également être impacté par les réductions d'effectifs. Enfin, la structure spatiale des populations (e.g. si héritée de l'histoire d'introduction) peut impacter la circulation des pathogènes et des allèles de résistance dans la population.

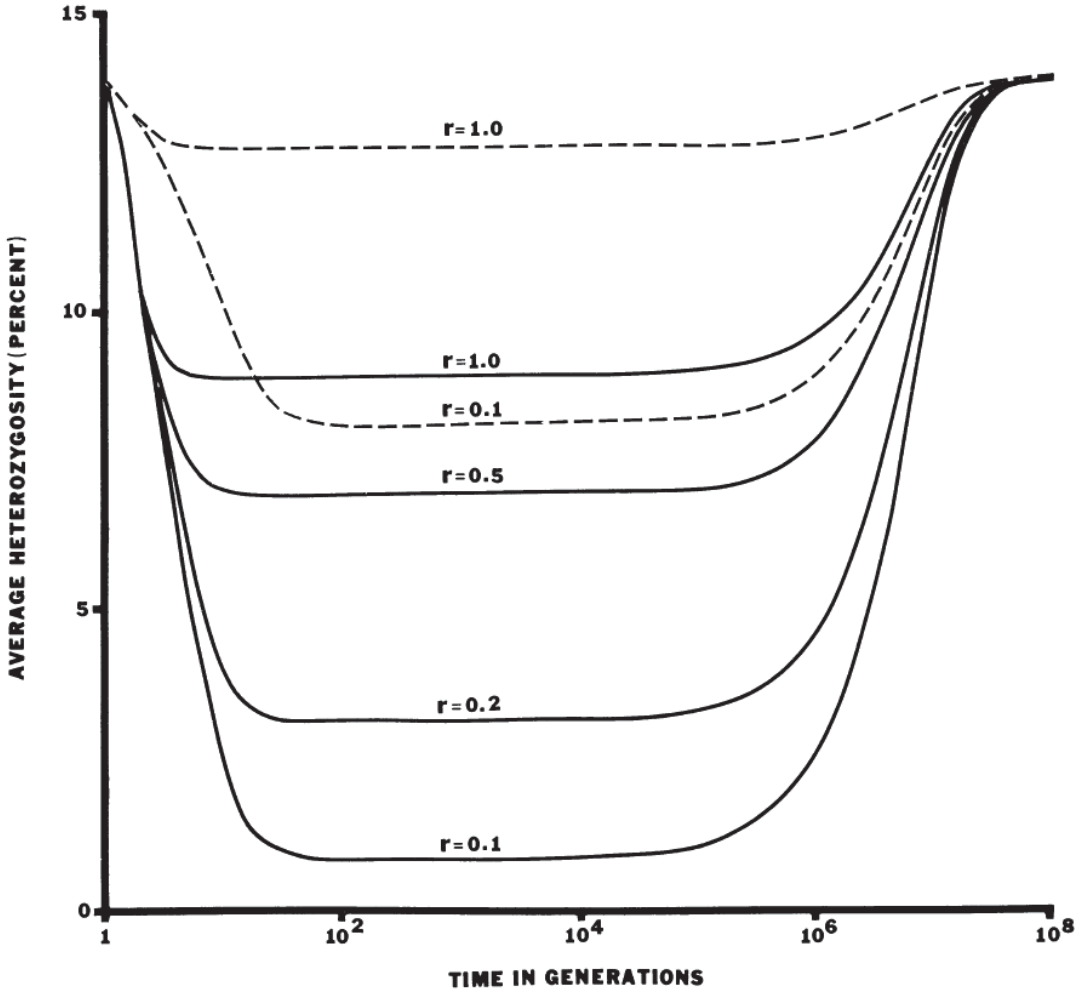

Figure 5: Évolution du taux d'hétérozygotie dans une population ayant subi un goulot d'étranglement (reproduit depuis Nei 1975).

Les lignes pleines font référence au cas où l'effectif est réduit à 2 individus et les pointillés représentent le cas où N = 10. R représente le taux de croissance des populations. Le taux d'hétérozygotie initial est de 13.8% et les générations sont indiquées en échelle logarithmique.

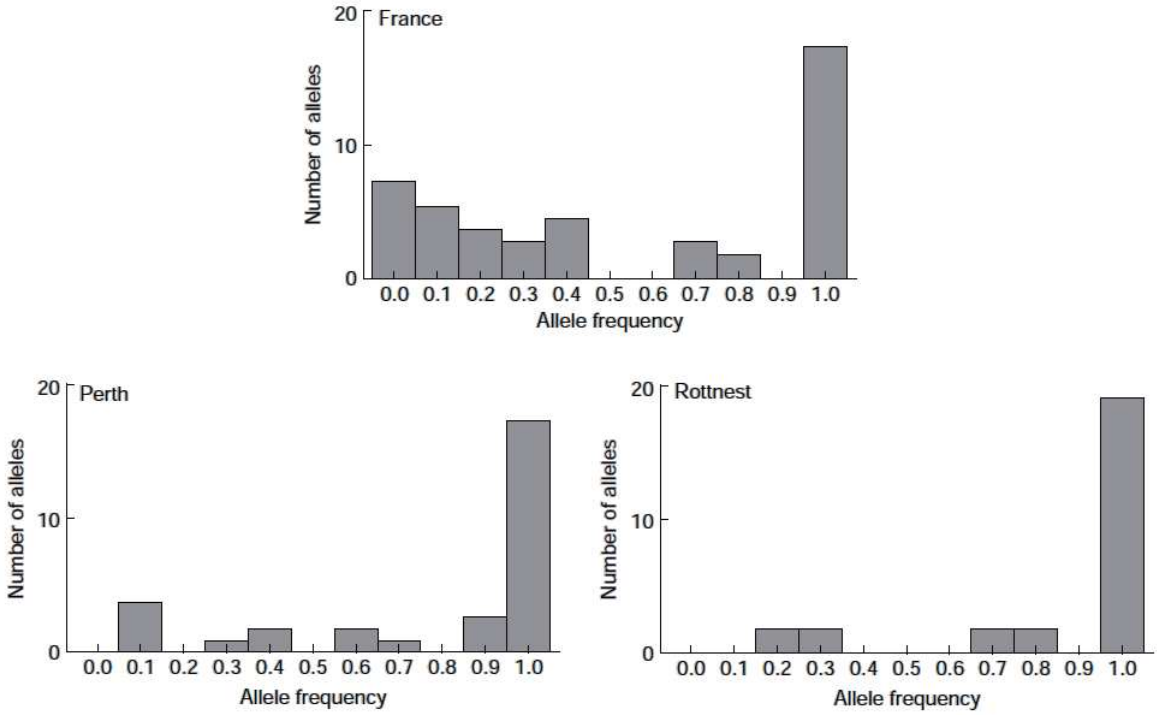

Figure 6: Influences d'un effet fondateur sur le nombre d'allèles (reproduit depuis Allendorf et al. 2013).

La population Française (en haut) est la population source des 2 populations Australienne (en bas). On observe une modification des fréquences alléliques et la disparition majoritaire des allèles rares (i.e. à faibles fréquences). Les données sont issues d'une population d'escargots Theba pisana, concernent 25 loci allozymes et sont tirées de Jonhson (1988) (voir Allendorf et al. 2013).

Chapitre 2

De l'importance du parasitisme pour les individus et les populations

1. Les interactions hôtes-parasites

Il existe une très grande diversité de parasites (≈ 40% des espèces décrites sont considérées comme parasites, Dobson et al. 2008) au sein desquels on retrouve une grande diversité de modes de vies et de stratégies évolutives (voir Moore 2002, Goater et al. 2013 pour de nombreux exemples). Plusieurs définitions de ce qu'est un parasite existent, et dans la suite, nous considérerons un parasite comme un organisme « ayant un engagement métabolique envers son hôte, ayant développé des adaptations morphologiques et physiologiques pour vivre dans, ou sur, son hôte et ayant le potentiel de diminuer la valeur sélective de l'hôte » (Goater et al. 2013). Le parasitisme est une relation durable car hôtes et parasites sont associés de manière pérenne et confrontés régulièrement l'un à l'autre (Combes 1995). Les effets des parasites sur leurs hôtes sont étudiés depuis des milliers d'années (e.g. empire égyptien avec le Papyrus d'Ebers), d'abord d'un point de vue anthropocentré et vétérinaire afin de limiter les effets sur la santé humaine et les animaux domestiques, puis, plus récemment, également dans la faune sauvage (Hudson et al. 2006, Goater et al. 2013). Les parasites peuvent avoir différents effets sur les individus, les populations, les communautés et les écosystèmes, et sont aujourd'hui considérés comme une composante principale de ces derniers (Hudson et al. 2006, Tompkins et al. 2011). Dans la suite, nous nous focaliserons sur les effets du parasitisme aux échelles individuelles et populationnelles.

1.1. Les effets des parasites sur les hôtes et leurs populations

En accord avec la grande diversité des parasites et de leurs cycles et modes de vies, il existe une grande variété d'effets possibles pour les hôtes (Goater et al. 2013). Certains parasites ont des effets forts et facilement détectables sur leurs hôtes (e.g. la mortalité associée au trématode *Schistosomiasis mansoni* chez l'humain, Kheir et al. 1999) alors que d'autres effets sont parfois plus difficilement détectables. Cela est lié au fait que les effets sont contexte-dépendants et peuvent être modulés par des caractéristiques intrinsèques ou extrinsèques aux hôtes et aux parasites (e.g. âge, condition corporelle, immunité, conditions environnementales, voir Chapitre 1, 2.3) et lorsqu'ils sont mis en évidence, ils sont inhérents aux conditions dans lesquelles se trouvaient les individus au moment de l'étude (Goater et al. 2013).

L'un des premiers effets du parasitisme sur les hôtes est de réduire l'énergie disponible pour les individus. Certains parasites peuvent avoir des effets spoliateurs, de par leur mode de nutrition (e.g. certains nématodes gastro-intestinaux, parasites hématophages, chymivores), ou réduire la prise alimentaire (e.g. Arneberg et al. 1996, Forbes et al. 2000).

L'infection parasitaire peut aussi induire des coûts via la mise en place de mécanismes de protection ou de lutte (e.g. immunité, voir Chapitre 2, 2, Colditz 2008). Cette dépense d'énergie accrue, chez les individus infectés, se traduit par un taux métabolique basal[18] plus élevé que chez les individus non infectés (e.g. Delahay et al. 1995, bien que cet effet ne soit pas toujours clair, voir Goater et al. 2013). Une expérience menée par Ilmonen et al. (2000) sur les gobe-mouches noirs (*Ficedula hypoleuca*) a notamment révélé que les individus chez qui la réponse immunitaire (voir Chapitre 2, 2) était activée (sans infection, les oiseaux ayant été confrontés aux pathogènes désactivés) se nourrissaient moins, investissaient moins dans la repousse des rectrices[19] et avaient un succès reproducteur inférieur à celui des individus chez qui la réponse immunitaire n'avait pas été activée.

La perte d'énergie causée par les coûts de l'infection induit, en effet, la mise en place de compromis évolutifs entre les mécanismes de résistance et d'autres traits liés à la valeur sélective (théorie d'allocation des ressources, Cody 1966, van Noordwijk & de Jong 1986, Forbes 1993, Perrin et al. 1996). Dans une expérience de traitement par vermifugation sur des lagopèdes d'Écosse (*Lagopus lagopus scoticus*), Hudson et al. (1992a) ont, par exemple, mis en évidence que les individus traités avaient une meilleure survie, et des couvées plus grandes, que les individus non traités (bien que les effets ne soient pas significatifs sur toutes les années testées, voir aussi Ebert et al. 2000). Ces effets peuvent avoir, *in fine*, des conséquences sur la dynamique des populations. En effet, les variations cycliques d'effectifs des populations de lagopède d'Ecosse (avec une période de 4 à 8 ans entre deux déclins) semblent liées aux infections parasitaires (Hudson et al. 1998, même si ce n'est probablement pas le seul facteur agissant, voir Redpath et al. 2006, New et al. 2009). Dans leur étude, Hudson et al. (1998) ont considéré six populations, deux qu'ils n'ont pas traité, deux qu'ils ont traité une fois avec un anthelminthique (vermifugation) et deux qu'ils ont traité deux fois (4 ans écoulés entre les deux traitements). Dans les populations non traitées, deux déclins très importants ont eu lieu, dans les populations traitées une seule fois, le premier déclin a été fortement limité et dans les populations traitées deux fois, les deux déclins ont été limités (Figure 7).

[18] Le taux métabolique basal est la dépense d'énergie incompressible au sein d'un organisme pour le maintien des fonctions vitales (e.g. respiration, homéothermie, digestion)
[19] Plumes de la queue des oiseaux

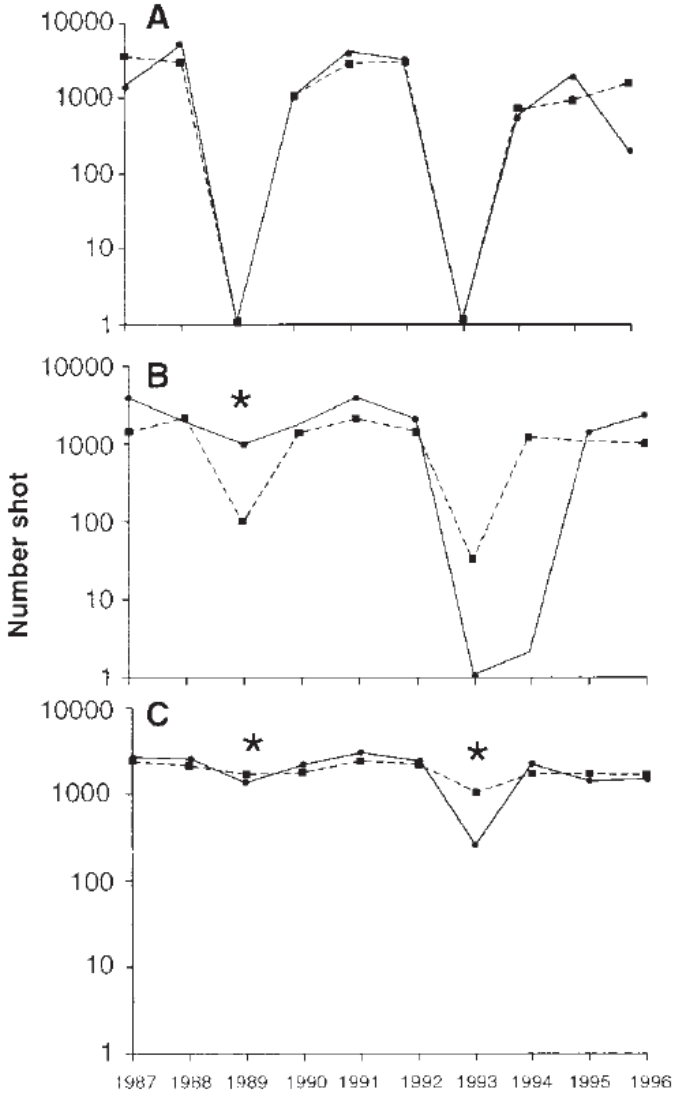

Figure 7: Variation du nombre d'individus dans le tableau de chasse entre 1987 et 1996 dans les populations non traitées par un anthelminthique (A), traitées une fois en 1989 (B) et traitées 2 fois en 1989 et 1993 (C) (reproduit depuis Hudson et al. 1998).

Des effets du parasitisme sur la condition corporelle ont également été mis en évidence chez de nombreux taxons. Chez le renne (*Rangifer tarandus*), Stien et al. (2002) ont mis en évidence qu'un traitement anthelminthique entraînait une hausse du poids et une augmentation de la couche graisseuse du dos (voir aussi Delahay et al. 1995, Newey et al. 2005, Irvine et al. 2006, Hakkarainen et al. 2007, Craig et al. 2008 pour d'autres exemples chez d'autres taxons). Chez les ongulés, chez qui le succès reproducteur (e.g. chez le chevreuil, Gaillard et al. 1992, le mouflon d'Amérique, *Ovis canadensis*, Festa-Bianchet et al. 1998, le cerf hémione (*Odocoileus hemionus*), Tollefson et al. 2010) et la survie (e.g. chez le chevreuil et le mouflon d'Amérique, Festa-Bianchet et al. 1997, Gaillard et al. 2000) sont liés à la condition corporelle, le parasitisme peut aussi avoir de forts impacts sur la dynamique des

populations. Dans la population de moutons de Soay des îles Saint Kilda (Royaume-Uni), la diminution brutale de la taille de population observée en 1989 (deux tiers des individus morts en 12 semaines) a été expliquée par l'interaction entre taux de parasitisme et malnutrition (Gulland et al. 1992). En effet, les individus retrouvés morts étaient malnutris et très parasités, alors que des individus présentant des niveaux d'infestations parasitaires similaires mais nourris normalement en laboratoire ne présentaient pas de signes cliniques. Le parasitisme élevé semble donc avoir exacerbé les effets de la malnutrition sur la survie (voir aussi Hawlena et al. 2008, Tompkins et al. 2011, Goater et al. 2013). Il faut noter ici que la relation entre condition corporelle et parasitisme est un cercle vicieux : les individus les plus parasités sont en moins bonne condition mais les individus en mauvaise condition ont aussi moins d'énergie à allouer aux mécanismes de défense et seront alors plus parasités (voir Chapitre 2, 2.3.1 Beldomenico & Begon 2010, Cornet et al. 2014, Knutie et al. 2017).

Les effets du parasitisme sur la dynamique des populations peuvent également passer par des modifications comportementales. L'impact du parasitisme sur le succès reproducteur peut, par exemple, se faire au travers du statut social, déterminé lui aussi en partie par la condition corporelle (e.g. chez le daim (*Dama dama*) McElligott et al. 2001), ou encore par les caractères sexuels secondaires, conditionnant l'accès à la reproduction (e.g. chez le bouquetin (*Capra ibex*), Brambilla et al. 2015). Le taux de parasites peut également être lié à la probabilité de prédation. Toujours chez les lagopèdes, Hudson et al. (1992b) ont notamment constaté que les individus abattus par les prédateurs naturels étaient plus parasités que les individus abattus à la chasse et que les individus non traités par un anthelminthique étaient plus facilement repérés par les chiens de chasse que les individus traités. Cela suggère qu'un fort taux de parasitisme peut rendre les individus fortement parasités plus facilement repérables par les prédateurs (bien qu'un effet de la saison de prévèlement ne puisse pas être exclu, voir Hudson et al. 1992b). On peut imaginer que cela soit dû à une odeur différente générée par les individus en fonction de leur infestation parasitaire ou bien à une modification de leur habilité à fuir (voir aussi Murray et al. 1997).

1.2. Les effets des parasites sur le comportement des hôtes

Les parasites peuvent aussi modifier le comportement de leurs hôtes, les rendant plus vulnérables à la prédation, afin de maximiser leur propre dispersion. Plusieurs mécanismes existent pour la dispersion des parasites, en fonction de la complexité de leur cycle de vie

(mono- ou hétéroxène[20]) ou du nombre d'hôte qu'ils peuvent avoir (degré de spécificité), et parmi eux, l'un des plus remarquables est la manipulation comportementale. Parmi les nombreux exemples existant (voir Lefevre et al. 2009, Goater et al. 2013 et références incluses), l'un des plus étonnant est celui des trématodes *Leucochloridium* spp. Ce parasite a comme hôte définitif les oiseaux, et comme hôte intermédiaire les gastéropodes. Une fois dans l'hôte intermédiaire, le trématode développe un sporocyste dans l'hépatopancréas puis dans les tentacules du gastéropode qui, lors de la transformation des cercaires en métacercaires[21], changent complètement d'apparence et ressemblent à des chenilles (Figure 8). En plus d'altérer son apparence physique, le trématode manipule le comportement des escargots qui deviennent alors photo- et géotactiques et ne se dissimulent plus, augmentant ainsi les risques de prédations par les oiseaux (Goater et al. 2013).

Figure 8: Leucochloridium spp. dans son hôte intermédiaire, un escargot (© Dick Belgers, at waarneming.nl, a source of nature observations in the Netherlands. [CC BY 3.0 (https://creativecommons.org/licenses/by/3.0)], via Wikimedia Commons)).

2. Les stratégies de défense contre le parasitisme

Afin de contrer les différents effets du parasitisme sur les individus et les populations, différents mécanismes de résistance existent et nous en explorerons certains dans cette partie.

[20] Dans un cycle monoxène, les parasites ne dépendent que d'un seul hôte. Les cycles hétéroxènes font références aux parasites dont le cycle dépend de plusieurs hôtes : intermédiaires et définitif. L'hôte définitif est l'hôte dont le parasite à besoin pour accomplir la fin de son cycle de vie.
[21] Cercaires et métacercaires sont des stades de développement des parasites.

L'interaction hôte-parasite peut être divisée en deux temps : (i) avant et (ii) après l'infection. Durant la première phase, l'objectif du parasite va être de contaminer l'hôte alors que ce dernier essaiera d'éviter les parasites. Une fois la relation établie, le parasite visera à se développer et se répandre, alors que l'hôte tendra à minimiser les effets du parasite et à lutter contre ce dernier (Combes 2001). Chaque entité de l'interaction hôte-parasite induit donc des pressions de sélection sur l'autre, et une « course à l'armement » se met alors en place, menant à la coévolution des hôtes et leurs parasites. Ici nous nous focaliserons sur les hôtes et les stratégies de défenses mises en place par ces derniers afin de limiter les coûts de l'infection.

Les stratégies de défense des hôtes peuvent être divisées en deux catégories : la résistance et la tolérance. La résistance est la stratégie visant à prévenir l'infection et/ou à limiter le développement des parasites au sein de l'hôte au travers de mécanismes comportementaux, morphologiques et/ou immunitaires (Raberg et al. 2009). A l'inverse, la tolérance n'a pas d'effets directs sur la densité en parasites mais vise à limiter, ou à compenser, les dégâts causés par l'infection en réduisant l'immunopathologie[22] (Raberg et al. 2009) ou en compensant la perte de valeur sélective induite par l'infection (e.g. compensation nutritionnelle, Tripet & Richner 1997, Knutie et al. 2017, compensation de fécondité, Vale & Little 2012). Dans la suite, nous explorerons des mécanismes de résistance et/ou de tolérance et nous détaillerons les facteurs susceptibles d'interagir avec ces mécanismes et de moduler leur efficacité.

2.1. Avant l'établissement de la relation

Le premier moyen de lutter contre le parasitisme est d'éviter l'infection. Dans ce but, les individus peuvent mettre en place plusieurs stratégies, notamment comportementales, qui peuvent varier en fonction du type de parasite (e.g. endo- ou ectoparasites, Moore 2002, Wisenden et al. 2009). Les individus peuvent, par exemple, moduler leur exposition aux parasites au travers du choix de l'habitat dans lequel ils vont vivre ou se nourrir. Chez les moutons, en lien avec les infections par les nématodes gastro-intestinaux à transmission oro-fécale, il a été mis en évidence que les individus préféraient brouter dans des patches d'habitat moins souillés par des fèces et que ce comportement était modulé par leur statut sanitaire : les animaux déjà infectés évitant plus les patches d'habitat contaminés que les animaux non infectés (Hutchings et al. 1998, 2001, Cooper et al. 2000). Une autre stratégie peut être de fuir les habitats contaminés afin de minimiser les probabilités de rencontre avec les parasites. La

[22] L'immunopathologie représente les dégâts tissulaires causés par la réaction immunitaire (voir Chapitre 1, 2.2.2).

migration a, par exemple, été proposée comme une stratégie d'évitement des parasites ayant une phase environnementale et pouvant survivre et s'accumuler dans l'environnement (Altizer et al. 2011). Chez le renne, l'abondance des mouches (*Hypoderma tarandi*) responsables de l'hypodermose des rennes, est ainsi corrélée négativement avec la distance parcourue lors de la migration saisonnière depuis les territoires de vêlage aux pâtures d'été (Folstad et al. 1991). Le comportement social peut également présenter des avantages (e.g. regroupement des vaches pour faire fuir les mouches), comme des inconvénients en termes de transmission des parasites (Moore 2002, Altizer et al. 2003). Enfin, les individus peuvent également activement chasser les parasites qu'ils rencontrent comme les éléphants qui chassent les mouches à l'aide de branches (Moore 2002) ou les oiseaux qui incluent des végétaux protégeant contre les parasites dans la construction de leurs nids (e.g. Lafuma et al. 2001).

Si le comportement des hôtes est un déterminant important de l'établissement de la relation hôte-parasite, l'environnement dans lequel évoluent les hôtes peut aussi jouer un rôle crucial. Par exemple, la température et l'humidité sont des paramètres cruciaux de la maintenance des parasites ayant une phase environnementale (e.g. les trichostrongylidés, voir Chapitre 4, 2.4, O'Connor et al. 2006). Ainsi, le climat peut modifier leur dynamique et leur répartition spatiale en modifiant leur persistance dans l'environnement (Morgan & van Dijk 2012, Rose et al. 2015), et donc modifier les probabilités de rencontre entre hôtes et parasites. De la même manière, pour les parasites dont la dispersion et la persistance dépendent de vecteurs ectotermes (e.g. le protozoaire responsable de la malaria *Plasmodium* sp., vectorisé par les moustiques), chez qui le milieu interne est à une température proche de celle du milieu extérieur, le climat peut avoir un rôle décisif (Garamszegi 2011). Les conditions climatiques sont l'une des explications aux variations saisonnières des taux de parasites dans les populations (Altizer et al. 2006). Le paysage, peut également impacter les probabilités de rencontre entre hôtes et parasites en déterminant la structure spatiale des populations (voir Chapitres 1, Barrett et al. 2008, McCallum & Dobson 2006).

2.2. Après l'établissement de la relation

2.2.1. L'immunité

Malgré les mécanismes d'évitement illustrés ci-dessus, les infections parasitaires sont largement répandues dans les populations sauvages (Dobson et al. 2008, Goater et al. 2013). Une fois la relation hôte-parasite établie, le mécanisme de résistance le plus développé chez les hôtes est leur système immunitaire. Le principe de l'immunité réside dans la capacité des cellules immunitaires à reconnaitre les cellules du « soi » et de les distinguer des cellules du

« non-soi » (i.e. cellules anormales ou étrangères, ayant une signature chimique particulière). Chez les vertébrés, l'immunité peut être divisée en deux ensembles de mécanismes interconnectés : l'immunité innée et l'immunité acquise (Goater et al. 2013). La principale caractéristique des voies de l'immunité innée est qu'elles sont aspécifiques, il n'y a pas de reconnaissance et de ciblage de pathogènes spécifiques. Elles comprennent par exemple les barrières physiques aux pathogènes (e.g. téguments, mucus) et les cellules phagocytaires[23]. L'immunité innée existe non seulement chez tous les vertébrés mais également chez tous les organismes métazoaires. Au contraire l'immunité acquise n'existe que chez les vertébrés (bien qu'une certaine mémoire immunitaire semble exister chez les invertébrés, voir Goater et al. 2013) et la réponse immunitaire qu'elle engendre est spécifique d'un pathogène particulier. Les cellules des voies de l'immunité acquise participent à la mémoire immunitaire d'un individu, et la réexposition à un pathogène déjà préalablement rencontré, engendrera une réponse immunitaire plus rapide et plus forte que lors de la première exposition (Goater et al. 2013).

La réponse immunitaire acquise implique essentiellement trois types de cellules : les cellules présentatrices d'antigènes (macrophages et cellules dendritiques) qui présentent les antigènes[24] aux lymphocytes T (pour thymus) et B (pour « bone-marrow », moelle osseuse) qui reconnaissent alors les pathogènes et participent à leur élimination (e.g. lyse cellulaire). Lors d'une infestation par un parasite, les différentes cellules de la réponse immunitaire communiquent entre elle à l'aide de messagers chimiques (e.g. cytokines), se multiplient et neutralisent les agents infectieux. L'action des cellules immunitaires se divise en deux voies principales. La première est l'immunité cellulaire (Th1) et la seconde est l'immunité humorale (Th2, voir Figure 9). Dans les deux voies, la première étape est l'intégration des antigènes par les cellules présentatrices qui les coupent en petits morceaux (epitopes) qui sont ensuite présentés aux lymphocytes T CD8 ou CD4 (selon les cas, Figure 9). Une fois la reconnaissance des antigènes par les lymphocytes T effectuée, ces derniers se clonent et le nombre de cellules capables de reconnaitre l'antigène spécifique augmente. Les lymphocytes T CD8 (cytotoxiques, Figure 9) sont à même de s'attaquer directement aux cellules portant l'antigène (cellules pathogènes) et de les éliminer par lyse ou apoptose. Les lymphocytes CD4 se différencient quant à eux en lymphocytes auxiliaires Th1 ou Th2, activant ainsi la voie immunitaire concernée. Ces lymphocytes T auxiliaires produisent alors des cytokines (e.g. interleukines, TNF, interférons, Figure 9) qui modulent la réponse immunitaire cellulaire ou

[23] Les cellules phagocytaires sont capables d'ingérer et détruire d'autres cellules (e.g. les bactéries) et les petites particules qui pénètrent dans l'organisme.
[24] Les antigènes sont toutes les molécules étrangères à un individu et qui peuvent induire une réponse immunitaire (e.g. protéines produites par un parasite).

humorale en activant d'autres cellules immunitaires (e.g. macrophages, cellules tueuses naturelles[25], lymphocytes CD8) capables d'éliminer les cellules portant l'antigène reconnu (Figure 9).

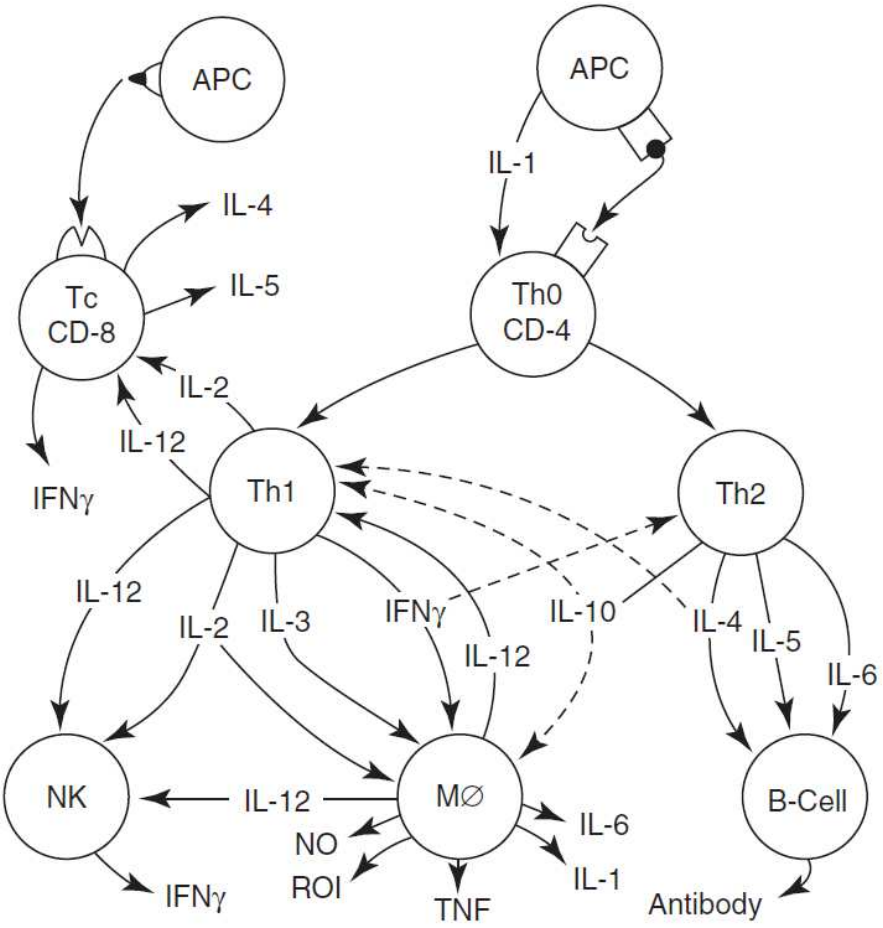

Figure 9: Schématisation simplifiée des deux voies immunitaires cellulaire (Lymphocytes T Th1) et humorale (Lymphocytes T Th2 et B) et des cellules et molécules impliquées dans la réponse immunitaire (reproduit depuis Goater et al. 2013).

IL : Interleukines, TNF : facteur de nécrose tumorale, NO : oxyde nitrique, ROI : radicaux contenant de l'oxygène (NO et ROI ont une fonction antimicrobienne), Th : lymphocytes T auxiliaire, Tc : lymphocytes T cytotoxiques, IFN : interféron, APC : cellules présentatrices d'antigènes, NK : lymphocytes NK[26] (natural killer), B-cells : lymphocytes B, MØ : macrophages, Antibody : anticorps. Les lignes pleines représentent la stimulation des cellules visées ou la production des molécules désignées alors que les lignes en pointillés représentent la régulation négative de ces éléments.

[25] Les macrophages (cellules phagocytaires) et les tueuses naturelles font aussi partie de l'immunité innée. Elles produisent des cytokines et des éléments chimiques (NO, ROI, Figure 9) permettant l'élimination de cellules pathogéniques.
[26] Les cellules tueuses naturelles sont des cellules capables de provoquer la lyse ou l'apoptose (mort cellulaire) d'autres cellules

La régulation des voies immunitaires se fait aussi de manière croisée. Par exemple, les lymphocytes Th1 sécrètent des interleukines mais aussi de l'interféron gamma qui réprime l'activation des lymphocytes Th2 (Figure 9). La réponse immunitaire est un processus continu, tant que des antigènes sont présents, ils sont présentés aux lymphocytes T qui se reproduisent. A la fin de la voie Th2, les lymphocytes B produisent des anticorps qui sont des molécules (e.g. immunoglobines A, E, M) spécifiques d'un épitope et qui, lorsqu'elles se fixent sur ce dernier, l'inactivent. Un antigène est composé de plusieurs épitopes et lors de la réponse immunitaire, les lymphocytes T reconnaissent différents épitopes, induisant, dans la voie Th2, la production de différents anticorps. Cette diversité d'anticorps permet aux individus d'avoir un fort potentiel immunitaire : lors d'une future infection par le même pathogène, un certain nombre d'anticorps seront déjà présents et prêts à neutraliser les antigènes. La voie (Th1 ou Th2) activée dépend du type de pathogène responsable de l'infection. La réponse Th1 semble plutôt activée en présence de parasites intracellulaires alors que la Th2 semble plutôt être la réponse aux parasites extracellulaires (Cox 2001, Cizauskas et al. 2014). Cette dichotomie est cependant une vision simpliste de la réponse immunitaire qui est en fait plus complexe (voir Goater et al. 2013 pour plus de détails).

2.2.2. Le cas particulier des strongles digestifs

Les strongles digestifs sont des nématodes gastro-intestinaux qui peuvent vivre fixés à la muqueuse digestive ou libres dans la lumière de l'intestin (voir Chapitre 4, 2.4 pour plus de détails). Dans le cas des strongyloses digestives, la réponse immunitaire peut induire différents mécanismes ayant pour but de réduire la densité en parasites au sein de l'hôte. Par exemple, la liaison des antigènes sécrétés par les *Haemonchus contortus* avec des mastocytes, provoque une entrée de liquide dans la lumière digestive et du périsaltisme intestinal, permettant le délogement et l'expulsion de nombreux vers (Tizard 2004). En plus des mécanismes d'expulsions, la réaction immunitaire peut impacter la fécondité des strongles (Balic et al. 2000). S'il est peu probable que, d'une manière ou d'une autre, un hôte se débarrasse de tous ses parasites, ces mécanismes permettent toutefois de faire en sorte que les charges parasitaires n'atteignent pas des niveaux trop couteux en termes de valeur sélective.

Le déclenchement de la réponse immunitaire pour lutter contre les strongyloses induit de nombreux coûts phénotypiques pour l'hôte. Colditz (2008) les divise en différentes catégories. Premièrement, la mise en place de la réponse immunitaire induit une augmentation du taux métabolique qui induit un surcoût énergétique. Ensuite, l'immunité semble jouer un rôle dans la diminution de la prise alimentaire, provoquant l'anorexie souvent associée à un fort taux d'infestation parasitaire. La réponse immunitaire induit aussi une perturbation de la

disponibilité et de l'utilisation des nutriments en circulation par les cellules, pouvant entraîner des retards de croissance et impacter d'autres traits (e.g. pousse de la laine chez les moutons domestiques). Cet effet perturbateur de l'utilisation des nutriments est plus fort lors de la primo-infection que lors des ré-infestations indiquant que l'acquisition d'immunité est plus coûteuse que son expression. Enfin, l'une des sources de coûts les plus importantes de la réponse immunitaire est l'immunopathologie. Par exemple, l'interleukine 13 (IL-13) tient un rôle dans l'élimination des nématodes gastro-intestinaux mais est aussi responsable de modifications tissulaires qui peuvent devenir délétères si le niveau d'IL-13 n'est pas régulé (e.g. fibrose du foie lors d'infections par des schistosomes (trématodes), voir Graham et al. 2005).

Au travers des différents mécanismes évoqués ici, le système immunitaire impose donc une forte pression de sélection sur les parasites. En s'adaptant et changeant leurs stratégies (e.g. taux de reproduction très élevé, Goater et al. 2013), les parasites exercent également une forte pression de sélection sur le système immunitaire. Cela a par exemple pour conséquence de maintenir la diversité génétique aux loci impliqués dans l'immunité (voir Chapitre 2, 2.3.4). La réponse immunitaire peut être modulée par de nombreux facteurs, intrinsèques ou extrinsèques aux individus et sa performance peut être impactée par ces facteurs. Dans la suite, nous détaillerons les effets de certains de ces éléments.

2.3. Principaux facteurs déterminants la résistance

2.3.1. La condition corporelle

L'un des éléments les plus déterminants de l'efficacité de la réponse immunitaire est la condition corporelle de l'hôte. Puisque la réponse immunitaire est couteuse en énergie, un hôte en mauvaise condition est attendu pour pouvoir allouer moins d'énergie dans les mécanismes de défense (Chandra 1996). Ce compromis entre résistance et quantité de ressources est notamment illustré par la relation négative entre condition corporelle et charge parasitaire observé chez de nombreux taxons (e.g. chevaux féraux, Debeffe et al. 2016, chevreuil, Body et al. 2011, élan, *Alces alces*, Davidson et al. 2015, voir aussi Ezenwa 2004a pour d'autres espèces). Body et al. (2011) ont également mis en évidence un effet de la densité en hôtes sur la charge parasitaire. Ce lien peut par exemple passer par la limitation en ressources imposée par une forte densité, réduisant la condition corporelle, ou encore par une probabilité d'infection accrue (e.g. plus d'excrétion dans l'environnement, plus de contacts entre les individus, Anderson & May 1978, Arneberg et al. 1998). La condition et le régime alimentaire de l'hôte, conditionnent également la valeur sélective des parasites car, dans un

hôte en bonne condition, plus de ressources à exploiter sont disponibles pour les parasites (e.g. Bedhomme et al. 2004). Un élément important à noter ici est que la condition corporelle des hôtes dépend de l'environnement dans lequel ils évoluent et aussi de leur patrimoine génétique (Wilson & Nussey 2010). Ainsi, habitat et génétique peuvent impacter la résistance et la tolérance (voir aussi Chapitre 2, 2.3.4). Elle peut également dépendre du statut social des individus si ce dernier conditionne l'accès aux ressources (Altizer et al. 2003, Ezenwa, 2004b).

2.3.2. Le sexe

Les mâles et les femelles ne sont pas forcément sensibles de la même manière au parasitisme. Dans de nombreuses espèces de vertébrés, les femelles sont régulièrement observées moins parasitées que les mâles (e.g. Body et al. 2011, voir Zuk & McKean 1996, Klein 2004 pour des synthèses bibliographiques). L'une des causes souvent invoquée est l'interaction entre immunité et hormones, et plus particulièrement, le rôle de la testostérone comme immunosuppresseur a souvent été mis en lien avec la charge parasitaire chez les mâles (e.g. Zuk & McKean 1996, Klein 2004, Hayward 2013). La testostérone étant, de plus, souvent liée au développement des caractères sexuels secondaires (e.g. les bois chez le cerf, les cornes chez le mouflon), cela peut induire un coût en termes de résistance chez les mâles. C'est pourquoi ces caractères sont considérés comme un signal honnête de la qualité d'un individu (théorie de la sélection sexuelle conditionnée par les parasites, Hamilton & Zuk 1982). En effet, un individu capable de développer ces caractères tout en survivant à un taux élevé de testostérone potentiellement immunosuppressive, est supposé avoir « de bons gènes » (Hamilton & Zuk 1982, Ezenwa & Jolles 2008, Hayward 2013, voir aussi Chapitre 11).

Les différences entre mâles et femelles peuvent également être expliquée par les différences de comportement et de compromis évolutifs entre sexes (Hayward 2013). En lien avec la reproduction par exemple, mâles et femelles ont souvent des comportements sociaux et spatiaux différents (e.g. Marchand et al. 2015b, 2017a, Articles 1 et 2) et peuvent donc être exposés aux parasites de manières différentes. Par exemple, si les mâles sont plus mobiles que les femelles, ils peuvent, lors de leurs déplacements, rencontrer plus de patches d'habitats et d'individus susceptibles de leur transmettre des parasites (Altizer et al. 2011, van Schaik & Kerth 2017). Au sein de chaque sexe, le statut reproducteur peut également être un facteur faisant varier la sensibilité face aux parasites. Les femelles gestantes et/ou allaitantes sont, par exemple, souvent plus parasitées que les femelles non engagées dans la reproduction (e.g. Festa-Bianchet 1989, Cattadori et al. 2005, Bourgoin et al., in prep).

2.3.3. L'âge

L'âge est également l'une des caractéristiques les plus déterminantes de la résistance face aux parasites car l'immunité varie avec l'âge (Hayward 2013). Les jeunes individus immunitairement naïfs ont une réponse immunitaire moins importante que les adultes (primo-*versus* ré-infestations, voir Chapitre 2, 2.2) et sont donc souvent plus parasités que les adultes qui représentent la classe avec l'immunité la plus efficace. L'immunocompétence décroit ensuite chez les individus âgés (immunosénescence) qui sont alors plus parasités que les adultes. Ce patron a été observé dans de nombreuses espèces (e.g. chevreuil, Body et al. 2011, Cheynel et al. 2017, mouton de Soay, Hayward et al. 2009, cerf élaphe, Santin-Duran et al. 2008, voir Hayward 2013 pour les mécanismes immunitaires impliqués).

2.3.4. Les caractéristiques génétiques

Dans le Chapitre 1 (1.2), nous avons évoqué l'existence de corrélations entre la diversité génétique et la résistance face aux parasites, et nous avons vu que ce lien peut être direct lorsque l'on considère des marqueurs génétiques liés à l'immunité. L'immunocompétence est un trait très polygénique et de nombreux loci sont ainsi liés à la résistance ou la susceptibilité face aux parasites (e.g. sur le chromosome X, Beraldi et al. 2007, dans le gène de l'interféron gamma, Coltman et al. 2001, Sayers et al. 2005, Luhken et al. 2011, dans les gènes des récepteurs de type Toll, Alim et al. 2016, Lin et al. 2016, voir aussi Sweeney et al. 2016, Benavides et al. 2016). Une autre région du génome parmi les plus importantes pour la résistance face aux parasites est le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH, e.g. Bonneaud et al. 2006, Oliver et al. 2009, Sin et al. 2014). Le CMH est un complexe de gènes codant pour les protéines présentes à la surface de toutes les cellules du « soi », et pour les récepteurs qui sont à la surface des cellules présentatrices d'antigènes (voir Chapitre 2, 2.2.1, Goater et al. 2013). C'est donc un composant essentiel de l'immunité. Chez les vertébrés, il se divise en deux sous-unités : le CMH de classe I, produisant des molécules se liant aux antigènes des parasites intracellulaires, et le CMH de classe II, codant pour des molécules se liant aux antigènes d'origines extracellulaires (Goater et al. 2013). Chaque molécule codée par le CMH peut reconnaitre un ensemble d'antigènes donné (Spurgin & Richardson 2010).

Le CMH est l'une des régions du génome qui présente la plus grande diversité génétique (Hedrick 1994) et cela peut être expliquée par deux hypothèses principales (Hedrick 1999, Piertney & Oliver 2006) : (i) la sélection sexuelle et (ii) la sélection exercée par les parasites (PMS, « *parasite-mediated selection* » en anglais). Le lien entre CMH et

sélection sexuelle peut être expliqué par le rôle que peut jouer le CMH dans le choix du partenaire pour un individu (voir Piertney & Oliver 2006 et références incluses). Cela peut permettre d'éviter les accouplements entre apparentés et donc de maximiser la diversité génétique des descendants, mais également de maximiser l'immunocompétence dans la descendance. En effet, les individus présentant une plus grande diversité au CMH sont attendus pour reconnaitre un plus large spectre d'antigènes (Doherty & Zinkernagel 1975, Bernatchez & Landry 2003, Sommer 2005). Si une grande diversité au CMH est donc souvent perçue comme un avantage, il est aujourd'hui aussi reconnu qu'une trop grande diversité peut avoir des effets délétères. Chez l'épinoche (*Gasterosteus aculeatus*), les individus présentant un grand nombre d'allèles au CMH ont une charge parasitaire supérieure aux individus présentant un nombre intermédiaire d'allèles (Kurtz et al. 2004, voir aussi Wegner et al. 2003a,b, Kloch et al. 2010). Cet effet optimal de la diversité intermédiaire semble lié au fait que la présence d'un trop grand nombre d'allèles réduise l'efficacité de la réponse immunitaire en augmentant la reconnaissance des molécules du « soi » par les cellules immunitaires et donc l'élimination des lymphocytes T associés (Nowak et al. 1992).

Dans le cadre de la PMS, la grande diversité du CMH est maintenue par de la sélection balancée qui peut prendre trois formes : (i) l'avantage aux hétérozygotes, (ii) la sélection fréquence-dépendante (ou avantage aux allèles rares) et (iii) la sélection variable dans le temps et l'espace (sélection fluctuante, Hedrick 1999, Hedrick 2002, Spurgin & Richardson 2010). Dans le mécanisme de l'avantage aux hétérozygotes, l'hypothèse est que les individus ayant deux allèles différents peuvent reconnaitre deux groupes d'antigènes différents et auront donc une meilleure valeur sélective que les homozygotes qui ne peuvent en reconnaitre qu'un (Doherty & Zinkernagel 1975, Hedrick 1999). Par exemple, chez le campagnol roussâtre (*Arvicola terrestris*), Oliver et al. (2009) ont montré que les hétérozygotes au gène du DRB (*Arte*-DRB) étaient infectés par moins d'espèces de parasites et avaient des charges parasitaires inférieures à celles des homozygotes (voir aussi Chapitre 10, Article 3). Cet avantage aux hétérozygotes peut passer par deux mécanismes, la dominance ou la superdominance (Sommer 2005, Spurgin & Richardson 2010). Si la résistance est codée par un gène dominant, alors l'hétérozygote et l'homozygote dominant auront la même valeur sélective, et les hétérozygotes auront une meilleure valeur sélective que la valeur sélective moyenne des homozygotes[27]. Au contraire, dans le cas de la superdominance, les

[27] Imaginons un gène à deux allèles, *A* et *a* et *A* est dominant sur *a* et code pour une résistance accrue aux parasites. Les hétérozygotes *Aa* auront le phénotype [*A*] tout comme les homozygotes *AA* et hétérozygotes et homozygotes *AA* auront donc la même valeur sélective. En revanche les individus de génotype *aa* (phénotype [*a*]) auront une valeur sélective inférieure aux individus [*A*] et en moyenne les homozygotes (*AA* + *aa*) auront une valeur sélective inférieure à celle des hétérozygotes.

hétérozygotes auront une meilleure valeur sélective que les deux types d'homozygotes. L'avantage aux hétérozygotes permet le maintien de la diversité génétique car il favorise la coexistence de différents allèles.

L'avantage aux allèles rares (ou fréquence-dépendance négative) repose sur le principe de coévolution hôtes-parasites. L'interaction hôte-parasite est durable, et si un génotype est majoritaire au sein des hôtes, alors le parasite est attendu pour y être adapté. A l'inverse, les allèles étant présents à faible fréquence dans la population sont supposés apporter un avantage car les parasites n'auront pas développé d'adaptation à ces derniers (Spurgin & Richardson 2010). La sélection favorisera alors ces allèles rares qui augmenteront en fréquences, les parasites s'adapteront et l'avantage sera alors déporté sur d'autres allèles. On obtient ainsi un cycle de variation des fréquences alléliques qui favorise le maintien de la diversité. Enfin, la sélection fluctuante suggère quant à elle que la variabilité temporelle et spatiale des communautés de parasites et leur abondance fait fluctuer les fréquences alléliques en induisant des pressions de sélection variables maintenant ainsi la diversité génétique (Spurgin & Richardson 2010). Les effets de l'avantage aux allèles rares ou de la sélection fluctuante sur les fréquences alléliques au CMH sont détectés via le lien entre la résistance et des allèles spécifiques (Spurgin & Richardson 2010). Plusieurs études ont ainsi mis en évidence les effets de certains allèles sur la résistance, mais aussi sur la susceptibilité, face à certains parasites (Schwaiger et al. 1995, Paterson et al. 1998, Bonneaud et al. 2006). Par exemple, chez le campagnol (*Arvicola scherman*), un allèle du gène DRB est associé positivement à la présence du nématode *Trichuris arvicolae* chez les individus le portant alors qu'un autre allèle est associé négativement avec la présence de ce parasite (Tollenaere et al. 2008).

Il convient ici de noter que les liens entre diversité génétique au CMH et résistance sont dépendants du type de parasite et des gènes étudiés. En effet, différents types de parasites peuvent être impactés par différentes voies immunitaires (e.g. parasites intracellulaires et extracellulaires impactés par les réponses Th1 ou Th2, respectivement, voir Chapitre 1, 2.2.1), et les gènes (classes I ou II) du CMH peuvent avoir différents liens avec différents types de parasites (e.g. Cox 2001, Cizauskas et al. 2014, Ezenwa 2016). Cela peut créer des compromis entre résistance face à certains parasites et sensibilité face à d'autres. Chez les zèbres (*Equus quagga*), Cizauskas et al. (2014) suggèrent, par exemple, que l'expression d'une forte réponse Th2 liée à l'infestation par des nématodes gastro-intestinaux est en compromis avec la réponse Th1 nécessaire à la résistance face à une infection microbienne (anthrax, *Bacillus anthracis*).

Chapitre 3

Objectifs et structure de la thèse : étude de cas chez le mouflon Méditerranéen et de Corse

1. Contexte général

Nous avons jusqu'ici décrit le contexte théorique dans lequel se sont déroulés les travaux effectués durant cette thèse. Étant donnés les rôles fondamentaux qu'ont le parasitisme et la génétique dans le fonctionnement et l'évolution des populations, les étudier semble de première importance, d'un point de vue fondamental comme appliqué. En effet, plusieurs éléments dans le contexte actuel justifient de s'intéresser à la génétique des populations, à la dynamique parasitaire et au lien existant entre ces deux composantes dans la faune sauvage.

La faune sauvage évolue aujourd'hui dans un monde dominé par l'Homme, et les activités anthropiques peuvent avoir de nombreuses conséquences sur les populations sauvages. Aux vues de l'importance des conditions climatiques sur le développement des parasites (Chapitre 2), bien connaitre le statut sanitaire des populations et le mettre en lien avec leur structure peut permettre de mieux anticiper les risques sanitaires dans le contexte actuel de changements climatiques (Walther et al. 2002, Parmesan 2006). Par ailleurs, en fragmentant le paysage, en réduisant les habitats disponibles (Farhig 2003), et en manipulant les populations au travers de prélèvements (e.g. Milner-Gulland & Bennett 2003, Myers & Worm 2003), et d'introductions ou de translocations (e.g. Hedrick et al. 2001a, Biebach & Keller 2009), l'homme impacte la structure spatiale, la diversité génétique et les flux d'individus et de gènes, au sein, et entre les populations (e.g. Wilson et al. 2015, voir Chapitre 1). Dans les parties précédentes nous avons illustré l'importance de la diversité génétique, et des flux de gènes et d'individus, pour les risques sanitaires et leur prévention. Étudier la structure génétique des hôtes et leurs parasites apparaît donc comme particulièrement important dans ce contexte de modifications anthropiques intenses.

Dans la suite de ce manuscrit, l'espèce focale sera le mouflon Méditerranéen (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.) ou Corse (*Ovis gmelini musimon var. Corsicana*), appartenant au groupe des ongulés (voir Chapitre 4). L'étude des ongulés est aujourd'hui devenue un point central en gestion des populations. En effet, dans ce groupe, on retrouve des espèces dont les densités sont en augmentation constante dans diverses régions du globe (e.g. cervidés, sangliers, Fuller & Gill 2001, Massei et al. 2014), entrant parfois en contact avec la faune domestique (Gordon et al. 2004, Milner et al 2006), favorisant les échanges de pathogènes (Cassirer et al. 2018, Barth et al. 2018). Paradoxalement, c'est également un groupe dans lequel on retrouve des espèces et populations en danger ou en déclin (e.g. certains ovins,

Harris & Pletscher 2002, Cahn et al. 2011). Dans un cas comme dans l'autre, les ongulés sont donc un groupe présentant de forts enjeux de gestion, et en savoir plus sur le fonctionnement des populations est nécessaire. Ceci *a fortiori* car on assiste aujourd'hui à la réémergence de maladies au sein des ongulés, avec des conséquences importantes sur leurs populations, et éventuellement pour l'Homme (e.g. brucellose chez le bouquetin, Hars et al 2015, tuberculose chez le sanglier, Richomme et al. 2013). Comprendre les mécanismes sous-jacents à la résistance face aux pathogènes et à leur transmission est donc primordial.

Si le mouflon Méditerranéen est présent en de nombreux endroits du monde avec des populations se portant relativement bien, le mouflon Corse présente quant à lui des enjeux de conservation (voir Chapitres 4 et 5). Par ailleurs, en France continentale, le mouflon fait face à une réduction drastique de son habitat, ayant des conséquences sur les individus, en termes de régime alimentaire (Marchand et al. 2013) et de qualité des individus (Garel et al. 2007). La modification du régime alimentaire vers des espèces ligneuses crée aujourd'hui des conflits entre Hommes et mouflons, car ils se nourrissent de vignes et de jeunes pousses d'arbres, ce qui a des conséquences économiques importantes (entre 1991 et 2002, 33 000 euros d'indemnisations versés aux vignerons, Derioz & Grillo 2006). Le mouflon présente aussi en France un enjeu économique important car il est devenu un animal emblématique (en Corse ou sur le continent) de certains massifs montagneux et, en France continentale, la chasse au trophée génère d'importants revenus pour les collectivités locales (voir Chapitre 4, Derioz & Grillo 2006).

2. Objectifs et structure de la thèse

Ce statut particulier du mouflon en France a motivé de nombreux travaux de recherches et on connait aujourd'hui de nombreux éléments de biologie sur le mouflon (voir partie II). En effet, en France continentale, la population du Caroux-Espinouse est notamment très étudiée depuis les années 1970 pour i) améliorer les connaissances biologiques de cette espèce, notamment les paramètres démographiques de la population et l'utilisation de l'espace et des habitats, ii) définir des méthodes de suivi et de gestion des populations et des habitats. Le fonctionnement génétique et la dynamique parasitaire dans la population restaient à étudier et c'est ce qui a motivé la réalisation de cette thèse. L'essentiel des résultats de ce document portent sur cette population pour laquelle de nombreuses données étaient disponibles et d'autres acquises dans le cadre de cette thèse. Nous avons également travaillé sur les populations Corses (bien qu'un peu moins pour le moment) afin d'acquérir des informations

cruciales pour développer des stratégies de conservation sur cette variété de mouflons menacée.

Plus précisément, les objectifs des travaux menés ici étaient de comprendre quels éléments impactent la structure génétique et spatiale chez le mouflon, de comprendre les liens entre cette structure spatiale et la transmission des parasites (e.g. les éléments bloquants les flux de gènes des hôtes bloquent-ils également les flux de parasites ?), et d'identifier les éléments génétiques qui déterminent la résistance face aux parasites. La suite de ce manuscrit est donc divisée en plusieurs parties. Après avoir exposé divers éléments sur le modèle biologique et les populations étudiées (Partie II) nous nous intéresserons au fonctionnement des populations hôtes (Partie III). Nous déterminerons quels éléments (e.g. histoire démographique, structure socio-spatiale) déterminent la diversité et la structure génétique des mouflons (Article 1 et addendum). Nous chercherons également à déterminer quel rôle joue le paysage dans le déterminisme des flux de gènes (Article 2 et addendum). Ensuite, nous nous focaliserons sur le fonctionnement des populations de parasites (Partie IV) en étudiant la structure génétique spatiale des strongles gastro-intestinaux (Chapitre 9) et les déterminant de la résistance des hôtes face aux parasites (Article 3 et addendum). Enfin, dans une dernière partie (Partie V), nous synthétiserons les différents résultats obtenus, leurs implications pour les populations, en termes sanitaires et de gestion, et les perspectives qu'ils ouvrent.

Si le manuscrit est rédigé en français, les travaux publiés ou en cours de publication (mentionnés « Articles » dans le texte) seront néanmoins présentés en anglais.

PARTIE II :
CONTEXTE MÉTHODOLOGIQUE

Chapitre 4

Le modèle biologique : Le mouflon (*Ovis gmelini musimon*)

1. Systématique, taxonomie, origine et répartition

Le mouflon est un mammifère faisant partie du groupe des Ongulés dont la caractéristique principale est d'avoir une production cornée autour de la dernière phalange des 4 membres (« sabot »). Il appartient à l'ordre des Artiodactyles, qui regroupe les Ongulés ayant un nombre pair de doigts (e.g. le sanglier, *Sus scrofa*, le chevreuil, *Capreolus* sp.). Capable de régurgiter le bol alimentaire pour une mastication en plusieurs temps grâce à un estomac compartimenté et ne possédant pas d'incisives sur la mâchoire supérieure, le mouflon est un ruminant de la famille des Bovidés (cornes persistantes). Il appartient au genre *Ovis* comme tous les ovins sauvages et domestiques (moutons, *Ovis aries*).

La systématique du genre *Ovis*, et plus particulièrement celle des *Ovis* sauvages, a beaucoup évolué au cours du temps. Elle fait toujours débat et n'est pas encore bien résolue. La complexité vient du fait que toutes les espèces d'*Ovis* sont inter-fertiles et qu'il existe des populations hybrides rendant la délimitation d'espèces difficile (Catusse et al. 1996). Le plus ancien fossile de mouflon (*Ovis shantungensis*) a été retrouvé en Chine et serait âgé d'un million d'années (Rivals 2002). À partir de ce foyer, les *Ovis* auraient ensuite suivis 2 routes distinctes au cours du Pléistocène (-2.5 Ma à -11 700 ans avant J.C) : (i) en direction de l'Asie du Nord-Est jusqu'à l'Amérique du Nord en passant par le détroit de Behring (ii) en direction de l'Eurasie et jusqu'à l'Europe de l'Ouest (Rezaei et al. 2010). On distingue aujourd'hui plusieurs grands groupes d'espèces et sous-espèces:

- Les Pachycériformes, regroupant les *Ovis* du continent Américain (*Ovis dalli* en Alaska, *Ovis canadensis* en Amérique du Nord) et d'Asie du Nord-Est (*Ovis nivicola*)
- Les Argaliformes, avec les Argalis d'Asie centrale (*Ovis ammon*)
- Les Moufloniformes, regroupant les Urials d'Asie du Sud-Ouest (*Ovis vignei*), les mouflons d'Asie occidentale et d'Europe *(Ovis gmelini* ou *Ovis orientalis* selon les auteurs), qui sont les plus petits des *Ovis* sauvages.

Les mouflons retrouvés aujourd'hui en France et sur les îles Méditerranéennes (Chypre, Corse, Sardaigne) ne seraient toutefois pas les descendants directs des individus arrivés lors des premières vagues de migrations du Pléistocène. En effet, si l'homme de Tautavel (-650 000 à -350 000 ans avant J.-C.) est connu pour avoir chassé ce mouflon antique (qui était phénotypiquement bien différent des mouflons Européens actuels, notamment beaucoup plus grand, de la taille d'un cerf élaphe actuel, Poplin 1979), aucune trace (fossiles, gravures, peintures) plus récente de ces *Ovis* n'a jamais été retrouvée (ni sur le continent, ni sur les îles Européennes). Cela tend à indiquer que les populations actuelles de

mouflons sont issues d'une recolonisation du territoire Européen. Cette recolonisation semble avoir eu lieu durant la fin du Néolithique (- 6000 ans à – 3950 ans avant J.-C., Poplin 1979, Vigne 1983, 1988). Les hommes néolithiques, ayant domestiqué des mouflons anatoliens, sont progressivement arrivés sur les îles Méditerranéennes (Chypre, Corse et Sardaigne) avec leurs « moutons primitifs » qui se sont ensuite implantés sur ces îles. C'est cette hypothèse du marronnage depuis des mouflons du Croissant fertile qui fait aujourd'hui consensus pour expliquer la présence de mouflons en Méditerranée (Poplin 1979, Vigne 1988). Ces mouflons seraient donc issus d'*Ovis gmelini* (ou *orientalis*) domestiqués dans les monts Zagros (Iran, Rezaei 2007, Chessa et al. 2009). Suivant la révision systématique proposée par Cugnasse en 1994, les mouflons des îles Méditerranéennes sont nommés *Ovis gmelini musimon* et représentent 3 variétés différentes : *Ovis gmelini musimon var. corsicana* (Corse), *O.g.m. var. ophion* (Chypre) et *O.g.m. var. musimon* (Sardaigne).

Le genre *Ovis* occupe aujourd'hui une très large aire de répartition mondiale, bien qu'il soit absent du continent Africain où réside le « mouflon » à manchette qui n'est pas un *Ovis* mais un *Ammotragus* (Catusse et al. 1996). Nombre des populations que l'on retrouve aujourd'hui dans le monde entier ont été formées à partir des populations insulaires (Chypre, Corse, Sardaigne) au cours du XXème siècle (Uloth 1972). Toutes ces populations néoformées sont cependant considérées comme hybrides, car de nombreux croisements avec d'autres mouflons de différentes origines ou même des moutons domestiques ont eu lieux (Uloth 1972, Cugnasse 1994). La dénomination « mouflon Méditerranéen » et le nom latin *Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp. ont donc été proposés (Cugnasse 1994) pour distinguer ces populations potentiellement hybrides des populations sources. Dans la suite de ce manuscrit nous utiliserons la classification proposée par Cugnasse (1994).

On retrouve ainsi du mouflon Méditerranéen sur les îles d'Hawaï (Giffin 1979) ou Canaries (Rodríguez et al. 1988), mais aussi en Patagonie (Frisina & Frisina 1997), dans les Alpes (Jullien et al. 2009) et le reste de l'Europe (Catusse et al. 1996). On en retrouvait même, jusqu'à il y a peu, sur les îles Kerguelen, en Antarctique, où il avait été introduit avec succès à partir de 2 individus (Chapuis et al. 1994, Dubray et al. non publié). De nombreuses populations ont aussi été créées en France continentale à des fins cynégétiques. En 2016, on en dénombrait 87, d'effectifs variables, réparties sur 28 départements (Dubray et al. non publié).

2. Biologie de l'espèce

2.1. Morphologie

Les mouflons Méditerranéens et Corses sont parmi les plus petits des *Ovis* sauvages avec, pour les mâles, une hauteur au garrot comprise entre 65 et 90 cm et une masse de 30-50 kg, et pour les femelles, une hauteur de 62-78 cm et une masse de 21-38 kg (Dubray et al. non publié). A quelques rares exceptions près, les mâles sont dotés de cornes qui s'enroulent en poussant (Figure 10). La taille des cornes et du corps sont des caractères soumis à sélection sexuelle chez les mouflons d'Amérique et les individus ayant de plus beaux trophées ont un meilleur succès reproducteur (Coltman et al. 2002). La croissance des cornes est continue tout au long de la vie des individus et des anneaux de croissance apparaissent périodiquement (Geist 1966, Lincoln 1998, Toledano-Diaz et al. 2007), permettant, par leur comptabilisation d'obtenir une estimation assez fiable de l'âge des mâles. Les femelles peuvent également être cornues mais ce n'est pas systématique, et lorsqu'elles sont présentes, les cornes des femelles mesurent rarement plus de 15 cm et sont souvent dissymétriques (Figure 11, Pfeffer 1967, Dubray et al. non publié). La proportion de femelles cornues varie d'une population à l'autre. Les populations de mouflons Corses et Méditerranéens présentent des taux de femelles cornues importants (43% de femelles cornues à Bavella (Corse du sud), 13% à Cinto (Corse du nord), 18% dans le Caroux-Espinouse (Sud de la France continentale, Maillard et al. 2007, Marchand 2013, Sanchis 2018, Dubray et al. non publié), comparativement aux populations Sardes, chez qui la présence de cornes chez les femelles est anecdotique, et Chypriotes, chez qui les femelles sont complètement acères (Pfeffer & Genest 1969).

Figure 10: Photographie (© Daniel Maillard) d'un mâle mouflon Méditerranéen illustrant l'enroulement des cornes avec l'âge.

Figure 11: Photographies (© Daniel Maillard) de deux femelles mouflon Méditerranéen, l'une cornue (à gauche) l'autre non (à droite).

2.2. Utilisation de l'habitat et comportement

Le mouflon est un organisme essentiellement diurne, bien que, lors des étés chauds ou des périodes de fort dérangement, des individus actifs durant la nuit peuvent être observés (Bourgoin et al. 2008, Bourgoin et al. 2011, Marchand et al. 2015a). La sensibilité des individus à la chaleur (Garel et al. 2004, Bourgoin et al. 2008, Bourgoin et al. 2011) impacte également la sélection d'habitat (Marchand et al. 2015a). Le mouflon est un animal se nourrissant préférentiellement d'herbes ou « herbe-like plantes » (graminées et herbacées, arbustes), mais pouvant varier la composition de son régime alimentaire en fonction de la saison et de l'habitat dans lequel il évolue. Cette forte plasticité participe à expliquer les nombreux succès d'introduction obtenus dans des environnements très différents (voir plus haut, Marchand et al. 2013).

La sélection d'habitat chez le mouflon est déterminée par un compromis entre couverture et nourriture (« food/cover trade-off »). Ainsi, la météo, le sexe, le statut de reproduction et la perception des risques peuvent impacter le choix des individus de rester dans tel ou tel type d'habitat (Marchand et al. 2015a,b). Chez le mouflon Méditerranéen, et plus spécifiquement dans la population du Caroux-Espinouse, durant les périodes de forte

prédation (e.g. période de chasse), les individus favorisent les habitats plus sûrs (couverts ou inaccessibles aux prédateurs et offrant une grande visibilité comme les zones rocheuses) au détriment de la qualité des ressources dont ils y bénéficient (Marchand et al. 2015b). En dehors des périodes de risque accru de prédation, les mâles utilisent majoritairement les habitats offrant des ressources qualitatives (zones herbeuses sur les plateaux) alors que les femelles suitées[28] continuent d'utiliser des zones sûres (zones rocheuses, zones herbeuses fortement pentues, Marchand et al. 2015b).

Les domaines vitaux des mouflons s'étendent sur quelques centaines d'hectares (e.g. dans le Caroux-Espinouse, 201 ha en moyenne pour les femelles et 361 ha en moyenne pour les mâles, bien que cela soit variable selon les populations et les saisons, voir Marchand 2013, Sanchis 2018). Dans le Caroux-Espinouse, ces domaines vitaux sont définis, en partie, en fonction des structures linéaires anthropiques (e.g. routes, chemins), et naturelles (e.g. lignes de crêtes, fonds de vallées) présentes dans le paysage (Marchand et al. 2017a). Ces barrières comportementales peuvent servir de repères visuels en fonction desquels les individus peuvent construire leurs cartes cognitives, délimitant ainsi les zones à l'intérieur et à l'extérieur de leurs domaines vitaux (Marchand et al. 2017a). Les structures linéaires apparaissent alors reléguées aux bords externes des domaines vitaux et cela peut avoir des conséquences génétiques (Marchand et al. 2017a, Article 2). Le dérangement à proximité de ces structures linéaires peut également expliquer cette contrainte spatiale (voir Article 2) puisque l'on sait qu'il peut avoir de forts impacts sur le comportement des mâles et des femelles mouflons Méditerranéens (Martinetto & Cugnasse 2001, Benoist et al. 2013, Marchand et al. 2014a).

2.3. Structure sociale, spatiale et reproduction

Le mouflon est un animal grégaire (e.g. dans le Caroux-Espinouse, plus de 84% des animaux observés sont en groupes d'au moins 2 individus, Seigle-Ferrand 2017) présentant une organisation sociale en fission-fusion. Cela signifie que des groupes se forment, puis se démantèlent pour se regrouper ou créer de nouveaux groupes. C'est un phénomène dynamique, fluctuant en fonction de plusieurs facteurs. Les individus se regroupent notamment en fonction de leur sexe. On retrouve donc des groupes de femelles adultes, accompagnées de leur jeune de l'année (parfois de l'année précédente), mais aussi des groupes de mâles adultes (Bon et al. 1990, 1993a, Le Pendu et al. 1995, Cransac et al. 1998). Les mâles se regroupent également en fonction de leur âge et les femelles en fonction de leur

[28] Une femelle suitée est une femelle qui s'occupe encore de son jeune agneau qui la suit partout.

statut de reproduction. L'utilisation de l'habitat, les conditions climatiques (en lien par exemple avec la taille des individus), les préférences sociales, le rythme journalier des activités et les prérequis nutritionnels jouent également un rôle prépondérant dans la formation et la composition des groupes (Le Pendu et al. 1995, Ruckstuhl 2007, Seigle-Ferrand 2017, Bourgoin et al. 2018) qui ont une taille variable (Le Pendu et al. 1995, Benoist et al. 2013, Dubray et al. non publié). Les mâles et les femelles sont donc dans des groupes séparés tout au long de l'année mais se retrouvent pendant le rut (octobre-décembre, Bon et al. 1993b) durant lequel les mâles vont d'un groupe de femelles à l'autre afin de se reproduire, formant ainsi des groupes mixtes instables (Bon & Campan, 1989, Bon et al. 1992, Cransac et al. 1998, Dubois et al. 1993, 1996, Le Pendu et al. 1996, Bourgoin et al. 2018).

Après le rut, la gestation se fait de janvier à mars (148-159 jours), puis la mise-bas s'étale entre fin mars et début juin selon les populations (Bon et al. 1993b, Garel et al. 2005a, Dubray et al. non publié). La maturité sexuelle est atteinte à différents âges selon les populations. Pour les femelles, cela peut être durant la première année de vie (e.g. dans les Bauges et le Vercors) ou à partir d'1,5 an (e.g. dans le Caroux-Espinouse, Garel et al. 2005a). En Corse, seulement 36 à 59% des femelles d'1,5 an sont suitées alors que 90% sont gestantes à cet âge-là au Caroux-Espinouse (Garel et al. 2005a) indiquant un âge de première reproduction plus tardif pour les mouflons Corses et/ou une mortalité importante chez les juvéniles. Pour les mâles, bien qu'ils puissent *a priori* être sexuellement matures à partir de 2 ans (e.g. chez le mouflon d'Amérique, Hogg & Forbes 1997, Festa-Bianchet 2012), seuls les mâles de 3 ans ou plus ont été observés en activité de reproduction au Caroux-Espinouse (Bon et al. 1992, 1995a). Dans les populations ancestrales de Corse, Chypre et Sardaigne, les naissances de jumeaux sont extrêmement rares (Dubray 1988 in Garel et al. 2005a) mais le taux de gémellité est plus élevé dans d'autres populations (e.g. 2.5% dans la population du Caroux-Espinouse et jusqu'à 36% dans l'ancienne population des Kerguelen, Boussès & Réale 1998, Garel et al. 2005a). Une origine génétique à ces proportions a été proposée (voir Garel et al. 2005a) bien qu'il semble que cela dépende également de la disponibilité en ressources (Garel M, communication personnelle).

Le système d'appariement est très peu connu chez le mouflon Méditerranéen et Corse, et bien qu'il ait été décrit comme de la promiscuité (i.e. les mâles s'accouplent avec plusieurs femelles et *vice versa* sans qu'il y est de sélection de partenaire, Bon et al. 1992, 1995a), il peut s'apparenter à de la polygynie, comme ce qui est observé chez d'autres espèces d'*Ovis* sauvages (e.g. mouflons de Dall, Geist 1971, mouflons d'Amérique, Jarman 1983, Hogg 1987). Chez le mouflon d'Amérique, chez qui le système d'appariement a été largement plus

étudié, différentes stratégies de reproductions existent. La prédominante chez les mâles adultes semble être le « tending » (i.e. lorsqu'un mâle garde la femelle avec laquelle il s'est accouplé, l'empêchant de s'accoupler avec d'autres mâles, Hogg 1984, Pelletier 2005). Les deux autres stratégies décrites sont le « coursing » (i.e. lorsqu'un mâle combat le mâle qui est en train de faire du « tending » sur une femelle qu'il convoite) et le « blocking » (i.e. lorsqu'un mâle bloque la femelle qu'il convoite et la séquestre spatialement dans une zone où très peu d'autres mâles peuvent accéder). Ces deux stratégies sont moins fréquemment employées que le « tending » et concernent essentiellement les jeunes mâles (Hogg 1984, Pelletier 2005). Les mâles faisant du « tending » sont les mâles dominants, les plus âgés, les plus gros et ayant les plus grandes cornes. Ils ont un meilleur succès reproducteur que les mâles faisant du « coursing » (Hogg & Forbes 1997, Coltman et al. 2002, Pelletier & Festa-Bianchet 2006, Martin et al. 2013). Le « tending » favorise donc l'accès à la reproduction pour quelques mâles dominants, tirant le système d'appariement vers la polygynie.

Le mouflon est un animal aux capacités de dispersion limitées (Geist 1971, Gross et al. 2000, Dubois et al. 1994, Worley et al. 2004). Les femelles montrent une philopatrie très marquée qui structure spatialement et génétiquement les populations (Festa-Bianchet 1991, Dubois et al. 1992, 1994, Maublanc et al. 1994, Petit et al. 1997, Dupuis et al. 2002, Martins et al. 2002, Coltman et al. 2003a, Article 1). Les mâles ont quant à eux un comportement spatial plus relâché, moins impacté par les barrières comportementales, et ce, surtout durant la période de reproduction (Dubois et al. 1993, 1996, Marchand et al. 2017a, Articles 1 et 2). Il semblerait que ce soit eux qui assurent la majorité des flux de gènes via des excursions de reproduction (i.e. mouvement temporaire en dehors de leur domaine vital, Marchand et al. données non publiées, Article 1) car peu de dispersion natale a été observée (Dubois et al. 1993, 1996, King and Brooks 2003). Les mâles peuvent également être fidèles à leur site de rut (Dupuis et al. 2002, Martins et al. 2002). Du fait de ces faibles capacités de dispersion et des limitations comportementales liées au paysage (voir ci-dessus), les populations espacées de quelques dizaines de kilomètres peuvent rapidement être isolées les unes des autres (comme c'est le cas des différentes populations françaises, e.g. Partie III, Chapitre 7, Addendum 3).

2.4. Le parasitisme intestinal chez le mouflon

Les mouflons peuvent contracter diverses maladies bactériennes (e.g. brucellose, chlamydiose, salmonellose, kerato-conjonctivite, tuberculose), virales (e.g. rage, fièvre aphteuse) et parasitaires (strongyloses pulmonaire et digestive, coccidiose, petites et grandes douves, Cockenpot 2013, Gibert 2018). Les infections parasitaires sont les plus communes car

la quasi-totalité des individus sont parasités (Gibert 2018). Ils portent des parasites externes (e.g. poux, tiques) mais aussi des parasites internes, notamment des parasites de l'appareil digestif (strongles, coccidies, douves, cestodes). En Europe occidentale, la plupart des parasites digestifs rencontrés chez le mouflon sont les strongles (nématodes) et les coccidies (protozoaires). Ces parasites peuvent occuper différents endroits de l'appareil digestif tels que l'abomasum (estomac), l'intestin grêle, le colon ou le caecum et, selon les espèces, ils peuvent vivre libre dans la lumière de l'intestin, fixés à la muqueuse ou encore dans les cellules de la muqueuse (coccidies, Taylor et al. 2015).

Les strongles digestifs les plus fréquents chez les ongulés de montagne, tel que le mouflon, sont les trichostrongylidés (e.g. *Teladorsagia* sp., *Trichostrongylus* sp., *Haemonchus* sp., *Ostertagia* sp., Morgan & van Dijk 2012, Maerten 2014, Cockenpot 2013). Les trichostrongylidés sont des organismes ayant un cycle monoxène (un seul hôte), avec une phase de vie libre dans l'environnement (Figure 12), dont la durée varie en fonction de l'espèce et des conditions climatiques (température et humidité notamment, O'Connor et al. 2006). Les adultes parasitant les hôtes pondent des œufs qui sont excrétés dans l'environnement avec les fèces. Ces œufs éclosent et les larves de stades 1 à 3 évoluent dans l'environnement. Le stade larvaire 3 (L3) est le stade infestant, la larve est alors engainée dans une exuvie lui procurant une meilleure résistance dans l'environnement (pouvant parfois, pour certaines espèces, survivre ainsi à la période hivernale en dehors des hôtes, Sutherland & Scott 2010, Taylor et al. 2015). Les larves L3, une fois ingérées, évoluent en larves de stade 4 puis en adultes immature puis mâture, dans le tube digestif. Si dans l'environnement les larves L3 sont exposées à des conditions défavorables (e.g. baisse des températures), elles pourront alors rentrer en hypobiose dans l'hôte après leur ingestion (arrêt du développement larvaire, Sutherland & Scott 2010, Taylor et al. 2015). Cet état végétatif leur permet de persister dans l'organisme de l'hôte, en vie ralentie et protégées du système immunitaire. Par exemple, dans les régions tempérées, l'hypobiose est maximale pendant l'hiver et la sortie d'hypobiose se fait au printemps, induisant une augmentation brutale des taux de parasites (« spring-rise », Taylor 1935) qui peuvent avoir de fortes conséquences pour les individus qui sont déjà affaiblis au sortir du jeûne hivernal. Sous nos latitudes, pour le mouflon, cela coïncide en plus avec la mise bas et la lactation, qui causent elles-mêmes de fortes dépenses énergétiques et donc un affaiblissement du système immunitaire, à l'origine d'une augmentation encore plus forte de l'excrétion en œufs de parasites (« *periparturient-rise* », Gibbs 1986, voir aussi Festa-Bianchet 1989, Houdjik 2008, Bourgoin et al. in prep).

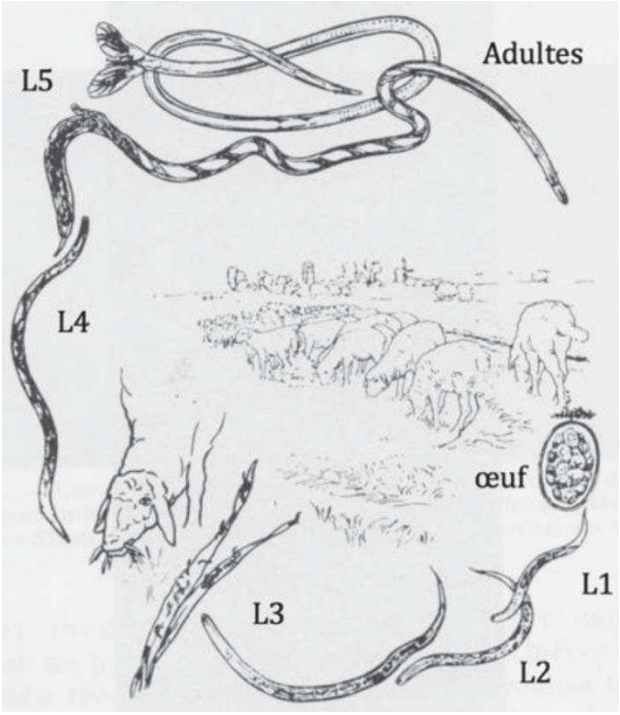

Figure 12: Cycle de vie des trichostrongylidés (Euzéby 1963).

Les coccidies digestives les plus souvent retrouvées chez les ongulés de montagne appartiennent quant à elles au genre *Eimeria* et colonisent les cellules de la muqueuse intestinale (Taylor et al. 2015). Leur cycle de vie est également monoxène avec une phase dans l'environnement. Les adultes ont une reproduction sexuée dans l'hôte qui excrète alors des ookystes non sporulés qui deviennent infestant dans l'environnement suite à la sporogonie (divisions du zygote, Figure 13). Les ookystes sporulés ont une grande résistance dans l'environnement (plusieurs mois à un an, Chartier & Paraud 2012).

La pathogénicité des parasites dépend de leur abondance au sein de l'hôte et de leur mode de nutrition. Bien que la mortalité due uniquement à la présence de parasites soit faible, les parasitoses peuvent avoir des conséquences sur la valeur sélective des individus (voir Chapitre 2). Les strongles digestifs peuvent être hématophages, chymivores (i.e. consommant le chyme qui est composée du bol alimentaire partiellement digéré accompagné d'eau et de sucs gastriques) ou histophages (i.e. se nourrissant de tissus de l'hôte) causant ainsi possiblement des anémies, des amaigrissements et des retards de croissance par spoliation d'énergie ou encore des dommages tissulaires (Euzéby 1963, Sutherland & Scott 2010, Taylor et al. 2015). Les *Eimeria* peuvent quant à elles causer des diarrhées aboutissant à des déshydratations sévères et de l'anorexie, notamment chez les jeunes, augmentant les risques de mortalité (Taylor et al. 2015).

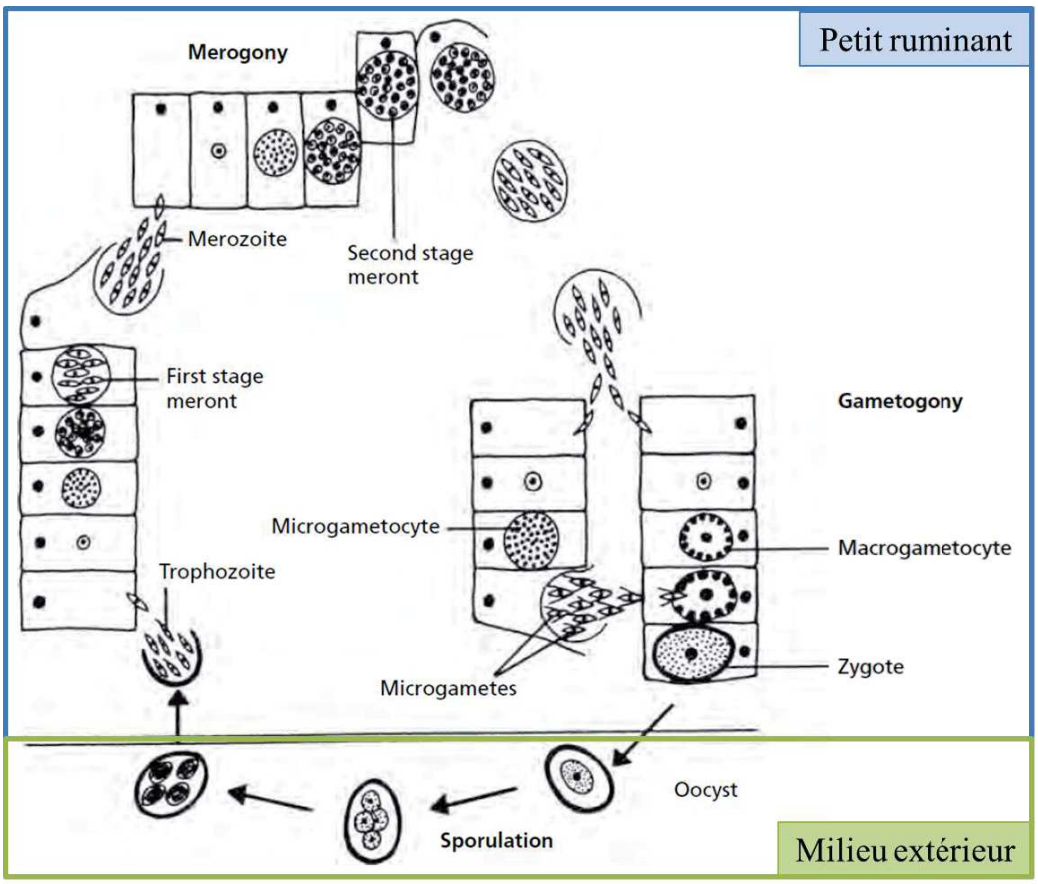

Figure 13: Cycle de vie des coccidies du genre Eimeria (modifié depuis Taylor et al. 2015)

Chapitre 5

Les sites d'études

1. Sur le continent

1.1. Le massif du Caroux-Espinouse : situation, climat, habitat

Le massif du Caroux-Espinouse (43°38'N, 2°58'E, Hérault, 34), constituant la pointe sud du massif central (Figure 14) fait partie du parc Naturel Régional du Haut Languedoc. Il s'étend sur une superficie de 17 000 ha où l'altitude varie de 150 à 1124 m (point culminant : le sommet de l'Espinouse, Figure 14). Cette zone de moyenne montagne est caractérisée par de nombreux plateaux (souvent situés à une altitude supérieure à 900m) et de grandes vallées (Figure 14, Baudière, 1970). Au centre de ce massif, une Réserve Nationale de Chasse et de Faune Sauvage (RNCFS) de 1658 ha, crée en 1973 (Massol 1991) est gérée par l'Office National des Forêts (ONF) et l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS).

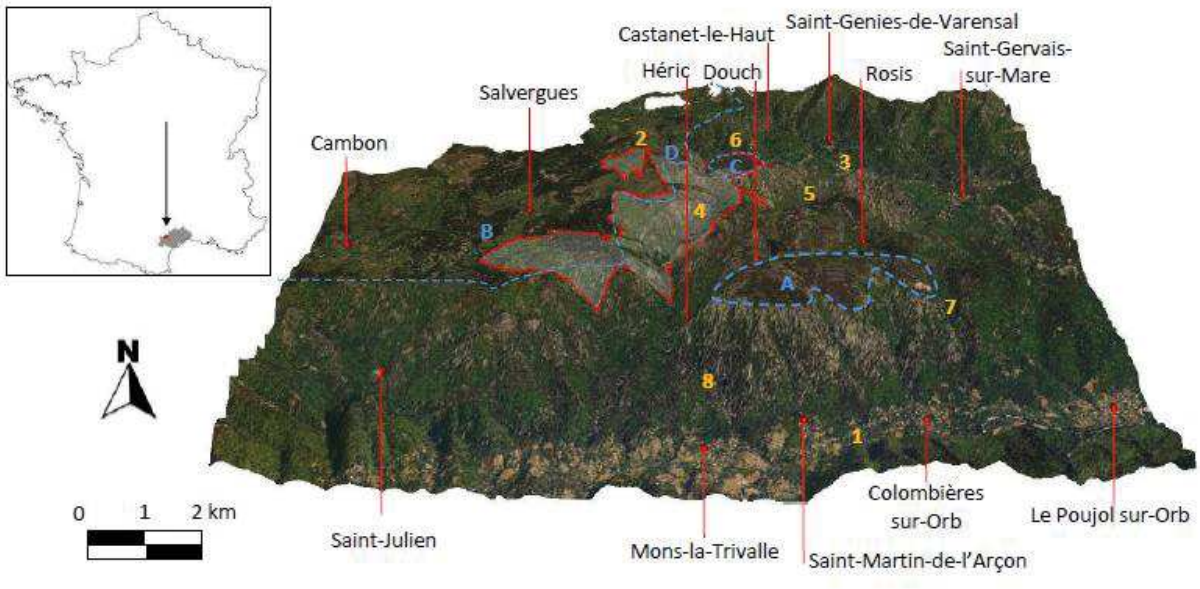

Figure 14: Massif du Caroux-Espinouse (Hérault). Reproduit depuis Marchand (2013).

1 = Vallée de l'Orb, 2 = Sommet de l'Espinouse, 3 = Vallée de la Mare, 4 = Vallée du Vialais, 5 = Vallée de Caissenols, 6 = Vallée du Pas de la Lauze, 7 = Gorges de Colombières, 8 = Gorges d'Héric. Les plateaux sont désignés par des lettre : A = Plateau du Caroux, B = Plateaux de Cambon et Salvergues, C = Plo des Brus, D = Plo de Flamboyau. Contour rouge = RNCFS du Caroux-Espinouse.

Le massif du Caroux-Espinouse (CE) reçoit l'influence à la fois, des régimes climatiques océanique et montagnard, induisant de fortes précipitations en automne et hiver avec des hivers froids (voir Marchand 2013 pour plus de détails), et d'un régime

Méditerranéen induisant des étés chauds et secs (Baudière 1962, Garel et al. 2004). Les vents du Nord et Nord-Ouest et les entrées maritimes du Sud et du Sud-Est, aèrent le massif du CE tout au long de l'année (voir Marchand 2013 pour les détails). Au contraire, les chutes de neige sont plutôt limitées sur le massif (Garel 2006).

D'un point de vue habitat, la végétation présente dans le CE est déterminée par les reliefs et le climat. Une cartographie précise des habitats de 9280 ha du massif du CE réalisée en 2008 a révélé une très forte proportion (environ 60%) de milieux fermés (forêts de résineux et/ou de feuillus) alors que les milieux ouverts (landes, cultures et autres zones herbeuses) ne représentaient que 27% (Tronchot 2008). Le reste du territoire est essentiellement occupé par des sols nus ou presque (végétation claire ou nulle, routes, zones rocheuses). Cette cartographie a également confirmé que la fermeture de l'habitat dans le massif (et au sein de la RNCFS), mise en évidence grâce à une cartographie précédente étudiant l'évolution de la végétation sur le massif entre 1955 et 1992 (Bousquel 1999), se poursuivait (Figure 15). Près de 30% de milieux ouverts ont ainsi été perdus entre 1955 et 2005, et les milieux fermés (zones forestières essentiellement) ont été multipliés par trois (Bousquel 1999, Tronchot 2008). Cette régression des zones ouvertes est expliquée par l'intense déprise agricole dont a été victime le CE à partir des années 1900 (Bousquel 1999, Dérioz et Grillo 2006), et des plantations forestières qui ont eu lieu dans les années 1950, dans le cadre du FFN (Fond Forestier National, Bousquel 1999, CRPF Languedoc-Roussillon 2001).

Abandonné des agriculteurs et éleveurs et étant aujourd'hui faiblement peuplé (Bousquel 1999, Marchand 2013), le massif du Caroux-Espinouse est toutefois apprécié des touristes et autres amateurs de montagne locaux qui s'adonnent à de nombreuses activités dans le massif (randonnée, escalade, cueillette de champignons, chasse…). Si l'on compte près de 200 000 visiteurs annuels dans le massif (Martinetto et al. 1998, Dérioz & Grillo 2006), les activités humaines sont cependant très réglementées au sein de la RNCFS. Les randonnées y sont autorisées mais limitées à quelques parcours balisés (Marchand et al. 2014b) et la chasse y est interdite, alors qu'elle est autorisée en dehors de ses limites dans le massif (Garel et al. 2007). Dans la RNCFS, l'ONCFS se charge de la gestion et de l'amélioration des connaissances sur la faune sauvage, et l'ONF s'occupe de la gestion forestière. Les deux établissements sont aussi en charge d'assurer la surveillance et de faire respecter la réglementation.

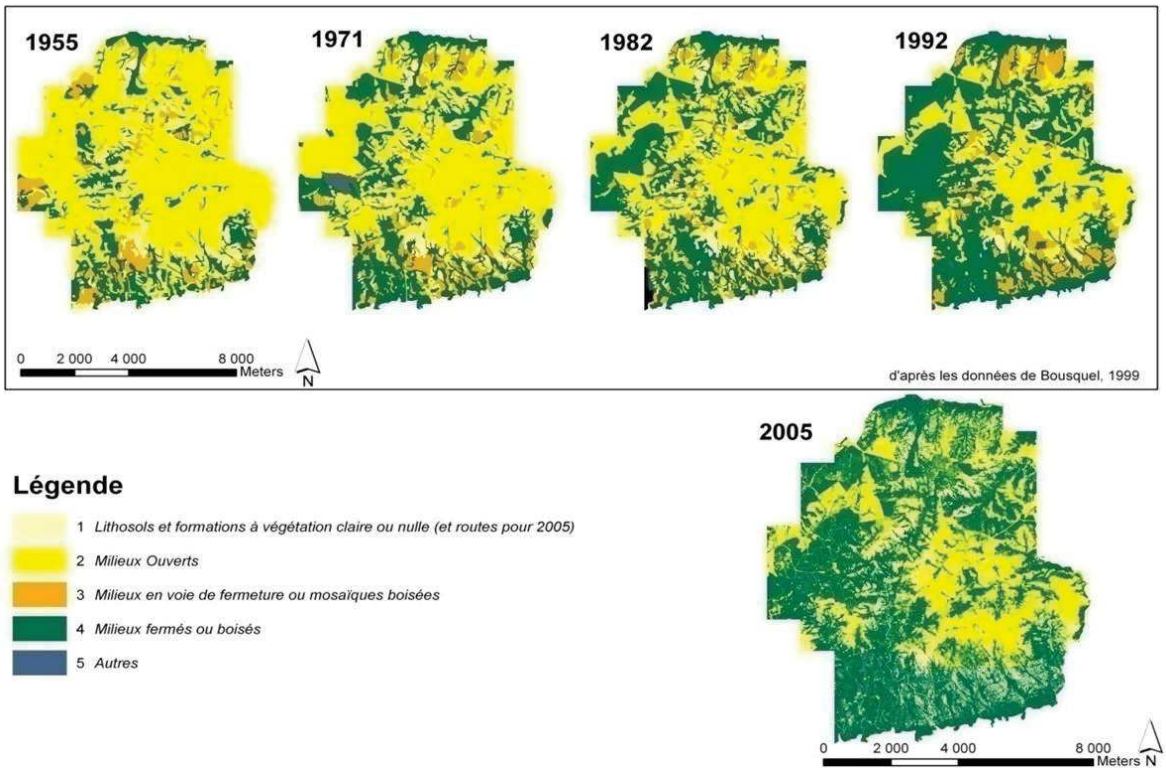

Figure 15: Evolution des classes d'habitats ouverts, fermés ou en cours de fermeture entre 1955 et 2005 dans le massif du Caroux-Espinouse. Reproduit depuis Tronchot 2008.

Il est à noter que les cartes 1955-1992 et 2005 ne viennent pas de la même cartographie (Bousquel 1999 et Tronchot 2008).

1.2. La population de mouflons Méditerranéens du Caroux-Espinouse

Le massif du CE abrite l'une des plus grandes (Cugnasse 1997b) populations Européennes de mouflons Méditerranéens (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.). On y trouve aussi des chevreuils, *Capreolus capreolus*, et des sangliers, *Sus scrofa,* mais en densités bien moins importantes que les mouflons (Cugnasse et al. 1987, Bourgoin et al. 2018).

La population de mouflons Méditerranéens du Caroux-Espinouse est issue du lâcher de 19 individus originaires de diverses populations Françaises et Tchécoslovaques dans la RNCFS entre 1956 et 1960 (Tableau 1, Figure 17, Cugnasse 1990, Garel et al. 2005b). Huit individus originaires de la population de Cadarache (Encadré 3) ont été lâchés au nord (Pas de la Lauze) et au sud (Chavardés) de la réserve (Tableau *1*, Figure 16A, Cugnasse & Houssin 1993). En provenance du domaine national de Chambord (Encadré 3), ce sont 6 individus qui ont été lâchés au centre de la réserve, sur « *la piste des trappes* » (dénomination vernaculaire actuelle car dans ce secteur, de nombreuses trappes servant aux captures sont installées, Figure 16A). Enfin, 5 individus issus de l'ex-Tchécoslovaquie (Encadré 3) ont également été

relâchés dans la RNCFS, au Pas de la Lauze. Le succès d'implantation de ces 5 derniers individus a cependant souvent été remis en cause du fait du fort stress certainement engendré par le trajet entre la Tchécoslovaquie et le Caroux (très long à une époque où le « bien-être » animal n'était pas une considération première), auquel s'ajoutent les différences d'habitat entre leur pays d'origine et le CE (J. M. Cugnasse, pers. comm.). Depuis son introduction, la population a largement dépassé les limites de la RNCFS (Figure 16B) et a atteint un effectif total de plus de 2500 individus occupant aujourd'hui presque 20 000 ha.

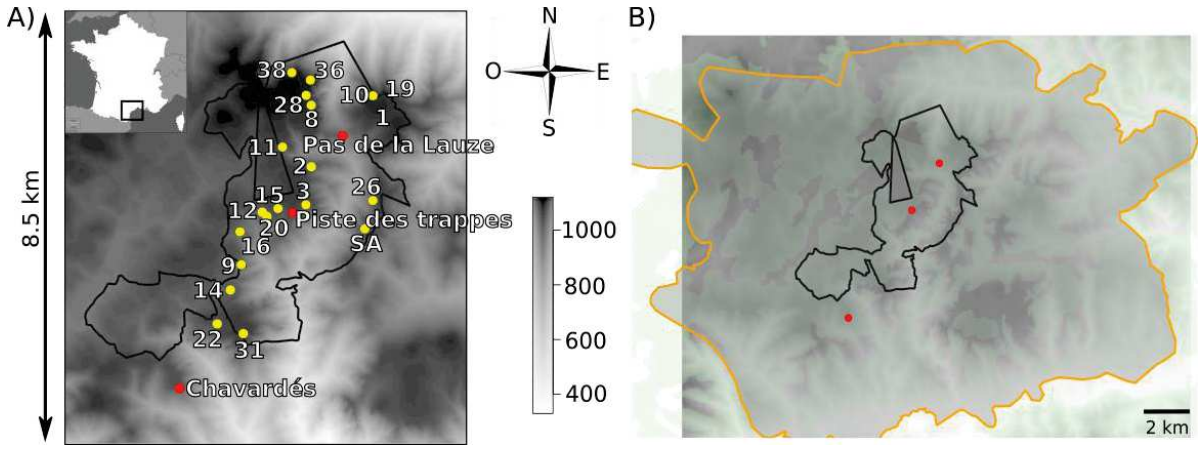

Figure 16: A) Carte de la Réserve Nationale de Chasse et de Faune Sauvage du Caroux-Espinouse. B) Aire de répartition de la population de mouflons Méditerranéens dans le massif du Caroux-Espinouse en 2007 (zone grisée, bordures oranges).

Les bordures de la RNCFS du CE sont tracées en noir. En rouge : les sites de lâchers historiques, en jaune : les trappes et filets tombants servant à la capture. L'échelle de gris indique l'altitude dans le massif (en mètres).

Tableau 1: Date, origine, site (voir aussi Figure 16A), sexe et nombre des individus fondateurs lâchés dans la Réserve Nationale de Chasse et de Faune Sauvage du Caroux-Espinouse (Cugnasse & Houssin 1993).

Date de lâcher	Origine des individus	Site de lâcher	Individus lâchés
12 mars 1956	Réserve Nationale de Cadarache (France)	Pas de la Lauze	2 ♂ et 2 ♀
15 février 1959	Réserve Nationale de Cadarache (France)	Chavardés	2 ♂ et 2 ♀
02 mars 1960	Ancienne Tchécoslovaquie	Pas de la Lauze	3 ♂ et 2 ♀
23 octobre 1960	Domaine National de Chambord (France)	Piste des trappes	3 ♂ et 3 ♀

Encadré 3 : Historique des populations sources

- Cadarache (Bouches-du-Rhône, 13, France) : La population de l'enclos de Cadarache semble avoir été fondée entre 1935 et 1949 à partir de 3 agneaux (2 mâles et 1 femelles) issus de la population Corse de Bavella (Dubray 1988) à l'époque où l'École des gardes-chasse occupait le territoire.
- Chambord (Loir-et-Cher, 41, France) : La population de Chambord fut quant à elle formée en 1949 à partir d'individus aux origines multiples, notamment issus de Corse, de parcs zoologiques, du Jardin des Plantes de Paris, des Bauges et de ce que l'on appelait alors la Tchécoslovaquie (Dubray 1988, Montgelard et al. 1994, Corti et al. 2011, Figure 17). L'origine précise des individus Tchécoslovaques et du Jardin des Plantes est inconnue.
- Ex-Tchécoslovaquie : Les individus de la population Tchécoslovaque dont étaient issus les individus lâchés dans le CE sont probablement issus du croisement entre mouflons de Sardaigne et autres souches de moutons et mouflons (Dubray 2010b).

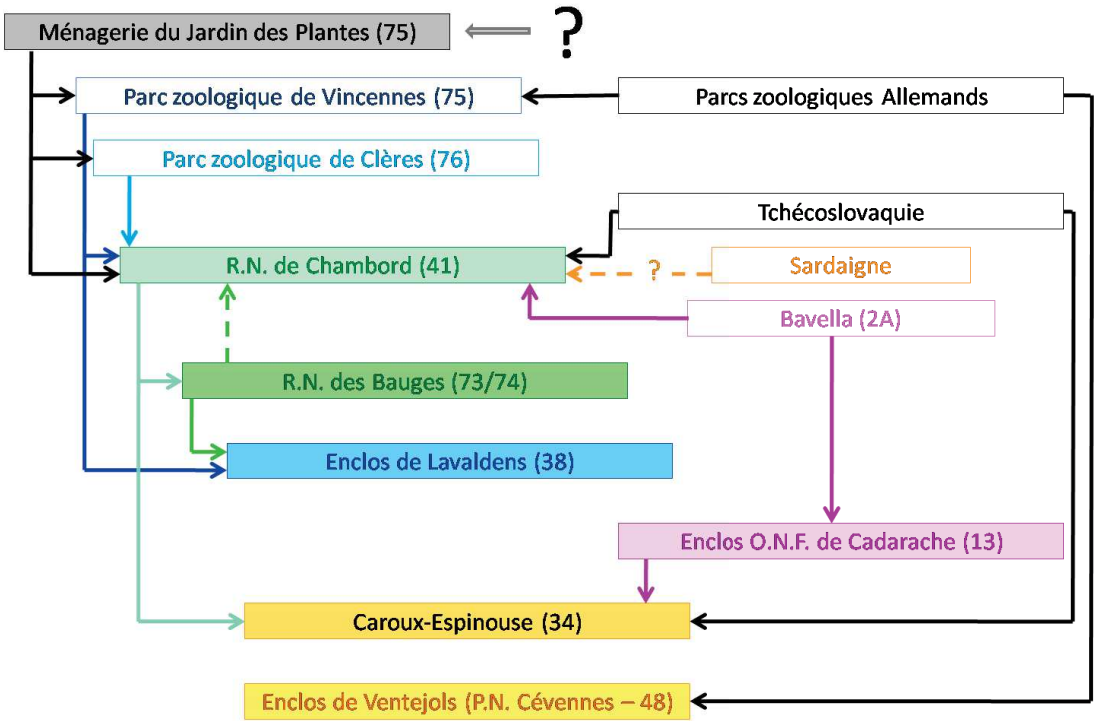

Figure 17: Origine des populations souches de mouflons Méditerranéens. Reproduit et modifié d'après Corti et al. 2011.

Comme la prédation naturelle est limitée aux juvéniles qui sont ponctuellement prédatés par les chiens errants, *Canis lupus familiaris*, les renards, *Vulpes vulpes,* et les aigles royaux, *Aquila chrysaetos* (Marchand 2013), un plan de chasse est en place depuis 1973, afin de réguler les effectifs et l'expansion géographique de la population (Garel et al. 2005b, 2007, Figure 18). Au cours des dernières années, environ 500 individus (équitablement répartis

entre mâles et femelles) ont été prélevés annuellement (Figure 18). La présence du loup, *Canis lupus*, a néanmoins été récemment détectée (depuis 2014) dans le massif, mais jamais plus d'un individu à la fois n'a été observé (pièges photographiques). Bien qu'il semble que les mouflons aient détecté sa présence, puisque des effets sur la structure sociale (Seigle-Ferrand 2017) et les taux de captures (Itty Christian, Pers. Comm.) ont été observés, on peut tout de même supposer que cette espèce n'a pas (encore) un réel impact démographique sur la population de mouflons.

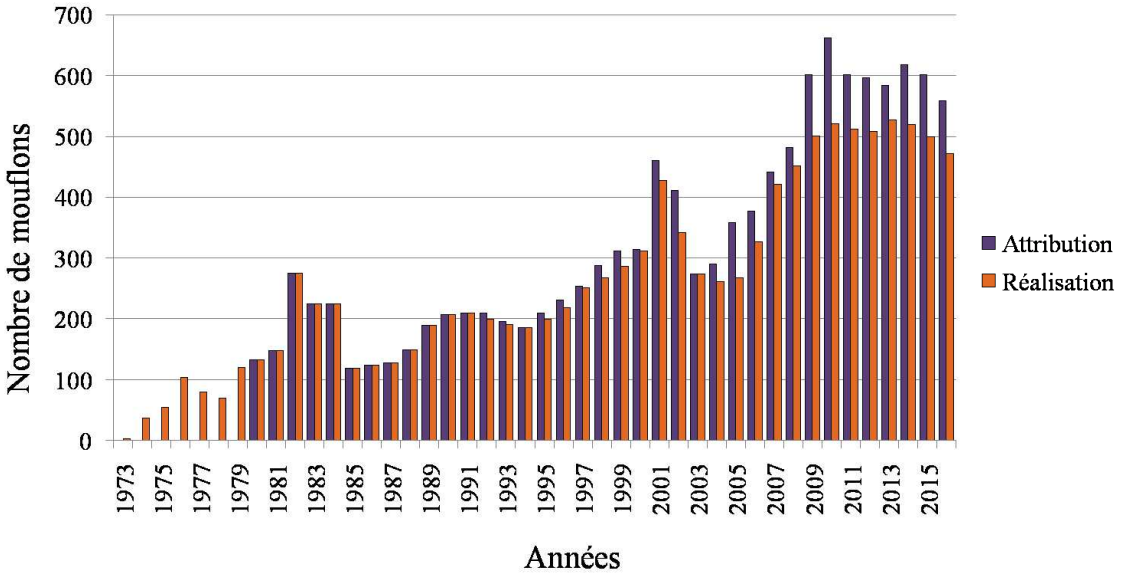

Figure 18: Evolution du plan de chasse et de sa réalisation pour les mouflons du Caroux-Espinouse entre 1973 (mise en place) et 2016. Source données : Tableaux de chasse départementaux grand ongulés ONCFS.

Les prélèvements des individus mâles sont souvent motivés par la recherche de trophées et, depuis 1982, un Groupement d'Intérêts Environnemental et Cynégétique (GIEC) gère le prélèvement des mâles via une chasse à l'approche encadrée par des guides déterminant quel individu peut être prélevé (Garel et al. 2007). Pour les femelles et les jeunes, des battues avec chiens courants sont organisées (Garel et al. 2007). La période de chasse s'étend de septembre à février et ne concerne que l'extérieur de la réserve. Cette activité cynégétique a d'importantes retombées pour l'économie locale (Cugnasse 1995, Derioz & Grillo 2006).

La population de mouflons Méditerranéens du CE présente une forte ressemblance phénotypique avec le mouflon de Corse (Pfeffer & Genest 1969). Les trophées des mâles du CE présentent notamment des caractéristiques typiques des mouflons Corses en termes d'écartement, d'envergure et de diamètre de la courbure des cornes, bien qu'une baisse de la

qualité des trophées ait été détectée en lien avec les prélèvements longtemps orientés sur les beaux trophées (Garel et al. 2007). La population du CE présente également un taux de femelles cornues (Figure 11) plus important que les autres populations continentales (Pfeffer 1967, Pfeffer & Genest 1969), une caractéristique que l'on retrouve également dans les populations Corses (voir Chapitre 4, 2.1). En effet, on retrouve actuellement 18% de femelles cornues dans la population du CE (Marchand 2013) mais historiquement, cette proportion était bien plus importante (60% au sein de la RNCFS, Pfeffer & Genest 1969) et a diminué au cours du temps en conséquence de la chasse sélective (Garel 2006). Du fait de ces ressemblances fortes avec les populations Corse, et surtout avec celle de Bavella, la population du CE est souvent considérée comme la population descendante du mouflon Corse la moins « polluée génétiquement » (comprendre, la moins impactée phénotypiquement par le brassage génétique qui a eu lieu avec d'autres mouflons et moutons). Cela explique d'ailleurs pourquoi elle a été utilisée comme réservoir pour la création de nouvelles populations à travers le continent (Cugnasse & Houssin 1993, Dubray 2010a).

2. En Corse

2.1. Bavella et Cinto : situation, climat, habitat

Deux populations de mouflons Corses subsistent aujourd'hui sur l'île de beauté, l'une au Nord, dans le département de la Haute-Corse (2B) aux alentours d'Asco dans le massif du Monte Cinto et l'autre au Sud, dans le département de Corse-du-Sud (2A), aux alentours de Quenza, dans le massif de Bavella (Figure 19). Trois Réserves de Chasse et de Faune Sauvage (RCFS) sont englobées dans l'aire de répartition de la population de mouflons de Cinto, et, à Bavella ce sont deux RCFS que l'on retrouve (Figure 19).

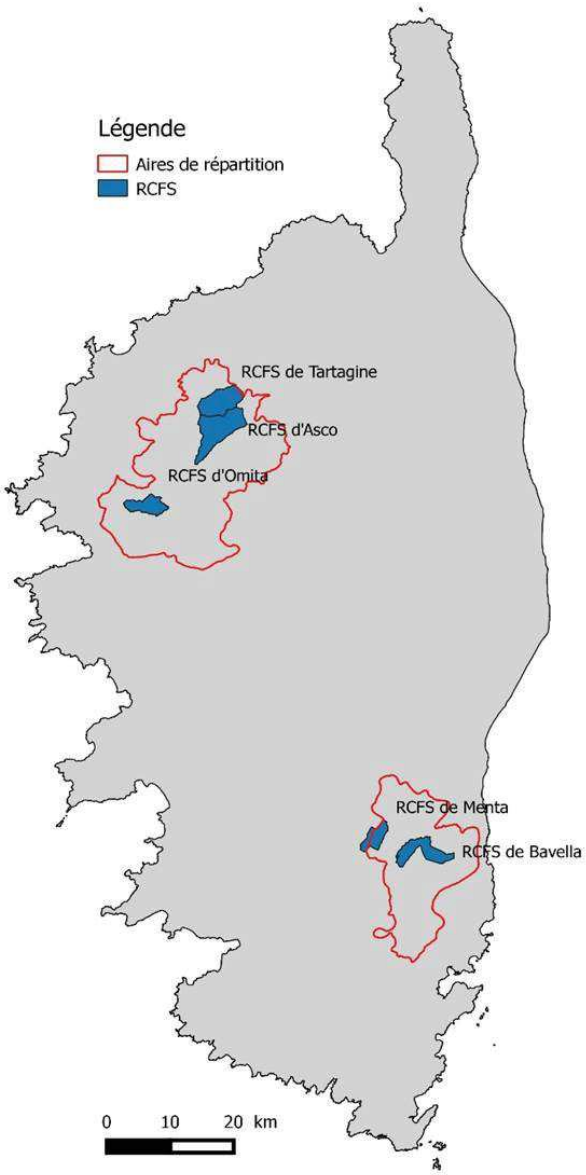

Figure 19: Répartition géographique des mouflons Corses et des réserves de chasses et de faune sauvage en Corse. Au nord, la population de Cinto, au sud celle de Bavella. Reproduit depuis Sanchis 2018.

Ces zones sont caractérisées par un relief important. Le massif du Cinto comporte de nombreux hauts sommets tels que le Monte Cinto (2706 m), le Capu Ciuntrone (2656 m) ou encore le Monte Padru (2390) qui forment de très longues lignes de crêtes et vallées et représentent d'immenses barrières rocailleuses. Le massif de Bavella, caractérisé par la présence d'aiguilles (les aiguilles de Bavella) qui donnent au col du même nom un aspect déchiqueté, atteint au point culminant (Monte Incudine) une altitude de 2134 m. D'un point de vue climatique, la Corse est baignée par deux types climatiques. Un climat Méditerranéen, avec des hivers doux et des étés très secs et chauds dans les zones d'altitude comprise entre 600 et 1200m, et un climat à tonalité alpine avec des hivers rigoureux, un manteau neigeux

qui peut être important, et des variations saisonnières et quotidiennes de températures importantes, dans les zones d'altitude supérieure à 1200 m (Simi 1964).

2.2. Les populations de mouflons Corses

Les populations de Bavella et Cinto sont les deux seules populations de mouflons persistant en Corse de nos jours. Les individus de ces deux populations sont donc les derniers représentants d'*Ovis gmelini musimon var. corsicana*. Bien que l'on sache que ces populations sont issues du marronnage de mouflons anatoliens (voir Chapitre 4), on ne connait pas encore précisément l'histoire de ces populations. Par exemple, on ne sait pas si elles sont issues d'un même événement d'introduction ou de deux évènements indépendants, ni si elles ont été formées par les mêmes individus fondateurs. L'étude de Guerrini et al. en 2015 a révélé la présence d'haplotypes communs entre les 2 populations suggérant une origine commune, mais des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse (voir Partie III, Chapitre 7, Addendum 2). Des travaux menés pendant cette thèse au niveau nucléaire ont également révélé une très forte différenciation génétique entre les 2 populations (voir Partie III, Chapitre 7, Addendum 3), en accord avec les différences phénotypiques entre les 2 populations observées sur le terrain, notamment au niveau des trophées (Maudet & Dubray 2002, Maillard et al. 2007, Sanchis 2018, voir Chapitre 4, 2.1).

Le mouflon Corse est un animal emblématique du territoire mais y est menacé et des mesures législatives ont été mises en place pour éviter de menacer cette variété par introgression. Depuis 1989, les préfets ont notamment interdiction formelle de signer une autorisation de transport de mouflons vivants à destination de la Corse (Dubray 2010a). Par ailleurs, son statut juridique le classe dans les annexes II et IV des directives Européennes « Habitats-Faune-Flore », dans l'annexe III de la convention de Berne et jusqu'en 2017, dans l'annexe II de la convention de Washington (CITES, Convention on International Trade of Endangered Species). L'International Union for Conservation of Nature (IUCN) le classait également dans les populations vulnérables, au moins jusqu'en 2013 (Marchand 2013) et le comité IUCN France le classe encore comme espèce vulnérable (IUCN France et al. 2017). Etant donné sa vulnérabilité, il a également fait l'objet d'un programme Européen LIFE (L'Instrument Financier pour l'Environnement) entre 2003 et 2007 (Rieu 2007). En France, le mouflon Corse est toujours classé comme espèce de gibier mais le plan de chasse obligatoire fixe le nombre de mouflons pouvant être abattus à zéro depuis 1953. Sa protection à l'échelle nationale repose donc uniquement sur ce plan de chasse nul mais son statut est actuellement en cours de révision, un dossier ayant été déposé auprès du ministère de la Transition écologique et solidaire afin de le classer en espèce protégée (Sanchis 2018).

Les dernières estimations d'effectifs des populations Corses remontent à 2009, et à cette époque, la population de Cinto comptait au moins 900 individus (Dubray et al. non publié) occupant 55 000 ha (dont 7000 ha sont classés en RCFS, voir Figure 19, Sanchis 2018). La population de Bavella comptait quant à elle probablement moins de 400 mouflons (Dubray et al. non publié) occupant une zone de 29 800 ha (dont 2 588 ha sont classés en RCFS, voir Figure 19, Sanchis 2018). Les effectifs et la distribution spatiale du mouflon en Corse sont stables et n'évoluent pas ou très peu depuis de nombreuses années. Une augmentation de seulement 0.6% des effectifs a été recensée à Cinto depuis 1989 (Rieu 2007) s'accompagnant d'un accroissement spatial de seulement 7.3 km² entre 1977 et 2004 (et de 2.5 km² à Bavella). Le taux de femelles suitées du mouflon Corse est nettement inférieur à ce que l'on peut observer sur le continent (40% à Cinto et 25% à Bavella contre 40-90% sur le continent, Rieu 2007, Ciuti et al. 2009). Cette stagnation peut être expliquée par les différentes menaces qui pèsent sur le mouflon Corse. La faible disponibilité en ressources, inhérente au milieu Méditerranéen et accentuée par le réchauffement climatique, l'élevage de bovins, les incendies, ainsi que le braconnage et les dérangements occasionnés par les activités humaines dans les massifs, peuvent constituer des limitations à l'expansion des populations de cette espèce ayant un faible potentiel de colonisation de nouveaux territoires (Dubray & Roux 1990, Rieu 2007, Dubray et al. non publié). Les infections par des pathogènes (issus des animaux sauvages ou domestiques) et la prédation sont également des menaces pour le mouflon Corse, même si ce ne sont pas les principales (Rieu 2007, Gibert 2018, Dubray et al. non publié).

Il semblerait que les effectifs observés aujourd'hui soient nettement inférieurs à ce qu'ils fussent par le passé puisqu'un dénombrement réalisé en 1826 sur demande du Roi Charles X aurait révélé la présence de 2244 mouflons sur l'île (Dunoyer de Noirmont 1982 *in* Cugnasse, 1993). Bien qu'il faille considérer cette estimation avec prudence du fait du manque d'informations sur le protocole mis en place à cette époque pour l'estimation d'effectifs de populations sauvages, cette diminution d'effectif fait écho avec ce que rapporte Pfeffer en 1967. Il fait en effet état de moins de 100 individus présents à Bavella en 1964 (avant des pertes supplémentaires possibles dues à un incendie) et de 40-60 animaux dénombrés à Cinto par les gardes des Eaux-et-Forêts (Pfeffer 1967). Il semblerait donc que les populations de mouflons Corses aient subi un important goulot d'étranglement, probablement des suites de prélèvements excessifs (braconnage, chasse) et d'une forte compétition pastorale (Corti et al. 2011, Dubray et al. non publié). L'interdiction de la chasse et la création de réserves de faune sauvages ont ainsi permis d'éviter l'extinction de la variété Corse. Afin de favoriser l'expansion des populations et de créer de nouveaux noyaux de populations, le

mouflon Corse a été l'objet d'un projet LIFE de réintroduction (Cugnasse 1997a, 2000). Des élevages en enclos ont ainsi été réalisés dans les 2 populations. À Asco, cela n'a malheureusement pas rencontré le succès escompté, mais, l'enclos de Quenza, dans la région de Bavella, a quant à lui permis la création d'un stock d'individus captifs (44 individus en 2018) et des relâchés sont prévus dans le massif de Bavella en 2018-2019.

Chapitre 6

Les données disponibles

Grâce à l'expertise scientifique des personnels de l'ONCFS et leurs collaborations avec les gestionnaires locaux (GIEC, ONF, Fédérations Départementales des Chasseurs, Parcs Naturels Régionaux), plusieurs laboratoires de recherche du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) et l'école vétérinaire de Lyon (VetAgro Sup), de conséquentes et précieuses données ont pu être acquises et analysées pour obtenir de nombreuses connaissances sur le mouflon (voir Chapitre 4).

Chaque année depuis 1974, de mai à juillet, des captures de mouflons ont lieu dans la population du Caroux-Espinouse à l'aide d'enclos ou cages-pièges et de filets tombants, les individus étant appâtés avec des pierres à sel (Cugnasse 1982, Dubray 1993, voir Figure 16A pour les positions des pièges dans la RNCFS). En Corse, des captures se font également dans la population de Cinto, au sein de la RCFS d'Asco (Figure 19) depuis 2011, de janvier à mars.

Une fois les individus capturés, de nombreuses mesures et prélèvements sont réalisés afin d'estimer l'âge des individus (grâce aux cornes des mâles et aux dents des femelles de moins de 4 ans, Ryder 1983), d'évaluer leur condition corporelle en mesurant masse et longueur des métatarses, la qualité des trophées (diverses mesures), l'état sanitaire (prélèvement de fèces, comptage des tiques, prises de sang), et enfin de les génotyper (prélèvement de poils). Ces mêmes types de données sont relevés sur les individus abattus à la chasse dans l'ensemble du massif du Caroux-Espinouse grâce à la collaboration entre l'ONCFS, le GIEC et l'ONF.

Les animaux capturés sont également marqués à l'aide de boucles auriculaires et de colliers à bandes colorées et lettrées, portant un code unique, permettant des ré-observations visuelles lorsque les agents de terrains (toutes institutions confondues) vont dans les massifs. Dans le Caroux-Espinouse, ces observations visuelles sont géolocalisées par les agents de terrain qui estiment à l'aide d'un système de carroyage (division de la zone d'étude en carrés de 125m × 125m) la position des individus qu'ils observent. Depuis plusieurs années, une partie des animaux capturés est également équipée de colliers VHF et plus récemment (depuis 2003 dans le Caroux-Espinouse, Garel 2006, et depuis 2011 à Cinto, Sanchis 2018) de colliers GPS.

Toutes ces données récoltées ont permis et permettent encore (comme au travers de cette thèse) d'améliorer nos connaissances sur le fonctionnement des populations de mouflons, comme le comportement alimentaire (Cransac et al. 1997a, Marchand et al. 2013), les caractéristiques du cycle de reproduction (Bon et al. 1992, 1993b, 1995a, Garel et al. 2005a), les patrons d'activités (Bourgoin et al. 2008, 2011), la sélection d'habitat et les

patrons spatiaux (Dubois et al., 1992, 1993, 1994, Bon et al. 1995b, Dubois et al. 1996, Cransac et al. 1997c, Le Pendu et al. 1996, Cransac et al. 1998, Cazau et al. 2011, Martins et al. 2002, Marchand et al. 2015a, 2015b, 2017), la dynamique de population (Cransac et al. 1997b, Garel et al. 2004, 2007, Marchand et al. 2014b), l'organisation sociale (Bon et al. 1993a, Le Pendu et al. 1995, 2000, Cransac et al. 1998, Bourgoin et al. 2018), ou encore les impacts des activités humaines sur le comportement des animaux (Cugnasse 1997d, Cugnasse et al. 1997, Martinetto et al. 1998, Martinetto & Cugnasse 2001, Maublanc et al. 1992, Benoist et al. 2013, Marchand et al. 2014a).

Grâce aux poils et aux fèces prélevés dans les différents massifs, des génotypages ont permis l'application d'approches de génétique des populations et de génétique du paysage (Petit et al. 1997, Articles 1 et 2 et leurs addendum). Ces échantillons d'ADN ont également servi à réaliser du séquençage sur de l'ADN mitochondrial permettant de retracer la phylogéographie des populations (Addendum 2 de l'Article 1). Enfin, ces échantillons d'ADN, conjointement aux prélèvements sanitaires, notamment de fèces, ont permis d'amorcer le travail sur le parasitisme chez le mouflon en s'intéressant au déterminisme génétique de la résistance face aux parasites (Article 3).

PARTIE III :
STRUCTURE GÉNÉTIQUE SPATIALE ET IMPACTS DU PAYSAGE SUR LES FLUX DE GENES

Avant-propos

Forts des données génétiques et géographiques disponibles décrites ci-dessus, nous avons pu mener les études nous permettant de remplir le premier objectif de cette thèse, c'est-à-dire identifier les éléments structurant spatialement et génétiquement les populations de mouflons. Nos travaux se sont divisés en plusieurs étapes détaillées au long de cette partie. Dans un premier temps, nous avons cherché à savoir si la structure génétique de la population de mouflons du Caroux-Espinouse était déterminée par la structure socio-spatiale, l'histoire d'introduction, les deux ou aucun des deux (Chapitre 7, Article 1 et Addendum 1 et 2). Nous nous sommes ensuite intéressés aux populations Corses et avons caractérisé leurs structures génétiques spatiales et cherché à identifier quels éléments pouvaient être structurants (Chapitre 7, Addendum 3) dans ces populations qui évoluent à une échelle spatiale bien supérieure à celle du Caroux-Espinouse (≈ 31 fois supérieure pour Cinto et 18 fois supérieure pour Bavella, voir Chapitre 5). Dans un second temps, nous avons cherché à mesurer l'impact du paysage sur les flux de gènes dans les populations du Caroux-Espinouse et de Cinto (les données disponibles ne permettant pas de mener les mêmes études pour la population de Bavella). Plus spécifiquement, nous avons caractérisé la perméabilité aux flux de gènes de différents éléments du paysage (catégories d'habitats et structures linéaires, Chapitre 8, Article 2 et Addendum).

Chapitre 7

Structure génétique spatiale

1. L'histoire d'introduction est un facteur plus important que la structure sociale dans le déterminisme de la structure génétique spatiale des femelles mouflons Méditerranéens (Article 1).

Abstract. Fine-scale spatial genetic structure of populations results from social and spatial behaviors of individuals such as sex-biased dispersal and philopatry. However, the demographic history of a given population can override such socio-spatial factors in shaping genetic variability when bottlenecks or founder events occurred in the population. Here, we investigated whether socio-spatial organization determines the fine-scale genetic structure for both sexes in a Mediterranean mouflon (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.) population in southern France 60 years after its introduction. Based on multilocus genotypes at 16 loci of microsatellite DNA (n=230 individuals), we identified three genetic groups for females and two for males, and concurrently defined the same number of socio-spatial units using both GPS-collared individuals (n=121) and visual re-sightings of marked individuals (n=378). The socio-spatial and genetic structures did not match, indicating that the former was not the main driver of the latter for both sexes. Beyond this structural mismatch, we found significant, yet low, genetic differentiation among female socio-spatial groups, and no genetic differentiation in males, with this suggesting female philopatry and male-biased gene flow respectively. Despite spatial disconnection, females from the north of the study area were genetically closer to females from the south, as indicated by the spatial analysis of the genetic variability, and this pattern was in accordance with the common genetic origin of their founders. To conclude, more than 14 generations later, genetic signatures of first introduction are not only still detectable among females, but they also represent the main factor shaping their present-time genetic structure.

Keywords. Socio-spatial organization, Introduction, Large herbivores, Spatial genetic structure, *Ovis*

Portanier Elodie, Garel Mathieu, Devillard Sébastien, Marchand Pascal, Andru Julie, Maillard Daniel, Bourgoin Gilles. Introduction history overrides social factors in explaining genetic structure of females in Mediterranean mouflon. *Publié dans la revue Ecology and Evolution, Vol 7, Issue 22, pp. 9580-9591. DOI: 10.1002/ece3.3433.*

1.1. Introduction

In the wild, individuals are not randomly distributed across the landscape, leading to various levels of spatial structure among and within populations (Sugg *et al*. 1996; Hedrick 2011). Spatial structure may result from environmental constraints (e.g. patchy environment or presence of barriers, Epps *et al.* 2005), social organization (e.g. family groups or philopatry, Perrin *et al.* 1993; Storz 1999; Hazlitt *et al.* 2004) and demographic history (e.g. introductions, Biebach & Keller 2009; Simpson *et al.* 2013). Depending on the behavioral characteristics of a species (e.g. philopatry, dispersal, migration), such a spatial structure can play an important role in determining gene flow, and consequently the genetic structure of a population (Slatkin 1987). Among other benefits, gene flow often contribute to maintain genetic diversity and heterozygosity in populations (Garant *et al*. 2007, Segelbacher *et al.* 2010; Říčanová *et al.* 2011), which in turn limit inbreeding depression (Keller & Waller 2002) and preserve both immunocompetence (MacDougall-Shackleton *et al.* 2005; Kloch *et al*. 2013) and adaptability of populations to changing environments (Frankham *et al.* 2004). Investigating gene flow is therefore of considerable interest for conservation and management perspectives, especially in the current context of climate change and habitat fragmentation (Wasserman *et al.* 2012).

Studying the genetic structure is particularly suitable in (re)introduced populations since (re)introductions and translocations can have long-term impacts on the genetic makeup of populations. They generally involve only a limited number of individuals thus retaining only a subset of the total genetic diversity of the source population, the occurrence of a strong genetic bottleneck being a likely event (Hedrick *et al.* 2001a; Biebach & Keller 2009). Nevertheless, a different origin of the founder individuals may genetically impact descendants for many generations (e.g. Latch & Rhodes 2005; Biebach & Keller 2009). Many studies have focused on the genetic consequences of introduction history (e.g. Stephen *et al*. 2005, Biebach & Keller 2009, Barbanera *et al*. 2015) but the genetic consequences of (re)introductions and translocations remain difficult to study at the intrapopulation level due to several existing confounding factors (gene flow between translocated and other populations, unknown translocation history and founder genotypes, Mock *et al.* 2004). However, since these processes represent the main tools within current conservation and management strategies (see Latch & Rhodes 2005; Armstrong & Seddon 2008; Batson *et al.* 2015), there is an essential need to assess the long-term impacts of these strategies on the genetic structure of populations.

The fine-scale spatial genetic structure of gregarious species is also strongly influenced by their social structures (Storz 1999; Coltman *et al.* 2003; Hazlitt *et al.* 2004). When individuals reproduce within social groups, the genetic differentiation among groups increases due to genetic drift (Storz 1999). Concurrently, relatedness and inbreeding increase within groups and a socio-spatial genetic sub-structuring of the population consequently appears. In mammals in which males are more prone to disperse than philopatric females (Greenwood 1980), female behavior is thus expected to determine the spatial genetic structure of the population. There is often a stronger genetic structure in females than in males because of increased relatedness among spatially close individuals (e.g., for wild boars *Sus scrofa*, Podgórski *et al.* 2014). Although socially-mediated fine-scale spatial genetic structure has been well characterized in various mammalian societies that exhibit stable social bonds (e.g. Hazlitt *et al*. 2004 in brush-tailed rock-wallabies *Petrogale penicillata*, Stadele *et al.* 2015 in hamadryas baboons *Papio hamadryas*), studies are still scarce on species where group structure can be quite loose and characterized by fission-fusion dynamics, such as the large herbivores (but see Coltman *et al.* 2003 for Soay sheep *Ovis aries*, Archie *et al.* 2008 for African elephants *Loxodonta africana*).

To date, only a few studies have investigated the influence of the location of historic release sites on the current spatial genetic structure at the intrapopulation level (but see Simpson *et al.* 2013) and, to our knowledge, almost none concurrently assessed the relative contribution of the social-spatial structure and the translocation history of the population. We tried to achieve this challenging task by studying an isolated Mediterranean mouflon (*Ovis gmelini musimon*×*Ovis* sp.) population in the Caroux-Espinouse massif (southern France) 60 years after 19 founder individuals of diverse origins were introduced. Ungulates are especially well-suited for such a task as most of their populations were (re)introduced worldwide during the last century (e.g. *Ovis canadensis mexicana*, Hedrick *et al.* 2001a; Alpine ibex *Capra ibex ibex*, Biebach & Keller 2009). Furthermore, these include social species with philopatric females composing matrilineal groups (e.g. wild boars *Sus scrofa*, Poteaux *et al.* 2009; Podgórski *et al.* 2014). Based on genetic data from 16 microsatellite loci combined with intensive visual and GPS monitoring of marked individuals, we thus aimed at disentangling the relative impacts of past introduction and socio-spatial structure on the fine-scale genetic structure of the population.

In the studied population, females are philopatric and establish their home range on their birth range (Dubois *et al*., 1992, 1994, Dupuis et al. 2002). Regarding males, several forms of philopatry were previously observed. In relation to natal dispersal, dispersers and

sedentary males (faithful to their birth range) have been observed (see Dubois et al. 1993, 1996, King & Brooks 2003). Concerning reproductive dispersal, philopatric and unfaithful males have also been observed (Dubois et al. 1993, 1996). Additionally, individual movements and home ranges appeared to be strongly influenced by various natural and anthropogenic linear landscape features acting as behavioral barriers (Marchand *et al.* 2017a). We expected these behavioral characteristics to lead to a strong socio-spatial structure (see Martins *et al.* 2002; Garel *et al.* 2007), determining in turn the genetic structure of the population. In addition, we expected both structures to be sex-specific due to the different use of space between males and females (Marchand *et al.* 2015b, 2017a) and the reproductive dispersal by males during the rutting period. Finally, the combination of marked socio-spatial structure and geographic isolation of the population may magnify the historical genetic signature of introductions and be favorable to the maintenance of a genetic footprint (e.g. in red squirrels *Sciurus vulgaris,* Simpson *et al.* 2013).

1.2. Material and Methods

1.2.1. Study population, species and data collection

Data were collected in a National Hunting and Wildlife Reserve (1,658 ha, 532-1,124m above sea level) in the Caroux-Espinouse massif (43°38'N, 2°58'E, 17,000 ha, 130-1,124 m a.s.l., southern France, Figure 20). This low mountain area is characterized by deep valleys indenting plateaux and creating a mosaic of ridges and thalwegs (Marchand *et al.* 2017a). Vegetation within the wildlife reserve is an irregular mosaic of beech, chestnut, and coniferous forests with open areas dominated by rocky slopes and broom and heather moorlands (Marchand *et al*. 2015b). Human activities are strictly regulated in the wildlife reserve: hunting is forbidden and recreational activities are restricted to hiking on a few main trails (Marchand *et al.* 2014a).

Ewes of Mediterranean mouflon are commonly viewed as monotocous (twinning rate <3%) and sexually mature from 1.5 years of age (Garel *et al.* 2005b). Births occur from late March to early June (Bon *et al*. 1993a). Although probably sexually mature at 2 years (see Festa-Bianchet 2012 in bighorn sheep), only rams three or more years old have been observed in rutting activities (Bon *et al.* 1992; 1995a). Mating system is expected to be polygynous with a few large males achieving most of the mating (see Geist 1971 for Dall's sheep *Ovis dalli*; see Jarman 1983; Hogg 1987 for Bighorn sheep *Ovis canadensis*). Females seem to be philopatric (Dubois *et al.* 1992, 1994; Maublanc *et al*. 1994; Dupuis *et al.* 2002; Martins *et al.* 2002) while males might tend to disperse as they get older (King & Brooks 2003), although

sedentary males have also been observed in this population (see Dubois *et al.* 1996). Mature males and females segregate most of the year but less during the rut as males join females to reproduce (Bon & Campan 1989; Bon *et al*. 1992; Dubois *et al.* 1993; Le Pendu *et al.* 1996; Cransac *et al*. 1998). Faithfulness of males to their rutting site was also observed in this population (Dupuis *et al*. 2002; Martins *et al.* 2002).

The population of mouflon in the Caroux-Espinouse massif originally grew from 19 Mediterranean mouflon released in the wildlife reserve between 1956 and 1960 (Tableau 2, Figure 20, Cugnasse 1990; Garel *et al.* 2005b). Since 1973, there has been hunting in surrounding unprotected areas from the beginning of September to the end of February (Garel *et al.* 2007) with approximately 500 mouflons of both sexes being harvested each year during the last decade. The population has been monitored by capture-mark-recapture since 1974. Mouflons were captured each year during spring using individual or collective traps and dropping nets baited with salt (Figure 20). Animals were marked with a numbered/colored collar; biometric measurements and hair samples were taken. Marked animals were visually monitored year-round and spatially located on a map virtually divided into 125x125m squares. Since 2006, some individuals have also been equipped with GPS collars (Lotek 3300S, revision 2; Lotek Engineering Inc., Carp, ON, Canada). GPS collars recorded animal locations using two different schedules: one recording locations intensively every 20 minutes during a restricted number of 48-hour periods and one recording locations continuously every 2 hours (see Marchand *et al.* 2014b, 2015b for more details). All captures, handling, sampling and collaring were done according to the appropriate national laws for animal welfare and procedures were approved by the pertinent administration. The nearest mouflon population is situated at 50km away from the Caroux-Espinouse massif and a highway is separating the two areas. Accordingly with dispersal abilities of Mediterranean mouflon (see e.g. Dubois *et al*. 1996) and the impacts of anthropogenic linear landscape features on individual movements (Marchand *et a*l. 2017a), the Caroux-Espinouse population is isolated and no natural gene flow could arise from other mouflon populations.

Tableau 2: Origin, year, site (see localizations on Figure 20), sex and number of founder individuals released in the National Fauna Reserve of Caroux-Espinouse massif (from Cugnasse & Houssin 1993 as cited in Garel 2006).

Year	Origin	Site of release	Released individuals	
1956	France (Cadarache National Reserve)	Pas de la Lauze	2 ♀	2 ♂
1959	France (Cadarache National Reserve)	Chavardés	2 ♀	2 ♂
1960	The former Czechoslovakia	Pas de la Lauze	3 ♀	2 ♂
1960	France (Chambord National Domain)	Piste des trappes	3 ♀	3 ♂

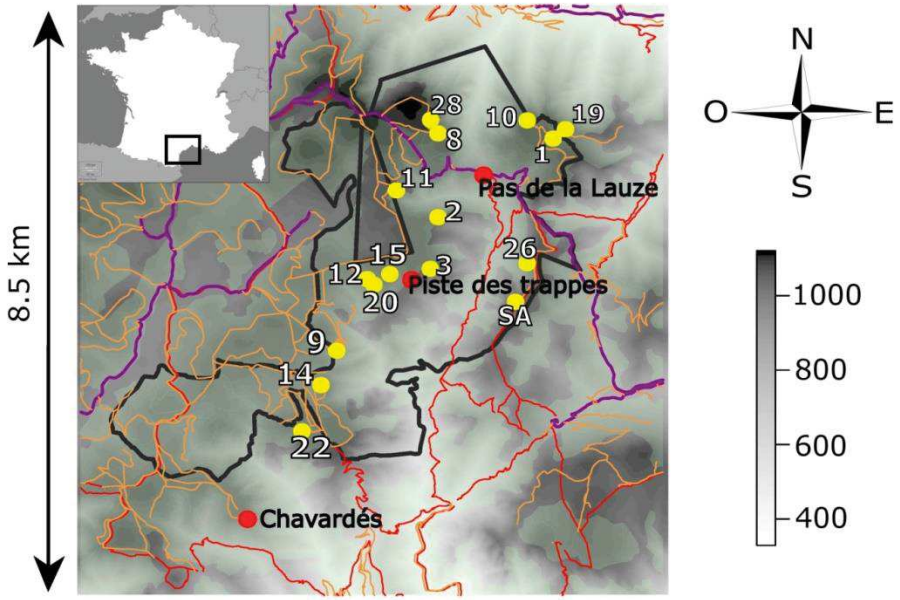

Figure 20: Map of the traps and sites of release in the Caroux-Espinouse massif, southern France.

The black line indicates the boundaries of the national fauna reserve, yellow points represent the traps of capture, red points represent the sites of release of founder individuals (see also Tableau 2), red lines represent hiking trails, orange lines represent tracks and purple lines are the main roads crossing the study area. The gray scale indicates elevation in the massif (in meters) and green (uncolored) zones are closed/forested (open) areas.

1.2.2. Microsatellite genotyping

We used 262 hair samples from individuals trapped within a time period (2010-2014) that is short in comparison to the mouflon generation period (4.21 years, Hamel *et al.* 2016), preventing us from the existence of any temporal genetic structure. Analyses were performed on individuals of both sexes having a fixed home range (in theory no longer expected to

disperse), i.e. females two or more years old and males four or more years old (e.g. Dubois *et al.* 1992, 1993; Dupuis *et al*. 2002).

Genotyping was performed by the Antagene laboratory (Limonest, France, www.antagene.com). DNA extraction from hairs was performed on plates of 96 extraction columns (Nucleospin 96 Tissue, Macherey-Nagel) in the presence of negative and positive extraction controls. The samples were lysed overnight at 56°C (according to manufacturer) and then DNA was purified and isolated using purification columns and vacuum filtration. DNA was then eluted to obtain one tube of 140µL concentrated at 20-100 ng/µl and stored in numbered 96-tubes plates in a freezer at -20°C. For each DNA sample, 16 microsatellite markers (see Appendix 1.7.1, Tableau 7) and two markers for sex identification (Amelogenin and ZFXY) were amplified by three multiplex polymerase chain reactions (PCR) and analyzed with an automated sequencer in two migrations. Each PCR reaction was performed in a 8 µl final volume containing 4 µl of mastermix Taq Polymerase (Type-It, Qiagen), respectively 0.76, 0.38 and 0.58 µl of a pool of 8, 5 and 6 pairs of primers (for each of the three multiplex) at a concentration of 0.06 to 0.8 µM and 20 ng of genomic DNA to be amplified. One primer of each pair carried a fluorescent dye label. PCR amplifications were conducted in 96-well microplates in dedicated post-PCR area with negative air pressure allowing permanent air recycling using a T Gradient thermal cycler (Biometra) and consisted of an initial denaturing step (95°C, 5 min) followed by 35 cycles of denaturation (95°C, 30s), annealing (58°C, 1min30s) and extension (72°C, 30s); cycles were followed by a final extension (60°C, 30min). PCR products were resolved on a capillary sequencer ABI PRISM 3130 XL (Applied Biosystems) with formamide (denaturing conditions) and an internal size marker (600 Liz, Applied Biosystems). Migration conditions and genotypes of control samples were systematically checked. The electropherograms were analyzed using GENEMAPPER software (Applied Biosytems/Life Technologies) and analyzed independently by two analysts to determine the allele sizes for each marker of each individual. Reading errors were resolved and ambiguous results were considered as missing data. Using such reading process, genotyping error rates were estimated to be < 2% in our data set (Queney *et al*., unpublished data). Individuals were genotyped between one and four times to obtain at least 13 markers with no missing data.

1.2.3. Genotyping errors

MICROCHECKER v.2.2.3 (Van Oosterhout *et al.* 2004) was used to detect null alleles. A Correspondence Analysis (CA) was performed to identify and exclude outlier individuals. Data were checked for the presence of twin genotypes using the matching option in GenAlex

v.6.501 (Peakall & Smouse 2006; 2012). When detected, one of the two twin genotypes was randomly deleted to prevent bias in subsequent analyses.

1.2.4. Genetic structure of the population

We performed sex-specific analyses (genetic and spatial), as different genetic and socio-spatial structures between the sexes were expected due to (1) their different utilization of space (Marchand *et al*. 2015b, 2017a), (2) the segregation of males and females most of the year (Cransac *et al.* 1998), and (3) the philopatric behavior of females and much more mobile behavior of males (Dubois *et al.* 1992, 1993, 1996; Dupuis *et al.* 2002).

We first used a DAPC (Discriminant Analysis of Principal Component, library adegenet of R software, Jombart *et al.* 2010, Jombart 2008) to identify the most probable number of genetic clusters (K) in our population and assign each individual to a given cluster. K was determined by sequentially running a K-means algorithm with increasing values of K. We used K ranging from 1 to 20 clusters and 1,000,000,000 iterations with 1,000 different starting values for each run of the algorithm. The clustering solutions were compared using the Bayesian Information Criterion (BIC). The optimal number of clusters was the one minimizing the BIC or, for competing solutions, the first one for which there was a marked break with the preceding BIC values. Once the optimal number of clusters had been identified, we used a cross validation procedure (iterated 10,000 times) to keep the optimal number of Principal Components (PCs) in the DAPC. The DAPC itself was then applied, performing first a Principal Component Analysis (PCA) on individual genotypes and then a Discriminant Analysis (DA) on principal components to assign each individual to a cluster with membership probabilities. We retained the minimal number of discriminant functions in order to maximize the total genetic variance explained. Genetic clustering reliability was assessed by looking at re-assignment successes and proportions of individuals having membership probabilities lower than 0.80 for each genetic cluster.

In complement to the DAPC, we used a sPCA (Spatial Principal Component Analysis, library *adegenet*, Jombart *et al*. 2008), to compare the spatially explicit patterns of genetic variability in our population with the socio-spatial structure and spatial locations of founder events. The sPCA takes into account the spatial autocorrelation of allelic frequencies between neighbors (measured by Moran's index, I, Moran 1948; 1950) and the genetic variability to describe the spatial genetic structure of the population. It maximizes the product of individuals' genetic variance and Moran's I. Permutation tests (n = 9,999) proposed by Jombart *et al*. (2008) were performed to assess the significance of the local and global spatial

structures. The connection network was set using the inverse of the Euclidean pairwise distances between individuals. Animals were spatially assigned to the geographical coordinates of the arithmetic center of the trap/net where they were trapped. To compute trap arithmetic centers, we combined the visual resightings (n = 5,291) of 378 marked animals (304 adult females and 74 adult males) collected from 1990 to 2015 and GPS locations (n = 448 615) of 121 additional animals (81 females and 40 males) fitted with GPS collars from 2006 to 2016 and all having a fixed home range. Data from animals fitted with GPS were randomly sub-sampled to distribute evenly the number of GPS locations and visual resightings in the dataset. This step was performed to avoid an over-sampling of a very local zone over the study area which may artificially bias the cluster analysis. We retrieved an average number of 20 locations for GPS females and males, both being in the order of magnitude of the average number of visual resightings per individual (females: 15.7 ± 16.6 (SD), males: 9.7 ± 8.9). Visual resightings had the advantage of providing rough spatial behavior from a large number of animals. Conversely, GPS data provided an intense and accurate monitoring (± 24.5m; Marchand *et al.* 2015b) representative of habitats and time periods with very low (or null) visual detection probability (e.g. forested areas, nighttime) but concerned a more restricted number of individuals. We pooled both data sets to compute for each trap the arithmetic center of locations of all animals caught in that trap. A random spatial noise of a few meters using a uniform distribution was introduced to avoid getting duplicate coordinates for animals trapped at the same trap.

1.2.5. Socio-spatial structure of the population

We defined the socio-spatial units (groups of individuals living together) present in the population (Martins *et al*. 2002, Garel *et al.* 2007) by using spatial data and arithmetic centers of traps (see above) to create groups of traps capturing individuals with a shared home range. This procedure (see Garel *et al.* 2007 for a similar approach in this population and Appendix 1.7.2 for a reliability assessment of such an approach) allowed us to assign all genotyped animals (including the 22.8% having no visual resightings or GPS locations) to a given socio-spatial unit depending on where they were trapped. Only traps having at least 30 locations (both visual resightings and GPS locations) were considered in the analyses (median number of locations by trap and 2.5% and 97.5% quantiles for females: 263 $[38\text{-}1150]_{95\%}$; for males: 75 $[40\text{-}270]_{95\%}$). We then performed a hierarchical cluster analysis (with unweighted pair group method of aggregation) based on the dissimilarities among arithmetic centers (Euclidean distances) to identify relevant trap clusters. The number of socio-spatial units selected by hierarchical clustering was set to be equal to the number of genetic clusters so we

could assess if the genetic structure matched the socio-spatial structure. Once the socio-spatial units were defined, each genotyped individual was assigned to one of them based on its last trap of capture. Finally, we computed the proportion of individuals from each socio-spatial unit assigned to the same genetic cluster to assess the extent to which socio-spatial units and genetic clusters match.

1.2.6. Basic population genetics

Allele frequencies, number of alleles per locus (*Na*), allelic richness (*Ar*, calculated using the rarefaction method (El Moussadik & Petit 1996) to avoid bias due to variable sample sizes among different socio-spatial units, and expected heterozygosity (*He* sensu Nei's gene diversity, Nei 1973) were determined within each socio-spatial unit for both sexes using FSTAT v.2.9.3.2 software (Goudet 1995; 2001). Observed heterozygosity was determined using R software, package *hierfstat* (Goudet & Jombart 2015). Departures from Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) for each locus were tested using 10,000 randomizations in FSTAT. Similarly, *Fis* values per locus and socio-spatial units were calculated and their significance levels as compared to zero were assessed by randomizations of alleles among individuals within socio-spatial units. Linkage disequilibrium was examined for all possible pairs of loci with exact G-tests in FSTAT. *P-values* were adjusted for multiple comparisons using the Bonferroni procedure when necessary (Bonferroni 1936).

We computed global and pairwise *Fst* values (theta estimator, Weir & Cockerham 1984) using FSTAT to measure the genetic differentiation in the population and between all possible pairs of socio-spatial units. Significance levels of global *Fst* were assessed by exact-G tests assuming random mating within samples, with 10,000 permutations. Significance levels of pairwise *Fst* values were assessed using permutations and *p-values* were adjusted for multiple comparisons using the Bonferroni procedure (Bonferroni 1936).

1.2.7. Measurement of history footprint on the current population

We tested for the occurrence of recent bottlenecks (less than 15 generations ago, founder events) using the approach implemented in Bottleneck v.1.2.02 software (Cornuet & Luikart 1996; Piry *et al.*1999) (within each socio-spatial unit when relevant). When a population has faced a bottleneck, *He* is expected to be larger than expected heterozygosity under migration-drift equilibrium (H_{eq}) and a heterozygosity excess is detectable (Piry *et al.*1999). Following the recommendations of Piry *et al.* (1999) for microsatellite datasets of less than 20 loci, we used the one-step stepwise mutation (SMM) and the two phase (TPM) models of evolution. The TPM was parameterized with a variance among multiple steps of

12, 95% single step mutations and 5% multi-step mutations. We performed 1,000 iterations and used Wilcoxon's signed rank test to assess the occurrence of heterozygote excess. Assumptions of sampling in a random mating and isolated population were respected (see Results).

All analyses involving R packages were conducted with R 3.2.1 (R core team, 2016).

1.3. Results

1.3.1. Genetic data

Among the genotyped samples, 237 individuals with fixed home range and known socio-spatial unit had at least 13 successfully genotyped markers. Two outliers and 5 pairs of twins were identified among these individuals. Data on the 230 remaining individuals (69 males and 161 females) were considered in subsequent analyses and were assigned to a socio-spatial unit (see below). Comparison of the observed genotypes with the distribution of randomized genotypes generated with the program MICROCHECKER revealed that there were no null alleles in the data set.

1.3.2. Genetic clustering

The DAPC revealed 3 or 4 genetic clusters for females (Figure 21; Appendix 1.7.3, Figure 24). In the following we kept K = 3 because the break in BIC values occurred between 2 and 3 clusters and K = 3 was the only clustering solution with non-overlapping clusters (Figure 21). Cross validation procedures led us to keep the 10 first components of the PCA in subsequent DAPC. We then retained the two first discriminant functions of the DA which explained 50.7% of the total variance in the genetic data. Assignation successes within clusters were very high (98%, 96% and 100% for clusters 1, 2 and 3 respectively) and proportions of females assigned to a genetic cluster with membership probability inferior to 0.80 were relatively low (15%, 12% and 10% for clusters 1, 2 and 3 respectively) meaning that the occurrence of 3 genetic clusters was well supported by the data.

For males, the optimal number of genetic clusters was K = 2 (Figure 21, Appendix 1.7.3, Figure 25). We kept the first 10 PCs in the male DAPC and the first discriminant component of the DA which explained 58.3% of the total variance. Assignation success in each cluster reached 1 and membership probabilities were higher than 0.80 for all the males. Therefore 3 genetic groups for females and 2 for males were identified in the population.

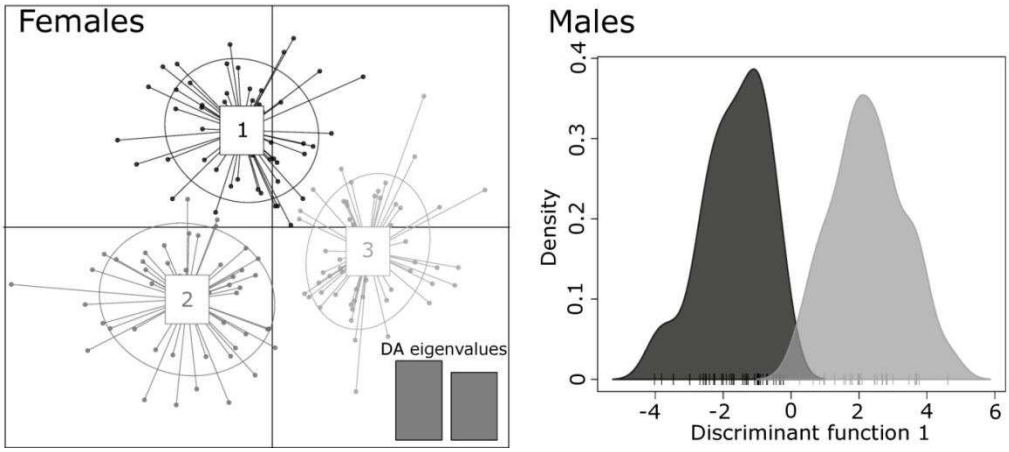

Figure 21: Genetic proximity among the 161 Mediterranean mouflon females and 69 males from the Caroux-Espinouse area obtained by discriminant analysis of principal component (DAPC).

For females (left), 3 genetic clusters and their 95% inertia ellipses are shown by different colors. Dots represent individuals while the number of discriminant analysis (DA) eigenvalues retained in the DAPC (number of axis) is shown at the bottom. For males (right), the 2 genetic clusters obtained are shown by different colors and the tick marks are individuals.

1.3.3. Spatial genetic structure

The sPCA results corroborated those obtained with the DAPC. There was a significant global structure (global test, p = 0.003) for females, with only the first positive axis retained (Appendix 1.7.5) and no local structure (p = 0.84). The first sPCA axis accounted for most of the spatial genetic structure, covering a high proportion of the spatial autocorrelation and most of the variance in the genetic data (I = 0.27, var = 1.49). The first eigenvalue was 0.078 while the next eigenvalues were lower than 0.040 (Appendix 1.7.5). sPCA results supported marked genetic relatedness between females from the north and from the south, with females from the central part forming another genetic entity (Figure 22). Although sPCA visually opposed males from the north and from other parts of the wildlife reserve (Figure 22), this spatial opposition had no statistical support (global test: p = 0.48, local test: p = 0.26).

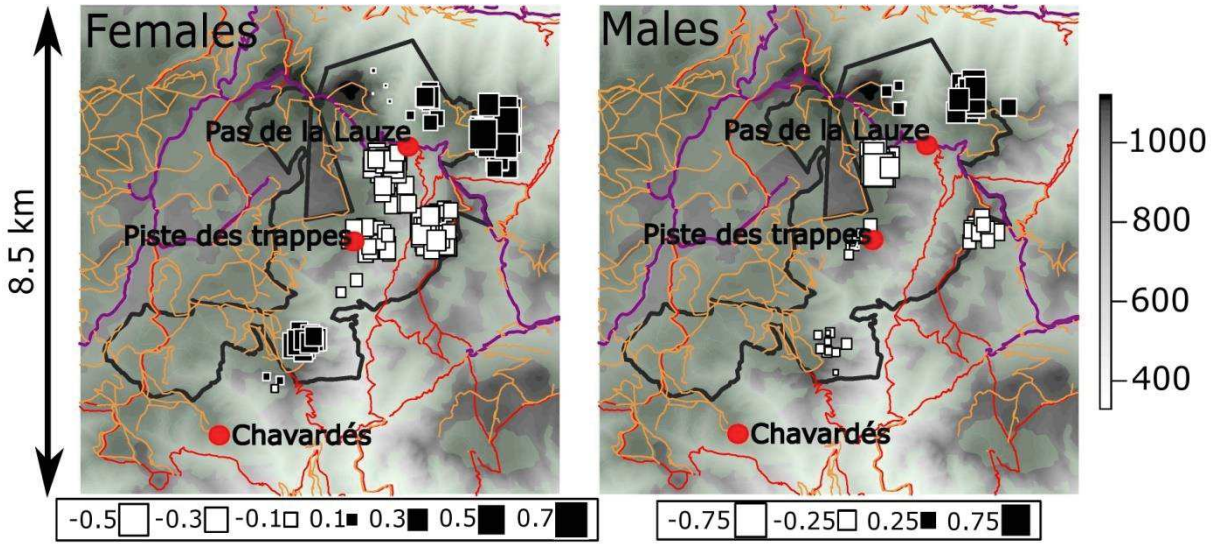

Figure 22: Geographic map of the first global lag scores of sPCA for females (left) and males (right) of the Mediterranean mouflon population of Caroux-Espinouse massif.

Individuals' scores are represented as squares with size proportional to the score, so that the maximum differentiation is between large black squares and large white squares. Red lines represent hiking trails, orange lines represent tracks and purple lines are the main roads crossing the study area. The grey scale indicates elevation in the massif (in meters) and green (uncolored) zones are closed/forested (open) areas.

1.3.4. Socio-spatial structure of the population

Based on the DAPC analyses (see above), we set the number of socio-spatial units in the hierarchical clustering of spatial data to 3 for females and to 2 for males. For females, the 3 socio-spatial units corresponded to groups of traps located in the northern, central and southern parts of the study area (hereafter called *"Nf"*, *"Cf"* and *"Sf"*, respectively; Figure 23). For males, one socio-spatial unit grouped traps located in the northern (*"Nm"*) and the other in the southern part (*"Sm"*) of the study area (Figure 23). Traps in the central part of the reserve were principally grouped with traps from the north.

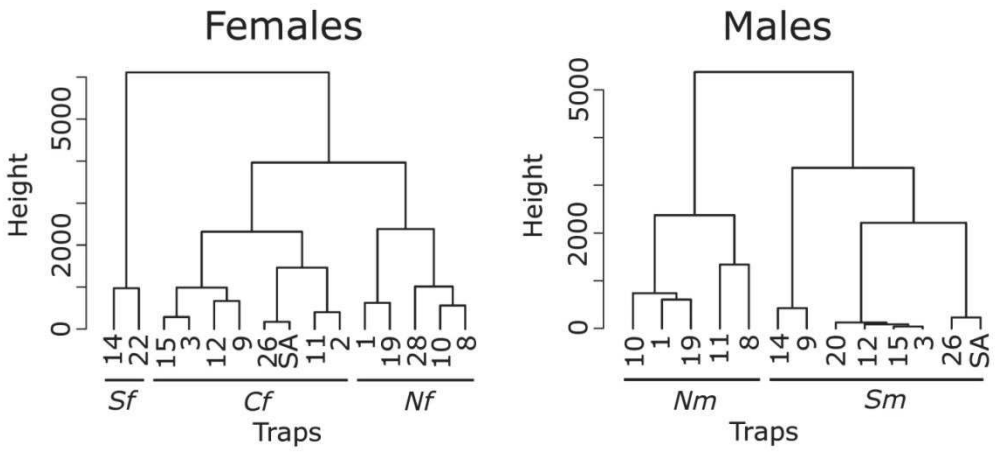

Figure 23: Cluster dendrograms resulting from hierarchical clustering applied on pairwise trap distances calculated based on relocation of individuals data (right: for females, left: for males).

Nf, Cf, Sf, Nm and Sm, correspond to socio-spatial units as defined in the text.

Socio-spatial units of females and males in the population were at HWE as indicated by randomization tests (p = 0.99 and 0.19 for females and males, respectively) and confirmed by *Fis* values which were not significantly different from zero (Tableau 3 for overall loci values, Appendix 1.7.5, Tableau 9 and Tableau 10 for per-locus values). None of the pair of loci involved in the data set were found to be in linkage disequilibrium (not shown). Despite a relatively low level of allelic richness, ranging from 3.42 ± 1.03 in socio-spatial unit *Sf* to 3.74 ± 0.91 in socio-spatial unit *Cf* (Tableau 3), the levels of heterozygosity were moderately high. The average *He* ranged from 0.56 ± 0.17 in the socio-spatial unit *Sf* to 0.63 ± 0.12 in the socio-spatial unit *Cf* and the average *Ho* ranged from 0.57 ± 0.21 in the socio-spatial units *Sf* to 0.65 ± 0.13 in the socio-spatial unit *Cf* (Tableau 3). The genetic differentiation among the different socio-spatial units was low but significantly different from zero for females (global *Fst* = 0.023[0.011; 0.036]95%, p < 0.0001) while it was very low and not significantly different from zero for males (global *Fst* = -0.002[-0.007; 0.004] 95%, p = 0.58). All pairwise *Fst* values were significantly different from zero only in females (Tableau 4).

Due to significant genetic differentiation between female socio-spatial units, genetic bottleneck detection tests were performed within each socio-spatial unit for females, but not for males. Except for the southern socio-spatial unit of females (*Sf*), we found evidence supporting a recent bottleneck (<15 generations ago, founder events) for both sexes under both models of evolution (Tableau 5).

Tableau 3: Sample size (n), number of allele (Na), allelic richness (Ar), observed and expected heterozygosity (Ho and He respectively) averaged overall loci ± standard error, and Fis values for the different socio-spatial units of the Mediterranean mouflon population of Caroux-Espinouse massif.

None of the Fis values were significantly different from zero after Bonferroni correction (nominal levels: 0.00156 for males and 0.00104 for females).

	Socio-spatial unit	**n**	***Na***	***Ar***	***Ho***	***He***	***Fis***
Females	***Nf***	37	3.75 ± 1.00	3.56 ± 0.99	0.61 ± 0.18	0.59 ± 0.17	-0.036
	Cf	108	4.00 ± 0.89	3.74 ± 0.91	0.65 ± 0.13	0.63 ± 0.12	-0.038
	Sf	16	3.44 ± 1.03	3.42 ± 1.03	0.57 ± 0.21	0.56 ±0.17	-0.003
Males	***Nm***	36	3.80 ± 0.98	3.79 ± 0.98	0.59 ± 0.14	0.60 ± 0.14	0.029
	Sm	33	3.88 ± 0.96	3.87 ± 0.96	0.61 ± 0.16	0.62 ± 0.14	0.007

Tableau 4: Pairwise Fst values between female and male socio spatial units of the Mediterranean mouflon population of the Caroux-Espinouse massif.

Values significantly different from zero are indicated in bold (adjusted nominal level after Bonferonni correction for females: 0.017, for males: 0.05).

		Socio-spatial unit	
Females		***Sf***	***Cf***
	Nf	**0.0268**	**0.0164**
	Sf		**0.0128**
Males		***Sm***	
	Nm	-0.0017	

Tableau 5: Unilateral Wilcoxon tests p-values of heterozygote excess detection tests (bottleneck detection test) performed for each sex in the Caroux-Espinouse mouflon population (within each socio-spatial unit as defined in the text for females).

n: sample size, T.P.M: Two-Phase Model of evolution, S.M.M: Stepwise Mutation Model. Non-significant values are indicated in italics.

		Socio-spatial unit		
Females		***Nf***	***Cf***	***Sf***
	T.P.M	0.008	<0.001	*0.065*
	S.M.M	0.015	<0.001	*0.149*
		All socio-spatial units		
Males	**T.P.M**	<0.001		
	S.M.M	<0.001		

1.3.5. Correspondence between socio-spatial and genetic structures

Although no direct correspondence could be seen between socio-spatial units and genetic clusters (Tableau 6), females from the north were genetically closer to females from the south of the wildlife reserve as evidenced by the sPCA (Figure 22; see above). Indeed, the largest proportion of females from socio-spatial units *Nf* (56%) and *Sf* (64%) were grouped in genetic cluster 3 of the DAPC while females from socio-spatial unit *Cf* were assigned to genetic cluster 1 (41%) or 2 (48%, Tableau *6*). The admixture of the different socio-spatial units observed in all genetic clusters indicated the occurrence of significant gene flow. For males, individuals from both socio-spatial units were represented in equal proportions in both genetic clusters indicating a higher degree of admixture among males of the two socio-spatial units than that observed in females.

Tableau 6: Proportion of individuals assigned with a membership probability higher than 0.80 from each socio-spatial unit in each genetic cluster determined in DAPC. Bold values represent the largest values for each socio-spatial unit.

		Socio-spatial unit		
Females		***Nf***	***Cf***	***Sf***
	Genetic cluster 1	0.16	**0.41**	0.21
	Genetic cluster 2	0.28	**0.48**	0.14
	Genetic cluster 3	**0.56**	0.11	**0.64**
Males		***Nm***	***Sm***	
	Genetic cluster 1	**0.58**	0.48	
	Genetic cluster 2	0.42	**0.52**	

1.4. Discussion

In males Mediterranean mouflon, the less philopatric sex, genetic structure was low compared to females for which the major axis of genetic structuring appeared to be a north-south grouping (DAPC and sPCA). We also found a low but significant genetic differentiation between female socio-spatial units (pairwise *Fst*). However, this socio-spatial organization effect was not detected by DAPC and sPCA suggesting that other processes, such as a residual effect of introduction history (e.g. Biebach & Keller 2009), would be more in play than social factors in determining the genetic structure of females in this population.

1.4.1. Genetic diversity

Since the isolated study population was introduced 60 years ago from 19 individuals, we could expect to observe low genetic diversity. Surprisingly, heterozygosity was not as low as we could expect due to the founder events and is comparable to the one reported in other Mediterranean mouflon populations (Corsica, Sardinia or Central Italy, see Guerrini *et al.* 2015 and Appendix 1.7.6, Tableau 11 and Tableau 12). Similarly, Kaeuffer *et al.* (2007) revealed a higher than expected heterozygosity in another introduced mouflon population. Contrary to heterozygosity, allelic richness values in the study population were closer to those observed in the Cyprus population (see Appendix 1.7.6, Tableau 11 and Tableau 12). Such low level of allelic richness could be a consequence of the founder events in our population. The results of bottleneck detection tests confirmed that genetic diversity is still influenced by past history in our population.

In introduced populations, the level of genetic diversity is supposed to increase with the number of founders, the degree of admixture in the founder group (mixed origin of founders results in the conservation of more diversity and a higher number of alleles) (Maudet *et al*. 2002; Biebach & Keller 2012) and with *propagule pressure* (repeated introduction events prevent inbreeding) (Hufbauer *et al*. 2013). Since the number and the genotypes of founder individuals determine the number of alleles (*Na)* present in the founded population, they have more detrimental effects on the number of alleles than on heterozygosity (Biebach & Keller 2009; Biebach & Keller 2012; Kekkonen & Brommer 2015). While *Na* is mainly dependent on population size, heterozygosity is mainly impacted by the post-bottleneck growth rate (Hedrick 2011). In closed populations, *Na* can only be restored by mutations; heterozygosity is thus expected to be restored faster and to be easier to save than *Na* when conditions are favorable. In our population, founders from three different origins (Tableau 2) were released on four occasions and growth rate after introduction is thought to have been as high as in other introduced mouflon populations (e.g. Kaeuffer *et al.* 2007) and most herbivore populations (Forsyth & Caley 2006). These conditions could thus have favored heterozygosity maintenance at a relatively high level, comparable to unbottlenecked populations, while allelic richness still bears the scars of the founder events. Our results therefore support the theoretical work of Hufbauer *et al.* (Hufbauer *et al*. 2013) and Biebach & Keller (Biebach & Keller 2012), and confirm that populations founded by multiple introductions of genetically diverse individuals avoid inbreeding effects.

1.4.2. Influence of socio-spatial structure on genetic structure

We confirmed the previously highlighted low genetic differentiation between the different socio-spatial units of the studied population (Petit *et al.* 1997). Global and all pairwise *Fst* values were nonetheless significantly different from zero for females, indicating genetic differentiation between socio- spatial units, while a high degree of admixture between socio-spatial units was observed for males. DAPC results showed a clear separation of genetic clusters which did not match with the socio-spatial units, indicating that the socio-spatial structure was not the main driver of the genetic structure in this population. Therefore, socio-spatial structure contributed to the overall genetic structure of the population but other population processes contributed more (see below).

Differences in philopatric behavior between the sexes may lead to a more pronounced genetic structure in the philopatric sex (Storz 1999, Goudet *et al.* 2002; Podgórski *et al.* 2014). As females showed a higher level of genetic structure than males (significant *Fst*, more genetic clusters, and significant spatial genetic structure), our results confirm the philopatric

behavior of females (Dubois *et al*. 1992, 1994; Martins *et al.* 2002) and suggest that gene flow is essentially male-biased in this population, as evidenced also in Bighorn sheep (Boyce et al.1999). Nevertheless, as in other mountain sheep species (Festa-Bianchet 1991), permanent natal dispersal of Mediterranean mouflon rams seems to be rare in our population (Dubois *et al.* 1996). Instead, rams have been shown to make excursions (temporary movement outside an established home range) during the rutting period (Marchand *et al*., unpublished data), and mating opportunities during these excursions may insure gene flow among the different socio-spatial units. In the same vein, it was shown that while females show a stable movement pattern year round (moving preferentially toward familiar areas), males exhibit a more labile pattern and are more prone to move toward unfamiliar areas during the rutting period (Martins *et al.* 2002, Marchand *et al.* 2017a). These sex-specific behaviors lead to a higher spatial stability for females than for males. An interesting way to go further in the study of this sex-biased reproductive dispersal would be to investigate mtDNA and Y-chromosome, i.e. non-recombining sex-specific markers (Handley & Perrin 2007).

1.4.3. Influence of introduction history on genetic structure

Surprisingly, given the spatial fidelity observed in female Mediterranean mouflon (Dubois *et al*. 1992, 1994; Martins *et al.* 2002) and a north-south spatial disconnection (see Appendix 1.7.7), females from the north and the south were genetically closer to each other than to females from the central part of the reserve (see Tableau 6 and Figure 22). Such a pattern would concur with the introduction history of the population: individuals introduced in the north of the reserve in 1956 and in the south of the reserve in 1959 all originated from the French Cadarache National Reserve (Figure 20, Tableau 2). This shared origin could therefore explain why individuals from the north and the south of the reserve are genetically close, while individuals from the central part of the reserve are thought to be an admixture of individuals from the former Czechoslovakia and the French Chambord National Domain. The higher genetic diversity (*Ho* and *He*) in the *Cf* socio-spatial unit (supposed mixed origin, see Tableau 3) and the still detectable founder effect strengthened this hypothesis. Although the release of individuals from the former Czechoslovakia in the north of the study area could explain why the historic genetic signal is relatively low, Czechoslovak individuals have most likely only dimly contributed to the genetic footprint since (i) they were released four years after Cadarache individuals, (ii) had a low survival probability (J.M. Cugnasse, pers. comm.) and (iii) the presence of behavioral barriers close to the release site (a road and a ridge) could have behaviorally isolated Czechoslovak individuals in the central part of the reserve.

Historical genetic signatures have been found to be persistent over numerous generations in other ungulate populations. For instance, in Creole cattle, Martinez *et al*. (2012) found a clear genetic signature of founder individuals more than 600 years after introduction. These results are in agreement with what was observed in Alpine ibex (*Capra ibex*), for which Biebach & Keller (2009) could genetically retrieve the introduction history of numerous populations founded during the 20th century. Similarly, DeYoung *et al.* (2003) find genetic similarities between source and transplanted white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) populations regardless of their geographic separation. Finally, at intra-population and small geographic scale like in the present study, Simpson *et al.* (2013) showed that the site of release of founder individuals introduced at the end of the 19th century still has an impact on the current spatial genetic structure of the population of red squirrels. These results highlight that even after many generations, the genetic signature of source populations can still be present at intra-population scale. Moreover, female philopatry can be a factor explaining the persistence of this genetic signature in our population since global genetic structure (males and females considered in same analyses) corresponds to female structure (results not shown).

1.5. Conclusion

Our findings highlighted important elements for wildlife management. First, despite the existence of male-mediated gene flow, we showed that introduction history had long-term consequences on intrapopulation spatial genetic structure, probably due to the high female philopatry which has favored the persistence of the historical genetic signature of introductions. These results confirm the importance for wildlife managers to account for sex-specific spatial behaviors and gene flow when determining introduction/reinforcement strategies to ensure genetic mixing among introduced individuals from different sources. Indeed, since introductions often involve only a limited number of founders (Kekkonen & Brommer 2015), genetic diversity may be low and a lack of genetic mixing between released individuals may result in introduction failure due to inbreeding depression and declining immunocompetence (see Amstrong & Seddon 2008). Second, albeit allelic richness was relatively low, this study did not provide evidence that the Caroux-Espinouse Mediterranean mouflon population shows depauperate genetic diversity. Such a result stresses the importance of choosing the right number, level of admixture (e.g. individuals from different origins) and place of release of individuals translocated when planning a (re)introduction program, to ensure that introduced genetic diversity expands to the entire population. Finally, the present study provided evidence that different levels of genetic structuring can co-occur at

fine spatial scale (1700 ha) as compared to a mouflon home range (201 ha and 301 ha for females and males respectively, Marchand 2013). Such results would not have been obtained if sampling had been performed at a higher spatial resolution, highlighting the importance of designing sampling schemes in accordance with species biology and ecology. Additionally, such small-scale spatial genetic structure suggests that small-scale spatial population dynamic processes can occur in this population (see Coulson *et al.* 1999). All the results can be helpful for other populations, including endangered Corsican populations (*Ovis gmelini musimon var. Corsicana*) as they reveal important factors shaping the genetic structure of mouflon populations.

1.6. Acknowledgments

We warmly thank all the professionals from the Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (Service Départemental 34, Jeanne Duhayer and Christian Itty) and numerous trainees for their technical support in trapping, tagging, sampling, and monitoring VHF and GPS-collared mouflons. We thank J.-M. Cugnasse for his precious help on the history of the population and Dominique Dubray for his involvement in the deployment of GPS collars. We thank all the technical personnel of LBBE for helping with laboratory steps of the study, and the Antagene laboratory (Limonest, France, www.antagene.com) for DNA extraction and genotyping. We thank Elodie Bonneau for the first laboratory and genetic analyses. We thank Denise Mirat for checking the English in the last version of the paper. Finally, we thank and two anonymous referees for helpful comments on the manuscript. This research project and E. Portanier's collaboration, were funded by the Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, VetagroSup and LBBE.

1.7. Appendices

1.7.1. Microsatellite description and Fluorescent DYE used for genotyping

Tableau 7: Microsatellite markers multiplex, size, fluorescent dyes and final concentrations used for genotyping of Mediterranean mouflon individuals from the Caroux-Espinouse massif population.The 3 different multiplex created are identified as "B", "C" and "E".

Microsatellite locus	Reference	Genebank access number	Multiplex	Size (bp)	Fluorescent Dye	Final concentration (µM)
BM8125	Bishop *et al.* (1994)	G18475	B	107-137	Fam	0.60
HUJ616	Shalom *et al*. (1993)	M88250	B	121-167	Ned	0.20
OarCP34	Ede *et al.* (1995)	U15699	B	115-137	Vic	0.06
OarFCB304	Buchanan and Crawford (1993)	L01535	B	177-219	Jaune	0.20
OarJMP58	Penty *et al.* (unpublished data) in Crawford *et al.* (1995)	U35058	B	124-176	Pet	0.20
OarVH72	Pierson *et al.* (1993)	L12548	B	146-174	Fam	0.20
SRCRSP1	Arevalo *et al.* (1994)	L22192	B	147-181	Vic	0.10
INRA063	Vaiman *et al.* (1994)	X71507	C	161-185	Ned	0.40
MAF65	Buchanan *et al*. (1992)	M67437	C	121-151	Ned	0.20
MCM140	Hulme *et al.* (1995)	L38979	C	194-220	Ned	0.40
OarFCB193	Buchanan and Crawford (1993)	L01533	C	93-143	Bleu	0.08
OarJMP29	Penty *et al.* (unpublished data) in Crawford *et al.* (1995)	U30893	C	103-157	Vic	0.10
MAF70	Buchanan and Crawford (1992)	M77199	E	153-195	Pet	0.20
OarFCB226	Buchanan *et al.* (1994)	L20006	E	153-187	Fam	0.40
OarHH47	Henry *et al.* (1993)	L12557	E	167-199	Vic	0.20
SRCRSP9	Bhebhe *et al*. (1994)	L22201	E	105-143	Pet	0.40
Amelogenin	Developed by Antagène laboratory	NA	E	214 & 259	Pet	0.40
ZFXY	Developed by Antagène laboratory	NA	E	275 & 279	Fam	0.20

1.7.2. Is the trap-based socio-spatial unit a good approximation of the individual-based one?

Since spatial data were not available for all genotyped individuals, we used a trap-based approach (see Garel *et al.* 2007 for a similar approach) to define socio-spatial units present in the population (trap-based socio-spatial units). As explained in the main article, this approach allowed us to assign all genotyped animals (including the 22.8% having no visual resightings or GPS locations) to a given socio-spatial unit depending on where they were trapped.

To assess the reliability of this approach, we wondered if all animals captured at a certain trap belong to the same socio-spatial unit. To answer this question, we computed groups of individuals living together (individual-based socio-spatial units) using hierarchical clustering analysis (UPGMA, see main article for details) on individuals resighted at least four times or GPS collared (n=394, same results being obtained using a threshold of 10 spatial locations, see Martins *et al.* 2002). The objective was to assess if the socio-spatial units obtained were the same whether analyses were performed at the individual scale or at the trap scale, aggregating all spatial locations of individuals captured at the same trap.

Results (Tableau 8) showed that correspondence was greater than 94.7% for females and 70% for males, suggesting that it is possible, especially for females, to assign individuals to a socio-spatial unit based on their trap of capture. The lower correspondence between individual- and trap-based socio-spatial units observed for males indicates that males are more mobiles than females.

Tableau 8: : Number of individuals from each individual-based cluster captured in each trap-based cluster. UPGMA was based on Euclidean distances between averaged locations of each animal (individuals-based analysis) or of each trap (trap-based analysis).

Red values represent the maximal value of individuals from the same individual-based cluster belonging to the same trap-based cluster.

		Trap-based cluster		
		Nf	***Cf***	***Sf***
Females individual-based cluster	**1**	97	6	0
	2	1	184	1
	3	0	0	18
		Nm	***Sm***	
Males individual-based cluster	**1**	47	28	
	2	0	12	

1.7.3. Defining genetic clusters thanks to a DAPC.

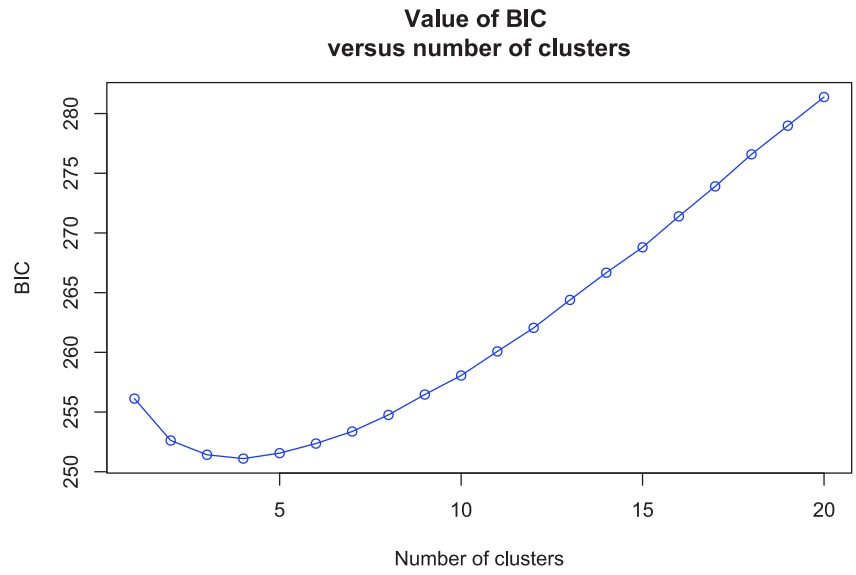

Figure 24: BIC values associated with each K value tested from the K-means procedure of the DAPC for females in the Caroux-Espinouse mouflon population. It indicated as an optimal number of genetic cluster of K = 3 or K = 4.

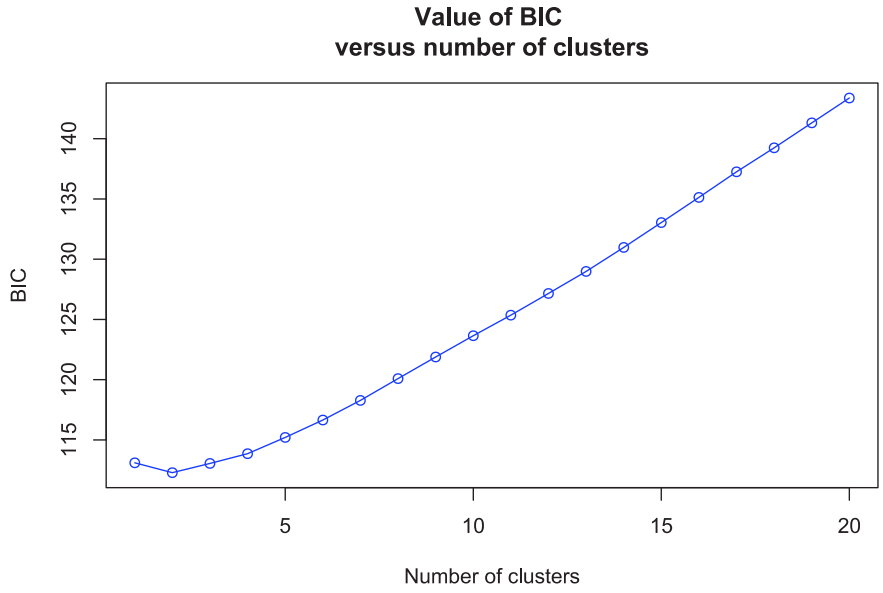

Figure 25: BIC values associated with each K value tested from the K-means procedure of the DAPC for males in the Caroux-Espinouse mouflon population. It indicates an optimal number of cluster of K = 2.

1.7.4. sPCA axis selection.

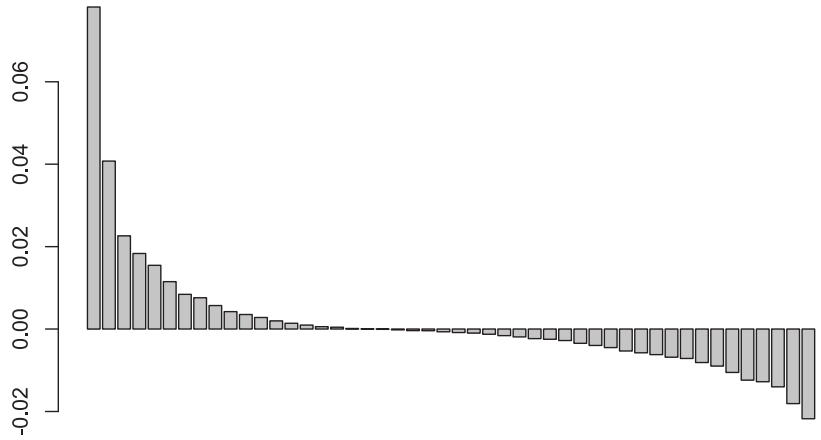

Figure 26: sPCA eigenvalues for females of the Mediterranean mouflon population of the Caroux-Espinouse massif.

1.7.5. Genetic variability per locus.

Tableau 9: Genetic variability per locus as computed for each socio-spatial unit of females and Fis values.

Legend: n: sample size; na: number of alleles; Ar: allelic richness; Ho: observed heterozygosity; He: expected heterozygosity.

	Nf						*Cf*						*Sf*					
Locus	***n***	***n_a***	***A_r***	***Ho***	***He***	***Fis***	***n***	***n_a***	***A_r***	***Ho***	***He***	***Fis***	***n***	***n_a***	***A_r***	***Ho***	***He***	***Fis***
BM8125	36	5	4.98	0.750	0.754	0.006	105	5	4.98	0.848	0.781	-0.085	16	5	5.00	0.750	0.719	-0.043
HUJ616	37	3	3.00	0.703	0.557	-0.262	108	4	3.64	0.657	0.608	-0.081	16	3	2.94	0.688	0.500	-0.375
INRA063	35	2	2.00	0.486	0.481	-0.010	104	2	2.00	0.539	0.502	-0.073	16	2	2.00	0.750	0.508	-0.475
MAF65	37	2	1.65	0.054	0.053	-0.014	108	3	2.14	0.315	0.317	0.005	16	2	1.94	0.063	0.063	0.000
MAF70	37	5	4.95	0.622	0.712	0.127	107	5	4.80	0.710	0.663	-0.071	15	4	4.00	0.533	0.552	0.034
MCM140	36	4	4.00	0.778	0.734	-0.060	107	4	3.98	0.729	0.713	-0.023	16	4	4.00	0.688	0.773	0.111
OarCP34	37	3	3.00	0.649	0.645	-0.005	108	4	3.26	0.574	0.567	-0.012	16	3	3.00	0.438	0.604	0.276
OarFCB193	37	5	4.38	0.784	0.706	-0.109	108	5	4.66	0.741	0.713	-0.040	16	5	4.88	0.438	0.679	0.356
OarFCB226	37	4	3.95	0.703	0.643	-0.093	108	4	3.87	0.639	0.665	0.039	16	3	3.00	0.688	0.613	-0.122
OarFCB304	37	4	3.68	0.676	0.588	-0.149	106	4	3.90	0.557	0.579	0.038	16	3	2.94	0.313	0.467	0.330
OarHH47	37	4	3.65	0.676	0.611	-0.106	108	4	3.86	0.630	0.617	-0.021	16	4	4.00	0.625	0.598	-0.045
OarJMP29	36	4	3.41	0.444	0.494	0.100	107	5	4.06	0.673	0.692	0.028	16	4	4.00	0.688	0.675	-0.019
OarJMP58	37	5	4.88	0.730	0.708	-0.031	108	5	4.96	0.833	0.764	-0.090	16	5	4.998	0.750	0.760	0.014
OarVH72	37	3	2.65	0.488	0.515	0.056	106	3	2.95	0.642	0.557	-0.151	16	2	2.000	0.500	0.508	0.016
SRCRSP1	37	3	2.93	0.568	0.553	-0.027	108	3	2.87	0.593	0.557	-0.064	16	3	2.998	0.813	0.565	-0.439
SRCRSP9	36	4	3.805	0.6111	0.631	0.031	107	4	3.998	0.7383	0.737	-0.001	15	3	3.000	0.3333	0.443	0.247

Tableau 10: Genetic variability per locus as computed for each socio-spatial unit of males.

Legend: n: sample size; na: number of alleles; Ar: allelic richness; Ho: observed heterozygosity; He: expected heterozygosity.

	Nm						***Sm***					
Locus	***n***	n_a	A_r	***Ho***	***He***	***Fis***	***n***	n_a	A_r	***Ho***	***He***	***Fis***
BM8125	36	5	5.00	0.722	0.799	0.096	31	5	5.00	0.807	0.780	-0.034
HUJ616	36	4	3.72	0.417	0.435	0.041	33	4	3.94	0.546	0.545	-0.002
INRA063	35	2	2.00	0.543	0.500	-0.086	33	2	2.00	0.394	0.509	0.227
MAF65	36	2	2.00	0.250	0.221	-0.129	33	2	2.00	0.182	0.217	0.162
MAF70	36	5	5.00	0.640	0.669	0.045	32	5	5.00	0.719	0.694	-0.036
MCM140	36	4	4.00	0.667	0.701	0.049	33	4	4.00	0.758	0.717	-0.057
OarCP34	36	3	3.00	0.583	0.633	0.079	33	4	3.94	0.636	0.592	-0.075
OarFCB193	36	5	5.00	0.861	0.702	-0.226	33	5	5.00	0.758	0.699	-0.083
OarFCB226	36	4	3.98	0.611	0.617	0.010	33	4	4.00	0.667	0.711	0.063
OarFCB304	35	4	4.00	0.657	0.643	-0.022	33	4	4.00	0.546	0.656	0.168
OarHH47	36	4	4.00	0.667	0.668	0.002	33	4	4.00	0.727	0.674	-0.079
OarJMP29	36	4	3.98	0.500	0.593	0.157	33	4	4.00	0.758	0.679	-0.116
OarJMP58	36	5	5.00	0.556	0.727	0.236	33	5	5.00	0.636	0.771	0.174
OarVH72	35	3	3.00	0.514	0.472	-0.090	32	3	2.97	0.469	0.469	0.000
SRCRSP1	36	3	3.00	0.500	0.542	0.078	33	3	3.00	0.546	0.552	0.012
SRCRSP9	33	4	4.00	0.697	0.741	0.060	32	4	4.00	0.688	0.634	-0.085

1.7.6. Allelic richness and observed heterozygosity calculated on the four loci in common with Guerrini et al. (2015).

Tableau 11: Averaged allelic richness (Ar) and observed heterozygosity (Ho) calculated on the four loci in common with Guerrini et al. (2015) (i.e. SRCRSP9, MAF70, OarJMP58 and OarFCB304) for Mediterranean mouflon from the Caroux-Espinouse massif population.

		Socio-spatial units		
Females		***Nf***	***Cf***	***Sf***
	Ar	4.33	4.41	3.73
	Ho	0.66	0.71	0.48
Males		***Nm***	***Sm***	
	Ar	4.5	4.5	
	Ho	0.64	0.65	

Tableau 12: Allelic richness (Ar) and observed heterozygosity (Ho) from Guerrini et al. (2015) for the four loci in common with the present study.

	Corsica		***Sardinia***		***Central Italy***		***Cyprus***	
Locus	***Ar***	***Ho***	***Ar***	***Ho***	***Ar***	***Ho***	***Ar***	***Ho***
MAF70	7.8	0.53	5.8	0.60	4.9	0.67	2.3	0.08
OarFCB304	8.0	0.63	7.2	0.85	6.4	0.45	3.7	0.51
OarJMP58	10.2	0.58	6.9	0.75	8.4	0.59	2.4	0.35
SR-CRSP9	6.7	0.63	3.9	0.74	6.0	0.64	1.0	Monomorphic
Mean	8.18	0.59	5.95	0.735	6.43	0.59	2.35	0.24

1.7.7. Spatial disconnection between individuals from the north and the south of the reserve.

Females from the north and the south of the study area were genetically closer to each other than to females from the central part of the reserve (see main article). One possible explanation could be that gene flows are favored between the northern and the southern female socio-spatial units.

To answer this question we used spatial data to measure spatial disconnection between the different female socio-spatial units. We assessed if females from the north visit the southern part of the study area more frequently than the central part. Additionally, in order to see if males ensure gene flow preferentially between northern and southern female socio-

spatial units (explaining the genetic proximity between these two socio-spatial units), we assigned male individuals to socio-spatial units as defined thanks to female data (trap clustering, see main article, Figure 23).

Based on GPS data.

In order to assess more precisely the spatial disconnection existing between the different female socio-spatial units, we performed analyses based on GPS data. 61 adult females and 27 males were monitored by GPS and associated with at least 300 GPS locations (12 females and 8 males in *Nf*, 33 females and 14 males in *Cf*, 12 females and 5 males is *Sf*). For each individual, 300 GPS locations were randomly sampled. GPS locations of all monitored individuals from each socio-spatial unit were pooled and used to calculate the utilization distribution for each socio-spatial unit using the Brownian Bridge Movement Model (BBMM, Horne *et al*. 2007). The smoothing parameter "sig1" (Brownian motion variance) was estimated for each socio-spatial unit using the likelihood approach developed by Horne *et al.* (2007), and "sig2", the GPS location error was fixed at 24.5m (see Marchand *et al.* 2015b). We then calculated overlap between all pairs of socio-spatial unit home ranges (volume of intersection between the two UDs). The spatial analyses were performed using the R package *adehabitatHR* (Calenge 2006).

We can see in Tableau 13 that for females, northern and southern socio-spatial units almost never overlap (0.3%) as compared to northern and central socio-spatial units (19.8%) or southern and central socio-spatial units (15%). For males, similar results were obtained, since only 2.4% of the home ranges of individuals assigned to the *Nf* socio-spatial unit overlapped those of males assigned to *Sf*. It indicated that no preferential movements occur between northern and southern female socio-spatial units (neither for females nor for males) and that northern and southern female socio-spatial units are spatially disconnected.

Tableau 13: Overlap among the home ranges of different female socio-spatial units based on female or on male data.

	Females	
	Nf	***Cf***
Cf	0.198	
Sf	0.003	0.150
	Males	
	Nf	***Cf***
Cf	0.191	
Sf	0.024	0.176

Based on capture data.

698 adult individuals (503 females and 195 males) were (re)captured between 1990 and 2015. Among these individuals, only 79 were sequentially captured at different traps (55 females and 24 males) while 169 were captured several times at the same trap. Among the females captured at different traps during their lifetimes only three were captured at a trap in a different socio-spatial unit (see trap clustering, see main article, Figure 23). Among these three females, two switched between the *Nf* and the *Cf* socio-spatial unit and one switched between the *Sf* and the *Cf* socio-spatial units. Regarding males, one individual switched between *Sf* and *Cf* while another switched between *Nf* and *Cf*. *Nf* and *Sf* female socio-spatial units were thus completely disconnected.

2. Et avec d'autres méthodes de clustering génétique ? (Addendum 1)

2.1. Introduction

En génétique des populations, les méthodes de clustering sont utilisées très couramment pour définir les sous-unités populationnelles et identifier les discontinuités génétiques (e.g. Wilson et al. 2015). Ces méthodes sont cependant souvent basées sur de fortes hypothèses (e.g. équilibre d'Hardy-Weinberg) et peuvent mener à des résultats contradictoires lorsqu'on les confronte. Par exemple, de nombreuses études ont mis en évidence que ce type de méthodes pouvait conduire à des conclusions erronées lorsqu'elles étaient utilisées dans une population où un patron d'isolement par la distance était présent, ou encore lorsque l'échantillonnage était structuré (e.g. Schwartz & McKelvey 2009, Frantz et al. 2009, Blair et al. 2012, Puechmaille 2016). Il est ainsi courant dans cette discipline d'utiliser

différentes méthodes et de les confronter afin de confirmer un signal génétique potentiellement observé[29] (e.g. Aurelle & Ledoux 2013, Vergara et al. 2015). Dans l'étude présentée ci-dessus (Chapitre 7, Article 1), nous avions utilisé la DAPC comme analyse principale. Cependant, afin de confirmer la structure génétique observée chez les femelles (i.e. proximité nord-sud) et l'absence de structure chez les mâles, nous avons également utilisé d'autres méthodes de clustering.

Nous avons choisi d'utiliser SNAPCLUST (Beugin et al. 2018), une méthode non Bayesienne basée sur le maximum de vraisemblance et requérant beaucoup moins de temps de calcul que les méthodes classiques, STRUCTURE (Pritchard et al. 2000), une méthode Bayesienne utilisée de manière très fréquente dans les études de génétique des populations, et GENELAND, une méthode Bayesienne tenant compte explicitement des coordonnées spatiales des individus (Guillot et al. 2005a, b).

2.2. Matériel et méthodes

Les données génétiques et les coordonnées spatiales utilisées ici sont les mêmes que celles précédemment décrites (voir Chapitre 7, Article 1). Comme précédemment, nous avons réalisé des analyses sexe-spécifiques. Pour les trois méthodes, nous avons fixé le nombre maximal de populations (Kmax) à 15. Pour SNAPCLUST, nous avons fait l'analyse avec 1 000 000 d'itérations et avons utilisé l'AIC et le BIC pour déterminer le nombre optimal de cluster (K). Pour STRUCTURE, nous avons réalisé 20 jeux de simulations avec 1 000 000 d'itérations et 300 000 itérations de « rodage » (*burn-in* en anglais). Le nombre optimal de cluster génétique a été déterminé grâce à la méthode d'Evanno et al. (2005) telle qu'implémentée dans le logiciel en ligne STRUCTURE HARVESTER (Earl & vonHodt 2012). Afin d'obtenir, pour chaque individu, les probabilités d'assignation consensus entre les 20 jeux de simulations de STRUCTURE, nous avons utilisé le logiciel CLUMPP (Jakobsson & Rosenberg 2007). Enfin, pour GENELAND, nous avons réalisé 10 jeux de simulations avec 1 500 000 itérations et 10 000 itérations de *burn-in*.

Il est important de noter ici que si Kmax = 15 est une valeur élevée compte tenu des résultats obtenus dans la partie précédente (Chapitre 7, Article 1), les tests réalisés avec un Kmax inférieur (notamment Kmax = 10) ne permettaient pas d'avoir un pouvoir discriminant suffisamment important avec GENELAND pour les femelles, la chaine de Markov atteignant trop souvent la valeur maximale de K.

[29] L'idée étant ici que « le nombre fait la force ». La concordance des résultats de différentes méthodes sur un signal biologique permet d'être plus confiant dans ses conclusions.

2.3. Résultats

2.3.1. Femelles

Dans un premier temps avec SNAPCLUST, AIC et BIC n'indiquent pas les mêmes nombres optimaux de clusters (Figure 27, Tableau 16). L'AIC est minimal pour K = 8 mais on observe une rupture de pente dans les valeurs d'AIC après K = 3 conférant du soutien statistique pour cette dernière valeur (Figure 27). Le BIC est quant à lui minimal pour K = 1 (Figure 27). SNAPCLUST a été créé pour déterminer des probabilités d'appartenance à deux groupes génétiques seulement. Afin de voir si l'on observait le regroupement des femelles du nord et du sud dans le même cluster génétique, nous avons calculé ces probabilités d'assignation en indiquant à l'algorithme de créer deux groupes génétiques. En calculant les proportions de femelles des secteurs *Nf, Cf* et *Sf* dans chaque groupe génétique (voir Chapitre 7, Article 1), on retrouve bien la tendance nord-sud précédemment observée avec une majorité des individus du nord et du sud regroupés dans le même cluster (Tableau 14).

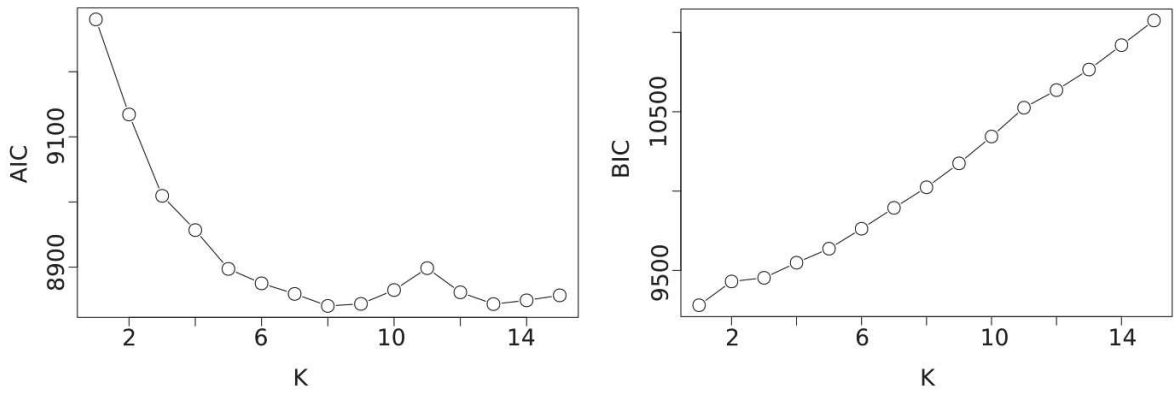

Figure 27: Valeurs d'AIC et de BIC obtenues avec la méthode de clustering SNAPCLUST pour les femelles mouflons de la population du Caroux-Espinouse.

Tableau 14:Proportions (%) de femelles de chaque unité socio-spatiale (Chapitre 7, Article 1) dans chaque groupe génétique définit par SNAPCLUST.

Les valeurs les plus grandes pour chaque unité socio-spatiale sont indiquées en rouge.

	Socio-spatial unit		
	Nf	***Cf***	***Sf***
Genetic cluster 1	0.19	0.61	0.31
Genetic cluster 2	0.81	**0.**39	0.69

Avec STRUCTURE, le nombre de cluster optimal révélé avec la méthode d'Evanno est K = 2 (Figure 28, Tableau 16). Cependant, cette méthode ne permet pas d'évaluer la vraisemblance de K = 1 qui apparaît comme le K optimal lorsque l'on s'en réfère aux valeurs de vraisemblances moyennes pour chaque K (Figure 28, Tableau 16). Les auteurs conseillent en effet de toujours évaluer les différentes informations fournies par STRUCTURE pour choisir le K le plus probable (Evanno et al. 2005). Lorsque l'on considère deux clusters génétiques, les probabilités d'assignation des individus dans ces clusters sont toutes autour de 0.5 (Figure 29), indiquant un très faible support pour ces groupes génétiques et ne nous permettant pas d'appliquer la procédure précédemment utilisée pour calculer les proportions de femelles de chaque unité socio-spatiale dans chaque groupe génétique.

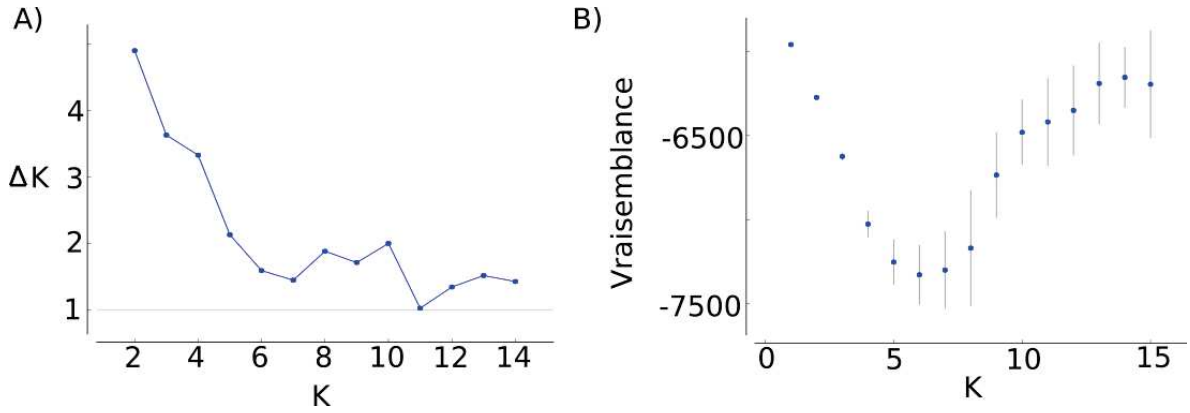

Figure 28: Delta K d'Evanno et al. (2005, panel A) et vraisemblance du nombre de cluster K (panel B) inférés par le logiciel STRUCTURE pour les femelles de la population de mouflons du Caroux-Espinouse.

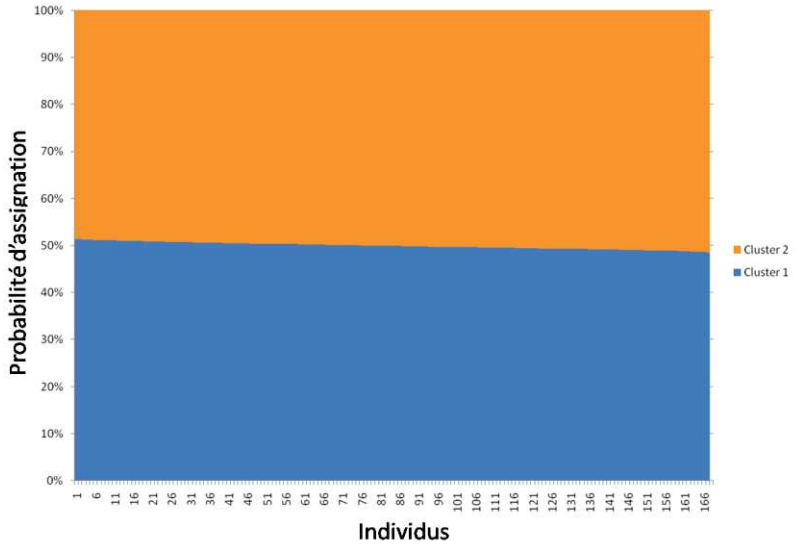

Figure 29: Probabilités d'appartenance des femelles dans chaque groupe génétique inférées par le logiciel STRUCTURE.

Enfin, concernant GENELAND, sur les 10 jeux de simulations, 4 indiquaient un nombre optimal de clusters de K = 4, alors que 6 jeux de simulations (dont celui le plus supportée statistiquement, Figure 30) indiquaient K = 5 (Tableau 16). Nous avons donc conservé 5 clusters génétiques. Lorsque l'on regarde la carte synthétique des probabilités postérieures sur le meilleur jeu de simulations (Figure 31), on peut voir qu'une partie des individus du nord sont assignés dans la même population qu'une partie des individus du sud confirmant cette structure nord-sud déjà observée. GENELAND semble cependant détecter une structure plus fine que la DAPC et divise les individus du nord en 3 groupes. La population 5 (pixels vert foncé sur la Figure 31) contient seulement un individu et est donc douteuse. Par ailleurs, les probabilités d'assignation dans les 5 populations sont relativement faibles : 0.34, 0.24, 0.24 et 0.22 en moyenne pour les individus assignés à l'une des 4 populations contenant plus d'un individu (entre 25 et 78 individus par population).

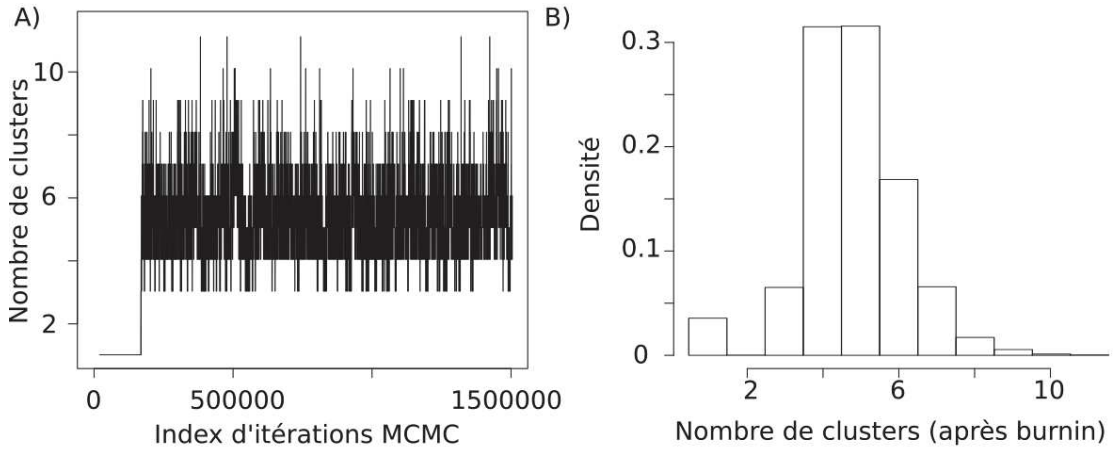

Figure 30: Chaine de Markov Monte-Carlo (MCMC, panel A) et nombre de clusters génétiques déterminés par la MCMC après burn-in (panel B) obtenus dans le meilleur jeu de simulation de GENELAND pour les femelles.

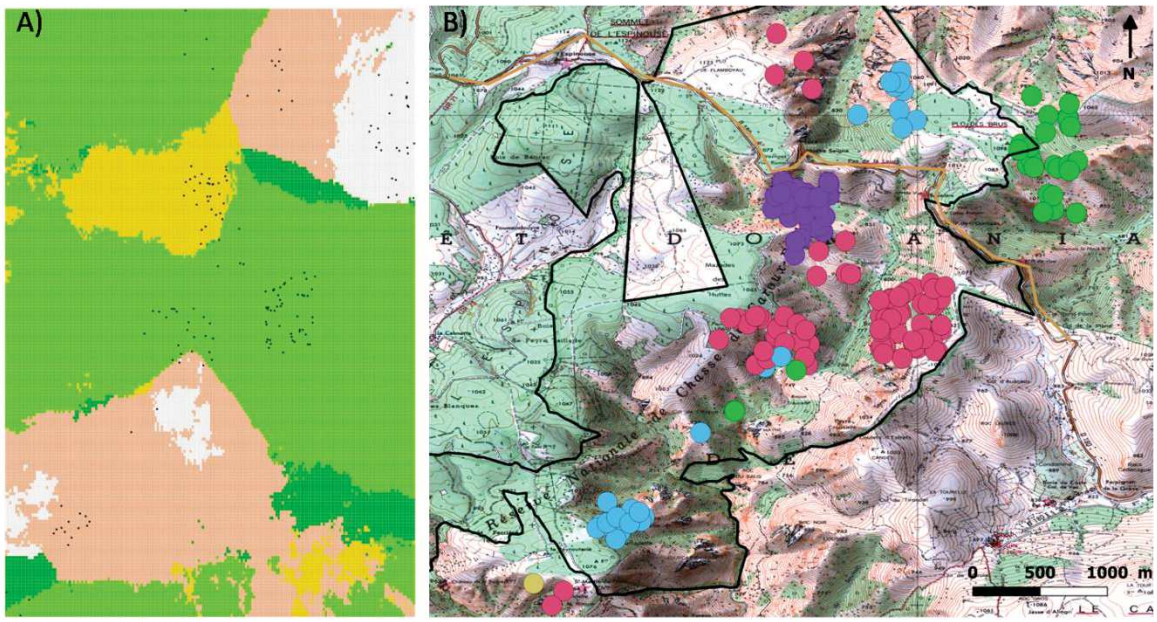

Figure 31: Carte des probabilités postérieures d'assignation inférées par GENELAND pour K = 5 (A) et représentation des assignations sur le scan 25 du massif (B) pour les femelles mouflons du Caroux-Espinouse.

Sur le panel A, chaque pixel se voit attribuer une couleur en fonction du cluster génétique auquel il a été assigné et chaque point noir représente un individu. Sur le panel B, chaque individu est représenté par une couleur en fonction de sa population assignée.

2.3.2. Mâles

Comme pour les femelles, AIC et BIC dans SNAPCLUST n'indiquent pas le même nombre de groupes génétiques (K = 1 pour le BIC et K = 5 pour l'AIC, Figure 32). Cependant, pour l'AIC, la décroissance maximale est entre K = 1 et K = 2 indiquant que K = 1 est une valeur vraisemblable (Tableau 16). Si l'on crée tout de même 2 groupes génétiques, on retrouve ici aussi ce que l'on observait avec la DAPC (voir Chapitre 7, Article 1), les individus des secteurs nord et sud sont répartis de manière équiprobable dans les 2 groupes génétiques, bien qu'il semble y avoir une tendance plus forte ici qu'avec la DAPC pour le secteur *Sm* (Tableau 15, Article 1).

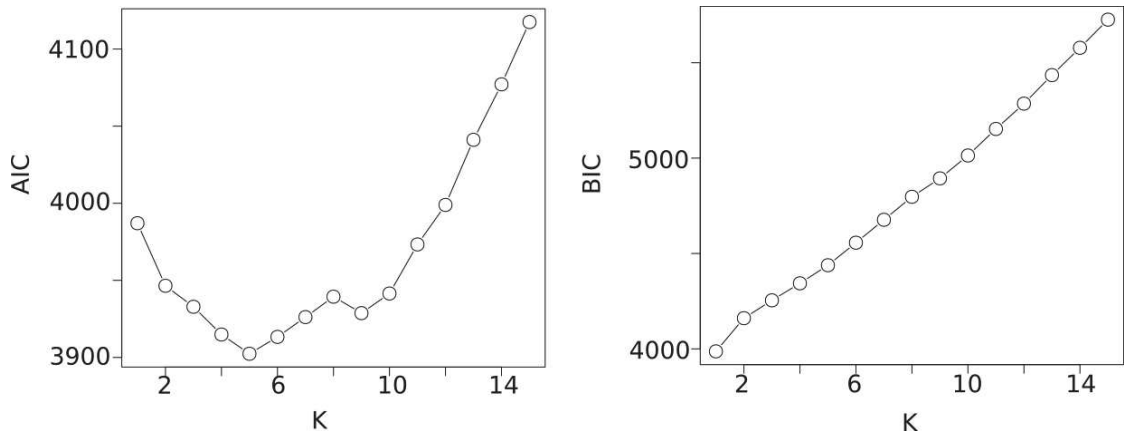

Figure 32: Valeurs d'AIC et de BIC obtenues avec la méthode de clustering SNAPCLUST pour les mâles mouflons de la population du Caroux-Espinouse.

Tableau 15 : Proportions (%) de mâles de chaque unité socio-spatiale (Chapitre 7, Article 1) dans chaque groupe génétique définit par SNAPCLUST.

Les valeurs les plus grandes pour chaque unité socio-spatiale sont indiquées en rouge.

	Unité socio-spatiale	
	Nm	***Sm***
Cluster génétique 1	0.58	0.37
Cluster génétique 2	0.42	0.63

Avec STRUCTURE, comme pour les femelles, la méthode d'Evanno indique K = 2 mais la vraisemblance indique K = 1 (Figure 33, Tableau 16). Lorsque l'on considère deux clusters génétiques, ils reçoivent très peu de support car toutes les probabilités d'assignation sont autour de 0.5 (Figure 34) et nous n'avons donc pas pu calculer la proportion d'individus de chaque unité socio-spatiale dans chaque groupe génétique.

Enfin, avec GENELAND la solution recevant le plus de support statistique est K = 1 (Figure 35, Tableau 16)[30].

[30] Ces résultats varient en fonction du Kmax fixé. Avec Kmax = 10, on obtient 3 clusters dont un ne contenant que 2 individus. Ces résultats changeant indiquent un signal très faible ou absent comme cela est le cas avec Kmax = 15.

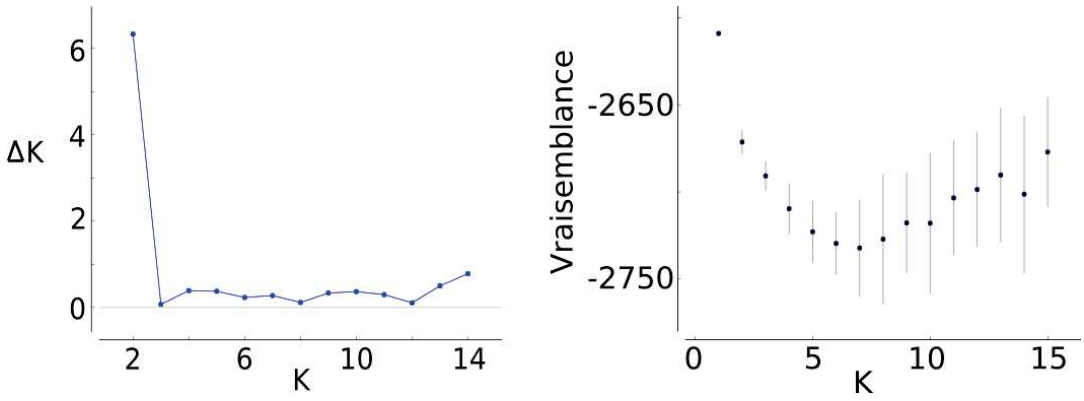

Figure 33: Delta K d'Evanno et al. (2005, panel A) et vraisemblance du nombre de cluster K (panel B) inférés par le logiciel STRUCTURE pour les mâles de la population de mouflons du Caroux-Espinouse.

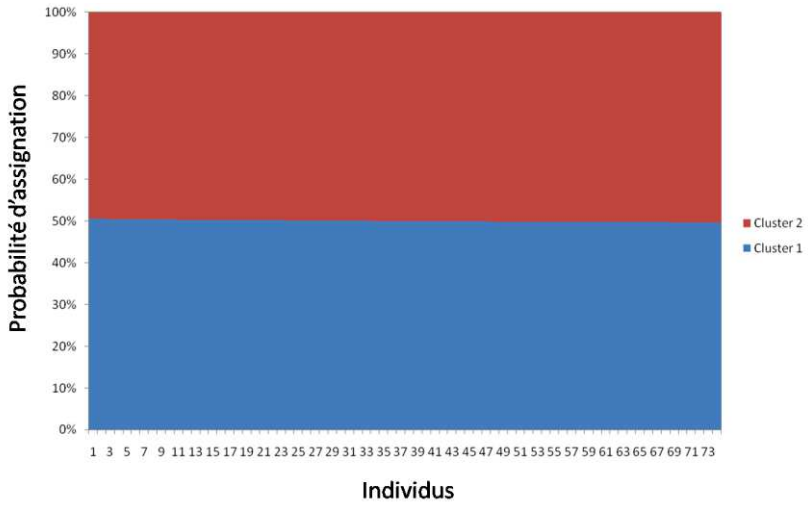

Figure 34: Probabilités d'appartenance des mâles dans chaque groupe génétique inférées par le logiciel STRUCTURE.

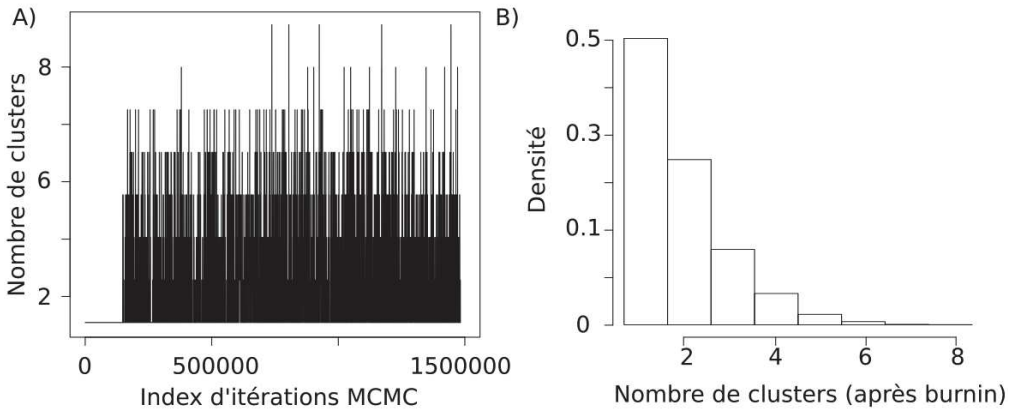

Figure 35: Chaine de Markov Monte-Carlo (MCMC, panel A) et nombre de clusters génétiques déterminés par la MCMC après burn-in (panel B) obtenus dans le meilleur jeu de simulation de GENELAND pour les mâles.

Tableau 16: Tableau synthétique des nombres de clusters optimaux déterminés par différentes méthodes de clustering génétique pour les mâles et les femelles mouflons de la population du Caroux-Espinouse.

Pour SNAPCLUST et STRUCTURE, deux statistiques (AIC, BIC et Evanno, Vraissemblance, respectivement) ont été utilisées (voir texte et Article 1).

	DAPC	SNAPCLUST		STRUCTURE		GENELAND
		AIC	BIC	Evanno	Vraissemblance	
Femelles	3	3	1	2	1	5
Mâles	2	1	1	2	1	1

2.4. Discussion

D'un point de vue général, avec les présentes méthodes, on peut déduire des résultats similaires à ceux de la DAPC. Pour les mâles, on observe une convergence de résultats entre les différentes méthodes avec une majorité de soutien statistique pour K = 1 confirmant l'absence de structure génétique précédemment observée. Pour les femelles, les méthodes indiquent des résultats variables, confirmant le fait que le signal détecté est faible. On retrouve cependant ce que l'on observait avec la DAPC puisque, malgré un manque de puissance, GENELAND et SNAPCLUST indiquent une structure nord-sud.

Les résultats obtenus avec STRUCTURE, SNAPCLUST et GENELAND sont néanmoins moins nets que ceux obtenus avec la DAPC qui semble ici être plus robuste face à un signal génétique faible. Avec SNAPCLUST, la détermination du nombre de cluster via BIC et AIC ne correspondent pas entre elles, ni à ce que l'on avait avec la DAPC, sauf si l'on se base sur l'AIC et sur le maximum de décroissance entre deux valeurs de K, ce que font également les auteurs dans l'étude introduisant la méthode (Beugin et al. 2018). Une fois K fixé à 2, les assignations faites par SNAPCLUST correspondent à ce que l'on observait auparavant et les probabilités d'assignation sont élevées. Avec STRUCTURE en revanche, aucune structure génétique n'est détectée et cette méthode semble être moins performante que les autres dans notre population d'étude. Il est à noter que ni femelles, ni mâles, ne montrent de patrons d'isolement par la distance (excepté avec 3 distances génétiques sur 12 testées pour les femelles et une distance sur 12 pour les mâles, Tableau 17) qui seraient susceptibles de perturber la détection de clusters génétiques par les méthodes Bayesienne (e.g. Frantz et al. 2009).

Tableau 17:Tests d'isolement par la distance réalisés pour les femelles et les mâles à l'aide de tests de Mantel entre différentes distances génétiques et la distance géographique en ligne droite (Dgéo ligne droite) ou corrigée pour la topographie (Dgéo topographie, voir Chapitre 8, Article 2).

r représente le coefficient de correlation de Mantel et p est la p-valeur du test bilatéral.

Distance génétique[31]	**Dgéo ligne droite**	**Dgéo topographie**
Femelles		
$\hat{a}_r$ Rousset	r = -0.01 p = 0.71	r = -0.01 p = 0.69
Distance de Bray-Curtis	r = -0.01 p = 0.86	r = -0.003 p = 0.96
Distance Euclidienne	r = -0.02 p = 0.75	r = -0.008 p = 0.89
Coefficient d'apparentement de Ritland	**r = -0.06 p = 0.0001**	**r = -0.05 p = 0.0001**
Coefficient d'apparentement de Wang	r = 0.02 p = 0.46	r = 0.03 p = 0.42
Coefficient d'apparentement de Lynch & Ritland	**r = -0.06 p = 0.0001**	**r = -0.05 p = 0.0001**
Dps (proportion d'allèles partagés)	r = 0.03 p = 0.29	r = 0.04 p = 0.27
Coefficient de fraternité de Lynch & Ritland	r = -0.004 p = 0.70	r = -0.005 p = 0.59
Coefficient de fraternité de Wang	r = 0.03 p = 0.15	r = 0.02 p = 0.18
Coefficient d'apparentement de Li	r = 0.03 p = 0.31	r = 0.03 p = 0.27
Coefficient d'apparentement de Loiselle	**r = -0.05 p = 0.0001**	**r = -0.05 p = 0.0001**
Coefficient d'apparentement de Queller & Goodnight	r = 0.02 p = 0.34	r = 0.03 p = 0.24
Mâles		
$\hat{a}_r$ Rousset	r = -0.04 p = 0.34	r = -0.05 p = 0.27
Distance de Bray-Curtis	r = -0.02 p = 0.75	r = -0.03 p = 0.72
Distance Euclidienne	r = -0.02 p = 0.76	r = -0.02 p = 0.76
Coefficient d'apparentement de Ritland	r = -0.03 p = 0.05	**r = -0.04 p = 0.04**
Coefficient d'apparentement de Wang	r = 0.06 p = 0.15	r = 0.06 p = 0.11
Coefficient d'apparentement de Lynch & Ritland	r = -0.02 p = 0.16	r = -0.03 p = 0.13
Dps (proportion d'allèles partagés)	r = 0.05 p = 0.18	r = 0.06 p = 0.12
Coefficient de fraternité de Lynch & Ritland	r = 0.002 p = 0.93	r = 0.002 p = 0.91
Coefficient de fraternité de Wang	r = 0.008 p = 0.74	r = 0.008 p = 0.74
Coefficient d'apparentement de Li	r = 0.06 p = 0.13	r = 0.06 p = 0.11
Coefficient d'apparentement de Loiselle	r = -0.03 p = 0.09	r = -0.03 p = 0.11
Coefficient d'apparentement de Queller & Goodnight	r = 0.05 p = 0.08	r = 0.05 p = 0.05

L'algorithme de GENELAND semble décrire une structure génétique plus fine que la DAPC et les autres méthodes de clustering utilisées pour les femelles. Cependant, les probabilités d'assignation dans ces différents groupes génétiques sont relativement faibles, indiquant un fort brassage génétique entre les divers groupes et donc un signal assez faible soutenant ces 5 unités. De plus, l'une des populations ne contient qu'un seul individu ce qui tend à indiquer que c'est une population factice. Le problème de création de populations

[31] Voir Rousset 2000, Bray & Curtis 1957, Ritland 1996, Wang 2002, Lynch & Ritland 1999, Bowcock et al. 1994, Li et al. 1993, Loiselle et al. 1995, Queller & Goodnight 1989

« fantômes » dans lesquelles aucun individu n'est assigné a été décrit plusieurs fois pour GENELAND (Guillot et al. 2005a,b, Excoffier & Heckel 2006, Coulon et al. 2006). Les zones couvertes par ce type de population peuvent par exemple correspondre à des zones où aucun individu n'a été échantillonné (e.g. Coulon et al. 2006). Dans notre cas, la population vert foncé (Figure 31) couvre des zones peu ou pas échantillonnées et peut donc être un artefact, même si elle n'est pas exactement une population fantôme puisqu'elle contient un individu. Il est important de noter ici que les localisations géographiques utilisées pour les individus correspondent aux localisations « bruitées » des trappes auxquelles les individus sont capturés. Même si les localisations des trappes ont un sens biologique car elles correspondent au barycentre des localisations (GPS et ré-observations) de tous les individus capturés à cette trappe (voir Chapitre 7, Article 1), elles ne représentent pas exactement celles des différents individus mais plutôt la localisation moyenne de tous les individus vivant dans la zone. Cela peut éventuellement brouiller la définition des limites des populations de GENELAND.

3. Investigation du signal historique Nord-Sud détecté chez les femelles (Addendum 2)

3.1. Introduction

Dans les parties précédentes, nous avons mis en évidence une proximité génétique entre les femelles mouflons des unités socio-spatiales nord et sud du Caroux-Espinouse (CE). Une dispersion favorisée entre le nord et le sud semblant peu probable, nous avons émis l'hypothèse que ce signal génétique est une réminiscence historique liée au fait que des individus issus de la population de Cadarache ont été relâchés dans ces deux zones (voir Chapitre 7, Article 1). Afin de vérifier cette hypothèse, avec le concours de l'ONF et du Domaine National de Chambord[32], nous avons échantillonné du matériel biologique issu des populations de Cadarache et de Chambord. Nous avons alors pu génotyper ces individus aux mêmes marqueurs microsatellites que les individus du CE (voir Chapitre 7, Article 1) et mesurer la proximité génétique entre les femelles des différentes unités socio-spatiales et ces populations sources, ainsi que les populations Corses, à l'origine des populations de Cadarache et de Chambord (voir Chapitre 5).

[32] Que nous remercions infiniment pour leur aide, notamment M. Alain Savary et son fils pour les échantillonnages à Cadarache et M. Dominique Odier pour les prélèvements sur les individus chassés à Chambord.

Les marqueurs microsatellites ne sont cependant pas les mieux adaptés à la détection d'un signal génétique historique car, transmis par les deux parents et soumis à la recombinaison, ils sont très variables. Retracer l'histoire des populations peut ainsi être complexe avec ce type de marqueurs. Au contraire, l'ADN mitochondrial, transmis uniquement de la mère au descendant et non recombinant, est beaucoup moins variable et permet de reconstruire plus facilement les généalogies entre populations. Nous avons donc également séquencé des individus de toutes les populations pour un gène mitochondrial (le Cytochrome b, Cytb).

Dans la suite, nous essaierons de retracer l'histoire de la population du CE grâce aux marqueurs microsatellites mais également grâce à l'ADN mitochondrial. Du fait de l'histoire des introductions lors de la création de la population du CE, nous nous attendons plus précisément à ce que les individus des unités-socio spatiales *Sf* et *Nf* soient plus proches de ceux de Cadarache que des autres, alors que les individus du centre de la réserve (*Cf*) sont attendus pour être plus proches de ceux de Chambord, ou bien pour être un mélange de Cadarache et Chambord (voir Article 1). De même, étant donné que Bavella est la population source de Cadarache et de Chambord (voir Partie II, Chapitre 5), nous nous attendons à observer une différenciation génétique plus faible entre Bavella, Cadarache et Chambord qu'entre Cinto et les autres populations. Enfin, du fait de l'origine multiple de la population de Chambord (Partie II, Chapitre 5), nous nous attendons à ce que cette dernière soit différenciée de toutes les autres.

3.2. Matériel et méthodes

Les ADN des individus de toutes les populations ont été extraits suivant le protocole exposé dans l'Article 1, à partir de poils ou de fèces. Le génotypage sur les 16 microsatellites a également été réalisé conformément à ce qui a précédemment été exposé et les données obtenues nous ont permis de réaliser des analyses classiques de génétique des populations (e.g. DAPC [25 composantes principales retenues suite à la validation croisée, voir Article 1], calculs de *Fst*). Nous avons ainsi obtenu les génotypes de 17 individus de Cadarache, 27 individus de Chambord, 96 individus de Cinto et 60 individus de Bavella une fois le jeu de données nettoyé (i.e. contenant seulement les individus avec un minimum de 13 marqueurs génotypés, sans les individus outliers et en ayant conservé un seul individu lorsque des jumeaux ont été identifiés, voir Article 1 pour des détails des méthodes employées). Pour le CE, les tailles d'échantillons sont celles de l'Article 1 (37, 108 et 16 individus pour *Nf*, *Cf* et *Sf*, respectivement).

Pour le séquençage au Cytb, les amplifications du gène ont été réalisées en deux temps pour chaque individu, car le séquençage du fragment entier (1140 pb) n'était pas possible. Nous avons utilisé deux couples d'amorces (Pedrosa et al. 2005), le couple F (5'-CCCCACAAAACCTATCACAAA-3') et R (5'-AGGGAGGTTGGTTGTTCTCC-3') qui englobe le gène entier, et un couple d'amorces internes IN_F (5'-ACCTCCTTTCAGCAATTCCA-3') et IN_R (5'-CCTGTTTCGTGGAGGAAGAG-3'). Les amplifications ont été réalisées dans un volume final de 25µL contenant 10.4µL d'eau, 11.5µL de Mastermix du kit Taq PCR Master Mix de chez Qiagen, 0.5µL de chaque amorce (F et IN_R ou R et IN_F), 0.1µL de DreamTaq polymerase (Thermo Fisher Scientific) et 2µL de la solution d'ADN pour la PCR 1 (F, IN_R) ou 1µL + 1µL d'eau pour la PCR 2 (R, IN_F). Les cycles PCR (Polymerase Chain Reaction) ont consisté en une étape d'activation de 10 minutes à 95°C suivie de 40 cycles composés d'une étape de dénaturation (30 secondes, 95°C), d'une étape d'hybridation (30 secondes, 55°C pour la PCR 1 et 65°C pour la PCR 2) et d'une étape d'élongation (1 minute, 72°C). Après les 40 cycles, une étape finale d'élongation (7 minutes, 72°C) a été réalisée. Une migration sur gel d'agarose à 1% a ensuite été réalisée afin de vérifier le succès d'amplification et les échantillons ont ensuite été envoyés à Biofidal (Vaulx en Velin, France) pour séquençage sur séquenceur capillaire ABI 3730XL. Les électrophorégrammes ont été analysés avec le logiciel CLC Sequence Viewer (Qiagen Bioinformatics). Nous avons ainsi pu identifier l'haplotype porté par 18, 19 et 12 individus respectivement pour les secteurs *Nf*, *Cf* et *Sf* du CE. Nous avons également obtenu 19 séquences de Chambord, 16 de Cadarache, 34 de Cinto et 36 de Bavella. Il est à noter ici que le choix des individus à séquencer au Cyt b a été fait afin de (i) maximiser la répartition spatiale des échantillons et (ii) maximiser les chances de succès (i.e. nous avons favorisés les individus pour lesquels le succès de génotypage sur les microsatellites était le meilleur).

3.3. Résultats

3.3.1. Avec les microsatellites

Dans les populations du CE, de Chambord et de Cadarache, aucun allèle nul n'a été identifié. En revanche, dans la population de Bavella, deux loci (OarHH47 et OarJMP29) ont révélé la présence d'allèles nuls avec une fréquence de 0.11. De même, à Cinto, 5 loci (BM8125, HUJ616, MCM140, OarCP34 et SRCRSP1) présentaient des allèles nuls avec des fréquences significatives: 0.16, 0.10, 0.08, 0.13, 0.13. Nous avons donc réalisé les analyses de génétique des populations en excluant ces marqueurs, portant le nombre de loci inclus dans les analyses à 9.

La DAPC (96.9% de variance expliquée par les 6 fonctions discriminantes retenues et entre 63% et 98% de succès d'assignation) a révélé une proximité génétique importante entre les unités socio-spatiales du CE qui sont plus proches entre elles que des autres populations échantillonnées. Les centres de gravités des groupes *Nf* et *Sf* sont superposés entre eux mais pas avec celui de *Cf*, confirmant la structure génétique précédemment illustrée (Figure 36, Article 1). Ces deux groupes sont également plus proches de la population de Cadarache sur les 2 axes, que ce que ne le sont les individus de l'unité socio-spatiale *Cf*, ce qui correspond à nos attentes (Figure 36). Les populations de mouflons Corses sont plus proches entre elles que des autres populations et sont également plus proches de Cadarache que du CE (Figure 36). Enfin, les individus de Chambord sont quant à eux éloignés de tous les autres.

Pour le CE, les valeurs de *Fst* confirment la plus grande proximité génétique entre les unités socio-spatiale qu'avec les autres populations (Tableau 18). Au contraire de ce que l'on observe sur la DAPC et de nos attentes, les valeurs de *Fst* sont plus élevées entre *Sf*, *Nf* et Cadarache qu'entre *Cf* et Cadarache (Tableau 18). De même, les *Fst* ne confirment pas la proximité génétique des populations Corses entre elles et l'éloignement de Chambord avec les autres populations, les Fst entre Chambord et les autres populations n'étant pas systématiquement les plus élevés (Tableau 18).

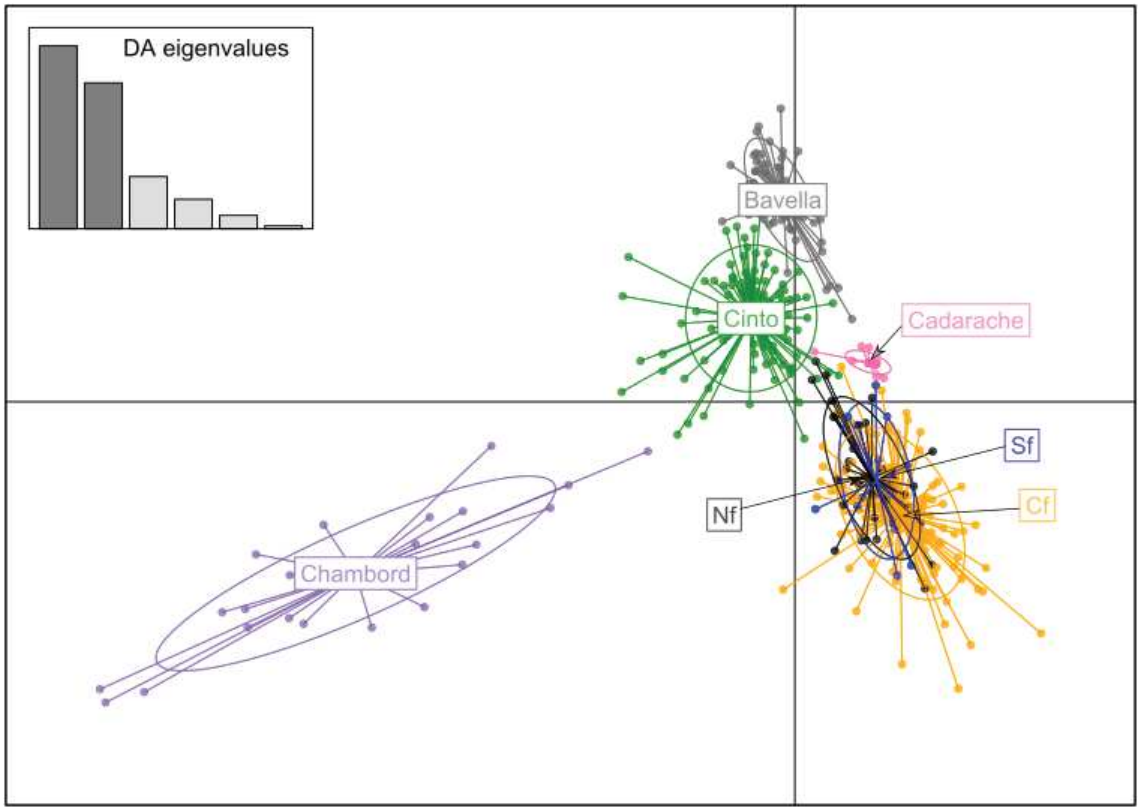

Figure 36: Proximité génétique entre les mouflons échantillonnés dans les populations de Cadarache, du Caroux-Espinouse (Nf, Cf, Sf, respectivement, pour les groupes du nord, centre et sud), de Corse (Bavella et Cinto) et de Chambord, obtenus grâce à une DAPC.

Tableau 18: Fst par paires entre les populations de mouflons du Caroux-Espinouse, de Corse, de Chambord et de Cadarache.

Les valeurs en gras représentent les valeurs significativement différentes de zéro (p-value corrigée pour tests multiples à 5% : 0.0024). Nf, Cf et Sf font référence aux 3 groupes génétiques (Nord, Centre et Sud, respectivement) définis pour les femelles mouflons Méditerranéens du Caroux-Espinouse (voir Chapitre 7, Article 1).

		Chambord	Bavella	Cinto	Caroux[33]		
					Nf	*Cf*	*Sf*
Cadarache		**0.60**	**0.46**	**0.41**	**0.30**	**0.26**	**0.35**
Chambord		-	**0.10**	**0.28**	**0.22**	**0.21**	**0.26**
Bavella			-	**0.22**	**0.23**	**0.20**	**0.27**
Cinto				-	**0.15**	**0.12**	**0.11**
Caroux	*Nf*				-	**0.03**	**0.02**
	Cf					-	0.02

[33] A noter ici : les valeurs pour le Caroux-Espinouse ne sont pas exactement les mêmes que dans l'Article 1 car les calculs n'ont pas été fait sur le même nombre de marqueurs

3.3.2. Avec l'ADN mitochondrial

Quatre haplotypes différents ont été identifiés parmi les différentes séquences obtenues dans la présente étude et ont été numérotés de H001 à H004. Les haplotypes H001, H002 et H003 avaient précédemment été identifiés dans les populations Corses et dans des populations Iraniennes (Rezaei et al. 2010, Guerrini et al. 2015), et l'haplotype H004 dans une population de moutons domestiques tibétains (Liu et al. 2016). Guerrini et al. (2015) rapportent également la présence de 2 haplotypes à Cinto (H005 et H006 ici) que nous n'avons pas retrouvé, malgré une taille d'échantillon supérieure. Entre les différents haplotypes, les différences en termes de nombres de nucléotides sont faibles (Tableau 19).

Tableau 19:Nombre de paires de bases différentes entre 2 haplotypes mitochondriaux identifiés dans la présente étude et dans Guerrini et al. (2015).

Haplotype A	Haplotype B	Nombre de différences (pb)
H001	H002	1
H001	H003	3
H001	H004	4
H001	H005	2
H001	H006	2
H002	H003	2
H002	H004	3
H002	H005	1
H002	H006	1
H003	H004	5
H003	H005	1
H003	H006	3
H004	H005	4
H004	H006	4

Dans la présente étude, nous n'avons identifié qu'un seul haplotype à Bavella et à Cadarache (H001) alors que Guerrini et al. (2015) ont également détecté la présence de l'H002 à Bavella, et que Rezaei et al. (2010) ont identifié la présence d'H003 dans cette même population. A Cinto, nous n'avons trouvé que H002 et H003 alors que Guerrini et al. (2015) ont mis en évidence la présence de H002, H005 et H006, faisant de cette population celle présentant la plus grande diversité haplotypique parmi celles étudiées ici (Figure 37). A Bavella, si l'on inclut les résultats de Guerrini et al. (2015), on observe une très forte proportion d'H001 et une faible proportion d'H002, alors qu'à Cinto, les haplotypes majoritaires sont H002 et H003 (Figure 37). La population de Chambord présente quant à elle une majorité d'H002 mais également l'haplotype H004 que l'on ne retrouve nulle part ailleurs (Figure 37). Au CE, seulement les H001 et H002 sont présents, et en proportions variables

selon les unités socio-spatiales. Dans le groupe *Nf*, l'haplotype majoritaire est effectivement l'H002 alors qu'au centre les proportions entre H001 et H002 sont semblables et qu'au sud (*Sf*) l'H001 est majoritaire (Figure 37).

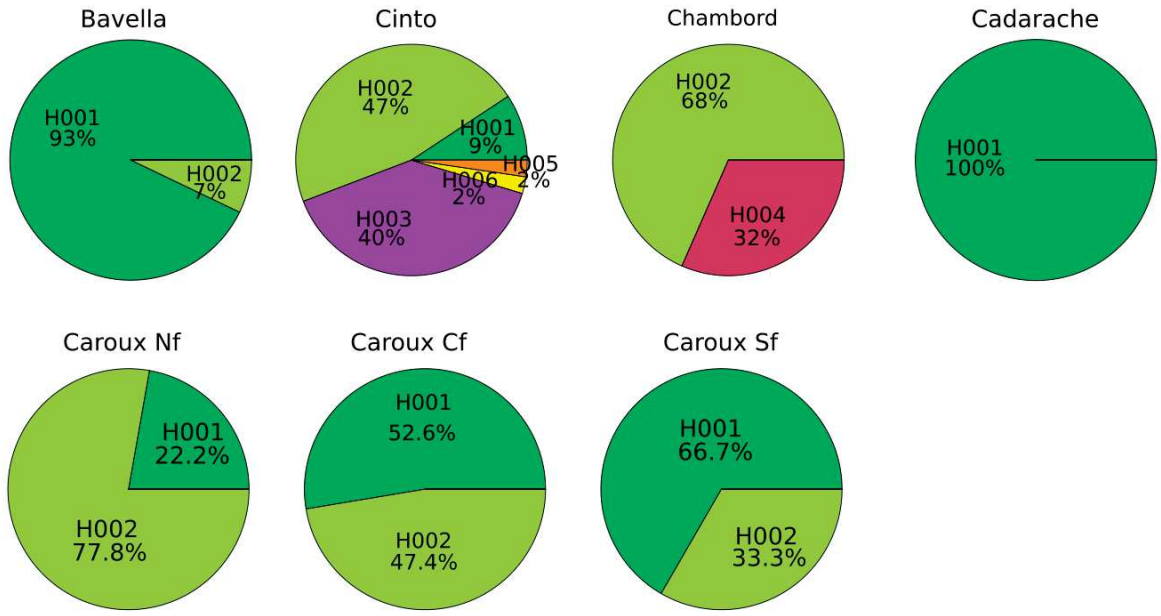

Figure 37: Proportion de chaque haplotype dans chaque population échantillonnée.

Les proportions représentées ici incluent également les résultats de Guerrini et al. 2015.

3.4. Discussion et perspectives

L'objectif principal de la présente étude était de vérifier l'hypothèse du signal historique pour expliquer la structure génétique observée dans le massif du CE. Nous nous attendions donc à observer une plus grande proximité génétique entre *Nf*, *Sf* et Cadarache qu'entre *Cf* et Cadarache. Si la DAPC tendait à confirmer cette hypothèse, l'ADN mitochondrial et les *Fst* calculés sur les microsatellites ne convergent pas vers ce résultat. En effet, dans la population de Cadarache, tous les individus échantillonnés sont porteurs de l'haplotype H001 au gène du Cytb alors qu'au CE, l'H001 est bien majoritaire dans le groupe *Sf* mais pas dans le groupe *Nf*. Au contraire, dans le groupe *Nf*, on retrouve une majorité d'individus portant l'H002 qui est l'haplotype majoritaire à Chambord. Une forte proportion de ce dernier au centre de la réserve (*Cf*) n'est donc pas surprenante puisque les individus de Chambord ont été lâchés au centre (Article 1, Figure 20, Tableau 2).

Dans le CE, on peut distinguer un gradient de proportions des H001 et H002 entre nord et sud rappelant un patron d'isolement par la distance, la zone centrale semblant être un mélange des deux autres zones. L'ADN mitochondrial est transmis aux individus uniquement par la mère et la structure génétique sur ce type de marqueurs est donc dépendante du

comportement des femelles plus que de celui des mâles qui, à l'inverse, joue un rôle important dans la structure génétique sur les marqueurs nucléaires. Les femelles mouflons étant très philopatriques (Dubois et al. 1992, Maublanc et al. 1994; Dupuis et al. 2002), la diffusion de proche en proche des haplotypes est tout à fait envisageable. On pourrait alors imaginer que les individus de Chambord, lâchés au centre, aient plus échangé avec les individus du Nord, l'H002 colonisant ainsi cette zone de la réserve, alors que les individus du sud et du nord ont pu échanger avec le centre, équilibrant les proportions d'H001 et H002. Dans le CE, c'est dans le groupe *Sf* que l'on retrouve la plus grande proportion d'H001, qui est l'haplotype majoritaire à Bavella également. Cela suggère que depuis l'introduction, le matériel génétique n'a pas été fortement modifié. Une dernière explication, au fait que l'on ne retrouve pas le patron historique attendu dans le CE, est qu'ici nous n'avons pas échantillonné la dernière population source du CE (Tchécoslovaquie, voir Chapitre 5) car nous n'avons pas d'informations sur cette population. Ces individus ont été lâchés au nord de la réserve (Pas de la Lauze, Chapitre 5) et, si ces individus étaient porteurs de l'H002 et se sont implantés, il est possible qu'ils aient participé à brouiller le signal génétique d'introduction de Cadarache au nord de la réserve.

Concernant les autres populations, on s'attendait à observer une plus grande proximité génétique entre Bavella, Cadarache et Chambord qu'entre Cinto et ces dernières populations puisque la littérature renseigne le fait qu'elles sont issues de l'introduction d'individus de Bavella (et autres sources pour Chambord, Dubray 1988, Corti et al. 2011, Encadré 2, Chapitre 5, Figure 17). Pour Cadarache, seul l'haplotype H001 semble être présent et cela correspond avec l'haplotype majoritaire de Bavella. La population de Cadarache semble avoir été formée à partir d'un seul couple d'individus et donc la présence d'une seule femelle fondatrice, ce qui correspond avec la présence d'un seul haplotype dans cette population. Pour Chambord, la DAPC montrait une plus grande proximité avec Cinto qu'avec Bavella, et on retrouve à Chambord comme à Cinto, une majorité d'H002. Cependant, la valeur de *Fst* était plus faible entre Chambord et Bavella qu'entre Chambord et Cinto. Il se peut que seuls des individus (bien que minoritaires) portant l'H002 aient été échantillonnés à Bavella afin de constituer la population de Chambord, expliquant l'absence d'H001 à Chambord. Par ailleurs, la présence de l'H004 uniquement à Chambord correspond à l'origine variée de cette population, cette diversité n'ayant pas été échantillonnée lors du lâcher des individus de Chambord au CE.

Enfin, concernant les populations Corses, plusieurs hypothèses peuvent expliquer le patron observé (i.e. haplotypes majoritaires différents). Tout d'abord, même s'il ne peut pas

être exclu que l'H002 est apparu à Bavella suite à une mutation, tout comme l'H001 à Cinto, expliquant les faibles proportions de ces haplotypes dans ces populations, la présence des deux haplotypes dans les deux populations Corses peut également laisser supposer une origine commune de ces deux populations. Les différences d'haplotypes majoritaires peuvent être expliquées par les forts goulots d'étranglement subi par 2 populations (voir Chapitre 5). En effet, la dérive a peut être impacté différemment les fréquences haplotypiques dans les deux populations menant au patron de répartition que l'on observe aujourd'hui. La présence de 3 haplotypes trouvés à Cinto mais pas à Bavella peut également tendre à indiquer que Bavella serait un sous échantillon de Cinto, ou bien que la population de Cinto a été formée à partir d'individus d'origines plus diverses que celle de Bavella, ou encore que le goulot d'étranglement a été beaucoup plus fort à Bavella qu'à Cinto.

L'utilisation des ADN nucléaires et mitochondriaux des différentes populations sources du CE n'a pas permis de complètement confirmer l'hypothèse du signal historique expliquant la proximité génétique des femelles du nord et du sud de la réserve. Cela a en revanche permis de comprendre un peu mieux l'histoire des populations Corses de mouflons, même si de nombreuses questions restent ouvertes. Il est important de noter ici que ces résultats sont préliminaires (réception des données en juillet 2018) et des études supplémentaires en métropole (e.g. CE et Chambord), comme en Corse, seront nécessaires afin de mieux comprendre les différents signaux génétiques détectées. Notamment, il serait intéressant d'augmenter les tailles d'échantillons et de procéder au génotypage et au séquençage d'individus supplémentaires des différentes populations pour confirmer les tendances quantitatives détectées avec l'ADN mitochondrial et pour confirmer les signaux génétiques observés au niveau nucléaire. En effet, à Cadarache et Chambord, les résultats des analyses de génétique des populations réalisées sur 17 et 27 individus peuvent manquer de puissance statistique, expliquant possiblement les résultats contradictoires entre la DAPC et les *Fst*. Par ailleurs, en augmentant les tailles d'échantillons dans le massif du CE, il pourrait être intéressant d'élargir l'échelle spatiale de l'étude en séquençant des individus en dehors de la réserve. Cela nous permettrait d'avoir une vision plus globale et de confirmer les fréquences haplotypiques mises en évidence ici. On peut par exemple imaginer qu'un nombre plus important d'individus soient porteurs de l'H001 au nord du massif mais que ces animaux résident hors de la réserve.

En Corse, malgré un échantillonnage plus important dans cette étude par rapport aux précédentes (Rezaei et al. 2010, Guerrini et al. 2015), nous n'avons pas retrouvé toute la diversité en haplotypes identifiée dans Guerrini et al. (2015). Augmenter les tailles

d'échantillons pourrait donc, ici aussi, constituer une poursuite intéressante de l'étude. De même, afin de comprendre plus précisément l'histoire du mouflon Corse, il serait intéressant de mettre en place une collaboration avec Guerrini et al., et d'intégrer des séquences de mouflons Sardes (*Ovis gmelini musimon var. musimon*) et iraniens (*Ovis orientalis*) dans nos analyses.

4. Comment se structurent génétiquement les populations de mouflons Corses ? (Addendum 3)

Dans le massif du Caroux-Espinouse (CE), nous avons mis en évidence que mâles et femelles se comportaient différemment et que les mâles assuraient plus de flux de gènes que les femelles. Nous avons également mis en évidence que les femelles avaient une structure génétique impactée par leur structure socio-spatiale mais aussi par l'histoire d'introduction de la population. Afin de mieux comprendre le fonctionnement des populations de mouflons, il est intéressant de pouvoir étudier la structure génétique dans plusieurs populations. Nous allons, pour cela, compléter les résultats obtenus sur le CE en se focalisant sur les 2 populations de Corse. Nous avons vu dans la partie précédente que la différenciation génétique entre Bavella et Cinto était forte ($Fst \approx 0.22$ et 11 allèles privés), mais comment cela se passe-t-il à l'échelle intra-populationnelle ? Comment se font les flux de gènes entre les individus ? Comment s'organisent les populations dans les grands massifs montagneux qu'elles occupent ? Les mâles et les femelles ont-ils le même comportement ? Les flux de gènes se font-ils de manière identique dans les deux sexes ?[34]

Avoir un premier aperçu de la structure génétique spatiale des populations de Corse pourra nous permettre de commencer à répondre à ces questions et d'identifier des éléments structurants pour ces animaux chez qui aucune étude de génétique des populations n'a encore été menée. Les populations de Bavella et Cinto occupent une aire de répartition bien supérieure à celle de la réserve du CE[35] et on peut ainsi s'attendre à ce que les éléments structurant ces populations soient différents de ceux précédemment identifiés.

[34] Nous utiliserons ici les données microsatellites précédemment utilisées (Addendum 2) pour étudier la structure génétique spatiale des populations de Corse.

[35] Pour rappel, les populations Corses occupent une aire de répartition bien supérieure à celle occupée par les mouflons Méditerranéens de la réserve du Caroux-Espinouse (53 000 ha pour Cinto et 29 800 ha pour Bavella contre 20 000 ha au Caroux-Espinouse et 1 700 ha dans la réserve où les études ont été menées jusque-là (voir Chapitre 5).

4.1. Bavella

Dans la population de Bavella, deux loci ont montré la présence d'allèles nuls (voir Chapitre 7, 3) et ont donc été retirés du jeu de données. Les analyses présentées ici reposent donc sur 14 loci. Concernant la diversité génétique, la population considérée dans son entièreté présente un *Fis* de 0.060 significativement différent de zéro. La richesse allélique (RA) moyenne est assez basse (2.75), deux loci sont monomorphes et la plupart des loci ont une RA aux alentours de 3. Les hétérozygoties observée et attendue moyennes sont de 0.4.

Nous avons dans un premier temps réalisé une DAPC (Kmax = 10, 10 composantes principales retenues) afin de déterminer le nombre le plus probable de groupes génétiques dans la population au sein de chaque sexe. Les analyses sont basées sur 23 femelles et 31 mâles[36]. Pour les femelles comme les mâles, la DAPC indique un nombre optimal de 2 clusters (Figure 38). Dans ces 2 clusters, pour chaque sexe, les succès d'assignation sont de 100% et pour les femelles, le pourcentage de variance expliqué par la fonction discriminante retenue est de 69.6% contre 87.1% pour les mâles. Pour les femelles, les probabilités d'assignation varient de 0.94 à 0.99 et pour les mâles, aucun individu ne présente une probabilité d'assignation inférieure à 0.99.

Lorsque l'on représente les assignations sur une carte, on retrouve une structure génétique spatiale similaire entre mâles et femelles, les individus se divisant en un groupe majoritairement localisé au nord du massif (bleu clair pour mâles et femelles, Figure 39) et un autre au sud (bleu foncé pour les 2 sexes, Figure 39). On retrouve néanmoins deux femelles assignées dans le groupe le plus au nord mais localisées au sud et quelques mâles assignés au groupe « nord » également localisés au sein du groupe « sud ». La différenciation génétique est très élevée entre les 2 groupes pour les 2 sexes (*Fst* = 0.189 pour les femelles et 0.147 pour les mâles).

[36] A noter ici : dans la partie précédente (Chapitre 7, Addendum 2), nous avions 60 individus alors qu'ici 23 femelles et 31 mâles ont été considérés dans les analyses. Cela est dû au fait que nous ne connaissions pas le sexe de 6 des individus échantillonnés.

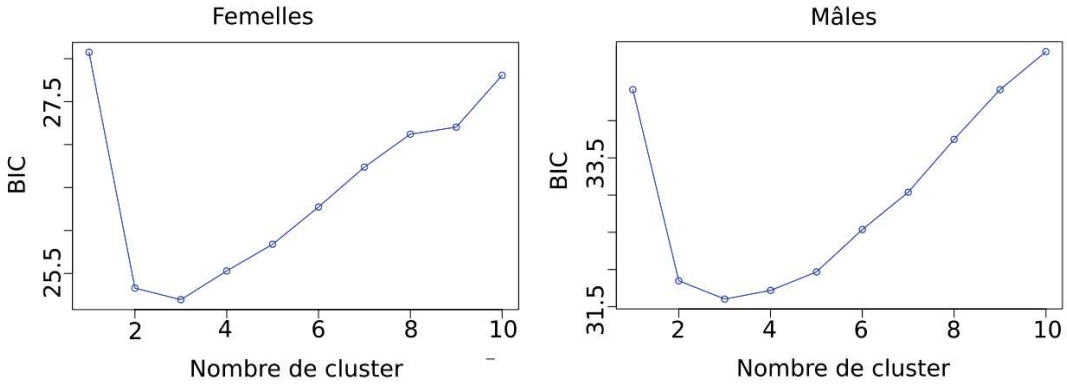

Figure 38: Valeurs de BIC obtenues avec la DAPC pour les femelles et les mâles de la population de Bavella.

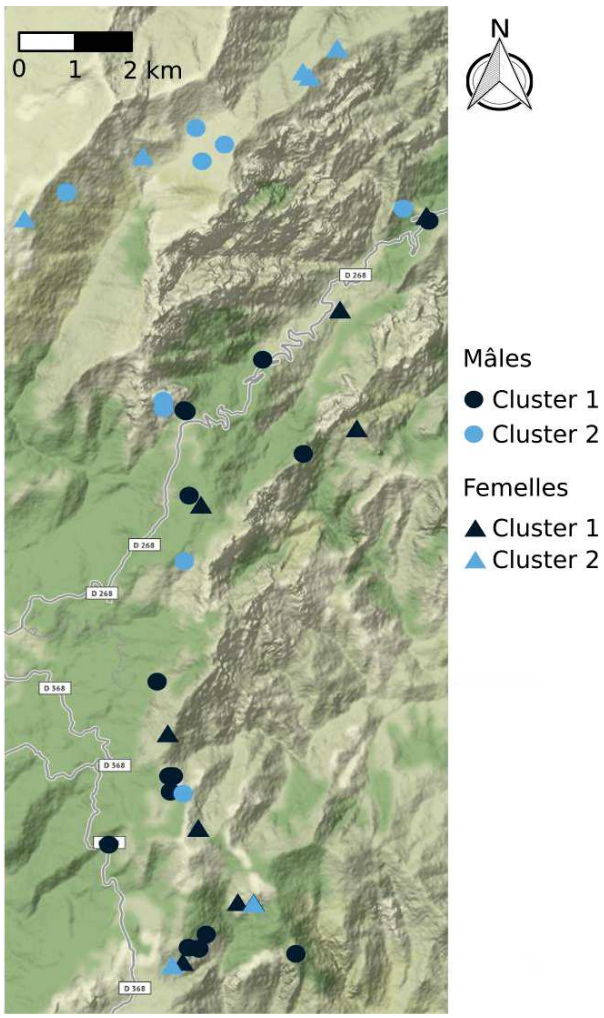

Figure 39: Assignations des mâles et femelles dans leurs clusters génétiques tels qu'inférés par la DAPC dans la population de Bavella.

Le niveau de gris représente l'altitude dans le massif (blanc, basse altitude (minimum 4m), noir, haute altitude (maximum 1718m)).

La structure génétique au sein de la population de Bavella ne semble donc pas varier en fonction du sexe. C'est pourquoi, afin de gagner en puissance statistique (augmentation de la taille d'échantillon) dans la suite, nous regrouperons mâles et femelles (obtenant un total de 60 individus : 23 femelles, 31 mâles et 6 individus au sexe non identifié). En refaisant une DAPC sur tous les individus on obtient également un nombre de cluster optimal de deux et exactement les mêmes assignations entre les deux clusters que lorsque mâles et femelles étaient analysés indépendamment (98% de succès d'assignation et 81.3% de variance expliquée). Dans les deux clusters (21 et 39 individus), les probabilités d'assignation étaient toutes supérieures à 0.99, excepté pour un individu dans le second cluster qui avait une probabilité d'assignation de 0.76.

Le *Fst* entre les deux groupes, une fois tous les individus groupés, est de 0.170 (significativement différent de zéro) et il y a 8 allèles privés, confirmant un taux d'échanges génétiques très bas entre les deux groupes. Lorsque l'on recalcule les indices de diversité génétique au sein de chaque cluster, on observe que les *Fis* (-0.04 et -0.06 pour les deux groupes) ne sont plus significativement différents de zéro, indiquant que la significativité du *Fis* dans la population considérée entière était due à la présence de sous-structuration génétique. Par ailleurs, les valeurs de richesses alléliques et d'hétérozygoties sont équivalentes aux valeurs obtenues lorsque l'on considérait la population entière et également similaires entre les 2 sous-populations (2.5 et 2.3 pour les richesses alléliques, 0.40 et 0.32 pour les hétérozygoties attendues).

Nous avons également réalisé le clustering avec les logiciels STRUCTURE (Kmax = 5, 1 000 000 d'itération et 300 000 de burn-in) et SNAPCLUST et les mêmes assignations qu'avec la DAPC ont été obtenues. Pour STRUCTURE, les probabilités d'assignation variaient entre 0.80 et 0.99 pour le premier cluster (21 individus, avec seulement 3 individus ayant une probabilité d'assignation inférieure à 0.90) et entre 0.59 et 0.99 pour le second (39 individus, avec seulement 1 individu ayant une probabilité d'assignation inférieure à 0.90). Pour SNAPCLUST, les probabilités d'assignation variaient entre 0.82 et 0.99 pour le premier cluster (21 individus, avec seulement 1 individu ayant une probabilité d'assignation inférieure à 0.90) et entre 0.96 et 0.99 pour le second (39 individus).

Enfin, afin de confirmer cette structure nord-sud, nous avons appliqué les méthodes spatialement explicites. La sPCA (paramétrée de la même manière que dans l'Article 1) a révélé une structure globale significative ($p = 0.0001$), mais pas de structure locale ($p = 0.87$). Le premier axe tenait compte d'une grande partie de la variance et de l'auto-corrélation spatiale ($I = 0.39$, var = 1.95) et la première valeur propre était égale à 0.19, alors que les

suivantes étaient inférieures à 0.1. La sPCA révèle, comme la DAPC et les autres méthodes de clustering, une structure nord-sud (Figure 40A). GENELAND (Kmax = 15, 10 jeux de simulations avec 1 500 000 itérations et 10 000 itérations de burn-in) confirme également la présence de deux clusters génétiques (les 10 jeux de simulations indiquent K = 2 comme valeur optimale) et le patron nord-sud précédemment identifié (Figure 40B). Les probabilités d'assignation inférées par GENELAND sont, comme observé avec les autres méthodes, très élevées (entre 0.98 et 1 et 0.99 et 1 pour les deux clusters).

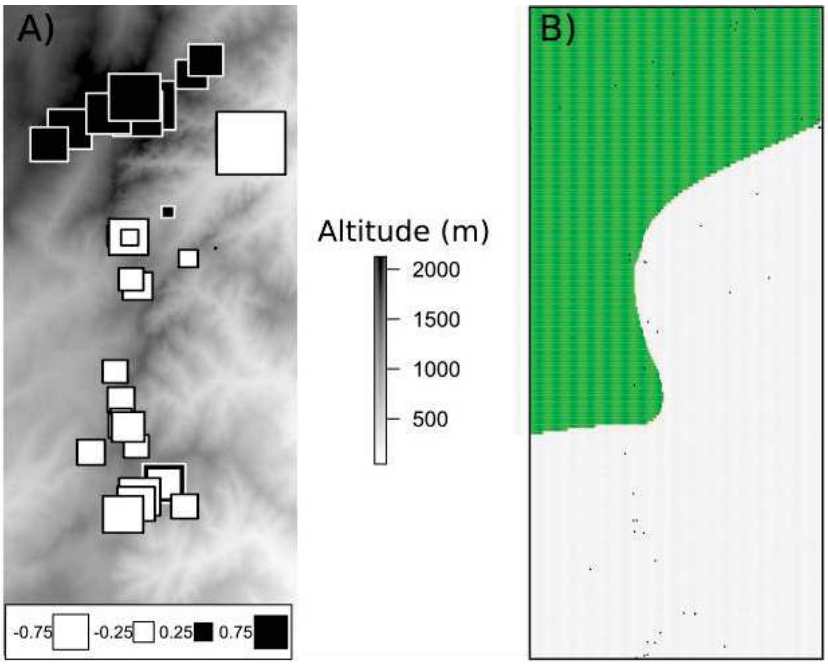

Figure 40: Carte géographique des scores de la sPCA sur le premier axe global (A) et probabilités postérieures d'assignation inférées par GENELAND pour K = 2 (B) pour les mouflons de la population de Bavella en Corse.

Sur le panel A, le niveau de gris représente l'altitude dans le massif.

4.2. Cinto

Dans la population de Cinto, 5 loci (voir Chapitre 7, 3) ont montré la présence d'allèles nuls et ont donc été retirés du jeu de données (11 loci inclus dans les analyses). Comme pour Bavella, lorsque l'on considère la population dans son entièreté, le *Fis* de 0.05 est significativement différent de zéro. La richesse allélique (RA) moyenne est basse (2.99) et un locus est monomorphe. Les hétérozygoties observée et attendue moyennes sont de 0.44 et 0.46, respectivement.

Les DAPC (Kmax = 10, 10 composantes principales retenues), réalisées chez les femelles (51 individus) et chez les mâles (38 individus), ont révélé la présence de deux

clusters génétiques pour chacun des sexes (18 individus dans le premier groupe et 33 dans le second, Figure 41). Pour les femelles, les probabilités d'assignation dans chacun des 2 clusters varient de 0.88 à 0.99 et les succès d'assignation sont de 100%. Pour les mâles, les probabilités d'assignation varient de 0.92 à 0.99 et les succès d'assignation sont de 100%. Pour les femelles, le pourcentage de variance expliqué par la fonction discriminante retenue est de 83.1% contre 87.1 pour les mâles.

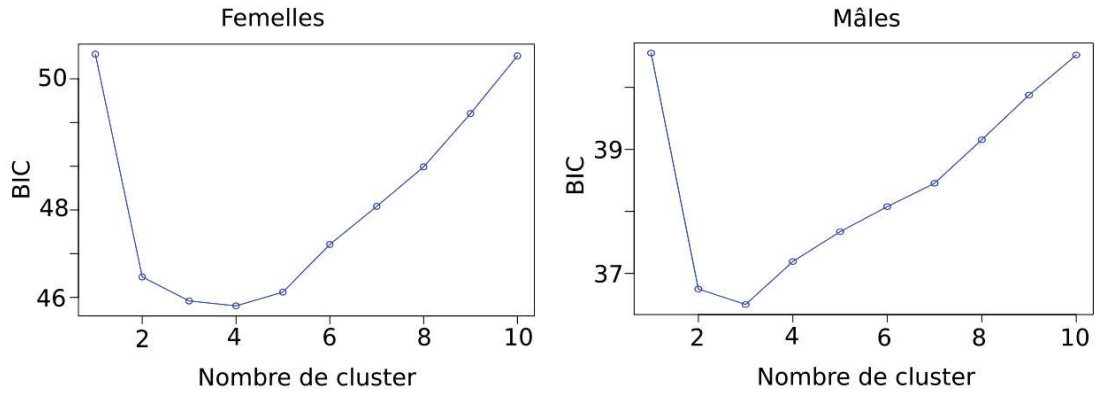

Figure 41: Valeurs de BIC obtenues avec la DAPC pour les femelles et les mâles de la population de mouflons de Cinto.

Lorsque l'on représente les assignations sur une carte, on peut voir que, comme à Bavella, mâles et femelles ont une structure génétique spatiale similaire, les individus se divisant en un groupe localisé au nord du massif (bleu clair pour mâles et femelles, Figure 42) et un groupe au sud (bleu foncé pour les 2 sexes, Figure 42). On retrouve quelques individus des deux sexes assignés dans un groupe mais géolocalisés au sein de l'autre. La différenciation génétique est ici aussi très élevée entre les 2 groupes pour les 2 sexes (*Fst* = 0.148 pour les femelles et 0.147 pour les mâles).

Compte tenu de la similitude des structures génétiques mâle et femelle, nous avons regroupé tous les individus pour la suite des analyses (96 individus dont 51 femelles, 38 mâles et 7 individus au sexe non identifié). La DAPC, sur le jeu de données complet révèle 2 clusters (41 et 55 individus, 100% de succès d'assignation et 80.3% de variance expliquée) dans lesquels les probabilités d'assignation varient de 0.81 à 0.99 pour le groupe 1 (un seul individu en dessous de 0.90) et de 0.64 à 0.99 pour le groupe 2 (5 individus en dessous de 0.90).

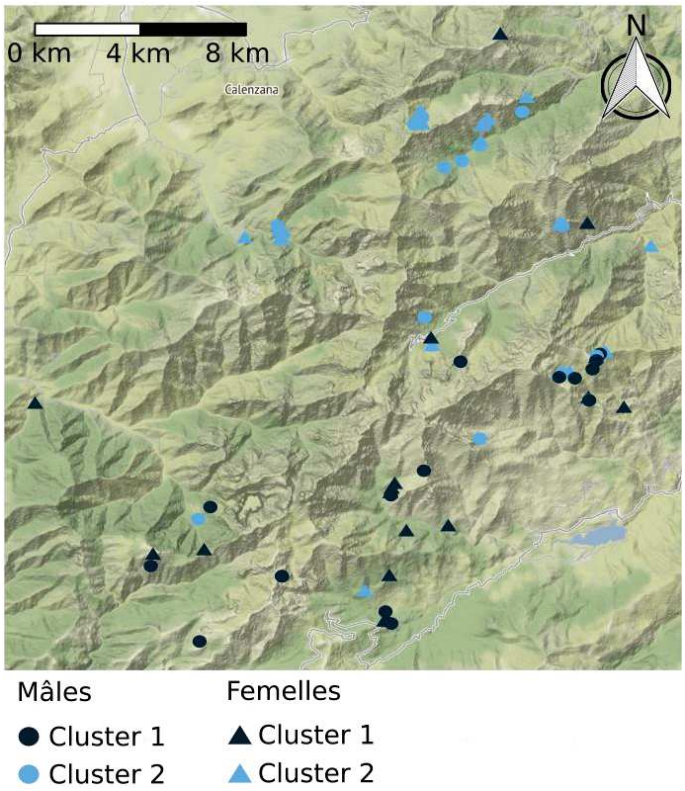

Figure 42: Assignations des mâles et femelles dans leurs clusters génétiques tels qu'inférés par la DAPC dans la population de mouflons de Cinto.

Le niveau de gris représente l'altitude dans le massif (blanc, basse altitude (minimum 0 m), noir, haute altitude (maximum 2082 m)).

Le *Fst* entre les groupes nord et sud est de 0.144 (significativement différent de zéro) et il y a 3 allèles privés. Comme précédemment, les *Fis* par clusters (-0.080 et 0.018) ne sont plus différents de zéro. Les richesses alléliques par cluster sont de 2.8 et 2.7 et les hétérozygoties attendues sont de 0.47 et 0.40. Comme pour Bavella, STRUCTURE et SNAPCLUST confirment la présence de 2 clusters génétiques et le patron nord-sud. Les clusters créés par SNAPCLUST sont identiques à ceux créés par la DAPC et les probabilités d'assignation varient de 0.75 à 0.99 (6 individus < 0.90) et de 0.73 à 0.99 (8 individus < 0.90). Les clusters constitués par STRUCTURE sont quant à eux légèrement différents de ceux constitués par la DAPC puisqu'ils contiennent 38 et 58 individus, les probabilités d'assignation variant de 0.66 à 0.98 (12 individus < 0.90) et de 0.58 à 0.98 (19 individus < 0.90) au sein de ces groupes.

Enfin, la sPCA a révélé une structure globale significative (p = 0.002) mais pas de structure locale (p = 0.31). Le premier axe tenait compte de la majeure partie de la variance et de l'auto-correlation spatiale (I = 0.49, var = 2.22). La première valeur propre était égale à 0.27 alors que les suivantes étaient inférieures à 0.07. Cette structure globale correspond à la

structure nord-sud précédemment observée (Figure 43A). GENELAND a quant à lui révélé la présence de 3 clusters génétiques (les 10 jeux de simulation indiquent K = 3) constitués de 24, 16 et 35 individus et dans lesquels les probabilités d'assignation varient de 0.54 à 0.69, de 0.43 à 0.47 et de 0.47 à 0.51. Les clusters génétiques révélés par GENELAND sont cohérents géographiquement (Figure 43B) mais présentent des probabilités d'assignation assez basses.

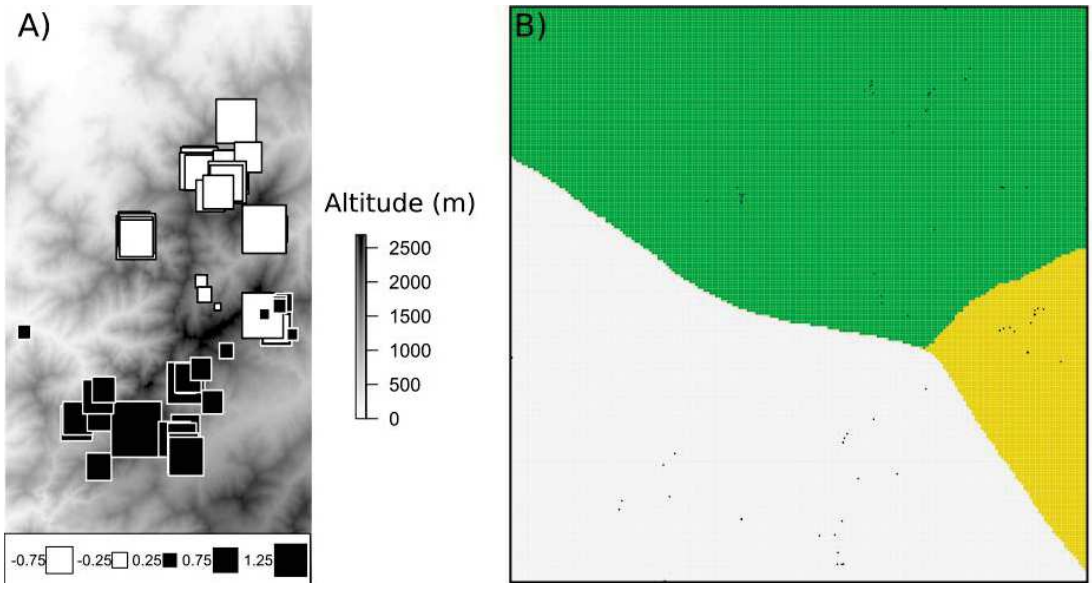

Figure 43: Carte géographique des scores de la sPCA sur le premier axe global (A) et probabilités postérieures d'assignation inférées par GENELAND pour K = 3 (B) pour les mouflons de la population de Cinto en Corse.

Sur le panel A, le niveau de gris représente l'altitude dans le massif.

4.3. Conclusions

L'un des premiers éléments mis en évidence par cette étude est la présence d'une diversité génétique relativement faible comparée, par exemple, à celle observée dans le massif du Caroux-Espinouse (CE). Les deux populations de Bavella et Cinto semblent avoir subi d'importants goulots d'étranglements (voir Chapitre 5) qui peuvent expliquer que la diversité génétique soit limitée. Ensuite, contrairement à ce que nous avons pu observer dans le CE, en Corse, les structures génétiques sont similaires entre les mâles et les femelles. A l'échelle spatiale à laquelle la présente étude a été réalisée, il semblerait que nous ne distinguions pas de différences comportementales entre mâles et femelles. Il est possible que, contrairement à ce que l'on observe dans le CE, les mâles et les femelles aient des comportement similaires en Corse. Cela serait néanmoins étonnant aux vues de ce que l'on sait des autres espèces de mouflons (Chapitre 4). Donc, bien que les mouflons Corses puissent se comporter différemment de ceux du CE (e.g. migration saisonnière, Marchand 2015, Sanchis 2018), une

autre explication peut être que nous n'avons pas travaillé à une échelle spatiale suffisamment fine pour détecter ces différences de structure. En effet, l'importante différenciation génétique existant entre les groupes génétique nord et sud peut masquer des structures plus fines qui pourraient exister au sein de chaque groupe. Mener des études de génétique des populations à l'intérieur de chaque groupe permettrait de vérifier si mâles et femelles ont des structures génétique différentes. Pour cela, il sera néanmoins nécessaire d'augmenter les tailles d'échantillons dans les deux groupes afin de ne pas manquer de puissance statistique.

La structure nord-sud mise en évidence dans les deux populations Corses a été identifiée par différentes méthodes indiquant un signal génétique très fort. A Cinto, cette structure nord-sud est également observée avec l'ADN mitochondrial (Figure 44). Dans cette population, GENELAND reconstruit, au contraire des autres méthodes, trois groupes génétiques, ce qui semble indiquer qu'il existe une structure génétique plus fine que ce que les autres méthodes retranscrivent. Que l'on considère deux ou trois groupes génétique, il semblerait que les individus se répartissent en fonction du relief dans cette population. La chaine montagneuse du Monte Cinto semble en effet séparer les 2 groupes principaux identifiés par toutes les méthodes employées, bien que quelques individus semblent l'avoir traversé. Le troisième groupe créé par GENELAND est quant à lui séparé des autres par le « Capu a u Verdatu » culminant à 2583m. Afin de confirmer l'existence d'un niveau de structure génétique inférieur à celui scindant la population en deux, il serait intéressant de réaliser les analyses de clustering au sein de chaque groupe identifié ici. A Bavella, la limite de population dessinée par GENELAND (et visible également sur les autres résultats d'analyse) sépare la zone montagneuse dans laquelle se situent les aiguilles de Bavella, de la zone comprenant les aiguilles « d'Urnucciu et la Punta di Ferriate », suivant la seule route du secteur (départementale 268). Cette route longe la vallée séparant les 2 zones montagneuses précitées et il se peut donc que la route comme la vallée bloquent les flux de gènes entre les 2 groupes génétiques identifiés. Les structures linéaires ont des effets sur les mouvements des individus du CE (Marchand et al. 2017a) et il est possible que ce type d'élément paysager bloque les flux de gènes à Cinto et Bavella.

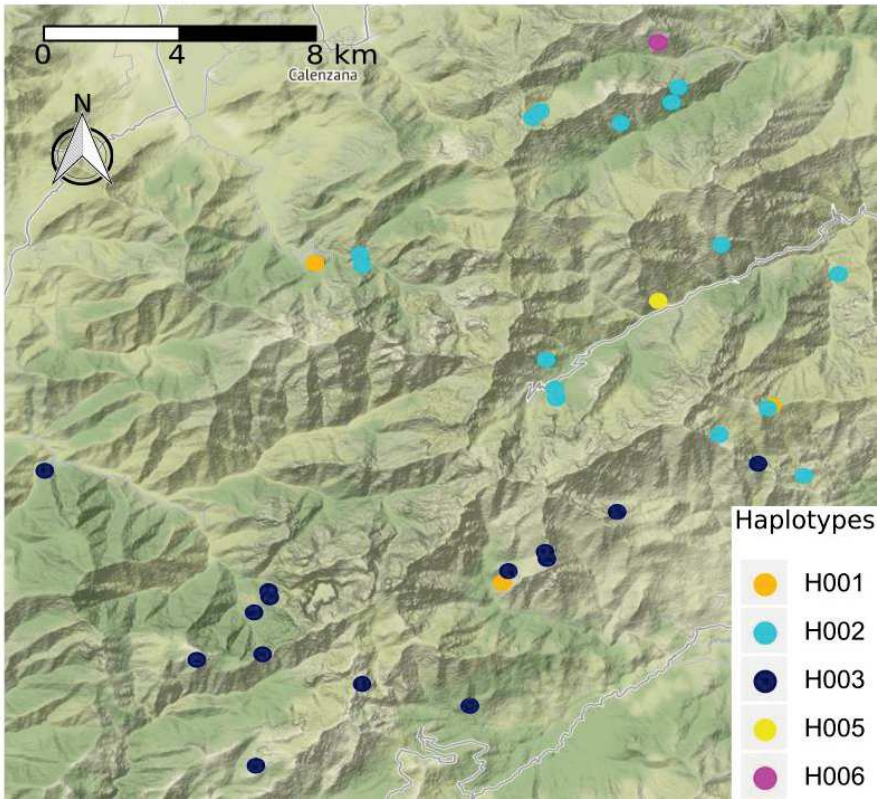

Figure 44:Répartition géographique des haplotypes du Cytb identifiés dans la population de Cinto en Corse.
Le niveau de gris représente l'altitude dans le massif (blanc, basse altitude (minimum 0 m), noir, haute altitude (maximum 2082 m)).

Dans le massif du Caroux-Espinouse, les facteurs structurant la population étaient la structure socio-spatiale et l'histoire d'introduction. Etant donné l'échelle à laquelle les populations Corses ont été étudiées, le fait qu'il n'y est pas de différences mâles-femelles et la forte différenciation génétique observée entre les groupes, il est peu probable que la structure socio-spatiale soit responsable des patrons observés à Cinto et Bavella. En revanche, l'histoire d'introduction peut être un élément important. Même si nous n'avons pas d'information sur l'introduction du mouflon en Corse qui a eu lieu à une époque trop ancienne pour cela, on peut envisager le fait que des individus aient été « lâchés » (ou « laissés », voir Chapitre 4) de chaque côté de la chaine de montagne du Monte Cinto, ou bien de la vallée séparant les 2 zones montagneuses de Bavella, créant ainsi deux sous-populations initiales dans chaque population Corse. En appliquant les mêmes méthodes d'analyses qu'au CE à une échelle spatiale différente, nous avons révélé qu'il pouvait exister différents niveaux de strucutre génétique dans les populations de mouflons et nous avons identifié certains éléments structurant les populations de mouflons Corses. Etant donné la fine échelle spatiale à laquelle la population du CE est structurée (≈ 1700 ha), il est important que la suite de ces travaux vise

à étudier la structure génétique au sein des différents groupes identifiés ici pour déterminer quels éléments impactent les flux de gènes chez le mouflon Corse à échelle spatiale plus fine.

Comme nous avons pu le voir dans la première partie de ce manuscrit (Chapitre 1), le paysage peut être un facteur déterminant des taux d'échanges génétiques entre les sous-populations. Afin de vérifier l'effet des routes, des lignes de crêtes et autres éléments paysagers sur les flux de gènes chez le mouflon, dans la suite, nous utiliserons la génétique du paysage (voir Chapitre 1, Encadré 2) pour mesurer la connectivité fonctionnelle des différents massifs étudiés. Au CE, si la structure génétique est encore déterminée par l'histoire d'introduction, le paysage, en réduisant les flux de gènes entre les différentes unités socio-spatiales, peut avoir participé au maintien de ce signal génétique historique. A Cinto et Bavella, le paysage peut être responsable de la subdivision en deux sous-populations.

Chapitre 8

Impacts du paysage sur les flux de gènes

1. Génétique du paysage et écologie comportementale s'accordent, apportant de nouvelles connaissances sur la connectivité fonctionnelle chez le mouflon Méditerranéen (Article 2).

Abstract.

Context In natural populations, gene flow often represents a key factor in determining and maintaining genetic diversity. In a worldwide context of habitat fragmentation, assessing the relative contribution of landscape features to gene flow thus appears crucial for sustainable management of species.

Objective We addressed this issue in Mediterranean mouflon (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.) by combining previous knowledge on behavioral ecology with landscape genetics. We also assessed how sex-specific behavioral differences translated in term of functional connectivity in both sexes.

Methods We relied on 239 individuals genotyped at 16 microsatellite markers. We applied a model optimization approach in a causal modeling framework of landscape genetics to test for the effects on gene flow of habitat types and linear landscape features previously identified as important for movements and habitat selection in both sexes. Five resistance values were alternately assigned to these landscape characteristics leading to a comprehensive set of resistance surfaces.

Results Isolation by resistance shaped female gene flow, supporting the central role of linear landscape features as behavioral barriers for animal movements. Conversely, no isolation by resistance was detected in males. Although a lack of statistical power cannot be discarded to explain this result, it tended to confirm that males are less influenced by landscape structures during the mating period.

Conclusions Combining previous knowledge on behavioral ecology with results from landscape genetics was decisive in assessing functional landscape connectivity in both sexes. These results highlighted the need to perform sex-specific studies for management and conservation of dimorphic species.

Keywords. Causal modelling, *Ovis*, functional landscape connectivity, landscape genetics, mammals, Mediterranean mouflon

Elodie Portanier, Jeremy Larroque, Mathieu Garel, Pascal Marchand, Daniel Maillard, Gilles Bourgoin, Sébastien Devillard. Landscape genetics matches with behavioral ecology and brings new insight on the functional connectivity in Mediterranean mouflon. *Landscape Ecology, Vol 33, Issue 7, pp. 1069-1085. DOI: https://doi.org/10.1007/s10980-018-0650-z*.

1.1. Introduction

Animal movements are linked to various fundamental biological processes (e.g. foraging, dispersal, mating, Zeller *et al*. 2012) and determine in turn individual performance, gene flow and population dynamics. At the inter- (e.g. metapopulations, *sensu* Moilanen & Hanski 1998) as well as at the intra-population scale, maintaining connectivity between demes, habitat patches and individuals makes it possible to avoid strong impacts from stochastic processes (demographic, environmental and genetic) and thus extinction vortices (Crooks & Sanjayan 2006). Among the different elements that can impact and influence individual movements, landscape plays a crucial role (e.g. Harris & Reed 2002, Cozzi *et al.* 2013, Zimmerman *et al.* 2014, Seidler *et al.* 2014). Understanding the potential impact of landscape on animal movements and its consequences on individual performance, gene flow and population dynamics is thus of primary importance for conservation and sustainable management of many species and populations in the current context of habitat loss and fragmentation (Lande 1998, Fahrig 2003).

Landscape impacts on movements depend on several factors (e.g. landscape composition, structure) and among them, a fundamental element is landscape connectivity. Landscape connectivity was originally defined as "the degree to which the landscape facilitates or impedes movement among resource patches" (Taylor *et al.* 1993). More recently, landscape ecologists have asserted that there are actually two fundamental types of connectivity: structural and functional. Structural connectivity refers only to physical characteristics of landscapes, while functional connectivity considers the behavioral responses of organisms to this physical landscape structure (Taylor *et al.* 2006, Baguette & Van Dyck 2007). Indeed, physically connected habitats are not necessarily functionally connected and *vice versa* (e.g. unused corridors, Taylor *et al.* 2006, Imong *et al.* 2014). Landscape functional connectivity can vary between species, classes of individuals and individuals, since their behaviors and movements can be drastically different. For instance, in polygynous mammal species, males and females may exhibit very different dispersal movements (natal or reproductive) (Greenwood 1980 but see Clutton-Brock & Lukas 2012) resulting in different functional landscape connectivity values between sexes (e.g. Larroque *et al.* 2016b). Accordingly, in conservation and management problematics, studies on landscape impacts on movement must consider the functional connectivity of landscape for individual classes (e.g. sex).

Assessing functional landscape connectivity is commonly achieved by identifying "permeable" landscape elements that favor movement and "resistant" elements that impede it

(Ray *et al.* 2002, Panzacchi *et al.* 2016, Beyer *et al.* 2016). The costs of moving across different landscape elements are assessed based on biological data to establish resistance surfaces (Zeller *et al.* 2012, 2016). Among the different biological data types that can be used to estimate the resistance of each landscape element (see Zeller *et al.* 2012 for a review), genetic data makes it possible to focus on estimating the resistance imposed by the landscape on gene flow. The study of gene flow is of primary concern for populations, since genetic diversity has implications for population adaptability and viability, and hence conservation (Frankham *et al.* 2004, Segelbacher *et al.* 2010). Due to the increasing need for landscape connectivity assessment and restoration, the landscape genetics approach, combining population genetics, landscape ecology and spatial statistics (Manel *et al.* 2003) and enabling the direct measurement of functional connectivity in landscapes, has become a central topic for researchers (Richardson *et al.* 2016). Unlike classic population genetics, landscape genetics explicitly account for landscape resistance to movements and a common approach is to relate genetic distances between individuals, groups or populations to distances that account for landscape resistance to movements (e.g. least-cost distances). Based on this framework, the impacts of landscape elements on gene flow have been illustrated in different species (e.g. Coulon *et a*l. 2004 in roe deer (*Capreolus capreolus*), Cushman *et al.* 2006 in black bear (*Ursus americanus*), Larroque *et al*. 2016a in European pine marten (*Martes martes*), Barros *et al.* 2016 in Egyptian mongoose (*Herpestes ichneumon*), Olah *et al.* 2017 in scarlet macaws (*Ara macao*)).

A commonly used approach for obtaining a final resistance surface best describing resistance of landscape to gene flow is to define several alternative resistance surfaces and then determine which one best explains the spatial pattern of genetic variation observed ("Two-stage empirical approach", see Zeller *et al.* 2012). The definition of such alternative resistance surfaces requires defining (i) the landscape characteristics and elements to consider (e.g. those impacting movements) and (ii) the resistance values for each of these landscape elements. The development of GPS monitoring, which enables the recording of fine-scale data on animal movements (Nathan *et al.* 2008) provides a unique opportunity to shed light on the two previous points by objectively quantifying the most important factors influencing movements (e.g. habitat suitability/selection or step selection studies). Nonetheless, since they do not focus on dispersal only, habitat suitability or preferences are not systematically related to landscape resistance on gene flow (e.g. Wasserman *et al*. 2010, Reding *et al*. 2013, Mateo-Sanchez *et al*. 2015, Roffler *et al*. 2016, Keeley *et al.* 2017) and as such might not be the most suitable way to define landscape element resistance values. As an alternative to approaches using *a priori* information, approaches making no *a priori* on resistance values are promising.

However, testing every possible combination of resistance values for each of the landscape elements considered exponentially increases the number of resistance surfaces to test and concurrently the computation time. So far, and to our knowledge, few studies have used these approaches and tested all possible combinations of resistance values of all environmental parameters (but see Larroque *et al.* 2016a, b).

Numerous landscape elements, such as linear landscape features (e.g. Kuehn *et al*. 2007, Hepenstrick *et al.* 2012, Robinson *et al.* 2012, Parks *et al*. 2015, Wilson *et al.* 2015) or habitat types and topography (e.g. Epps *et al.* 2007, Perez-Espona *et al*. 2008, Shirk *et al.* 2010, Robinson *et al*. 2012, Parks *et al.* 2015, Roffler *et al.* 2016, Gubili *et al.* 2017, Creech *et al*. 2017) have been shown to influence gene flow in large herbivores and wild sheep. Elevation has even been found to shape genetic diversity and extinction risks in desert bighorn sheep (*Ovis Canadensis nelson*) (Epps *et al.* 2004, 2006) supporting the idea that studying impacts of landscape on gene flow in wild sheep could be particularly relevant in this group of species for which multiple conservation (e.g. Corsican mouflon populations, Shackleton & IUCN/SSC Caprinae Specialist Group 1997, Cypriot mouflon, (*Ovis orientalis ophion*), Valdez 2008) and management purposes exist (e.g. trophy hunting; Harris & Pletscher 2002, Hofer 2002; detrimental effects on native animal and plant species Chapuis *et al.* 1994, Nogales *et al*. 2006, Bertolino *et al.* 2009). Here, we proposed to gain better knowledge on functional connectivity in these species by studying, in a population of Mediterranean mouflon (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.), the impacts on gene flow of several landscape characteristics known to influence habitat selection and animal movements. In the studied population, animals have been shown to have marked habitat preferences determined by land cover and topography all year round, with marked differences between sexes (Marchand *et al.* 2015b). Additionally, natural and anthropogenic linear landscape features acted as behavioral barriers and influenced movements and home-range selection of individuals (Marchand *et al.* 2017a). Accordingly, we evaluated the impacts on genetic differentiation in the study population of the linear landscape features and land-cover classes known to impact habitat selection and movements. We expected sex-specific effects of landscape elements on gene flow, in accordance with the sex-specific space-use observed in this dimorphic species exhibiting strong sexual segregation (Ruckstuhl & Neuhaus 2006, Marchand *et al.* 2015b, 2017a, Bourgoin *et al.* 2018). More specifically, male gene flow should be much less impacted by landscape features than female, as gene flow is thought to be mostly insured by male reproductive dispersal in this population (reproductive excursions, Marchand *et al*. unpublished data, Portanier *et al*. 2017) in which females are philopatric (Dubois *et al.* 1992, 1994, Dupuis *et al*. 2002) and natal dispersal would be limited in males

(Dubois *et al.* 1993, 1996, King & Brooks 2003). Furthermore, lower spatial and genetic structures and weaker impacts of linear landscape elements on movements have been observed in males than in females, in particular during the mating period (Dubois *et al.* 1993, 1996, Marchand *et al*. 2017a , Portanier *et al.* 2017) when males exhibit very different behavior as compared to the rest of the year (e.g. hypophagia, Pelletier *et al*. 2009, increased movements, Karns *et al.* 2011, Jarnemo 2011) and use coursing as a mating strategy (Bon *et al.* 1992, Dubois *et al*. 1993, 1996, Marchand *et al.* 2015b). Since linear landscape features have been shown to have much higher impacts on movements than land cover (Marchand *et al*. 2017a), we also expected these landscape elements to be the principal driver of gene flow for females.

Based on 16 microsatellite loci, we tested a comprehensive set of resistance maps by using five possible resistance values for each of the nine landscape elements known to impact mouflon movements and representing natural or anthropogenic linear features, resource and/or refuge areas. We then selected for each sex the resistance surface best describing the landscape genetic resistance using a model optimization framework modified from the univariate optimization procedure of Shirk *et al.* (2010) and Larroque *et al.* (2016a,b). Then, to determine if there was a spatial genetic structure and to disentangle between isolation-by-distance (IBD, when only geographic distance plays a role) and isolation-by-resistance (IBR, when landscape resistance impacts gene flow, McRae 2006) patterns of genetic variation, we used a causal modeling framework (Cushman *et al.* 2006, 2013), assessing if least-cost distances were correlated to levels of genetic differentiation between individuals.

1.2. Material & Methods

1.2.1. Study population, data collection and species

Data were collected in the low mountain Caroux-Espinouse massif (43°38'N, 2°58'E, 17,000 ha, 130-1,124 m a.s.l, southern France, Figure 45a). The studied Mediterranean mouflon population grew from the release of nineteen individuals between 1956 and 1960 (Garel *et al.* 2005b, Portanier *et al.* 2017) and inhabits a National Hunting and Wildlife Reserve (1658 ha, 532-1,124m above sea level; hereafter called "reserve"). Habitat is characterized by deep valleys indenting plateaus and creating a mosaic of ridges and talwegs (Marchand *et al.* 2017a, Figure 45c,d). Vegetation is an irregular mosaic of deciduous and coniferous forests with open areas dominated by rocky areas and broom moorlands (Marchand *et al.* 2015b, Tableau 20, Figure 45b). Within the reserve hunting is forbidden and recreational activities

are restricted to hiking on a few main trails (Marchand *et al.* 2014a) but in surrounding unprotected areas, both sexes are harvested each year since 1973 (Garel *et al*. 2007).

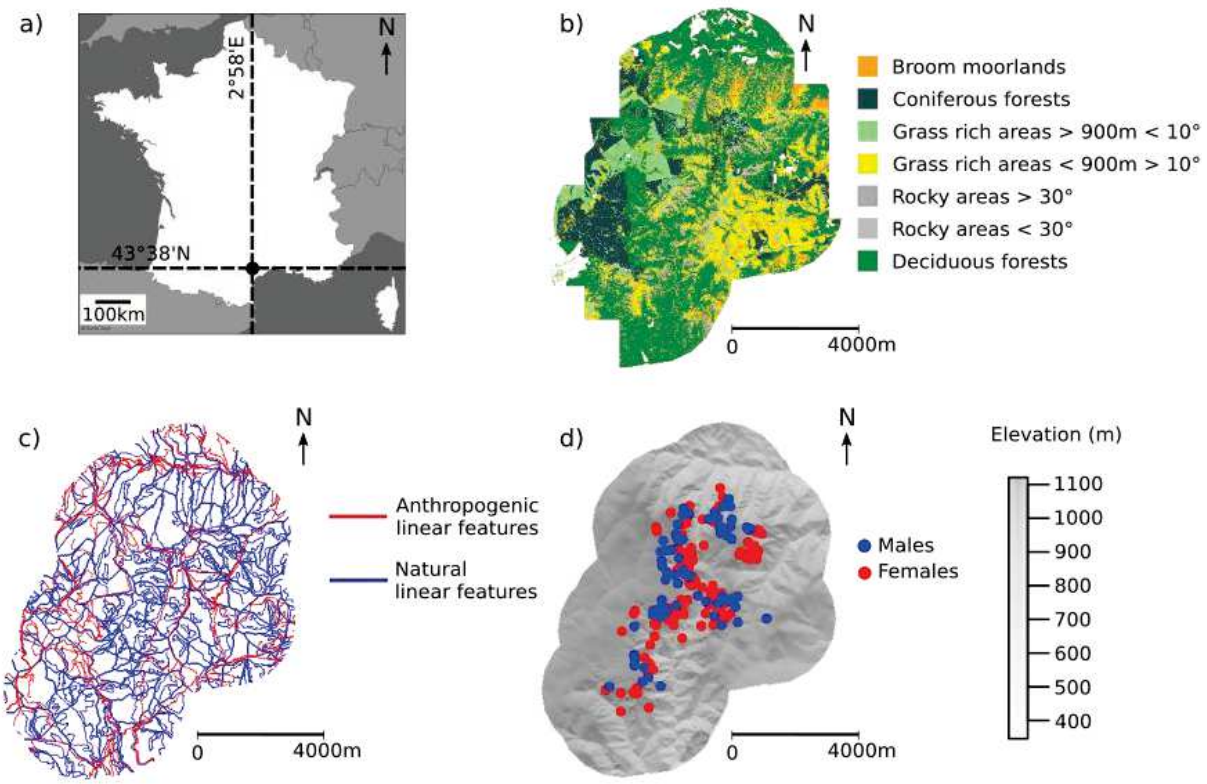

Figure 45 : Description of the Caroux-Espinouse massif where landscape resistance was investigated for Mediterranean mouflon. (A) Geographic location of the Caroux-Espinouse massif in France. (B) Land-cover classes considered in landscape genetics analyses. (C) Linear landscape features considered in landscape genetics analyses. (D) Digital elevation model represented with spatial locations of individuals as defined in the main text.

Grass-rich areas were classified in two classes according to elevation and slope (on plateaus with slope < 10°, elevation > 900 m or on slopes with slope >10°, elevation < 900 m). Rocky areas were classified according to slopes (gently-sloped rocky areas if slope was < 30° and steeply-sloped rocky areas if slope was > 30°). Anthropogenic linear features included roads, tracks, hiking trails, while natural linear features included ridges, talwegs, forest edges.

Since 1974, individuals have been annually captured in the reserve. Animals are marked and biometric measurements and hair sampling are performed. Marked animals are visually monitored year-round and spatially located. Since 2003, some individuals have also been equipped with GPS collars (see Marchand *et al.* 2014b, 2015b for more details). All captures, handling, sampling and collaring were done according to the appropriate national laws for animal welfare and procedures were approved by the pertinent administration.

In the study population, philopatric (Dubois *et al,* 1992, 1994, Dupuis *et al.* 2002) Mediterranean mouflon ewes are sexually mature from 1.5 years of age and monotocous (twinning rate is <3%; Garel *et al*. 2005b). Although probably sexually mature at 2 years old (see Festa-Bianchet 2012 in bighorn sheep (*Ovis canadensis*)), only rams three or more years old have been observed involved in rutting activities (Bon *et al*. 1992, 1995a). Mature males and females segregate most of the year but less during the rut as males join females to mate (Bon & Campan 1989, Bon *et al*. 1992, Dubois *et al*. 1993, Le Pendu *et al.* 1996, Cransac *et al*. 1998, Bourgoin *et al*. 2018). The mating system is thought to be polygynous with a few large males achieving most of the mating (see Geist 1971 for Dall's sheep (*Ovis dalli*), see Jarman 1983, Hogg 1987 for bighorn sheep).

Tableau 20: Description of the nine landscape elements used in landscape genetics analyses (reproduced with permission from Marchand et al. 2015b, 2017a; see also Figure 45b, c).

Landscape variable	Description
Deciduous forests	Deciduous trees: beech, *Fagus sylvatica*, chestnut tree, *Castanea sativa*, holm oak, *Quercus ilex*, and mixed deciduous patches at altitude < 900m
Coniferous forests	Coniferous trees at altitude > 900m
Gently-sloped rocky areas	Rocky areas with slope < 30°
Steeply-sloped rocky areas	Rocky areas with slope > 30°
Grass-rich areas in slopes	Heather and blueberry moorlands, pastures, meadows and artificial cultures devoted to wildlife with slope > 10° and altitude < 900 m
Grass-rich areas on plateaus	Heather and blueberry moorlands, pastures, meadows and artificial cultures devoted to wildlife with slope < 10° and altitude > 900 m above sea level
Broom and fern moorland	Broom and fern
Anthropogenic linear features	Roads, tracks and hiking trails
Natural linear features	Ridges, talwegs (lines of lowest elevation within a valley) and forests edges

As other wild sheep species, Mediterranean mouflon are known to be poor dispersers with expected small dispersal distances, especially for females (Geist 1971, Dubois *et al.* 1994, Gross *et al*. 2000, Worley *et al.* 2004, Marchand *et al.* unpublished data). Males are nevertheless more mobile than females, with both natal dispersers and philopatric individuals observed (unknown proportions, see Dubois *et al.* 1993, 1996, King & Brooks 2003).

Additionally, rams have been shown to perform excursions (temporary movements outside an established home range) during the rutting period (October-December, Bon *et al.* 1992, Marchand *et al*. unpublished data) that are thought to insure gene flows (Portanier *et al*. 2017). Both faithful to their rutting site and unfaithful males have been observed (Dubois *et al.* 1993, 1996, Dupuis *et al*. 2002, Martins *et al.*2002).

Mediterranean mouflon is a wild grazer ungulate species (Cransac *et al.* 1997a, Cazau *et al.* 2011, Marchand *et al.* 2013). Sex-specific trade-offs between habitats providing food and cover have been found in this population (Marchand *et al.* 2015b). Typically, safe habitats (rocky or cover areas) are favored over food-rich habitats during rutting/hunting (September-February) by both sexes, and also during lambing (March-June, Bon *et al.* 1993b) by females. Females switched to the best foraging (grass-rich areas on plateaus) habitats in summer when lambs were weaned. Additionally, linear landscape features have been found to be even more determinants for animal movements than land cover, with mouflon avoiding crossing both anthropogenic (i.e. roads, tracks and hiking trails) and natural landscape features (i.e. ridges, talwegs and forest edges, Marchand *et al*. 2017a). No seasonal migration has been reported in this population (mean overlap of home ranges through the year for males: 89.8 ± 2.5% and for females: 88.4 ± 4.5%; Marchand *et al*. 2014b and unpublished data).

1.2.2. Microsatellites genotyping

We used hair samples from 262 individuals trapped between 2010 and 2014, i.e. within a time period inferior to generation time of mouflon (4.21 years, Hamel *et al.* 2016), which should limit temporal genetic structure. Genotyping was performed by the Antagene laboratory (Limonest, France, www.antagene.com) following the procedure presented in Portanier *et al.* (2017). Each DNA sample was typed at 16 microsatellites markers (see Portanier *et al*. 2017). Analyses were performed on individuals of both sexes expected to have a fixed home range outside the rutting period, i.e. females two or more years old and males four or more years old (e.g. Dubois *et al.* 1992, Dubois *et al.* 1993, Dupuis *et al*. 2002). Information about genetic diversity and Hardy-Weinberg equilibrium in the population are available in Portanier *et al.* (2017).

Among the genotyped samples, two outliers and five pairs of twins were identified using a correspondence analysis (CA) and the matching option in GenAlex v.6.501 (Peakall & Smouse 2006, 2012), respectively. Outliers, and one of the two twins for each pair, were randomly deleted to prevent bias in subsequent analyses. Among the remaining individuals, we considered in the following analyses 239 individuals (77 males and 162 females) with

fixed home ranges, at least 13 successfully genotyped genetic markers and for which spatial locations were available. Comparison of the observed genotypes with the distribution of randomized genotypes generated with the program MICROCHECKER v.2.2.3 (Van Oosterhout *et al*. 2004) revealed that there were no null alleles in the data set.

1.2.3. Landscape genetics analyses

We used a causal modeling framework (Legendre & Troussellier 1988, Legendre 1993, Cushman *et al.* 2006, 2013) to distinguish between isolation by distance (IBD) and isolation by resistance (IBR) as spatial drivers of genetic differentiation in our population.

1.2.2.1. Genetic distances

Since it was especially designed to estimate genetic differentiation among individuals in continuous populations and was shown to perform well in landscape genetics studies (Shirk *et al*. 2017), the $\hat{a}_r$ (Rousset 2000) pairwise genetic distance was calculated using SPAGeDI 1.5 software (Hardy & Vekemans 2002).

1.2.3.2. Spatial locations of mouflon

We considered genotyped individuals for which at least 5 spatial locations were available. GPS spatial locations (85 females and 32 males: from 5 to 8570 locations) or visual resighting (104 females and 45 males without GPS collars: from 5 to 73 locations) were averaged to assign each individual at the centroid of all its spatial locations (Figure 45d). This centroid value was used as spatial location for each individual.

1.2.3.4. IBD model

The IBD model predicts that genetic distance between individuals increases with increasing geographic (Euclidean) distance. In the IBD model, pairwise Euclidean geographic distances (straight line, hereafter EuD) were calculated. These distance were topographically corrected (i.e. taking into account elevation changes between pixels, digital elevation model with a 25m resolution, BD ALTI©, French National Institute of Geography, www.ign.fr, see Figure 45) following the method reported in Larroque *et al.* (2016a).

1.2.3.5. IBR models definition and optimization

The IBR model predicts that genetic distance between individuals increases with increasing resistance of the landscape between them. In IBR models, the resistance distance was calculated using least-cost pathways between each pair of individuals.

Seven land-cover classes and two types of linear structures (natural and anthropogenic) known to impact habitat selection, home range selection and movements of

mouflon were considered in the different resistance surfaces modeled (Figure 45b,c, Tableau 20). These habitat categories explicitly took into account slope and elevation parameters (Figure 45b, Tableau 20, see Marchand *et al.* 2015b, 2017a for details). Habitat map was derived from a SPOT satellite image and field validation in a 25×25m grid (Tronchot 2008), and the digital elevation model was used to derive slope (see Marchand *et al.* 2015b). Each pixel was characterized by the dominant habitat type (Figure 45b). Linear landscape features were derived in accordance with Marchand *et al*. (2017a). Natural linear landscape features referred to ridges, talwegs and forest edges and were extracted from the digital elevation model and the BD FORÊT© (French National Institute of Geography, http://www.ign.fr). Anthropogenic linear landscape features referred to roads, tracks and hiking trails and were extracted from the BD CARTO© (French National Institute of Geography, http://www.ign.fr). A 15m buffer was applied to linear landscape features to reinforce their size and avoid raster breaks. In order to avoid artificial map boundary effects that might affect directional choice of the least-cost algorithm and bias resistance values estimations (see Koen *et al.* 2010), we buffered 2km around individual locations to define study area limits (Figure 45d). In our case, two kilometers made it possible to obtain a circular area of 1250 ha around each individual, which is largely representative of the expected maximum area of a mouflon home range (1000 ha, see Marchand 2013). In the final map, all habitat classes were represented in similar proportions (<10%) with the exception of deciduous forests and natural linear landscape features, which are largely more represented (24% and 23% respectively, see Figure 45b, Appendix 1.7.1). Missing data in the final map (see Appendix 1.7.1) are mostly located in the external range of the study area and are due to the fact that the precise habitat map had lower extent than extents obtained after buffering of 2km (see Figure 45b, d).

Five varying resistance values were alternatively assigned to each of the nine landscape elements leading to 1,953,125 different possible combinations of resistance values (scenarios hereafter). Values were chosen to illustrate the case where the landscape element was not resistant to movements (resistance of 1), weakly and moderately resistant (25 and 50 respectively) and highly and totally resistant (75 and 100 respectively). In order to identify which scenario best described genetic data, we calculated least-cost distance matrices (LCD) measuring the cumulative cost (as recommended by Etherington & Holland 2013) under each scenario using the *costDistance* function in *gdistance* R package (van Etten 2017).

For each sex, we then evaluated each of the 1,953,125 scenarios based on the correlation between genetic distances $\hat{a}_r$ (G) and the log transformed LCD using partial mantel tests, partialling out the log transformed Euclidean distance ($G \sim \log(LCD)_i | \log(EuD)$ for the i^{th} scenario). In accordance with the model optimization procedures of Shirk *et al*. (2010) and

Larroque *et al.* (2016a,b), the top scenario was identified by a unimodal peak of support in partial Mantel *r* values (LCD_{top}). When no unimodal peak of support was identified, we selected significant (two-tailed *p-values*) scenarios having a positive Mantel *r* and calculated the Relative Support index (RS, Cushman *et al.* 2013). RS is the difference in Mantel *r* of the models (i) G ~ $log(LCD)_i$|log(EuD) and (ii) G ~ log(EuD)|$log(LCD)_i$ and was introduced to prevent the high type I error rates of Mantel tests. We ranked models according to their RS and selected the scenario having the highest RS (LCD_{top} hereafter). In keeping with the recommendations of Cushman *et al.* (2013) to counterbalance the high type I error rates and to decrease the risks of finding spurious support for IBD null models while IBR is the true process, we used an alpha level of 0.01 to evaluate the significance of Mantel tests. It is especially recommended when highly correlated alternative hypotheses are confronted, like IBD and IBR are in the present study (see Appendix 1.7.2), because Mantel-based methods are less reliable (Cushman *et al.* 2013, Zeller *et al.* 2016).

According to this lower discriminant power of causal modeling when alternative scenarios are highly correlated, we assessed the sensitivity of our results to the number of selected scenarios by calculating averaged scenarios across the first *n* models (see Tableau 24, Appendix 1.7.3). Averaging resistance values allowed us to construct an averaged resistance surface based on the *n* first models and to calculate least-cost distances under this averaged model (LCD_{av}).

All Mantel and partial Mantel tests were performed using the *ecodist* package in R (Goslee & Urban 2007) and 9999 permutations.

1.2.3.6. Principal driver of the genetic differentiation

Once we identified the top or the averaged scenarios among all the alternative resistance models, we performed diagnostic tests of causal modeling (Cushman *et al.* 2006, 2013) to distinguish between the three possible drivers of genetic differentiation in each sex (IBD, IBR and no structure). We first tested for correlations between genetic and Euclidean and resistance distances alone using simple Mantel tests (G ~ log(EuD) and G ~ log(LCD), tests "t_1" and "t_2" hereafter, respectively). Causal modeling then predicts that for IBR to be recognized as the principal driver of genetic differentiation, partial Mantel tests between genetic and resistance distances must be significant for G ~ log(LCD)|log(EuD) and non-significant for G ~ log(EuD)|log(LCD) (tests "t_3" and "t_4" hereafter, respectively).

1.3. Results

1.3.1. IBR model optimization and driver of the genetic differentiation

No IBD patterns were detected (tests t_1, Tableau 21) for both sexes indicating that genetic differentiation is not determined by Euclidean distances. No unimodal peak of support for scenarios was observed in Mantel *r* values, neither for females nor for males (Appendix 1.7.4). In females, we calculated the RS for the 4906 scenarios having a significant positive Mantel *r* ($p < 0.01$, mean Mantel $r = 0.08$, mean RS = 0.15) and selected the best one to perform causal modeling. We also performed causal modeling on the averaged scenario (LCD_{av}, see Tableau 25, Appendix 1.7.3) and obtained qualitatively the same results indicating that results were robust. As expected, IBR was identified as the principal driver of the genetic structure since the test t_3 was significant and had positive relative support (RS = 0.16), while the test t_4 was non-significant (Tableau 21). As we expected, model optimization indicated very high resistance values of linear landscape features (natural as well as anthropogenic), coniferous forests and grass rich areas on slopes (Figure 46a). These resistance values mean that these landscape elements are between 75 and 100 times more resistant than any landscape element having a resistance of 1. Deciduous forests and broom moorlands had relatively low resistance values while gently- and steeply-sloped rocky areas and grass-rich areas on plateaus did not oppose any resistance to female gene flow (Figure 46a). In addition, the resistance values for steeply-sloped rocky areas and linear landscape features changed only slightly between the first top scenario and averaged values over 4906 scenarios (difference < 10%, see Figure 46b) indicating the marked robustness of these results as compared to other habitat types and supporting the expected preeminent role of linear landscape features on female gene flow.

In males, only one scenario had a significant positive Mantel *r* ($p < 0.01$, Mantel $r = 0.14$, RS = 0.26) and accordingly no scenario averaging was performed. However, no conclusion can be drawn from resistance values observed (see Appendix 1.7.3, Tableau 26) in the top scenario since the conditions to conclude an effect of landscape on gene flow were not met (t_3 and t_4 were both non-significant, Tableau 21). Although relative support is positive (RS = 0.26), these results supported the expectation that landscape features had much lower effects on gene flow in males than in females.

Tableau 21: IBD (EuD), IBR (LCDtop) and causal modeling tests performed for female and male Mediterranean mouflon. G refers to genetic (âr), EuD to Euclidean and LCDtop to least-cost distances matrices. Bold values indicate significant (p<0.01) simple (G ~ D1) or partial Mantel tests (G ~ D1 | D2, with D1 and D2 standing for IBD or IBR). For females IBR appeared as the principal driver of genetic structure (t3 significant and t4 non-significant) while for males no genetic structure was detected (all tests non-significant).

		Females		Males	
Test		Mantel *r*	*P-value*	Mantel *r*	*P-value*
t_1	G ~ log(EuD)	0.016	0.562	-0.0095	0.775
t_2	G ~ log(LCD_{top})	**0.068**	**0.003**	0.0865	0.047
t_3	G ~ log($LCD)_{top}$|log(EuD)	**0.095**	**0.007**	0.1444	0.011
t_4	G ~ log(EuD)|log($LCD)_{top}$	-0.069	0.069	-0.1165	0.019

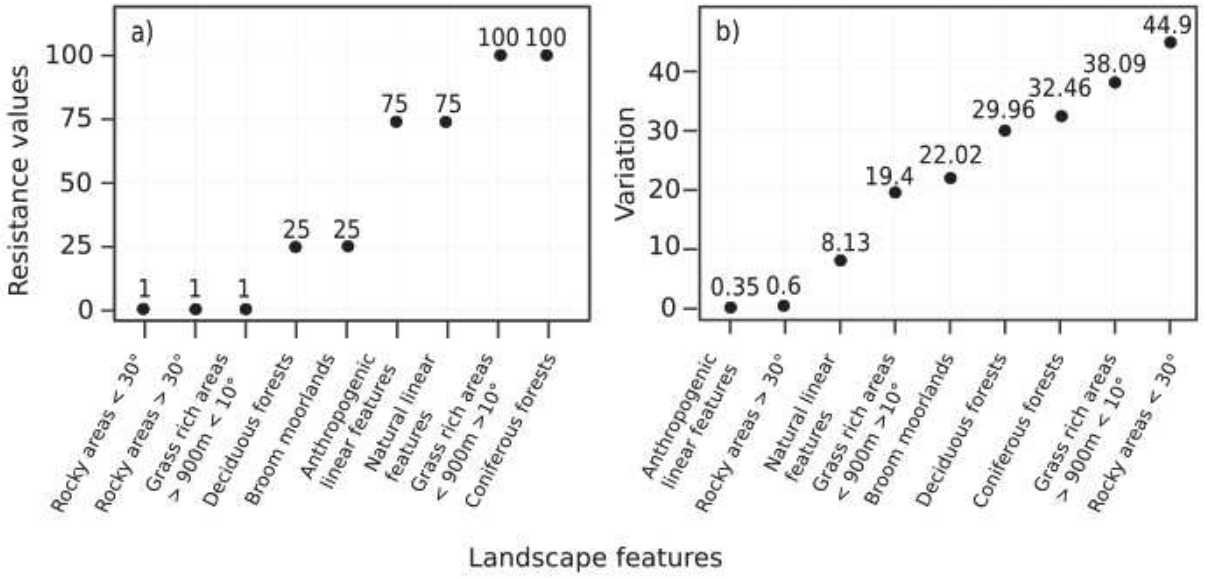

Figure 46: Resistance values obtained in the best scenario for each of the landscape elements considered in landscape genetics analyses for females (A). A resistance value of 100 refers to totally resistant landscape element while a value of 1 refers to totally permeable landscape elements. (B) Variation of resistance values between the first top scenario (highest RS) and the resistance values obtained after averaging across 4906 best scenarios for females Mediterranean mouflon. Variation was calculated as the absolute value of the difference: v_1-v_{av}.

1.4. Discussion

Landscape genetics revealed sex-specific effects of landscape on gene flow in the studied Mediterranean mouflon population. In females, the significant IBR detected revealed that the

role of the landscape on genetic differentiation was mostly related to the high resistance of linear landscape features and unsafe habitats (e.g. coniferous forests) to gene flow, and the higher permeability of the habitats perceived as safe (e.g. deciduous forests and rocky areas). These results are thus in accordance with previous studies on movements and habitat selection (Marchand *et al.* 2015b, 2017a). In contrast, no IBR was detected in males, suggesting that landscape features had limited impact on gene flow, and confirming previous results showing that landscape characteristics had less influence on movements of males during the rutting period and consequently on population spatial genetic structure (Dubois *et al.* 1993, 1996, Marchand *et al*. 2017a, Portanier *et al.* 2017). Combining previous knowledge on movements and habitat selection with the results from this landscape genetics approach was hence decisive in characterizing functional connectivity of both sexes in the studied population.

1.4.1. Landscape impacts on female movements and gene flow

In numerous animal species (e.g. Ehrlich 1961 in insects, Harris & Reed 2002 in non-migratory birds, Frantz *et al.* 2010 in badgers (*Meles meles*), Zimmermann *et al.* 2014 in large carnivores), linear landscape features (natural and anthropogenic) have been shown to impact movements. In the study population, these linear features are crossed less than expected all year round, although they can easily be (i.e. are behavioral barriers instead of physical barriers), with consequences on the design of individual home range (Marchand *et al*. 2017a). In addition, in Mediterranean mouflon as in numerous ungulate species, habitat selection is driven by a pervasive food/cover trade-off (Festa-Bianchet 1988, Dussault *et al*. 2005, Ciuti *et al*. 2009, Mabille *et al.* 2012, Marchand *et al.* 2015b). During the rutting period, habitats perceived as unsafe (plateaus) are thus avoided by females while habitats perceived as safe and/or providing resources are selected (i.e. deciduous forests or rocky areas on slopes providing high visibility and low accessibility for predators, see Marchand *et al*. 2015b). Here, we showed that these behavioral characteristics translated into consequences on gene flow and spatial genetic structure in females. Indeed, both natural and anthropogenic linear landscape features had very high resistance values, with a very strong impact on female gene flow and movements, both here and in studies of habitat selection. Furthermore, resistance values for linear features were highly consistent across scenarios, highlighting the preeminent role of such features for female movements. Similarly, unsafe habitats such as coniferous forests appeared as totally resistant while deciduous forests and rocky areas appeared as weakly and not resistant to gene flow, respectively, in the present study. Resistance values observed for grass rich areas on plateaus were nevertheless unexpected since this habitat type is avoided during the rutting period (see Marchand *et al*. 2015b). The low resistance value

observed for steeply-sloped rocky areas was almost the same across all scenarios, suggesting that this landscape feature is among the principal drivers of gene flow in females. In accordance with observations made in other wild sheep species (see Epps *et al.* 2007, Roffler *et al*. 2016, Creech *et al.* 2017), land cover and topography also determined how and through which habitat types female gene flow occurred in the Mediterranean mouflon population under study.

In other large herbivores species, linear landscape features have also been shown to impact movements (e.g. bison (*Bison bison*), Bruggeman *et al.* 2006, 2007, pronghorn (*Antilocapra Americana*), Seidler *et al.* 2014, red deer (*Cervus elaphus*), Prokopenko *et al.* 2017). However, most studies focused on physical barriers. While ridges imposed directional dispersal movements (individuals follow the ridges, Long *et al*. 2010) in male white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*), to our knowledge no other study investigated the effects of such natural behavioral barriers on gene flow in large herbivores. Similarly, although anthropogenic linear landscape features have been studied much more and shown to impact gene flow in numerous ungulate species (e.g. red deer, Frantz *et al*. 2012, roe deer (*Capreolus capreolus*), Breyne *et al.* 2014, bighorn sheep, Creech *et al*. 2017), most studies referring to such features have considered highways or wide, frequently traveled roads representing physical barriers (e.g. Epps *et al*. 2005, Wilson *et al.* 2015). It was only recently shown that even unpaved roads with little traffic could impact the presence probability and space use of animals (e.g. red deer and wild boars (*Sus scrofa*), D'Amico *et al.* 2016, Mt. Graham red squirrels (*Tamiasciurus hudsonicus grahamensis*), Chen & Koprowski 2016). Anthropogenic linear features considered in our study were composed of one small remote road, tracks and hiking trails with relatively low human use. They nevertheless imposed a very high resistance to female gene flow, providing evidence that the behavioral limitations imposed by these elements impacted movements during the mating season.

One mechanism involved in avoidance of linear landscape features can be an increased perceived risk near these features ("landscape of fear", Laundré *et al.* 2001). Indeed, females favored safe environments during the rutting period, and linear landscape features could appear as unsafe due to vegetation gaps (gap avoidance, e.g. D'Amico *et al.* 2016, Chen & Koprowski 2016). In addition, despite a low rate of human activity (0.40 tourist groups per hour, Martinetto *et al*. 1998) and the absence of hunting in the protected area (but occurring outside), behavioral responses to human disturbances and hunting have been observed in the protected area during the rutting period (Benoist *et al.* 2013, Marchand *et al.* 2014a). Human activities could thus participate in the landscape of fear (e.g. increased vigilance in moose

(*Alces alces*) along roads, Ciuti *et al.* 2012) and females might avoid crossing linear landscape elements to decrease contacts with humans.

Marchand *et al*. (2017a) also hypothesized that linear landscape features could represent visual landmarks in cognitive maps driving animal navigation and, showed their role in the definition of the boundaries of individual home range. Since females are highly philopatric and less mobile than males (Dubois *et al.* 1992, Dupuis *et al.* 2002), the cognitive map may be another mechanism in accordance with our expectations, explaining linear landscape features avoidance. It is worth noting that in numerous ungulate species, including Mediterranean mouflon, females exhibit a marked socio-spatial structure and live in spatially separated groups (e.g. Geist 1971, Festa-Bianchet 1991, Garel *et al.* 2007, Portanier *et al.* 2017) for which boundaries can rely on linear landscape features (e.g. Laurian *et al*. 2008, Bartzke *et al.* 2015). These groups can be differentiated in terms of behaviors, body mass and fitness (e.g. Coulson *et al.* 1999, Pettorelli *et al*. 2001, 2003, Focardi *et al.* 2002, Garel *et al*. 2007), sanitary status (e.g. Altizer *et al*. 2003, Marchand *et al*. 2017b), or genetics (e.g. Nussey *et al.* 2005, Podgórski *et al*. 2014, Noble *et al.* 2016, Portanier *et al.*2017), highlighting that behavioral separations imposed by linear landscape features between groups can have implications for populations in numerous aspects and reinforce spatial genetic structure.

1.4.2. Behavioral ecology and landscape genetics are complementary for males

Regarding males, no impact of landscape was detected on gene flow. A lack of statistical power due to a lower sample size for males than for females cannot be discarded to explain this result. Indeed, performing a power analysis (i.e. applying landscape genetics analyses on five randomly selected female sub-samples of 70 individuals), we evidenced that IBR signal is not systematically detected when considering male's sample size (see Appendix 1.7.5). On the other hand, the absence of a landscape genetic signal was expected in males and had a strong biological support. Indeed, in numerous ungulate species, males exhibit seasonal movement patterns (e.g. Pépin *et al.* 2009, Unterthiner *et al*. 2012, White *et al.* 2012) with increased movements during the mating period (e.g. Karns *et al.* 2011, Jarnemo 2011). In Mediterranean mouflon, during the rutting period, males are more mobile and prone to move toward unfamiliar areas than females (Dubois *et al.* 1993, 1996, Dupuis *et al.,* 2002, Marchand *et al.* 2017a). They are also thought to insure most of the gene flow through reproductive excursions (Portanier *et al.* 2017, Marchand *et al.* unpublished data) leading to lower levels of spatial genetic structure (Portanier *et al.* 2017). Accordingly, the absence of

landscape effect on gene flow in males was biologically meaningful and tended to confirm that landscape had less impact on male reproductive movements than on females.

Although habitat preferences have been highlighted for males during autumn, they are the same as female preferences (Marchand *et al*. 2015b) and authors hypothesized that habitat selection by males during the rutting period is the consequence of female choices since *Ovis* species and Mediterranean mouflon use coursing as mating strategies, with males following females (Hogg 1984, Hogg & Forbes 1997, Bon *et al.* 1992, Coltman *et al.* 2002). In addition, Marchand *et al*. (2017a) demonstrated impacts of some linear landscape features on male movements during the rutting period, but they did not account for excursions outside home ranges since they only considered movement steps included in the 95% home range. These excursions might constitute reproductive excursions and resistance of linear landscape features measured within home ranges might therefore overestimate the genetic resistance of these landscape elements. Recent studies have indeed shown that the behavioral state (e.g. foraging, dispersing) is an important factor to take into account when studying landscape connectivity to avoid potentially erroneous conclusions about isolation of patches (Abrahms *et al.* 2017, Blazquez-Cabrera *et al*. 2016, Maiorano *et al*. 2017). For instance, focusing on 'inside home range' locations instead of on 'outside home range' locations (dispersal and exploratory movements) could lead to underestimating landscape functional connectivity (Blazquez-Cabrera *et al*. 2016). Our results might illustrate this case since the linear landscape features having an impact on male movements seemed to have no impact on male gene flow. Genetic connectivity and connectivity linked to 'inside home range' movements (e.g. when foraging) can be different since habitat selection aims at maximizing individuals' fitness on their home range while reproductive dispersal movements achieve a different goal and lead individuals to modify their behavior (Larroque 2015). Mating may thus be a sufficient motivation to overcome landscape constraints to movements.

Alternatively, landscape effects on male gene flow might not yet be strong enough to lead to a detectable IBR pattern. Landguth *et al.* (2010) evidenced that when too few generations elapsed, landscape effects on genetic differentiation are not detectable by Mantel tests. In the Caroux-Espinouse population, only 14 generations elapsed since introduction (Garel *et al.* 2005b). Due to higher philopatry and spatial stability (Dubois *et al.* 1992, 1994; Martins *et al*. 2002, Marchand *et al.* 2017a), landscape effects were expected to be stronger for females than for males, which might also explain why IBR pattern was already detectable for females while not for males.

1.5. Conclusions and perspectives

In the current context of global changes, investigating processes (e.g. gene flow) and not only patterns (e.g. spatial structure) is necessary to better predict consequences of global changes on populations and species (Plard *et al.* 2015, Moran *et al.* 2016). As illustrated here, combining previous knowledge of movements and habitat selection with the results from a landscape genetics approach focusing on gene flow was decisive to better understanding functional connectivity in the studied population. Spatial approaches allowed us to focus on landscape elements known to be important for Mediterranean mouflon movements and habitat selection and the landscape genetics approach allowed us to accurately describe landscape functional connectivity.

Our findings showed that males and females can present very different resistance surfaces, highlighting the necessity of performing sex-specific landscape connectivity studies, especially in polygynous mammals exhibiting sex-biased dispersal. Our results also showed strong impacts of behavioral barriers on gene flow and spatial genetic structure and illustrated the importance of also accounting for such types of barriers when studying functional connectivity. More specifically, more studies on impacts of natural linear landscape features acting as behavioral barriers are needed. In the current context of habitat loss and fragmentation (Fahrig 2003) reducing wildlife corridors and isolating populations (Crooks & Sanjayan 2006), our results can serve to better understand spatial genetic patterns of other mouflon populations, especially endangered ones (e.g. Corsican mouflon *Ovis gmelini musimon var. corsicana*).

Some landscape factors constantly appeared as a constraint to gene flow in wild sheep landscape genetic studies (e.g. slope, Epps *et al.* 2007, Roffler *et al.* 2016, Creech *et al.* 2017, present study), but landscape resistance in one study area does not systematically correspond to what happens in another study area (e.g. Larroque *et al.* 2016a, Short-Bull *et al*. 2011). More research is thus needed to improve our understanding of landscape impacts on wild sheep gene flow. Another important point here is that, although natal dispersal of males is expected to be limited (Dubois *et al.* 1993, 1996, King & Brooks 2003), it can occur, and more studies on natal dispersal will be needed to fully understand gene flow in Mediterranean mouflon. In addition, using the least-cost path approach we assumed that individuals knew ahead which path will be optimal (Balkenhol *et al.* 2016). This hypothesis is not unrealistic for Mediterranean mouflon given their abilities to recognize familiar areas and move away from linear landscape elements before being in direct contact with (see Marchand *et al*. 2017a). Circuit-theory has nevertheless been applied in landscape genetics to release this

assumption and could represent an interesting complementary approach to the present study. Furthermore, although being the most used (Zeller *et al.* 2016), landscape genetics Mantel based methods have been criticized due to inflated type I error (e.g. Legendre *et al.* 2015) and low discrimination power between highly correlated alternative hypotheses (Zeller *et al.* 2016). Here we used Mantel *r* and relative support (see Cushman *et al.* 2013) and performed scenarios' averaging to avoid these biases. While no clear consensus has yet been reached about the best method in landscape genetics (Balkenhol *et al*. 2016), alternative methods to Mantel tests are promising (see Shirk *et al*. 2018) and applying such approaches in Mediterranean mouflon would allow to confirm our results.

Finally, landscape functional connectivity encompasses several components among which genetic connectivity but also for instance demographic or behavioral connectivity (see Lowe & Allendorf 2010). The data type which should be used to estimate landscape functional connectivity depends on the question that is addressed. For example, genetic connectivity can overlook most of the host movements potentially leading to parasite transmission across the landscape since it will not only be determined by reproductive movements but instead by several movement types (e.g. migratory movements, Conner *et al.* 2004). Management strategies should thus account for all functional connectivity components, and several data types enabling the measurement of different connectivity components are thus needed to fully understand impacts of landscape on populations.

1.6. Acknowledgments

We warmly thank all the professionals from the Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (Service Départemental 34, Jeanne Duhayer and Christian Itty) and numerous trainees for their technical support in trapping, tagging, sampling, and monitoring VHF and GPS-collared mouflons. We would like to thank Dominique Dubray for his involvement in the deployment of GPS collars, all the technical personnel of LBBE for helping with laboratory steps of the study, and the Antagene laboratory (Limonest, France, www.antagene.com) for DNA extraction and genotyping. We would also like to thank Elodie Bonneau and Julie Andru for the first laboratory and genetic analyses, Patrick James and the James lab members for helpful comments on the first draft of the manuscript, and Denise Mirat for checking the English. We also gratefully acknowledge IN2P3 and the CC LBBE/PRABI for providing computer resources, and the bioinformatics team of LBBE for their advice on computational optimization of scripts. Finally, we thank two anonymous referees for helpful comments on the manuscript. This research project and E. Portanier's

collaboration were funded by the Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, Vetagro Sup and LBBE.

1.7. Appendices

1.7.1. Proportions of the different landscape elements in the study area

Tableau 22: Proportion of each landscape feature in the habitat map used in landscape genetics analyses.

Landscape features	Number of pixels	Proportion
Deciduous forests	36192	**0.24**
Coniferous forests	9651	0.06
Gently-sloped (< 30°) rocky areas	4043	0.03
Steep-sloped (> 30°) rocky areas	4909	0.03
Grass-rich areas in slopes	12627	0.08
Grass-rich areas on plateaus	6182	0.04
Broom and fern moorlands	4402	0.03
Anthropogenic linear features	10369	0.07
Natural linear features	35148	**0.23**
NA	26705	0.18

1.7.2. Correlations between IBD and IBR matrices calculated based on different number of scenarios

Since Mantel-based methods are less reliable when highly correlated alternative hypotheses are confronted, we assessed the correlation between IBD and IBR matrix based on different numbers of scenarios.

Tableau 23: Correlation between the IBD and IBR models considered in landscape genetics analyses for males and females. In IBD model, the EuD matrix was used (Euclidean distance) while in the IBR models, LCDtop (top scenario only) and LCDav (scenarios were averaged across different numbers of scenarios chosen arbitrarily) have been used for females. For males, only one scenario had a significant and positive Mantel r.

Number of averaged scenarios	Mantel *r*	Two-tailed *P values*
Females		
1	0.75009	0.0001
50	0.76568	0.0001
100	0.75844	0.0001
250	0.75264	0.0001
500	0.73925	0.0001
750	0.72736	0.0001
1000	0.72277	0.0001
2000	0.71357	0.0001
4906	0.74402	0.0001
Males		
1	0.6684	0.0001

1.7.3. Relative support of the 100 scenarios having the highest relative support

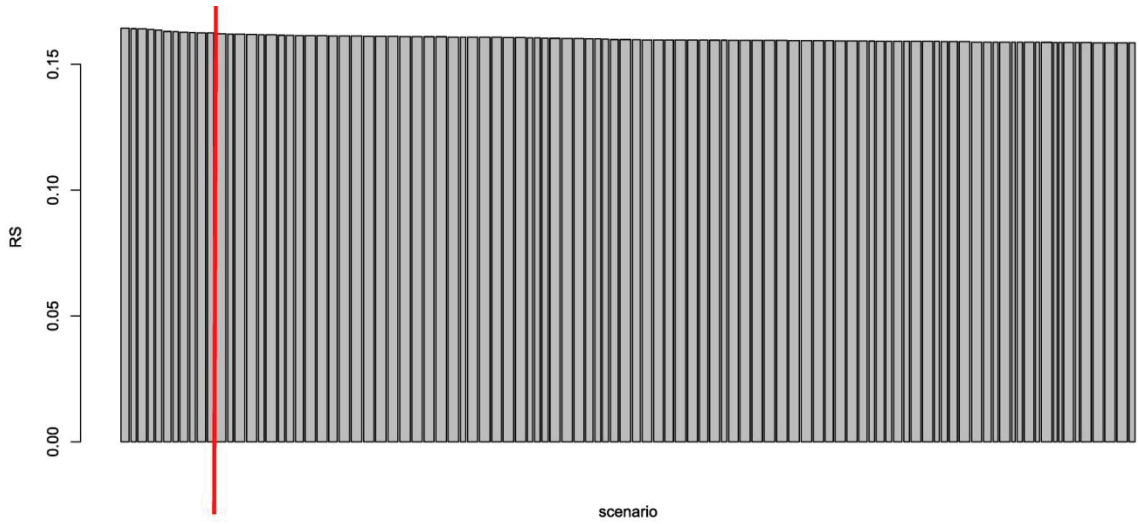

Figure 47: Relative support (RS) of the 100 scenarios having the highest RS for females. No unimodal peak of support can be observed but a slight break in slope appears after 11 scenarios (red line).

Tableau 24: Resistance values obtained after averaging across different numbers of scenarios arbitrarily chosen for females (averaged values ± SD).

Number of averaged scenarios	**50**	**100**	**250**	**500**	**750**	**1000**	**2000**	**4906**
Deciduous forests	25.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00	25.30 ± 2.72	31.25 ± 14.16	54.96 ± 27.06
Coniferous forests	77.50 ± 27.78	70.50 ± 30.23	68.00 ± 29.23	65.65 ± 28.77	62.30 ± 29.05	60.23 ± 28.71	61.02 ± 28.34	67.54 ± 25.69
Gently-sloped (< 30°) rocky areas	33.10 ± 41.25	36.27 ± 39.3	38.47 ± 38.49	43.17 ± 36.70	50.21 ± 35.94	52.66 ± 34.38	52.18 ± 31.35	45.9 ± 28.02
Steep-sloped (> 30°) rocky areas	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.60 ± 3.74
Grass-rich areas in slopes slope > 10°, elevation < 900 m	90.5 ± 15.88	91.75 ± 14.24	89 ± 15.16	87.2 ± 16.56	86.07 ± 17.21	84.6 ± 17.8	82.61 ± 18.69	80.6 ± 19.43
Grass-rich areas on plateaus slope < 10°, elevation > 900 m	10.60 ± 11.88	12.52 ± 12.05	14.07 ± 12.77	17.67 ± 14.18	22.44 ± 17.69	25.11 ± 18.58	31.53 ± 20.85	39.09 ± 24.59
Broom and fern moorlands	25.50 ± 3.54	29.50 ± 13	37.30 ± 21.4	43.55 ± 25.71	45.23 ± 26.41	45.85 ± 26.64	45.35 ± 26.96	47.02 ± 26.56
Anthropogenic linear features	80.00 ± 18.90	78.00 ± 20.19	75.90 ± 21.76	74.10 ± 22.81	73.33 ± 22.65	73.03 ± 22.49	71.20 ± 24.45	74.65 ± 23.02
Natural linear features	80.00 ± 22.02	79.50 ± 24.20	78.80 ± 24.86	80.10 ± 25.10	82.23 ± 23.51	82.65 ± 21.95	82.70 ± 20.36	83.13 ± 19.24

Tableau 25: Causal modeling results performed on LCDav obtained after model averaging for females (see Tableau 24).

All number of scenarios leaded to same conclusions, the IBR model is the best supported model. Bold values indicated significant test (alpha = 0.01). G stands for genetic distances matrix (âr of Rousset), EuD for Euclidean and LCDav to least-cost distances matrices according to the number of averaged scenarios.

Number of averaged scenarios	Models	Mantel *r*	Two-tailed Pvalues
50	**G~log(LCD_{av})**	**0.058**	**0.006**
50	G~log(EuD)	0.016	0.565
50	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.086**	**0.008**
50	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.066	0.064
100	**G~log(LCD_{av})**	**0.059**	**0.009**
100	G~log(EuD)	0.016	0.564
100	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.087**	**0.007**
100	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.066	0.062
250	**G~log(LCD_{av})**	**0.06**	**0.007**
250	G~log(EuD)	0.016	0.569
250	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.087**	**0.006**
250	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.066	0.064
500	**G~log(LCD_{av})**	**0.061**	**0.006**
500	G~log(EuD)	0.016	0.561
500	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.089**	**0.005**
500	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.067	0.066
750	**G~log(LCD_{av})**	**0.062**	**0.007**
750	G~log(EuD)	0.016	0.554
750	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.089**	**0.008**
750	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.066	0.075
1000	**G~log(LCD_{av})**	**0.062**	**0.006**
1000	G~log(EuD)	0.016	0.561
1000	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.089**	**0.006**
1000	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.066	0.07
2000	**G~log(LCD_{av})**	**0.061**	**0.006**
2000	G~log(EuD)	0.016	0.565
2000	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.086**	**0.009**
2000	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.063	0.085
4906	**G~log(LCD_{av})**	**0.057**	**0.01**
4906	G~log(EuD)	0.016	0.562
4906	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.083**	**0.008**
4906	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.063	0.075

Tableau 26: Description of landscape elements used for building IBR models (see Marchand et al. 2015a, 2017 for details).

LCDtop columns refer to resistance values obtained in the scenario having the highest RS for both sex. A resistance value of 100 refers to totally resistant landscape element while a value of 1 refers to permeable landscape elements. For females, these values are biologically meaningful since IBR was identified as a better driver of genetic structure than IBD. On the opposite for males, these values are not biologically interpretable since IBR was not identified as driver of genetic structure.

Landscape element	**LCD_{top} for females**	**LCD_{top} for males**
Deciduous forests	25	1
Coniferous forests	100	25
Gently-sloped (< 30°) rocky areas	1	1
Steep-sloped (> 30°) rocky areas	1	25
Grass-rich areas in slopes: slope > 10°, elevation < 900 m	100	25
Grass-rich areas on plateaus: slope < 10°, elevation > 900 m	1	100
Broom and fern moorlands	25	25
Anthropogenic linear features (roads, tracks, hiking trails)	75	75
Natural linear features (ridges, talwegs, forest edges)	75	100

1.7.4. Mantel r for the scenarios having the highest Mantel r for males and females

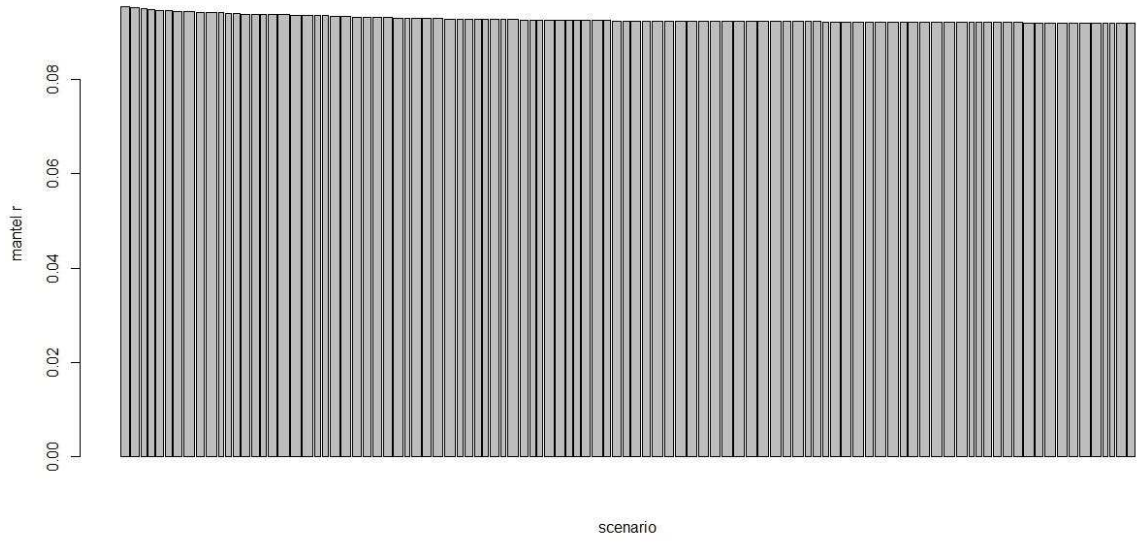

Figure 48: Mantel r of the 100 scenarios having the highest Mantel r for females.

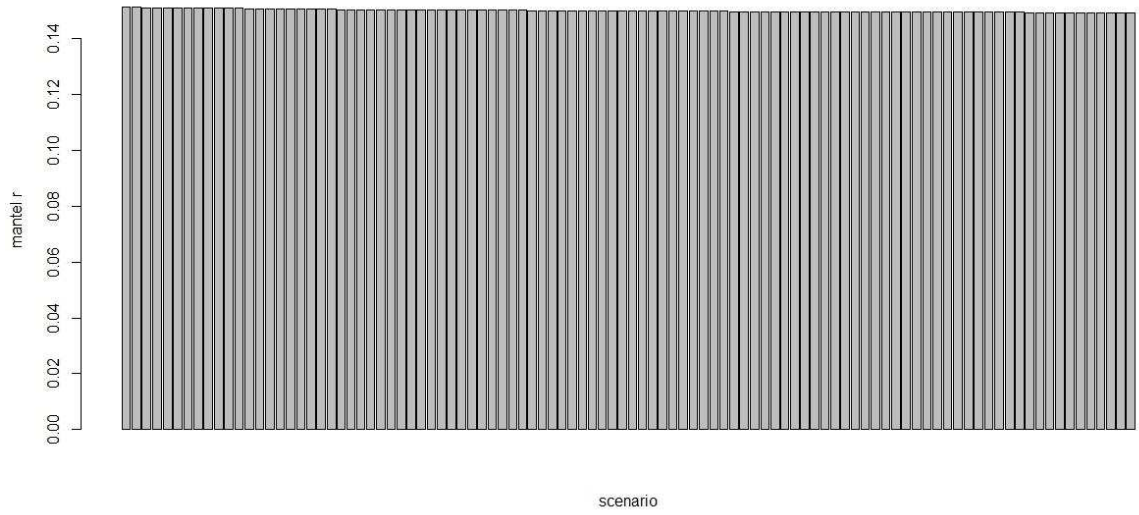

Figure 49: Mantel r of the 100 scenarios having the highest Mantel r for males.

1.7.5. Power analysis performed to assess the impact of the lower male's sample size on landscape genetics results.

We randomly sampled 70 females in the whole female's data set and applied the landscape genetics analyses as described in the main article. For three sub-samples out of five we were not able to identify a top scenario since none of the scenarios having a significant Mantel r had a positive Mantel r. For two sub-samples out of five we were able to perform the analyses until the end since these data sets presented 25627 and 5089 significant and positive Mantel r. When performing the causal modelling on these scenarios we observed that in both cases and for a large number of averaged scenarios, IBR was the principal driver of genetic structure (see Tableau 27, Tableau 28). Resistance values obtained for each landscape feature corresponded with few rare exceptions (e.g. gently sloped rocky areas and grass-rich areas, Tableau 30) to what was observed in the main article (see Tableau 29, Tableau 30). Overall these results revealed that a lack of power cannot be discarded in explaining the absence of IBR signal in males but also suggested that even with only 77 males, detecting the signal was not completely impossible.

Tableau 27: Causal modeling results performed on LCDav obtained after model averaging for females in one of the two sub-sample having significant and positive Mantel r in the power analysis.

All number of scenarios leaded to same conclusions, the IBR model is the best supported model. Bold values indicated significant test (alpha = 0.01). G stands for genetic distances matrix (âr of Rousset), EuD for Euclidean and LCDav to least-cost distances matrices according to the number of averaged scenarios.

Number of averaged scenarios	Models	Mantel *r*	Two-tailed *P values*
1	**G~log(LCD_{av})**	**0.126**	**0.004**
1	G~log(EuD)	0.018	0.681
1	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.182**	**0.001**
1	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.133	0.01
50	**G~log(LCD_{av})**	**0.123**	**0.005**
50	G~log(EuD)	0.018	0.674
50	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.18**	**0.001**
50	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.133	0.011
100	**G~log(LCD_{av})**	**0.124**	**0.004**
100	G~log(EuD)	0.018	0.676
100	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.179**	**0.000**
100	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.132	0.010
250	**G~log(LCD_{av})**	**0.127**	**0.001**
250	G~log(EuD)	0.018	0.668
250	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.174**	**0.001**
250	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.121	0.028
500	**G~log(LCD_{av})**	**0.126**	**0.002**
500	G~log(EuD)	0.018	0.668
500	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.174**	**0.002**
500	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.122	0.033
750	**G~log(LCD_{av})**	**0.128**	**0.002**
750	G~log(EuD)	0.018	0.678
750	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.174**	**0.001**
750	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.12	0.032
1000	**G~log(LCD_{av})**	**0.129**	**0.002**
1000	G~log(EuD)	0.018	0.673
1000	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.174**	**0.001**
1000	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.119	0.033
2000	**G~log(LCD_{av})**	**0.126**	**0.001**
2000	G~log(EuD)	0.018	0.679
2000	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.167**	**0.001**
2000	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.112	0.045
5000	**G~log(LCD_{av})**	**0.123**	**0.001**
5000	G~log(EuD)	0.018	0.678
5000	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.16**	**0.002**
5000	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.104	0.064
10000	**G~log(LCD_{av})**	**0.122**	**0.001**
10000	G~log(EuD)	0.018	0.672
10000	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.157**	**0.002**
10000	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.101	0.069

Tableau 28: Causal modeling results performed on LCDav obtained after model averaging for females in the second sub-sample having significant and positive Mantel r in the power analysis.

All number of scenarios leaded to same conclusions, the IBR model is the best supported model. Bold values indicated significant test (alpha = 0.01). G stands for genetic distances matrix (âr of Rousset), EuD for Euclidean and LCDav to least-cost distances matrices according to the number of averaged scenarios.

Number of averaged scenarios	Models	Mantel *r*	Two-tailed *P values*
1	**G~log(LCD_{av})**	**0.099**	**0.003**
1	G~log(EuD)	0.017	0.655
1	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.147**	**0.007**
1	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.11	0.05
50	**G~log(LCD_{av})**	**0.099**	**0.005**
50	G~log(EuD)	0.017	0.66
50	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.147**	**0.006**
50	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.111	0.048
100	**G~log(LCD_{av})**	**0.099**	**0.004**
100	G~log(EuD)	0.017	0.651
100	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.147**	**0.006**
100	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.111	0.045
250	**G~log(LCD_{av})**	**0.099**	**0.004**
250	G~log(EuD)	0.017	0.651
250	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.147**	**0.007**
250	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.11	0.05
500	**G~log(LCD_{av})**	**0.099**	**0.005**
500	G~log(EuD)	0.017	0.642
500	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.146**	**0.007**
500	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.109	0.054
750	**G~log(LCD_{av})**	**0.099**	**0.004**
750	G~log(EuD)	0.017	0.655
750	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.145**	**0.005**
750	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.108	0.052
1000	**G~log(LCD_{av})**	0.098	0.005
1000	G~log(EuD)	**0.017**	**0.654**
1000	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.144**	**0.007**
1000	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.107	0.056
2000	**G~log(LCD_{av})**	**0.097**	**0.004**
2000	G~log(EuD)	0.017	0.649
2000	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.142**	**0.007**
2000	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.105	0.057
5089	**G~log(LCD_{av})**	**0.097**	**0.003**
5089	G~log(EuD)	0.017	0.641
5089	**G~log(LCD_{av})|log(EuD)**	**0.141**	**0.007**
5089	G~log(EuD)|log(LCD_{av})	-0.104	0.062

Tableau 29: Resistance values obtained after averaging across different numbers of scenarios arbitrarily chosen for females in one of the two sub-sample having significant and positive Mantel r in the power analysis (averaged values ± SD).
See above and main text for a full description of habitat classes.

Number of averaged scenarios	**1**	**50**	**100**	**250**	**500**	**750**	**1000**	**2000**	**5000**	**10000**
Deciduous forests	50	45.00 ± 13.36	50.25 ± 21.17	53.6 ± 24.69	45.55 ± 23.13	45.63 ± 23.72	48.15 ± 24.87	51.92 ± 27.75	58.92 ± 27.76	56.05 ± 28.31
Coniferous trees	1	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
Rocky areas slope < 30°	1	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
Rocky areas slope > 30°	100	83.50 ± 17.94	80.25 ± 18.9	77.40 ± 21.94	72.15 ± 23.96	69.07 ± 25.64	67.10 ± 27.03	67.94 ± 27.08	70.19 ± 25.47	67.33 ± 26.59
Grass-rich areas in slopes	1	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	5.19 ± 14.77	26.92 ± 32.82	40.02 ± 34.84
Grass-rich areas on plateaus	100	76.00 ± 24.72	69.75 ± 24.95	59 ± 27.97	62.05 ± 27.71	60.53 ± 28.61	61.27 ± 27.94	61.05 ± 28.38	59.09 ± 28.76	58.55 ± 28.43
Broom and fern moorlands	1	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	19.90 ± 33.38	37.1 ± 36.9	39.2 ± 36.92	40.18 ± 36.22	41.81 ± 35.34	46.67 ± 34.37	49.35 ± 33.3
Anthropogenic linear features	100	72.5 ± 24.35	69.25 ± 25.34	71.5 ± 24.95	71.65 ± 23.9	67.73 ± 26.2	67.7 ± 26.36	67.99 ± 26.38	69.16 ± 25.78	69.05 ± 25.94
Natural linear features	25	25.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00	27.77 ± 11.4	29.7 ± 14.43	37.34 ± 20.57	39.61 ± 22.77	45.53 ± 25.3

Tableau 30: Resistance values obtained after averaging across different numbers of scenarios arbitrarily chosen for females in the second sub-sample having significant and positive Mantel r in the power analysis (averaged values ± SD).

See above and main text for a full description of habitat classes.

Number of averaged scenarios	**1**	**50**	**100**	**250**	**500**	**750**	**1000**	**2000**	**5089**
Deciduous forests	25	25.00 ± 0.00	25.00 ± 0.00	25.20 ± 2.23	25.7 ± 4.13	26.27 ± 5.49	26.75 ± 6.38	28.16 ± 8.86	39.57 ± 21.24
Coniferous trees	50	62.00 ± 18.38	61.00 ± 18.57	62.3 ± 20.81	60 ± 22.66	60.27 ± 23.21	60.4 ± 23.64	62.42 ± 24.68	58.56 ± 26.9
Rocky areas slope < 30°	1	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.34
Rocky areas slope > 30°	50	56.50 ± 13.18	55.75 ± 14.15	56.40 ± 18.04	57.55 ± 21.63	58.10 ± 23.29	58.30 ± 24.3	58.59 ± 25.69	61.40 ± 25.97
Grass-rich areas in slopes	50	48.00 ± 25.67	48 ± 23.75	52.9 ± 24.42	56.5 ± 24.83	57.53 ± 24.95	58.88 ± 25.27	61.71 ± 26.06	58.95 ± 27.4
Grass-rich areas on plateaus	100	85.50 ± 18.96	85.75 ± 18.21	88.20 ± 16.33	87.30 ± 16.02	86.53 ± 16.6	85.45 ± 16.95	81.29 ± 18.77	75.68 ± 22.56
Broom and fern moorlands	25	14.44 ± 12.03	15.16 ± 11.86	16.66 ± 12.28	18.61 ± 13.11	20.48 ± 15.42	21.54 ± 16.91	25.68 ± 21.48	29.55 ± 24.03
Anthropogenic linear features	100	84.00 ± 16.57	80.50 ± 18.32	81.10 ± 18.48	80.3 ± 18.71	79.43 ± 19.02	78.12 ± 19.4	76.96 ± 20.09	76.12 ± 21.3
Natural linear features	100	96.50 ± 8.76	93.25 ± 11.15	89.30 ± 15.62	85.55 ± 17.9	84.60 ± 18.12	84.10 ± 18.2	80.79 ± 19.27	81.42 ± 19.18

2. Les éléments du paysage freinant ou favorisant les flux de gènes en Corse sont-ils les mêmes qu'au Caroux-Espinouse ? (Addendum 1)

2.1. Introduction

Dans le Caroux-Espinouse, nous avons mis en évidence les effets de différents éléments paysagers sur les flux de gènes chez les femelles mouflons, et notamment les structures linéaires naturelles et anthropiques et la topographie (Chapitre 8, Article 2). L'importance d'avoir des réplicats en génétique du paysage a été plusieurs fois illustrée (e.g. Larroque et al. 2016a, Short-Bull et al. 2011) et des études comparatives entre populations sont nécessaires à la généralisation des patrons observés dans le Caroux-Espinouse. Dans d'autres espèces d'*Ovis* sauvages, l'importance des structures linéaires et de la topographie pour les flux de gènes a également été mise en évidence (voir Epps et al. 2005, 2007, Chreech et al. 2017 chez le mouflon du désert, Roffler et al. 2016 chez le mouflon de Dall). Dans les populations Corses, nous avons vu dans l'Addendum 3 du Chapitre 7 que les flux de gènes étaient susceptibles d'être impactés par les structures linéaires (route/vallée à Bavella, chaine de montagnes à Cinto). Il semble donc que ces types d'éléments paysagers puissent jouer un rôle déterminant pour les populations de mouflons et d'*Ovis* sauvages en général. Cependant, les approches de génétique des populations telles que celles que nous avons utilisées jusqu'ici en Corse ne suffisent pas à conclure à un réel effet du paysage. C'est pourquoi, afin de confirmer l'importance de ce type de structure pour les mouflons Corses, nous allons ici appliquer une approche de génétique du paysage similaire à celle présentée dans l'Artcicle 2.

2.2. Matériel et méthodes

La faible taille d'échantillon à Bavella (45 individus pour lesquels nous disposons des coordonnées GPS) ne nous permettant pas de réaliser les analyses dans des conditions de puissance suffisante (voir Analyse de puissance, Article 2, Appendix 1.7.5), nous nous focaliserons ici sur la population de Cinto (75 individus pour qui nous avons les coordonnées GPS). Comme les mâles et les femelles présentent la même structure génétique nord-sud (Chapitre 7, Addendum 3), ils ont été regroupés dans les analyses suivantes.

Nous avons évalué l'impact de 7 catégories d'habitats et 2 types de structures linéaires sur les flux de gènes. Les 7 catégories d'habitats comprennent les zones rocheuses, les fôrets de conifères, les forêts de non conifères (feuillus et aulnaies), les forêts claires, les landes rases, les maquis et les pelouses (Figure 50). Les structures linéaires sont comme

précédemment divisées en deux catégories : les structures linéaires naturelles (ici crêtes et talwegs[37]) et les structures anthropiques (routes et chemins, Figure 50). Les données d'habitats sont issues d'une cartographie réalisée sur le terrain par l'ONCFS et les structures linéaires naturelles ont été extraites du modèle numérique de terrain (MNT, BD ALTI©, Institut national de l'information géographique et forestière Française, www.ign.fr), alors que les structures linéaires anthropiques ont été extraites de la BD CARTO© (Institut national de l'information géographique et forestière Française, http://www.ign.fr). Nous avons ici utilisé une carte avec une résolution de 75 m et placé un tampon de 35 m autour des structures linéaires (voir Article 2). Les limites de la zone d'étude ont été définies en appliquant un tampon de 2 km autour des localisations des individus.

Nous utiliserons ici la même méthode d'optimisation du modèle IBR *(Isolation By Resistance*) que celle appliquée dans le Caroux-Espinouse (voir Article 2). Cinq valeurs de coût ont été alternativement assignées à chacun des 9 éléments paysagers aboutissant à un total de 1 953 125 scénarios. Le causal modeling a été utilisé pour déterminer si le paysage impacte les flux de gènes.

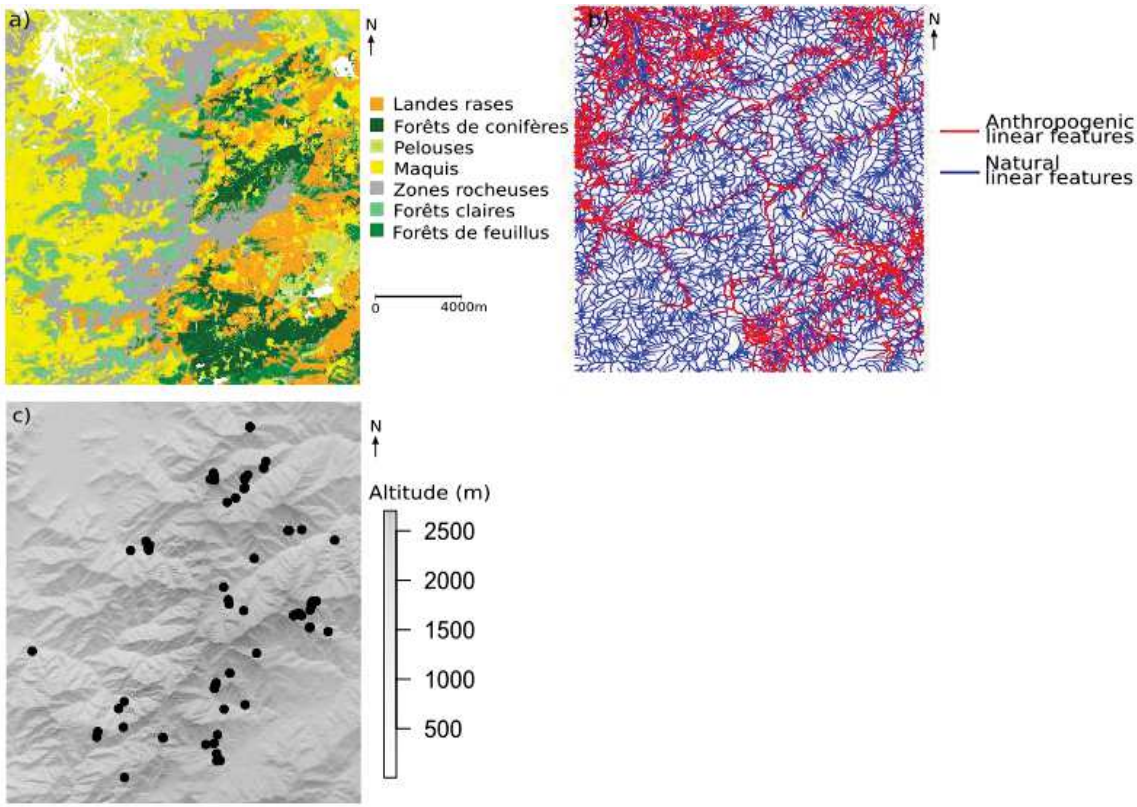

Figure 50: Catégories d'habitats (A) et structures linéaires (B) prises en compte dans les analyses de génétique du paysage dans la population de mouflons de Cinto. Le panel C représente la position des individus dans le massif.

[37] Le talweg est la ligne qui rejoint les points les plus bas soit d'une vallée, par opposition à la ligne de crête.

2.3. Résultats

Les 1 953 125 scénarios avaient un *r* de Mantel positif et significatif et nous n'avons pas détecté de pic unimodal de support dans les valeurs de *r* de Mantel ou de support relatif (*r* de Mantel moyen = 0.24, support relatif moyen = 0.43). Nous avons alors réalisé le causal modeling en utilisant le premier meilleur scénario et différents nombres de scénarios que nous avons moyennés (50, 100, 250, 500, 750, 1000, 2000, 5000 et 10 000, Tableau 31). Pour tous les nombres de scénarios testés, les tests du causal modeling apparaissent comme significatifs, y compris les tests de l'isolement par la distance, seuls et en tenant compte de l'IBR (Tableau 32). Ces résultats ne nous permettent donc pas de conclure à un effet du paysage sur les flux de gènes.

2.4. Discussion

Si l'on regarde les valeurs de coût associées à chaque élément du paysage, on peut constater que les pelouses et les landes ont des valeurs de résistance égales à 1, et ce, dans les 10 000 premiers scénarios (Tableau 31). Ces types d'habitats sont des habitats situés sur les hauteurs (Figure 50) et constituent des zones ouvertes. Dans ces zones, il est probable que les mouflons puissent se rencontrer et assurer les flux de gènes. Au contraire, les zones forestières sont situées dans les vallées et elles ont, tout comme les structures linéaires, des valeurs de coût très élevées. Les mouflons descendent peu dans ces zones (M. Garel, communication personnelle) et le signal génétique détecté ici peut correspondre au fait que les différents massifs montagneux sont séparés par des vallées et des zones forestières n'étant que très peu traversées. Il semblerait donc que nous détections la différenciation génétique « par massif ».

Les analyses de génétique du paysage semblent donc détecter un signal génétique mais ne permettent pas de distinguer entre les effets de la distance géographique et du paysage. Une raison pour expliquer ce signal paysager « brouillé » peut venir du fait que nous ayons regroupé les mâles et les femelles pour réaliser ces analyses. Ce choix a été fait car mâles et femelles présentent les même structures génétiques spatiales (Chapitre 7, Addendum 3) et nous voulions gagner en puissance statistique. Cependant, une même structure peut être obtenue même si les effets du paysage ne sont pas les même sur le comportement des mâles et des femelles. Si les éléments paysagers n'ont pas les mêmes effets sur les flux de gènes chez les deux sexes, leur regroupement a pu bruiter le signal de ces éléments et empêcher sa détection. Une autre explication peut être en lien avec la grande distance géographique et la

forte différenciation existant entre les deux groupes génétiques précédemment détectés, entre lesquels les flux de gènes semblent très réduits (Chapitre 7, Addendum 3).

En effet, nous avons vu, dans la population du Caroux-Espinouse, que les effets du paysage sur les flux de gènes étaient déterminés par le comportement des individus. À l'échelle à laquelle sont réalisées les études sur la population de Cinto, nous ne distinguons pas les différences comportementales (Chapitre 7, Addendum 3). Il est donc possible que le comportement des individus ne soit pas à l'origine de la structure génétique de cette population (e.g. plutôt l'histoire d'introduction, Chapitre 7, Addendum 3). Comme les structures linéaires sont des barrières comportementales et non physiques (Marchand et al. 2017a), il est possible que nous ne détections pas d'effet du paysage parce que nous travaillons à une échelle qui ne rend pas compte du comportement des individus. De plus, la forte différenciation génétique existant entre les 2 groupes génétiques (*Fst* = 0.14) suggère que nous raisonnons ici à une échelle plus inter-populationnelle qu'intra-populationnelle. Les éléments structurants peuvent être différents entre ces deux échelles. Tous ces éléments de discussion mettent l'emphase sur la nécessité de se focaliser, pour la suite, à l'échelle intra-groupe génétique, que ce soit pour la étudier la structure génétique spatiale (Chapitre 7, Addendum 3), le comportement des animaux (e.g. mâles/femelles) ou les effets du paysage sur les flux de gènes. Comme précédemment, cela nécessitera d'augmenter les tailles d'échantillons afin de disposer d'une puissance statistique suffisante. Cela est d'autant plus nécessaire que, même à l'échelle intra-groupe, l'échelle spatiale a laquelle seront réalisées les analyses sera toujours nettement supérieure à celle du CE. Enfin, une alternative aux modèles d'isolation par distance et par résistance sont les modèles d'isolations par barrières (e.g. Sirk et al. 2010, Cushman et al. 2013). Ces modèles prennent explicitement en compte l'effet barrière que peut imposer un élément paysager sur les flux de gènes, et il serait intéressant de prendre en compte ce type de matrices de distances dans de futures analyses.

Tableau 31: Valeur de résistance pour les différents éléments paysagers considérés dans les analyses de génétique du paysage dans la population de mouflons de Cinto pour le premier meilleur et différents nombres de scénarios considérés (moyenne ± erreur standard).
SLA représente les structures linéaires anthropiques et SLN les structures linéaires naturelles.

Nombre de scénarios	**1**	**50**	**100**	**250**	**500**	**750**	**1000**	**2000**	**5000**	**10 000**
Forêts de feuillus	100	100 ± 0.00	100 ± 0.00	100 ± 0.00	99.6 ± 3.14	97.93 ± 6.89	96.3 ± 8.88	93 ± 11.23	85.82 ± 16.08	78.37 ± 19.63
Forêts claires	25	61.5 ± 28.22	62.5 ± 28.09	62.3 ± 28.01	62.5 ± 27.98	62.43 ± 27.97	62.5 ± 27.96	62.5 ± 27.96	62.5 ± 27.95	62.5 ± 27.95
Forêts de conifères	100	92 ± 11.78	92 ± 11.72	85.8 ± 16.57	82.2 ± 18.94	80.8 ± 19.28	81 ± 19.35	75.5 ± 22.64	67.8 ± 26.73	64.1 ± 27.61
Landes rases	1.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
Maquis	100	100 ± 0.00	99 ± 4.92	94.4 ± 10.44	91.4 ± 11.89	90.93 ± 12.57	88.9 ± 14.47	84.35 ± 17.51	78.52 ± 20.12	68.7 ± 25.8
Pelouses	1.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
Zones rocheuses	100	100 ± 0.00	95 ± 10.05	93 ± 11.25	88.6 ± 14.33	86.4 ± 16.39	85 ± 17.47	81.95 ± 18.66	74.12 ± 23.37	66.41 ± 26.74
SLA	100	77 ± 22.5	74 ± 24.08	69.2 ± 26.16	67.2 ± 26.75	66.13 ± 27.15	66.1 ± 27.28	64.9 ± 27.49	63.52 ± 27.79	62.77 ± 27.91
SLN	100	84 ± 18.74	81 ± 19.17	78.8 ± 20.3	74.6 ± 23.68	71.33 ± 25.41	70.8 ± 25.55	68.4 ± 26.21	65.06 ± 27.53	63.25 ± 27.85

Tableau 32:Résultats du causal modeling réalisé sur les distances de moindre coût calculées en utilisant les valeurs de résistance du premier meilleur scénario, ou bien les valeurs obtenues en moyennant divers nombres de scénarios.

G représente la matrice de distances génétiques ($\hat{a}_r$ of Rousset), EuD la distance Euclidienne, et LCD la distance de moindre coût calculée sur le premier meilleur scénario (LCD_{top}) ou sur les scénarios moyens (LCD_{av}).

Nombre de scénarios	Test	*r* de Mantel	p-valeur
1	G~LCD_{top}	0.22	0.0001
1	G~EuD	0.18	0.0001
1	G~LCD_{top}|EuD	0.24	0.0001
1	G~EuD| LCD_{top}	-0.20	0.0001
50	G~LCD_{av}	0.22	0.0001
50	G~EuD	0.18	0.0001
50	G~LCD_{av}|EuD	0.24	0.0001
50	G~EuD| LCD_{av}	-0.20	0.0001
100	G~LCD_{av}	0.22	0.0001
100	G~EuD	0.18	0.0001
100	G~LCD_{av}|EuD	0.24	0.0001
100	G~EuD| LCD_{av}	-0.20	0.0001
250	G~LCD_{av}	0.22	0.0001
250	G~EuD	0.18	0.0001
250	G~LCD_{av}|EuD	0.24	0.0001
250	G~EuD| LCD_{av}	-0.20	0.0001
500	G~LCD_{av}	0.22	0.0001
500	G~EuD	0.18	0.0001
500	G~LCD_{av}|EuD	0.24	0.0001
500	G~EuD| LCD_{av}	-0.20	0.0001
750	G~LCD_{av}	0.22	0.0001
750	G~EuD	0.18	0.0001
750	G~LCD_{av}|EuD	0.24	0.0001
750	G~EuD| LCD_{av}	-0.20	0.0001
1000	G~LCD_{av}	0.22	0.0001
1000	G~EuD	0.18	0.0001
1000	G~LCD_{av}|EuD	0.24	0.0001
1000	G~EuD| LCD_{av}	-0.20	0.0001
2000	G~LCD_{av}	0.22	0.0001
2000	G~EuD	0.18	0.0001
2000	G~LCD_{av}|EuD	0.24	0.0001
2000	G~EuD| LCD_{av}	-0.20	0.0001
5000	G~LCD_{av}	0.22	0.0001
5000	G~EuD	0.18	0.0001
5000	G~LCD_{av}|EuD	0.24	0.0001
5000	G~EuD| LCD_{av}	-0.20	0.0001
10000	G~LCD_{av}	0.22	0.0001
10000	G~EuD	0.18	0.0001
10000	G~LCD_{av}|EuD	0.24	0.0001
10000	G~EuD| LCD_{av}	-0.20	0.0001

PARTIE IV :
INTERACTIONS HÔTES-PARASITES

Chapitre 9

Co-structure génétique et spatiale des hôtes et leurs parasites

1. Pourquoi comparer les structures génétiques spatiales des hôtes et leurs parasites ?

Les flux de gènes, des hôtes comme des parasites, sont un important déterminant de la coévolution hôtes-parasites. Avoir des informations sur les facteurs déterminant ces flux au sein des 2 espèces de l'interaction est crucial pour prédire et protéger les populations d'éventuelles épidémies (Blanchong et al. 2008, Biek & Real 2010). Les flux de gènes des pathogènes dépendent, au moins en partie, des mouvements de leurs hôtes (Biek & Real 2010, Gilleard & Redman 2016). Ainsi, des éléments bloquants les mouvements des hôtes peuvent bloquer la propagation de certains pathogènes (e.g. rivières pour les cerfs de virginie, *Odocoileus virginianus*, Blanchong et al. 2008, ou pour les ratons laveurs, *Procyon lotor*, Cullingham et al. 2009). Cela peut cependant être modulé par la complexité des cycles de vie. Pour les parasites ayant des cycles de vie complexes (e.g. cycles hétéroxènes, grande diversité d'hôtes possibles), les flux de gènes seront impactés par les différents acteurs du cycle et leurs traits d'histoire de vie (Barrett et al. 2008). Chez les salmonidés (*Oncorhynchus* spp.), par exemple, les flux de gènes des trématodes dépendent des mouvements des hôtes, et les parasites ayant plusieurs hôtes habitant différents milieux (aquatiques et terrestres) ont une meilleure capacité de dispersion que les parasites qui ont uniquement des hôtes aquatiques (Criscione & Blouin 2004). Cela peut aboutir à différents niveaux de structures génétiques entre hôtes et parasites, avec des parasites qui présentent une structure génétique bien moins forte que certains de leurs hôtes (e.g. Keeney et al. 2009).

Au contraire, pour les parasites dont les flux dépendent plus fortement des contacts locaux entre hôtes (e.g. parasites à cycles directs, spécifiques d'un groupe d'hôtes), des structures génétiques très fines, et à échelle très locale, peuvent apparaître (Nadler 1995). Pour ce type de parasite, on peut alors s'attendre à ce que leur structure génétique soit comparable ou plus forte que celle de leurs hôtes et qu'elle dépende des éléments qui impactent les flux des hôtes (e.g. Parker & Spoerke 1998, Criscione et al. 2006). Dans certains cas, il est même possible d'en apprendre plus sur les hôtes en étudiant les parasites, plutôt que les hôtes eux-mêmes, du fait des taux de divergence génétique différents. Par exemple, Criscione et al. (2006) ont mis en évidence que les succès d'assignation des truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) à leur population source étaient meilleurs lorsque les tests étaient réalisés sur les trématodes parasitant les truites plutôt que sur les truites elles mêmes. De même, McCoy et al. (2005) ont pu mettre en évidence des mouvements effectués par les

mouettes tridactyles (*Rissa tridactyla*) en dehors des mouvements de dispersion en étudiant la structure génétique des tiques (*Ixodes uriae*) qu'elles portent.

Dans un tel contexte, on comprend alors tout l'enjeu d'étudier conjointement les structures génétiques spatiales des hôtes et de leurs parasites. La structure génétique spatiale de la population de mouflons Méditerranéens du Caroux-Espinouse, et plus particulièrement des femelles, est déterminée par l'histoire d'introduction et l'organisation socio-spatiale (Article 1, Chapitre 7). Nous avons vu que ces deux signaux génétiques sont probablement la résultante de la forte philopatrie des femelles et de l'impact du paysage sur les flux de gènes (Article 2, Chapitre 8). Un tel comportement spatial peut impacter la circulation des parasites dans la population et on peut s'attendre à ce que ces éléments, structurants pour les hôtes, le soient d'autant plus pour les parasites. Cela à plus forte raison pour les parasites à cycle simple, leurs mouvements dépendants de ceux de leurs hôtes. Afin de vérifier cette hypothèse, nous nous focaliserons ici sur les strongles intestinaux de l'espèce *Haemonchus contortus* (nématode gastro-intestinal). Les *H. contortus* ont une pathogénicité importante et sont très répandus chez les ruminants domestiques comme sauvages (Chapitre 4). Par ailleurs, les *H. contortus* sont un modèle biologique particulièrement intéressant pour l'étude de l'interdépendance des flux de gènes hôtes/parasites car ce sont des parasites internes, spécifiques des ruminants et ayant un cycle monoxène. On s'attend ainsi à observer une structure génétique chez les *H. contortus* correspondant à celle des femelles mouflons.

2. Co-structure des *Haemonchus contortus* et de leurs hôtes

2.1. Matériel et méthodes

Afin d'étudier la structure génétique et spatiale des parasites du mouflon Méditerranéen, nous avons procédé au génotypage d'individus *Haemonchus contortus* issus de la caillette de mouflons qui avaient été abattus à la chasse. Grâce à la collaboration existant entre l'ONCFS, le GIEC du Caroux-Espinouse (gérant la chasse au mouflon dans le massif, voir Chapitre 5) et les chasseurs locaux, nous avons pu récupérer les caillettes de 85 individus, abattus à la chasse (septembre 2011 - février 2012) répartis sur l'ensemble du massif. Tous les individus abattus étaient parasités avec une prévalence de 100% pour les Ostertagiinés, de 97.6% pour les Trichostrongylinés (*Trichostrongylus axei*) et de 42.1% pour les Haemonchinés (*Haemonchus contortus*, Maerten 2014).

Les *H. contortus* sont des parasites parmi les plus facilement reconnaissables de la caillette, notamment par leur taille (voir Figure 51). Une fois la première identification à l'œil

nu réalisée, une confirmation à la loupe binoculaire a été réalisée à l'aide de clés d'identification (Skryabin et al. 1961). Les éléments morphologiques recherchés étaient la position du lobe dorsal sur la bourse caudale des mâles (qui est asymétrique chez les *H. contortus*, Figure 52), et la présence de cordons génitaux enroulés et d'une languette supra-vulvaire chez les femelles (Figure 53).

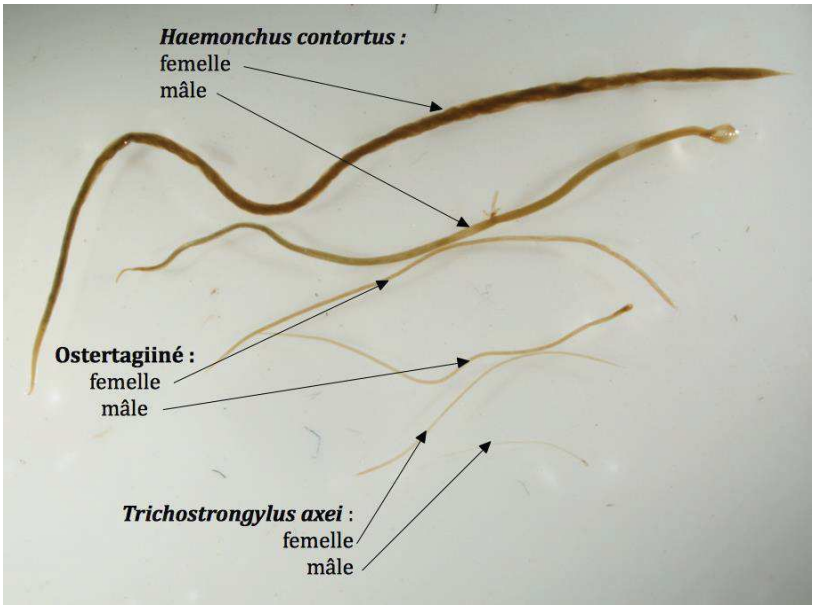

Figure 51: Photographie des différents trichostrongylidés présents dans les caillettes des mouflons. © Julien Maerten

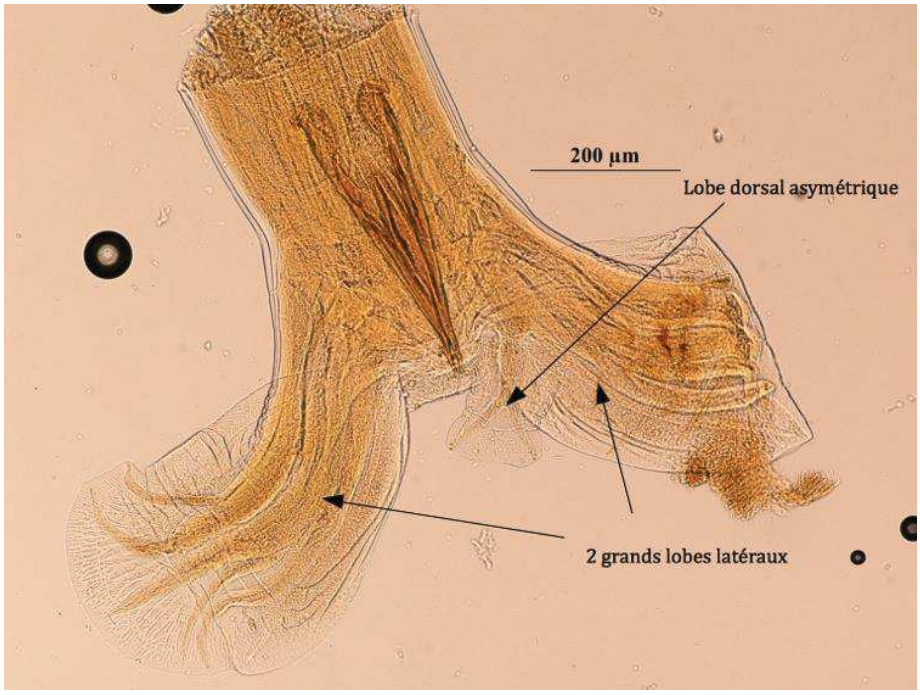

Figure 52: Bourse caudale d'Haemonchus contortus mâle observée à la loupe binoculaire. © Julien Maerten

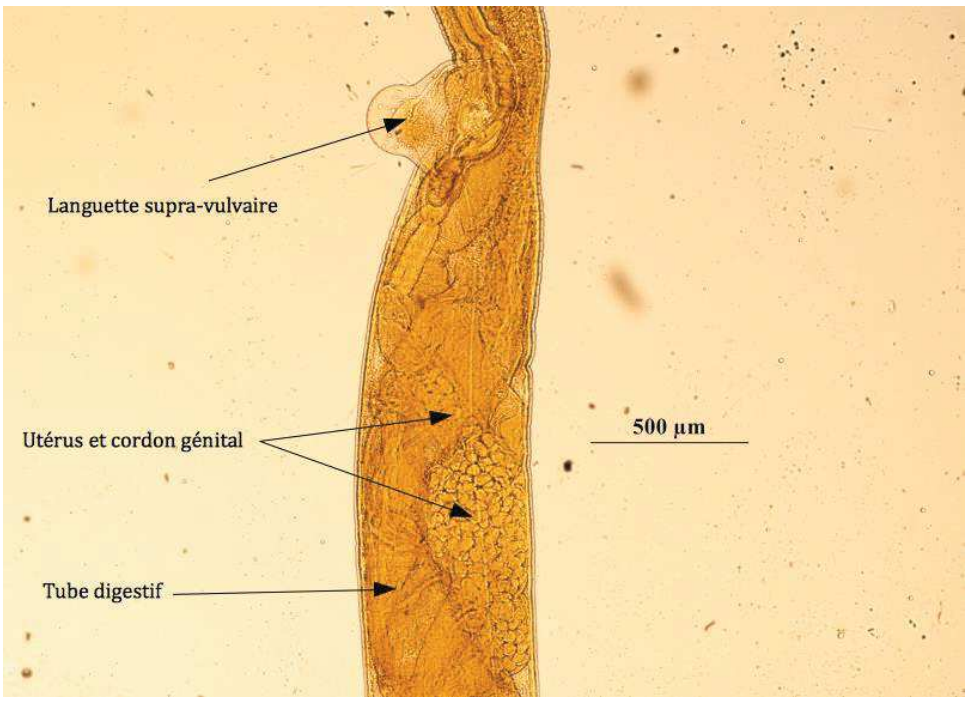

Figure 53: Cordons génitaux et languette supra-vulvaire chez les Haemonchus contortus femelles. © Julien Maerten.

Les extractions d'ADN ont été réalisées à partir d'une portion du parasite, prélevée dans la région antérieure du corps (≈ 5mm pour les mâles, et dans la portion sans cordons génitaux pour les femelles afin d'éviter la contamination par des œufs). Les extractions ont été réalisées préférentiellement sur des *H. contortus* mâles afin d'éviter le risque de contamination des échantillons femelles par leurs œufs. Les extractions ont été réalisées avec le kit « EZ-10 Spin Column genomic DNA Minipreps kit » de chez Biobasic (ref BS628) selon les recommandations du fournisseur mais en adaptant les volumes des tampons à la petite taille des échantillons. La lyse a ainsi été réalisée avec 100 µL de tampon ACL et 7 µl de proteinase K, puis les échantillons ont été incubés pendant 1h à 55°C sous agitation (400rpm dans un thermomixer). Les étapes d'accrochage sur la colonne de purification et les lavages ont été réalisés avec 150 µL de solution AB et 200 µL de tampon pour chacune des deux étapes de lavage. L'élution a été réalisée dans 50 µL de tampon EB.

Pour chaque échantillon, 7 microsatellites ont été amplifiés, répartis dans 3 réactions multiplexes (Tableau 33). Une amorce de chaque paire a été marquée à son extrémité 5' par un fluorochrome (FAM ou NED) pour permettre le multiplexage (Tableau 33). Les amplifications par PCR (Polymerase Chain Reaction) ont été réalisées dans un volume final de 15µL comprenant du tampon Mastermix du kit Multiplex PCR (QIAGEN, ref 206145), 400nM de chaque amorce et 2µL de la solution d'ADN. Les cycles de PCR ont consisté en une étape d'activation de 15 minutes à 95°C, suivie de 40 cycles composés d'une étape de

dénaturation (30 secondes, 94°C), d'une étape d'hybridation (1 minute 30 secondes à une température spécifique à chaque couple d'amorce, Tableau 33) puis d'une étape d'élongation (1 minute, 72°C). Après les 40 cycles, une étape finale d'élongation (30 minutes, 60°C) a été réalisée. Les produits PCR ainsi obtenus ont été envoyés à Genoscreen (Lille, France) pour migration sur un séquenceur capillaire ABI 3730XL. Les électrophorégrammes ont été analysés avec le logiciel GENEMAPPER v5.0 (Applied Biosytems/Life Technologies) et analysés indépendamment par 2 analystes pour déterminer la taille des allèles pour chaque marqueur et chaque individu.

Afin de s'assurer qu'il n'y avait pas eu d'erreurs de génotypage, nous avons utilisé le logiciel MICROCHECKER v.2.2.3 (Van Oosterhout et al. 2004) pour détecter la présence d'allèles nuls. Une analyse factorielle des correspondances a également été réalisée afin d'identifier les individus aberrants en utilisant Genetix v4.05 (Belkhir et al. 2004). Afin de ne pas biaiser les analyses qui ont suivi, nous avons supprimé du jeu de données les 3 individus aberrants identifiés. De plus, seuls les individus pour lesquels le génotypage avait fonctionné sur au moins 4 marqueurs ont été conservés. Un jeu de données de 118 *H. contortus* provenant de 44 mouflons (24 et 94 *H. contortus* provenant de 10 mouflons femelles (nombre moyen de vers par femelle = 2.4, min = 1, max = 3) et 34 mouflons mâles (nombre moyen de vers par mâle = 2.8, min = 1, max = 7), respectivement) répartis sur l'ensemble du massif (Figure 54) a été utilisé dans les analyses suivantes. Nous nous sommes intéressés particulièrement aux mouflons femelles de plus de 2 ans et aux mâles de plus de 4 ans afin de n'échantillonner les parasites que dans les hôtes ayant déjà dispersé (même si peu de dispersion natale semble avoir lieu dans la population du Caroux-Espinouse, Dubois et al. 1996, Battistella 2016).

Nous avons déterminé la diversité génétique (nombre d'allèles par locus, richesse allélique et hétérozygotie attendue, sensu « Nei's gene diversity », Nei 1973), les valeurs de *Fis* ainsi que leur différence par rapport à zéro, et la présence de déséquilibre de liaison entre nos loci, en utilisant le logiciel FSTAT v.2.9.3.2 (Goudet 1995, 2001). Les p-valeurs ont été ajustées pour les tests multiples en utilisant la procédure de Bonferroni lorsque nécessaire (Bonferroni 1936). L'hétérozygotie observée a été déterminée en utilisant le logiciel R (package hierfstat, Goudet & Jombart 2015).

Afin d'étudier la structure génétique et spatiale des *H. contortus*, nous avons, dans un premier temps, utilisé une DAPC (Discriminant Analysis of Principal Component, package *Adegenet* pour le logiciel R, Jombart et al. 2008a, 2009) pour identifier le nombre le plus probable de groupes génétiques (clusters, K, ci-après) et assigner les individus à un cluster

donné (5 composantes principales ont été retenues suite à la procédure de cross-validation, voir Chapitre 7, Article 1 pour plus de détails sur la procédure de la DAPC). Nous avons ensuite réalisé une sPCA (Spatial Principal Component Analysis, package *Adegenet* pour le logiciel R, Jombart et al. 2008a,b, voir Chapitre 7, Article 1 pour plus de détails sur la sPCA) afin d'identifier les patrons spatiaux de la variabilité génétique dans la population. Afin de ne pas avoir de coordonnées spatiales identiques pour deux *H. contortus* prélevés sur le même mouflon, un bruit aléatoire a été ajouté aux coordonnées spatiales des mouflons (Figure 54). Une distance moyenne de 346 m a ainsi été obtenue entre le mouflon échantillonné et l'*H. contortus* génotypé relocalisé.

Tableau 33: Caractéristiques des 7 marqueurs microsatellites choisis pour le génotypage des Haemonchus contortus du Caroux-Espinouse.

Nom	Amorce F (5'-3')	Amorce R (5'-3')	Taille (bp)	T°C Hybridation	Référence	Amorce fluorescente	Multiplex
Hcms25	ACA-GGA-GTT-ATG-AAT-TTC-CGG	GCT-TCA-GTT-TGA-ATT-GCT-TCC-C	170-312	60	Otsen et al. 2000	FAM	A
Hcms27	ACA-TAA-ATC-TAG-GTA-GGG-TAG-G	ACA-GAA-GAA-CGA-TCA-GAA-TCT-C	346	60	Otsen et al. 2000	FAM	B
Hcms33	ATA-GCG-GTT-CGG-AGG-GGT-TTC	CCC-CGT-CAA-ATA-AAA-GGC-TAG-A	180-240	60	Otsen et al. 2000	FAM	C
Hcms36	GCA-TAG-CGG-CAA-GGA-CGT-ATG-G	CAT-GAC-GTA-CTC-TGG-TTG-TTC-G	138-158	60	Otsen et al. 2000	FAM	C
Hcms40	TCG-ATA-GTT-GTC-ACT-TCC-AA	TCG-AAT-CCT-GAG-TCT-ACC-GT	233-299	54	Redman et al. 2008	FAM	B
Hcms22co3	GAG-CTT-CAT-TGA-GAG-AAT-GGA-ATT	GGT-CCT-CAT-ATA-CGA-TCA-ACT-AA	227-258	54	Redman et al. 2008	NED	C
Hcms8a20	CAA-ACT-TGA-CCC-GAC-CTC-TC	AGC-GCG-TTG-CAC-AAA-ACA-TT	170-300	54	Redman et al. 2008	NED	A

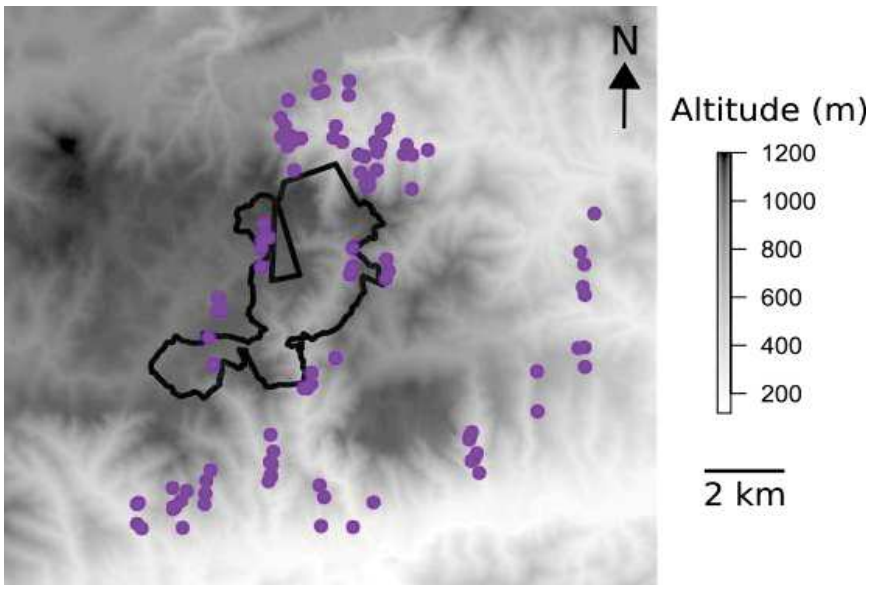

Figure 54: Répartition des individus Haemonchus contortus génotypés sur le massif du Caroux-Espinouse.

En noir : la RNCFS du Caroux-Espinouse ; en violet : les individus d'H. contortus génotypés. Un bruit aléatoire, de 346 m en moyenne, a été ajouté aux coordonnées des mouflons porteurs des H. contortus génotypés afin d'éviter une superposition des points. Les mouflons abatus à la chasse sont situés en dehors de la réserve, la présence de points au sein de la réserve est due au bruitage des localisations GPS des individus en bordure de réserve.

2.2. Résultats

Sur les 7 marqueurs choisis, seul le Hcms8a20 n'a pas pu être utilisé en raison de profils de génotypages ininterprétables. Nos résultats portent donc sur les 6 restants. Quatre microsatellites ont révélé la présence d'allèles nuls : Hcms22Co3 (fréquence f = 0.18), Hcms25 (f = 0.04), Hcms27 (f = 0.29), Hcms40 (f = 0.20). La population d'*Haemonchus contortus* présente un *Fis* de 0.23 (Tableau 34) significativement différent de zéro indiquant que la population n'est pas à l'équilibre d'Hardy-Weinberg. Cet écart à l'équilibre peut probablement s'expliquer par la présence des allèles nuls, comme cela semble souvent être le cas avec les *H. contortus* et autres vers intestinaux (voir Grillo et al 2006, Silvestre et al 2009, Hunt et al. 2008, Redman et al. 2008). La richesse allélique est relativement élevée, mais l'hétérozygotie observée est relativement faible (Tableau 34), bien que comparable à ce qui est observé dans d'autres populations (Redman et al. 2008).

Tableau 34: Nombre d'allèles (Na), richesse allélique (Ar), hétérozygoties observée (Ho) et attendue (He) et valeurs de Fis pour chaque locus, et, en moyenne ± écart-type pour tous les loci, pour les Haemonchus contortus du Caroux-Espinouse.

Locus	n_a	A_r	*Ho*	*He*	*Fis*
Hcms22Co3	5	4.885	0.31	0.516	0.395
Hcms25	15	13.357	0.77	0.843	0.092
Hcms27	4	4.000	0.08	0.371	0.782
Hcms33	5	4.764	0.53	0.574	0.075
Hcms36	8	7.227	0.72	0.665	-0.085
Hcms40	10	9.033	0.43	0.723	0.411
Tous loci confondus	7.83 ± 4.17	7.21 ± 3.54	0.47 ± 0.26	0.62 ± 0.17	0.23

Le nombre le plus probable de clusters génétiques indiqués par la DAPC est de 2 (Figure 55). En effet, bien que la valeur minimale de BIC soit pour K = 7, c'est entre K = 1 et K = 2 que la diminution de BIC est la plus importante (Figure 55). Nous avons donc conservé la première composante discriminante et, en accord avec la procédure de cross-validation, 10 composantes principales pour faire la DAPC. La composante discriminante expliquait 76% de la variance totale présente dans le jeu de données. Les succès d'assignation étaient égaux à 1. Le premier cluster regroupait 31 individus et le second 87. Malgré une différenciation qui semble importante entre les 2 clusters (Figure 56), des individus appartenant aux 2 clusters se retrouvent sur l'ensemble du massif (Figure 57) indiquant qu'il n'y a pas de correspondance géographique aux 2 clusters identifiés. Il est à noter que des résultats similaires (non montrés ici) sont obtenus avec K = 3, K = 5 et K = 7.

La sPCA a donné des résultats en accord avec la DAPC. Nous avons retenu les 2 premiers axes positifs et les 2 premiers axes négatifs. Bien que graphiquement la sPCA semble opposer les individus du centre de ceux de l'est et de l'ouest du massif (Figure 58A), aucune structure spatiale n'a été détectée (tests global et local non significatifs, p = 0.45 et p = 0.64, respectivement, visible sur la Figure 58B).

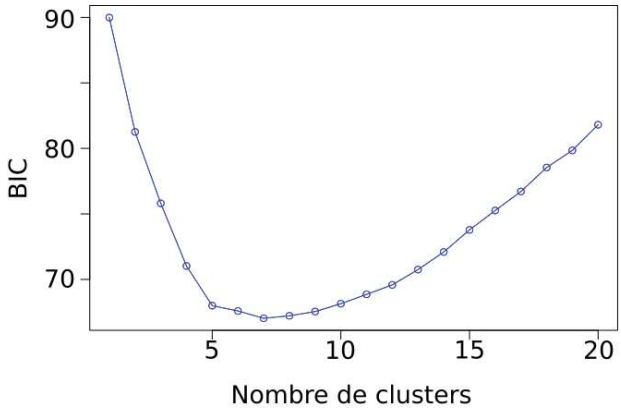

Figure 55: Valeurs de BIC de la DAPC réalisée sur les H. contortus du Caroux-Espinouse.

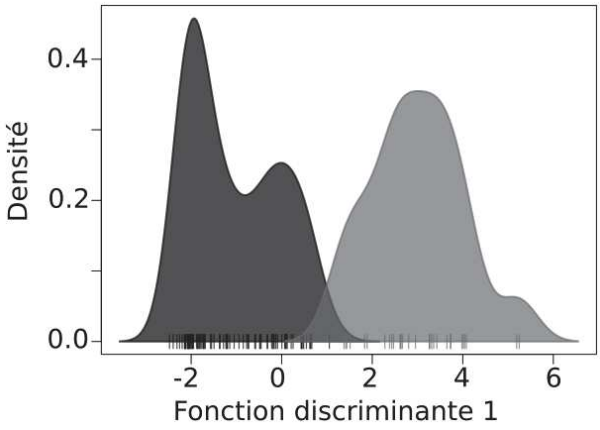

Figure 56:Proximité génétique entre les H. contortus génotypés dans le Caroux-Espinouse, obtenue grâce à la DAPC. Deux clusters génétiques ont été conservés.

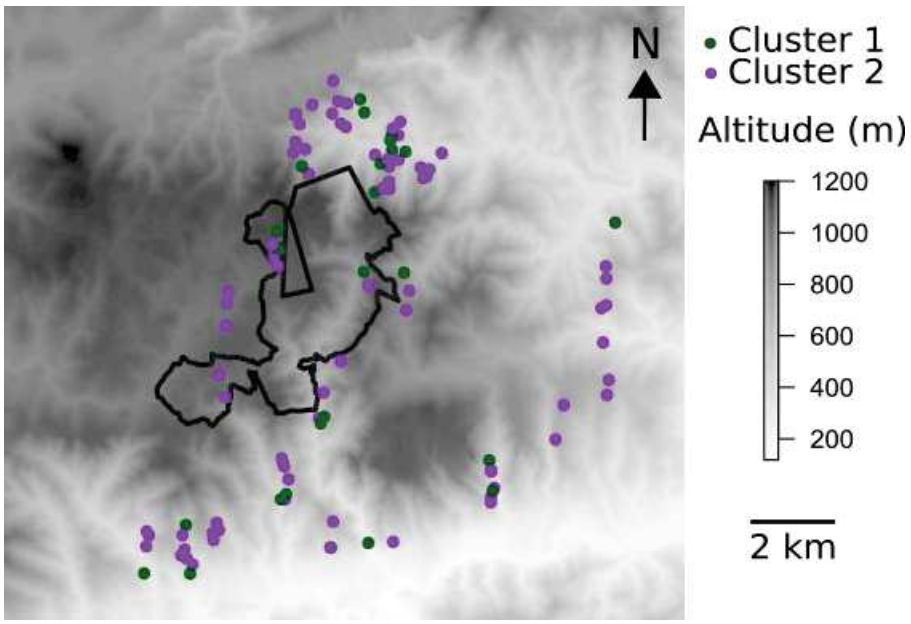

Figure 57: Répartition géographique des H. contortus génotypés dans le massif du Caroux-Espinouse et assignation aux clusters génétiques identifiés grâce à la DAPC.

L'échelle de gris représente l'altitude sur le massif, en mètres. En noir, les limites de la RNCFS du Caroux-Espinouse.

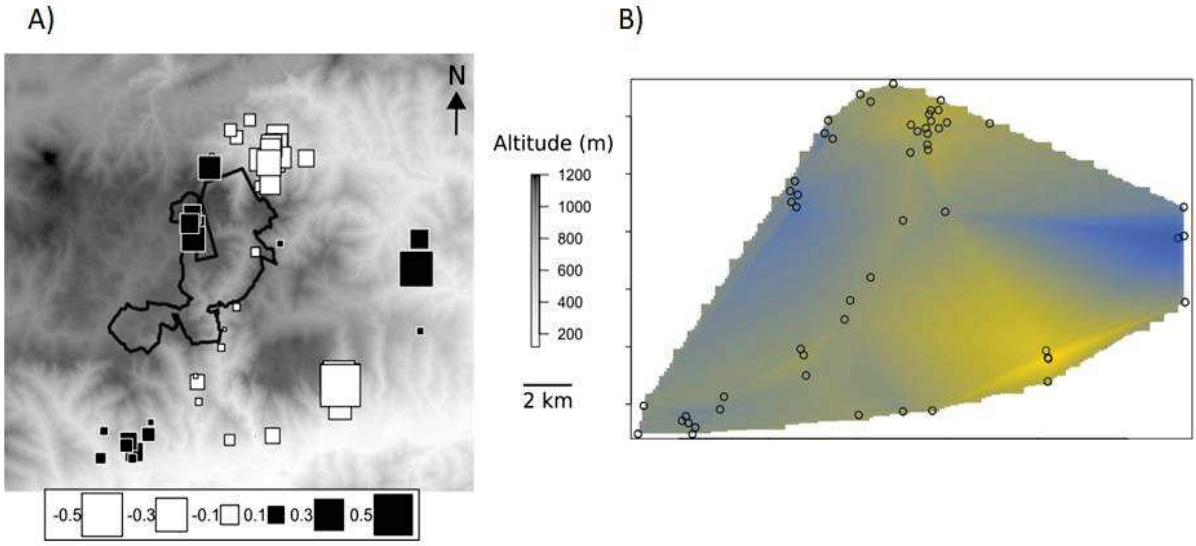

Figure 58: Carte géographique des scores lissés de la sPCA sur le premier axe global (A) et interpolation de ces scores illustrant la proximité génétique (B).

Sur le panel A, la taille des carrés est proportionnelle au score, la différenciation génétique étant maximale entre le grand carré noir et le grand carré blanc. L'échelle de gris représente l'altitude sur le massif, en mètres. En noir, les limites de la RNCFS du Caroux-Espinouse.

3. L'apport pour la dynamique parasitaire dans la population

Bien que ces résultats soient préliminaires (réception des données en juillet 2018), ils nous fournissent des premiers éléments intéressants sur la dynamique parasitaire dans la population de mouflons du Caroux-Espinouse. Nous avons détecté deux clusters génétiques (DAPC) qui n'avaient cependant pas de correspondance géographique, ce qui a été confirmé par l'absence de patron spatial significatif (sPCA). Etant donné le comportement socio-spatial des femelles, et considérant le fait que les flux de gènes assurés par les mâles ne suffisent pas à compenser l'effet de ce comportement sur la différenciation génétique (Article 1), nous pouvions nous attendre à observer une structure génétique « par unité socio-spatiale » chez les parasites. D'un autre côté, la structure génétique des femelles mouflons est aussi déterminée par l'histoire d'introduction, et c'est un élément qui aurait également pu impacter la structure génétique des *H. contortus*.

Contrairement à nos attentes, nous n'avons pas mis en évidence de correspondance entre la structure génétique spatiale des mouflons femelles et la structure génétique spatiale des *H. contortus*. Il semble donc que les parasites circulent mieux que les gènes de mouflons dans la population. La transmission des parasites entre hôtes peut avoir lieu au cours de tous les types de mouvements effectués par les hôtes (i.e. mouvements liés à la reproduction ou non). Ainsi, la structure génétique spatiale des hôtes, qui ne rend compte que des mouvements aboutissants aux flux de gènes, peut sous-estimer la transmission des parasites dans les populations (Biek & Real 2010). Nos résultats suggèrent donc que, malgré la forte fidélité spatiale des femelles et des mâles en dehors du rut (e.g. chevauchement des domaines vitaux saisonniers chez les mâles : 89.8 ± 2.5%, chez les femelles : 88.4 ± 4.5%, Marchand et al. 2014b et données non publiées, philopatrie observée chez les 2 sexes, Dubois et al. 1994, 1996, King & Brooks 2003), les mouvements faits par les mâles durant la courte période du rut (octobre-décembre) permettent d'assurer le brassage génétique chez les parasites.

Une autre explication peut aussi être qu'en raison d'un échantillonnage déséquilibré entre mâles et femelles mouflons, nous ne détectons pas la structure génétique sexe-spécifique qui pourrait exister chez les parasites. En effet, dans la présente étude, 34 mâles mouflons (94 *H. contortus*) contre seulement 10 femelles (24 *H. contortus*) ont été échantillonnés. On peut émettre l'hypothèse que les communautés de parasites bénéficient d'un meilleur brassage génétique lorsqu'elles sont portées par les mâles plutôt que par les femelles. Mouflons mâles et femelles vivent dans des groupes séparés durant la quasi-totalité de l'année (voir Chapitre 4, Bourgoin et al. 2018). Les mâles, et plus particulièrement les vieux mâles, qui ségrègent

plus des femelles que les mâles plus jeunes (Bourgoin et al. 2018), ont donc plus de chances d'ingérer les parasites relâchés dans l'environnement par d'autres mâles. Dans la présente étude, les mâles mouflons échantillonnés ont en moyenne 6.5 ans. Cela peut donc induire une structure sexe-spécifique des parasites. Bien que mâles et femelles se rejoignent durant le rut, et que les jeunes mâles oscillent de groupes de femelles à groues de vieux mâles, les échanges de parasites assurés par ces mouvements ne sont peut-être pas suffisant pour homogénéiser les structures génétiques de leurs parasites. À l'avenir, il pourrait être intéressant d'échantillonner plus de femelles afin de confirmer ou infirmer cette hypothèse.

Ces derniers éléments de discussion font référence à l'impact de la structure socio-spatiale que nous attendions sur les flux de gènes des parasites. Cependant, un second facteur structurant aurait pu être l'histoire d'introduction (voir Article 1, Chapitre 7), si l'on fait l'hypothèse que les mouflons introduits étaient porteurs d'*H. contortus*. L'absence de ce signal chez *les H. contortus* peut être la conséquence du biais d'échantillonnage entre sexes évoqué ci-dessus. Il se peut également que le brassage génétique assuré par les mâles ait gommé toute structure génétique historique. En effet, si la structure génétique historique persiste chez les femelles (Article 1, Chapitre 7), nous avons vu que ce signal génétique était faible, indiquant qu'il tendait à être homogénéisé par les flux de gènes assurés par les mâles. Or, les parasites ont un temps de génération beaucoup plus court que les mouflons (intervalle minimal entre 2 générations d'*H. contortus* = 27 jours, Crofton 1957, versus 4 ans pour les mouflons, Hamel et al. 2016). L'évolution des fréquences alléliques est donc plus rapide chez les parasites que chez les mouflons. En effet, si les parasites ont subi, comme les mouflons, un fort goulot d'étranglement, la richesse allélique actuelle, bien supérieure chez les parasites comparée à celle observée chez les mouflons (Tableau 34 et Article 1, Chapitre 7), atteste de cette évolution plus rapide. Ainsi, la disparition de la structure génétique historique a pu être plus rapide chez les parasites que chez les femelles mouflons. Il est à noter ici que l'évolution rapide des fréquences alléliques chez les *H. contortus* peut également être une explication à l'absence de structure « socio-spatiale » chez les parasites.

En lien avec l'histoire, on peut également s'interroger sur le rôle qu'ont pu jouer les « autres hôtes » possibles des *H. contortus* dans le brassage génétique et la création de diversité génétique. En effet, bien que dans certains cas, les structures des hôtes et leurs parasites puissent correspondre (e.g. Parker & Spoerke 1998), un niveau de structure génétique inférieur chez les parasites comparé à leurs hôtes n'est pas rare (Mazé-Guilmo et al. 2016). Cela est particulièrement vrai lorsque les parasites peuvent avoir plusieurs hôtes avec des capacités de dispersion différentes (e.g. Keeney et al. 2009, Archie & Ezenwa 2011). Les

H. contortus sont des parasites couramment retrouvés chez beaucoup de petits ruminants, domestiques ou sauvages (Taylor et al. 2014). Bien qu'une activité agricole persiste dans le massif du CE, elle est aujourd'hui nettement inférieure à ce qu'elle était (512 ovins et 368 bovins recensés en 1988 contre ≈ 6000 ovins à Rosis, une commune du massif, en 1863, Bousquel 1999). Par ailleurs, les animaux domestiques sont localisés, soit en périphérie de l'aire de répartition du mouflon, soit en enclos (G. Bourgoin, communication personnelle). Leur participation au brassage des *H. contortus* dans le massif est donc très probablement limitée. En revanche, par le passé, ces animaux ont pu contaminer l'environnement et l'autre hôte possible des *H. contortus* (le chevreuil, voir ci-dessous), homogénéisant les fréquences alléliques de leurs parasites dans le massif, avant même que le mouflon ne soit introduit.

En effet, des chevreuils sont présents dans le CE. Leur densité de population est néanmoins bien inférieure à celle du mouflon (Cugnasse et al. 1987, Bourgoin et al. 2018) et leurs domaines vitaux ont une taille inférieure à ceux du mouflon (e.g. 40 à 135 ha selon l'âge, le sexe et la période en Norvège, Mysterud 1999, 20 à 110 ha selon le sexe et la période en Suède, Kjellander et al. 2004, 25 ha en moyenne pour les femelles en France, Said & Servanty 2005, contre 200-360 ha en moyenne selon le sexe pour le mouflon, voir Chapitre 4). Ainsi, même si le chevreuil assure peu de mouvements de parasites, étant donné qu'il est probablement présent sur le massif depuis plus longtemps que le mouflon (Cugnasse & Chiappin 1992), il a pu participer à homogénéiser les fréquences alléliques des *H. contortus*. Une comparaison génétique entre les *H. contortus* présents chez le chevreuil et les animaux domestiques peut constituer une étude complémentaire à la présente. Cela permettrait de vérifier que les *H. contortus* partagés par le mouflon et les autres hôtes présents dans le massif ne présentent pas de différenciation génétique (e.g. Archie & Ezenwa 2011). De plus, afin de mieux comprendre l'histoire des populations d'*H. contortus* dans le massif du Caroux-Espinouse, nous pourrions mener des études de phylogéographie et utiliser d'autres types de marqueurs génétiques (e.g. ADN mitochondrial, Archie & Ezenwa 2011), en raisonnant à l'échelle interspécifique.

Il est important de noter ici qu'il est peu probable que l'absence de structure soit imputable à la présence d'allèles nuls car on s'attendrait plutôt à ce que cela crée l'effet inverse (i.e. une structure fictive due à des différences importantes entre fréquences alléliques, Chapuis & Estoup 2007). Afin de vérifier cette absence de structure, une poursuite intéressante de cette étude serait de mener des investigations à une échelle spatiale plus grande. En effet, la non-correspondance entre structures génétiques des hôtes et des parasites peut révéler que les processus évolutifs ne se font pas à la même échelle spatiale chez les

parasites et chez les hôtes. À l'échelle spatiale actuelle, il ne semble pas que nous puissions identifier les éléments structurants les populations d'*H. contortus*, et, augmenter la taille de la zone d'étude pourrait permettre de mieux comprendre comment se font les flux de gènes. Les *H. contortus* présentent, en effet, souvent peu de différenciation génétique, même à large échelle spatiale dans les populations sauvages (e.g Shen et al. 2017). Une fois l'échelle spatiale adéquate identifiée (e.g. en en testant plusieurs), nous pourrons poursuivre les recherches et par exemple, appliquer des approches de génétique du paysage afin d'identifier les éléments (im)perméables aux flux de gènes (Archie et al. 2009). Il faudrait également obtenir des informations sur la structure génétique des parasites au sein de la réserve, et des mouflons en dehors de celle-ci. En effet, ici, nous n'avons échantillonné que des individus hors-réserve. Dans cette zone, les activités humaines sont bien moins réglementées qu'au sein de la réserve et la chasse est autorisée (voir Chapitre 5). Le dérangement peut modifier la structure socio-spatiale du mouflon et induire plus de mouvements, contribuant à homogénéiser les fréquences alléliques des parasites.

4. Addendum

Dans les parties précédentes, nous avons vu quel rôle crucial jouaient la diversité génétique et les flux de gènes dans les mécanismes de coévolution des hôtes et leurs parasites et pourquoi il était important d'étudier ces mécanismes dans un but de gestion durable des populations. Après avoir étudié l'impact des mouvements des hôtes sur les flux de gènes des parasites, une poursuite intéressante est d'étudier l'impact des parasites sur leurs hôtes. En effet, la présence des parasites au sein des hôtes crée une forte pression de sélection poussant les hôtes à s'adapter. Or, le matériel sur lequel agit la sélection naturelle est la diversité génétique, et la diversité génétique joue un rôle important dans la résistance des hôtes face aux pathogènes (voir Chapitres 1 et 2). On peut ainsi s'attendre à observer un lien entre diversité génétique et résistance face aux parasites, ces derniers modulant le profil génétique des hôtes. C'est ce que l'on se propose d'étudier dans le chapitre suivant.

Chapitre 10

Résistance génétique des hôtes face à leurs parasites

1. Gène candidat et diversité génétique neutre sont corrélés avec la résistance face aux parasites chez les femelles mouflons Méditerranéens (Article 3).

Abstract. Parasite infections can have substantial impacts on population dynamics and are accordingly a key challenge for wild population management. Here we studied genetic mechanisms driving parasite resistance in a large herbivore through a comprehensive approach combining measurements of neutral (16 microsatellites) and adaptive (MHC DRB1 exon 2) genetic diversity and two types of gastrointestinal parasites (nematodes and coccidia). While accounting for other extrinsic and intrinsic predictors known to impact parasite load, we show that both neutral genetic diversity and DRB1 are associated with resistance to gastrointestinal nematodes. Intermediate levels of multi-locus heterozygosity maximized nematodes resistance, suggesting that both in- and outbreeding depression might occur in the population. DRB1 heterozygosity and specific alleles effects were detected, suggesting the occurrence of heterozygote advantage, rare-allele effects and/or fluctuating selection. On the contrary, no associations were detected between genetic diversity and resistance to coccidia, indicating that different parasite classes are impacted by different genetic drivers. This study provides important insights for large herbivore and wild sheep pathogen management, and in particular suggests that factors likely to impact genetic diversity and allelic frequencies, including global changes, are expected to impact parasite resistance.

Keywords. Heterozygosity-fitness correlations, Immunocompetence, MHC, Gastro-intestinal Nematodes, Coccidia

Portanier Elodie, Garel Mathieu, Devillard Sébastien, Maillard Daniel, Poissant Jocelyn, Galan Maxime, Benabed Slimania, Poirel Marie-Thérèse, Duhayer Jeanne, Itty Christian, Bourgoin Gilles. Both candidate gene and neutral genetic diversity correlate with parasite resistance in female Mediterranean mouflon. *En review dans la revue BMC Ecology*.

1.1. Introduction

Parasites are an important component of ecosystems and can have substantial impacts on host fitness and population dynamics. Parasites can affect body condition (e.g. Delahay et al. 1995, Hakkarainen et al. 2007, Debeffe et al. 2016), reproductive success (e.g. Mulvey et al. 1994, Pelletier et al. 2005), survival (e.g. Hudson et al. 1998), feeding behavior (e.g. Forbes et al. 2000) and/or interspecific interactions (e.g. Hudson et al. 1992a, Packer et al. 2003). While parasitism causes significant economic losses in animal production around the world (e.g. gastrointestinal nematodes (GINs), Roeber et al. 2013, Karrow et al. 2014), in wild populations its impact on individual and population viability (Smith et al. 2009) can lead to management and conservation issues (Grenfell and Gulland 1995, Daszak et al. 2000).

Resistance to parasites, defined as the "*host's ability to interact with and control the lifecycle of the parasite*" (Bishop and Stear 2003, Bishop 2012), depends in part on the genetically determined immune system of hosts and hence involves both the genetic characteristics (e.g. presence of specific alleles) and variability of hosts (Saddiqi et al. 2011, Hayward 2013, Sweeney et al. 2016, Benavides et al. 2016). The influence of genetics on parasite resistance is also mediated by other extrinsic and intrinsic factors such as population density, environmental conditions, age, sex and body condition (Bertolino et al. 2003, Saddiqi et al. 2011, Body et al. 2011, Hayward 2013, Aleuy et al. 2018). Consequently, all the elements likely to impact genetic diversity are expected to impact parasite resistance as well. In the current context of habitat fragmentation (Lande 1998, Farhig 2003) impacting population sizes, gene flow and thus genetic diversity (Frankham et al. 2004, Heller et al. 2010, Creech et al. 2017) and of climate change modifying parasite environmental persistence and dynamics (van Dijk et al. 2010, Morgan and van Dijk 2012, Rose et al. 2015), gathering knowledge on the genetics of parasite resistance has become crucial for population management and conservation purposes.

A large body of literature on the genetics of parasite resistance investigates heterozygosity-fitness correlations (HFCs) using heterozygosity as a measure of genetic diversity and parasite resistance as a fitness proxy. Positive relationships between pathogen resistance and heterozygosity have been evidenced in numerous taxa (e.g. wild boars, *Sus scrofa*, Acevedo-Whitehouse et al. 2005; raccoons, *Procyon lotor*, Ruiz-Lopez et al. 2012; Alpine ibex, *Capra ibex*, Brambilla et al. 2015; mongooses, *Mungos mungo*, Mitchell et al. 2017). Effects of specific loci and especially candidate genes (i.e. encoding genes associated with immunity) on pathogen resistance have also been documented (see e.g. Coltman et al. 1999, MacDougall-Shackleton et al. 2005, Oliver et al. 2009, Sin et al. 2014, Osborne et al.

2015, Bateson et al. 2016). For instance, Luikart et al. (2008) had shown that the link between heterozygosity and parasite burden relies on microsatellites located in candidate genes instead of on microsatellites in genome portions assumed as neutral. Although a large majority of studies evidenced positive correlation between parasite resistance and heterozygosity, contrasting results can nevertheless be observed: inconclusive studies (Brown et al. 2013), negative correlations (e.g. Ilmonen et al. 2007, Olano-Marin et al. 2011b, Soulsbury and Lebigre 2018) or no correlation between pathogen resistance and heterozygosity and/or specific loci/alleles (e.g. Coté et al. 2005, Schwensow et al. 2007, Ortego et al. 2007b, Hoeck and Keller 2012) can be found.

Three main hypotheses might explain HFCs (Hansson and Westerberg 2002): i) *the direct effect hypothesis* positing a direct link of genetic markers with fitness (e.g. encoding genes), ii) *the local effect hypothesis* (or *indirect effect hypothesis*) claiming that the markers considered are in linkage disequilibrium (non-random association of alleles at different loci) with fitness-linked loci and iii) *the general effect hypothesis* asserting that the heterozygote advantage is due to a genome-wide effect of fitness loci with more diverse individuals thought to be more efficient in coping with infections (e.g. Luong et al. 2007). However, since the existence and detection of HFCs are largely environment- and context-dependent (Szulkin et al. 2010), distinguishing between the three hypotheses is a challenging task. In particular, HFCs depend on the inbreeding level of the population (identity disequilibrium, Szulkin et al. 2010), the genetic markers and fitness components used and the ability of these markers to capture genome-wide diversity (DeWoody and DeWoody 2005, Vali et al. 2008, Miller et al. 2014). In the case of parasite resistance, HFCs may also depend on the parasites and hosts species studied (e.g. Ortego et al. 2007a, 2007b). Indeed, not all parasites have the same effects on hosts and thus the effects of genetic diversity on resistance may vary from one class to another and according to co-infections (Ezenwa et al. 2010, Ruiz-Lopez et al. 2012). In addition, immunocompetence of individuals is a highly polygenic trait involving numerous genes associated with immunity functions (e.g. X-chromosome, Beraldi et al. 2007; gamma interferon, Coltman et al. 2001; Toll-like receptors, Lin et al. 2016; major histocompatibility complex (MHC), Kloch et al. 2010, Acevedo-Whitehouse et al. 2018; reviewed by Hayward 2013 and Benavides et al. 2016). Comparative studies combining different approaches and different parasites types are thus needed to better understand functional links between genetics and pathogen resistance.

Here, we proposed to gain better knowledge on the genetics of resistance and underlying mechanisms by combining candidate genes and neutral diversity approaches for

two parasites classes, gastrointestinal nematodes (GINs) and protozoan parasites (Coccidia, *Eimeria* spp.) in female Mediterranean mouflon (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.). GINs and coccidia are common parasites of small ruminants (Samuel et al. 2001, Taylor et al. 2015) and are known to impact fitness (e.g. Gulland 1992, Colditz 2008) and cause important economic losses in domestic livestock (Chartier and Paraud 2012, Charlier et al. 2014). While they have been the object of numerous studies on genetic parasite resistance in domestic sheep (e.g. Sayers et al. 2005, Figueroa Castillo et al. 2011, Valilou et al. 2015; see also Dukkipati et al. 2006a for a review), they have been much less investigated in wild sheep species (but see Paterson et al. 1998, Coltman et al. 1999, 2001, Beraldi et al. 2007 for examples in feral Soay sheep, *Ovis aries*, and Luikart et al. 2008 for an example in bighorn sheep, *Ovis canadensis*) despite similar expected detrimental effects and the existence, for these wild species, of both conservation (e.g. Shackleton and IUCN/SSC Caprinae Specialist Group 1997, Valdez 2008) and management issues (e.g. Harris and Pletscher 2002, Chapuis et al. 1994, Bertolino et al. 2009).

In both the neutral diversity and candidate gene approaches, we first accounted for other extrinsic and intrinsic predictors known to impact parasitism load (e.g. socio-spatial organization, Altizer et al. 2003; population density, Body et al. 2011; age, sex, Hayward et al. 2013; body condition Debeffe et al. 2016). We then assessed, for the neutral diversity approach, if multi-locus heterozygosity from a set of neutral markers (16 microsatellites) was associated with parasite resistance as measured by fecal egg or fecal oocyst count (FEC or FOC, for GINs and coccidia, respectively). In line with most HFC studies, we expected the more heterozygous individuals to be more resistant to parasite infection because more diverse individuals are expected to carry more adaptive alleles to resist parasites and/or to express deleterious recessive alleles less (e.g. Coltman et al. 1999, Cassinello et al. 2001, Brambilla et al. 2015). For the candidate gene approach, we focused on MHC DRB1 class II gene, known to encode for binding proteins presenting extracellular antigens to T-lymphocytes (Dukkipati et al. 2006b) and to be linked to parasite resistance in sheep and mammals (see e.g. Schwaiger et al. 1995, Sayers et al. 2005, Kloch et al. 2010, Acevedo-Whitehouse et al. 2018). A high variation at MHC class II loci is often considered advantageous since it should enable an increased number of pathogens to be recognized and subsequent immune response (Doherty and Zinkernagel 1975, see also Bernatchez and Landry 2003, Sommer 2005 for reviews). However, the presence of certain genotypes or alleles at candidate loci has also been shown to be associated with parasite resistance or susceptibility (e.g. Figueroa Castillo et al. 2011, Valilou et al. 2015). We thus independently tested for the effects on parasite resistance of genotypes, heterozygosity and the presence of specific alleles at DRB1 locus in order to

discriminate between the diverse possible effects. We expected homozygous individuals at candidate locus to be more susceptible to parasite infections while specific association with genotypes and/or alleles could also be observed. In order to disentangle between genome-wide or immune gene associations, neutral multi-locus heterozygosity and immune gene were all considered in the same analyses. Finally, since GINs and coccidia are two very different classes of parasites (macro-parasites and protozoan micro-parasites, respectively) driven by diverse immune mechanisms (Cox 2001, Cizausk et al. 2014), results between them were expected to be different (see e.g. Carmo et al. 2009, Ruiz-Lopez et al. 2012, Ezenwa 2016).

1.2. Material and Methods

1.2.1. Study population and data collection

The Mediterranean mouflon study population originates from the release of 19 individuals between 1956 and 1960 (Garel et al. 2005a) in a National Hunting and Wildlife Reserve (1658 ha, 532-1,124m above sea level; hereafter called "reserve") in the Caroux-Espinouse massif (43°38'N, 2°58'E, 17,000 ha, 130-1,124 m asl, southern France). Vegetation is composed of beech, chestnut and coniferous forests in this low mountain area where deep valleys and plateaus draw a mosaic of ridges and talwegs (i.e. lines of lowest elevation within a valley, see Marchand et al. 2015b, 2017a for details). Local climate is under the influence of Mediterranean, oceanic and mountainous weather patterns (Baudière 1962) with dry and hot summers, autumns with lots of precipitation and cold winters (Garel et al. 2004).

The population has been monitored each year since 1974 during spring and early summer (April-July) by capture-mark-recapture. Animals were baited with salt and captured using individual or collective traps and dropping nets. When captured, animals were marked with a numbered/colored collar; biometric measurements were made and hairs and faeces were sampled for genetic and coproscopic analyses. All captures, handling, collaring and sampling were performed according to the appropriate national laws for animal welfare, and procedures were approved by the pertinent French administrations. Genetic analyses revealed that gene flow is mostly insured by male reproductive dispersal (reproductive excursions, Portanier et al. 2017) while ewes are philopatric (Dubois et al. 1992, 1994, Dupuis et al. 2002). Females exhibit a significant socio-spatial genetic structure consisting primarily of three spatially disconnected and genetically differentiated units (*Nf*, *Cf* and *Sf*, see Portanier et al. 2017) and gene flow has been shown to be impacted by several landscape features (Portanier et al. 2018).

1.2.2. Genetic analyses

1.2.2.1. Neutral genetic diversity

Individuals were genotyped at 16 microsatellite markers (see Portanier et al. 2017 for details) using hair samples. Genotyping was performed by the Antagene laboratory (Limonest, France, www.antagene.com) following the procedure presented in Portanier et al. (2017). To assess if genome-wide genetic diversity was associated with parasite resistance, we calculated the standardized multi-locus heterozygosity (sMLH) for individuals having at least 13 microsatellite markers. sMLH was calculated as the ratio between the proportion of loci at which an individual was heterozygous and the mean heterozygosity of typed loci (see Coltman et al. 1999) using the inbreedR package for R software (Stoffel et al. 2016). To determine if our set of markers was a good proxy for genome-wide heterozygosity and discriminate between global and local effects of sMLH, we quantified identity disequilibrium in the whole population and within each socio-spatial unit by estimating g_2, a measure of the covariance in heterozygosity using Robust Multi-locus Estimates of Selfing software (RMES, David et al. 2007) with 10,000 iterations. RMES tests whether g_2 is significantly different from zero. If $g_2 = 0$, HFCs are not expected to appear because identity disequilibrium is not expected to be present in the population.

1.2.2.2. Candidate gene approach

The second exon of the MHC-DRB class II gene encoding the ligand-binding domain of the protein was amplified and sequenced for all individuals. Each sample was analyzed twice by at least two independent technical replicates. Briefly, we performed the two-step PCR strategy combined with the dual-index paired-end sequencing approach described in Galan et al. (2018). During the first PCR, we used a modified version of the primers LA31 (5'-GATCCTCTCTCTGCAGCACATTTCCT-3') and LA32 (5'-TTCGCGTCACCTCGCCGCTG-3') initially designed for cattle (Sigurdardottir et al. 1991), with the addition of a partial overhang Illumina sequencing primers in 5'-end. The first PCRs were carried out in a 10 µL reaction volume using 5 µL of Multiplex PCR Kit (Qiagen) and 0.5 mM of each primer. We added to each well a volume of 1.5 µL of DNA. This PCR consists of an initial denaturation at 95°C for 15 min, followed by 40 cycles of denaturation at 94°C for 30 s, annealing at 55°C for 30 s and extension at 72°C for 30 s, with a final extension phase at 72°C for 10 min. The second PCR consists of a limited-cycle amplification step to add multiplexing indices i5 and i7 and Illumina sequencing adapters P5 and P7 at both ends of each DNA fragment (see Galan et al. 2018 for details). The PCR products were verified by electrophoresis in a 1.5% agarose gel. One negative control for extraction, one

PCR blank and one negative control for indexing were systematically added to each of the PCR microplates. Each DNA extraction was amplified and indexed in two independent PCR reactions. These PCR replicates were used as technical replicates to confirm the genotypes and further remove the false-positive results (Robasky et al. 2014). PCR products were pooled by volume and a 2x250bp paired-end MiSeq (Illumina) run was conducted. The SESAME barcode software (SEquence Sorter & AMplicon Explorer, Piry et al. 2012) was used to sort sequences, identify and discard artefactual variants, and generate the haplotypes and individual genotypes.

In the candidate gene approach, we also genotyped a microsatellite located in the gamma interferon gene (chromosome 3, o(IFN)-γ) known to be linked with parasite resistance in wild sheep (see e.g. Coltman et al. 2001). However, based on the analysis of a representative subset of 48 individuals, we found the o(IFN)-γ to be monomorphic in our population and it was thus not considered in subsequent analyses (data not shown).

1.2.3. Fecal parasite egg and oocysts counts

Mediterranean mouflon might be infected by a large diversity of endoparasites such as *Trichuris* spp., *Moniezia* spp. or *Dicrocoelium* spp. but the most prevalent are strongylid nematodes and coccidia (*Eimeria* spp., Morgan and van Dijk 2012, Cockenpot 2013). We accordingly limited our analyses to these last two parasites types. Strongyles and coccidia abundances were estimated by counting the number of eggs and oocysts in fecal samples (FEC and FOC, respectively, are widespread parasite resistance measurements often used in HFCs studies; see e.g. Brambilla et al. 2015, Debeffe et al. 2016). FEC and FOC represented the abundances of all strongyles and coccidia species present in the samples, respectively. Coproscopic analyses were performed between 2010 and 2017. Faeces samples were individually stored in a refrigerated container before analyses. FEC and FOC were estimated using a modified MacMaster procedure. After sample homogenization, 5 grams of faeces were weighed and mixed with 70mL of zinc sulfate (d=1.36). The sample was then filtered through a sieve lined with a compress and the homogenized filtrate was immediately loaded in two 0.15mL chambers of a MacMaster slide. After allowing them to float at the surface for at least one minute, eggs and oocysts were counted using a compound microscope (magnification x100). The number of eggs or oocysts per gram of faeces (EPG and OPG, respectively) was obtained by multiplying the total number of counted eggs by 50. In order to perform a qualitative examination (“control slide” hereafter), we filled a 14 ml tube with the remaining solution until a meniscus was obtained; a cover slide was then placed on the tube. After 5min of centrifugation at 1200 rpm, the cover slide was recovered and placed on a

microscope slide. We searched for parasite propagules using a microscope (magnification x40-400). The theoretical sensitivity of the MacMaster is 50 EPG/OPG of fecal matter. When, for an individual, no eggs or oocysts were observed using the MacMaster technique, but at least one egg or oocyst was observed on the control slide, we attributed the value of 25 EPG/OPG for FEC or FOC. FEC and FOC had skewed distribution and were log-transformed to obtain a normal distribution. To avoid log of zero for GINs, 10 was added to FEC values. We assessed repeatability of FEC and FOC measurements for a given animal by computing intra-class correlation coefficients (for unbalanced design because number of measurements differed among animals, Burdick et al. 2006).

1.2.4. Statistical analyses

Prior to testing for genetic effects on FEC and FOC we first identified (and accounted for) other intrinsic and extrinsic variables known to impact parasitism (Body et al. 2011, Hayward 2013, Benavides et al. 2016, Altizer et al. 2003, Vander Wal et al. 2012, Mejià-Salaza et al. 2016, Marchand et al. 2017b). Variables considered included the year and the Julian date of sampling to account for intra and inter-annual variations in environmental conditions and population densities. We corrected for part of the sampling variance by adding the number of days between sampling and coproscopic analyses in the models since it can impact the number of fecal eggs and oocysts counted (Nielsen et al. 2010, Drimtzia and Papadopoulos 2016). We only considered individuals for which less than 30 days elapsed between the sampling and laboratory analyses. Body condition (Scaled Mass Index, calculated based on individual mass and metatarsus length, Peig and Green 2009) was included to account for heterogeneity in individual quality, and age was included to account for changes in immunity with age (e.g. Hayward et al. 2009, Body et al. 2011, Plowright et al. 2017, Cheynel et al. 2017). Since females cannot be accurately aged when >3 years old (Ryder 1983), ages were divided into 4 classes: 1, 2, 3 and ≥4-year-old individuals. However, due to the paucity of data on males and juveniles, in this study we focused on sexually mature females only (i.e. two or more years old; Garel et al. 2005a). A total of 79 individuals representing 120 observations were included in subsequent analyses. Finally, the socio-spatial unit (SSU) of individuals was also included (80, 28 and 10 observations from the *Cf*, *Nf* and *Sf* socio-spatial units, respectively) since spatial structure of the population, when overlooked, can lead to spurious HFCs (Slate and Pemberton 2006).

We applied a two-stage procedure in a linear mixed model selection framework, first identifying for each response variable the best non-genetic model (including both extrinsic factors and other, not purely molecular, intrinsic factors) to which genetic predictors (both

neutral and adaptive) were then added. The predictors included in non-genetic models can also have a genetic basis (e.g. body condition, Wilson and Nussey 2010) but are different from direct genetic measurements such as the ones included in genetic models. Such two-stage procedures enabled measurement of the importance of genetic predictors relative to other factors known to impact parasite resistance, and to avoid over-parameterization of models. Model selection was done by comparing corrected Akaike's Information Criterion (AICc) values of the possible models. All variables included in models being in a range of $\Delta AICc < 2$ were included in the optimal non-genetic model. We then evaluated the improvement of models through the addition of genetic predictors. Since there could be specific and/or general effects of genetic diversity on FEC and FOC, three sets of genetic models were created and included (i) sMLH and/or the DRB1 heterozygosity status of individuals coded as 1 if heterozygous and 0 if homozygous, (ii) sMLH and/or the presence of specific DRB1 alleles, coded as 1 if present and 0 if absent (see e.g. Bateson et al. 2016 for a similar approach on survival), and (iii) sMLH and/or the DRB1 genotypes of individuals.

All continuous variables (sMLH, day of sampling, body condition, time elapsed between sampling and coproscopy) were centered and scaled (mean = 0, standard deviation = 1) before analyses and individual identity and year of sampling were included as random effects to account for repeated measurements and measurements made in different years, respectively. We also tested for possible non-linear relationships between FEC and FOC and continuous variables by adding their quadratic terms in models. If the addition of the quadratic term did not improve the model by more than two AICc units ($\Delta AICc > 2$), only the linear term was retained to perform model selection. Multi-collinearity of predictors was checked using variance inflation factors (VIF, vif.mer function, Franck 2011). Following Zuur et al. (2010), if a predictor showed a $VIF > 3$, it was not kept in model selection. In both non-genetic and genetic steps, residual structure and normality of the best models were tested and visually assessed (see Online Resource 2). We measured the relative likelihood of each model using the AIC weights. Goodness-of-fit was assessed using conditional (R^2c) and marginal (R^2m) R^2, representing the variance explained by the fixed and random effects and by the fixed effects alone, respectively.

Finally, in order to discriminate between the hypotheses of local or global effects of neutral genetic diversity on parasite resistance, we followed the method proposed by Szulkin et al. (2010). We built two models including the non-genetic predictors retained and (i) sMLH, and its quadratic term if necessary, as the sole genetic predictor ("global" model) or (ii) all single locus heterozygosities, with each individual coded as 1 if heterozygous or 0 if

homozygous ("local" model). The two models were then compared using a *F*-ratio test. If the "local" model explains more variance than the "global" model, the local effect hypothesis will receive more support than the global one. Since there are relatively large differences in loci heterozygosity levels (see Portanier et al. 2017), we also performed the test using the standardized approach introduced by Szulkin et al. (2010), in which more weight is given to more heterozygous loci. Both non-standardized and standardized approaches led to the same results; only results of the standardized approach are given in the following. All modeling and model selection were performed using lme4 (Bates et al. 2015) and MuMIn packages (Barton 2016) of R 3.3.1 software (R core Team 2016). Significance tests were performed using the lmerTest package (Kuznetsova et al. 2016) and model plots were carried out using the visreg package (Breheny and Burchett 2017) of R 3.3.1 software (R core Team 2016).

1.3. Results

1.3.1. Genetic diversity

The multi-locus heterozygosity sMLH ranged from 0.36 to 1.36 and had an average value of 0.91. The set of 16 microsatellites showed a g_2 not significantly different from zero, neither when the whole population was considered (g_2 = 0.008 ± 0,009, p = 0.10) nor when analyses were performed for each socio-spatial unit separately (*Nf*: g_2 = -0,009, p = 0.69; *Cf*: g_2 = -0,007, p = 0.16; *Sf*: g_2 = 0.06, p = 0.07). Three DRB1 alleles, which have all been previously described in domestic sheep, were identified (*Ovar*-DRB1*0324, *Ovar*-DRB1*07012 and *Ovar*-DRB1*0114, see Herrmann-Hoesing et al. 2008, GeneBank accession numbers: *Ovar*-DRB1*0324, DQ659119.2, *Ovar*-DRB1*07012, AY884017.2 and *Ovar*-DRB1*0114, DQ659116.2) leading to six different genotypes (named from *A* to *F*, see Tableau 35). The two individuals presenting genotype *F* were removed from the dataset before analyses to avoid false positive effects caused by a too small sample size. A total of 77 individuals representing 118 observations were thus considered in subsequent analyses.

Tableau 35: DRB1 alleles, genotypes and number of individuals in each class (n).

Genotype	*A*	*B*	*C*	*D*	*E*	*F*
Alleles	*0324/*0324	*0324/*07012	*0324/*0114	*07012/*07012	*07012/*0114	*0114/*0114
n	44	29	31	7	7	2

1.3.2. Parasite prevalence and abundance

The prevalence of coccidia was 100% with FOC ranging from 25 to 11300 OPG (median FOC = 925). GINs were present in 76 out of 77 individuals with FEC ranging from 0 to 5100

EPG (median FEC = 350). Repeated measurements were available for 29 individuals (70 observations) and mean repeatability for FOC was 0.08 ([0.00 - 0.44] $_{95\%\ IC}$) while it was higher for FEC with an average value of 0.41 [0.13 - 0.70] $_{95\%\ IC}$.

1.3.3. Non-genetic variables

For FOC, the five first models were equivalent (ΔAICc < 2) and included age, body condition, time lapse between sampling and coproscopy, and Julian date (see Online Resources 1 and 2 for more details). The best non-genetic model retained for coccidia thus accounted for these four non-genetic variables. For GINs, the best non-genetic model included only the effect of body condition (see Online Resources 1 and 2 for more details).

1.3.4. HFC and locus-specific effects

In the second step of the inferential approach, we added genetic predictors to the best non-genetic model previously retained. None of the genetic predictors showed VIF higher than three in any of the model sets for both parasite types, indicating no correlation issues (Appendix 1.7.3,Tableau 41). When considering coccidia no quadratic relationship between sMLH and FOC was detected (Appendix 1.7.3,Tableau 42) and the best model was the non-genetic model (Tableau 36) indicating that the genetic predictors we studied were not significantly linked to coccidia resistance. For GINs, a quadratic relationship between sMLH and FEC was detected in the three sets of models (i) DRB1 heterozygosity status, (ii) presence of specific DRB1 alleles and (iii) DRB1genotypes (Figure 59, Appendix 1.7.3,Tableau 42). In all models where sMLH and sMLH² appeared, estimates were negative for sMLH and positive for sMLH² (Tableau 37) indicating a U-shaped relationship (Figure 59).

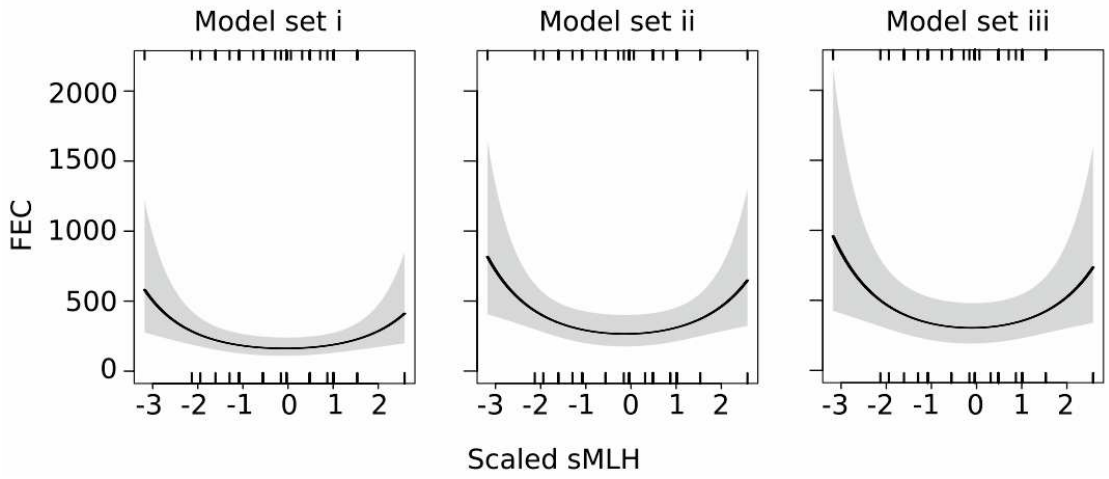

*Figure 59: Predicted GINs burdens (FEC) values as a function of scaled sMLH from each best genetic model in each model set: (i) sMLH + DRB1 heterozygosity status, (ii) sMLH + presence of DRB1*0114 allele and (iii) sMLH + DRB1genotypes.*

Black lines represent predicted values and grey bands represent the 95% confidence interval. Upper and lower ticks represent the number of positive and negative residuals, respectively.

Almost all GINs models including genetic predictors (16 out of 19) had a lower AICc than the non-genetic model, highlighting the strong relationship between GINs resistance and genetics. In particular, the model including DRB1 heterozygosity (model set (i)) was the best model (lowest AICc), indicating that among the three DRB1 characteristics evaluated (heterozygosity, alleles and genotypes), heterozygosity was the best descriptor of parasite resistance for GINs. The model including both sMLH/sMLH² and DRB1 heterozygosity was better than the models including only DRB1 heterozygosity or sMLH/sMLH² (ΔAICc > 2,Tableau 36). A significant difference of 52% in averaged FEC was detected between heterozygous and homozygous individuals (Figure 60A). When testing the effects of specific alleles at DRB1 locus on FEC (model set (ii)), the best model was the model including sMLH/sMLH² and DRB1*0114 allele (Tableau 36). Estimate was negative for the presence of this allele (Tableau 37) and its presence led to a 56% decrease in FEC between individuals carrying or not carrying these alleles (Figure 60B). Finally, in the model set (iii), the models including sMLH/sMLH² and DRB1 genotypes or only DRB1 genotypes were better than the non-genetic model (ΔAICc > 2,Tableau 36). We found a marked gradient (Figure 60C) between the most parasitized DRB1 genotype (D) and the least parasitized genotype (C) with a statistically significant difference between A and C genotypes, leading to a 57.2% decrease in averaged FEC. The *F*-ratio test between "local" and "global" models revealed no

significant differences, indicating stronger support for the global hypothesis ($F = 0.96$, $d.f. = 37$, $p = 0.54$).

Tableau 36: Model selection of mixed-effects models based on corrected Akaike's Information Criterion (AICc) for testing the effects of sMLH and DRB1 gene on parasite resistance as measured by FOC and FEC.

*Three sets of genetic models have been tested on FOC and FEC including either (i) the effects of sMLH and DRB1 heterozygosity status (H_DRB1), (ii) the effects of sMLH and the presence of specific DRB1 alleles or (iii) the effects of sMLH and DRB1genotypes (G_DRB1). D.f are the degree of freedom, weight is the Akaike weight. NG stands for the non-genetic variables retained from the first step of the modeling approach (see Online Resource 1). R1, R2 and R3 stand for DRB1 *0324, DRB1*07012 * and DRB1*0114 alleles, respectively.*

	d.f.	*AICc*	*ΔAICc*	*Weight*	*Model set*
FOC					
NG	9	379.11	0.00	0.191	all
NG + R2	10	379.53	0.42	0.154	ii
NG + R1	10	380.07	0.97	0.117	ii
NG + HDRB	10	381.08	1.97	0.071	i
NG + sMLH	10	381.27	2.16	0.065	all
NG + R3	10	381.48	2.38	0.058	ii
NG + R1 + R2	11	381.61	2.51	0.054	ii
NG + R2 + R3	11	381.73	2.63	0.051	ii
NG + sMLH + R2	11	381.85	2.74	0.048	ii
NG + sMLH + R1	11	382.30	3.19	0.039	ii
NG + R1 + R3	11	382.50	3.40	0.035	ii
NG + sMLH + HDRB	11	383.26	4.16	0.024	i
NG + sMLH + R3	11	383.67	4.57	0.019	ii
NG + sMLH + R1 + R2	12	383.96	4.85	0.017	ii
NG + R1 + R2 + R3	12	384.00	4.90	0.016	ii
NG + sMLH + R2 + R3	12	384.06	4.96	0.016	ii
NG + sMLH + R1 + R3	12	384.78	5.67	0.011	ii
NG + G _DRB1	13	386.21	7.11	0.005	iii
NG + sMLH + R1 + R2 + R3	13	386.38	7.27	0.005	ii
NG + sMLH + G_DRB1	14	388.65	9.54	0.002	iii
FEC					
NG + sMLH + sMLH² + HDRB	8	378.34	0.00	0.298	i
NG + sMLH + sMLH² + R3	8	379.61	1.28	0.158	ii
NG + sMLH + sMLH² + R1 + R3	9	380.61	2.27	0.096	ii
NG + sMLH + sMLH² + R1 + R2 + R3	10	381.07	2.73	0.076	ii
NG + R1 + R3	7	381.52	3.18	0.061	ii
NG + R3	6	381.61	3.28	0.058	ii
NG + sMLH + sMLH² + R2 + R3	9	381.65	3.31	0.057	ii
NG + HDRB	6	382.33	3.99	0.041	i

NG + R1 + R2 + R3	8	382.44	4.11	0.038	ii
NG + sMLH + sMLH²	7	382.90	4.56	0.03	all
NG + sMLH + sMLH² + G_ DRB1	11	383.27	4.93	0.025	iii
NG + R2 + R3	7	383.85	5.51	0.019	ii
NG + G_DRB1	9	384.73	6.40	0.012	iii
NG + sMLH + sMLH² + R1	8	384.87	6.54	0.011	ii
NG + sMLH + sMLH² + R2	8	385.19	6.85	0.01	ii
NG + sMLH + sMLH² + R1 + R2	9	387.04	8.70	0.004	ii
NG	5	387.61	9.27	0.003	all
NG + R1	6	389.07	10.73	0.001	ii
NG + R2	6	389.63	11.30	0.001	ii
NG + R1 + R2	7	391.33	12.99	0	ii

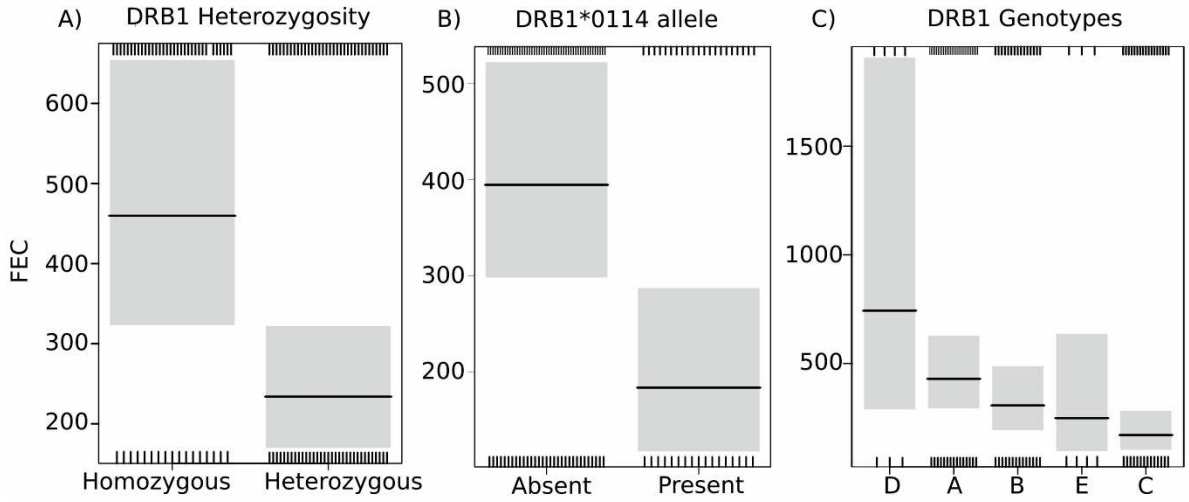

*Figure 60: Predicted GINs burden (FEC) values obtained from best genetic models for (A) DRB1 heterozygous and homozygous individuals, (B) for individuals carrying or not carrying the DRB1*0114 allele or (C) individuals carrying one of the DRB1 genotype.*

Black lines represent predicted values and grey bands represent the 95% confidence interval. Upper and lower ticks represent the number of positive and negative residuals, respectively.

Tableau 37: Model estimates and goodness of fit (R^2c and R^2m) of the best genetic model for model sets (i) testing the effects of sMLH and DRB1 heterozygosity status (H_DRB1), (ii) testing the effects of sMLH and the presence of specific DRB1 alleles and (iii) testing the effects of MLH and DRB1genotypes (G_DRB1) on FEC.

*sMLH is the standardized multilocus heterozygosity. Non-genetic terms were retained in the first step of the modeling approach (see main text). P-values are coded by asterisks: "***" for p = 0.001, "**" for p = 0.01, "*" for p = 0.05, "." for p = 0.1.*

	β ± SE	*t* value	*p*	R^2c	R^2m
Model set (i)				0.44	0.27
Intercept	6.10 ± 0.17				
Body condition	-0.48 ± 0.11	-4.24	***		
sMLH	-1.01 ± 1.23	-0.82			
$sMLH^2$	3.36 ± 1.19	2.80	**		
HDRB	-0.61 ± 0.24	-2.60	*		
Model set (ii)				0.45	0.28
Intercept	5.95 ± 0.14				
Body condition	-0.51 ± 0.11	-4.49	***		
sMLH	-0.67 ± 1.26	-0.54			
$sMLH^2$	3.07 ± 1.23	2.50	*		
DRB1*0114	-0.63 ± 0.27	-2.33	*		
Model set (iii)				0.46	0.28
Intercept	6.08 ± 0.19				
Body condition	-0.49 ± 0.12	-4.28	***		
sMLH	-0.77 ± 1.26	-0.61			
$sMLH^2$	3.10 ± 1.30	2.39	*		
G_DRB1 B	-0.41 ± 0.30	-1.38			
G_DRB1 C	-0.87 ± 0.31	-2.77	**		
G_DRB1 D	0.14 ± 0.53	0.27			
G_DRB1 E	-0.39 ± 0.51	-0.76			

1.4. Discussion

As illustrated here, parasite resistance in the female Mediterranean mouflon is a complex trait controlled by several non-genetic and genetic predictors. For both parasite classes, individuals in better condition were less parasitized. Multi-locus heterozygosity was linked to GINs resistance through a U-shaped relationship suggesting the presence of both in- and outbreeding depression in our population. However, since g_2 and the "global/local" test did not lead to same conclusions, we were not able to distinguish between local and global effects of neutral genetic variation. It seemed that DRB1 candidate locus conferred a heterozygote advantage and that rare alleles and/or fluctuating selection might also occur in the study population (Spurgin and Richardson 2010). These results confirm that the three main

hypotheses about HFCs are not mutually exclusive (Garcia-Navas et al. 2014). In contrast, while coccidia burden appeared as simultaneously driven by age, day of sampling and time lapse between sampling and coproscopy, we detected no genetic predictor effects for that class of parasites, illustrating that resistances of different parasite classes (here GINs and coccidia) are driven by different characteristics (see also Cox 2001, Cizausk et al. 2014), emphasizing the importance of performing multi-specific studies.

1.4.1. Different characteristics are determining different parasite resistances

None of the genetic predictors studied were linked with coccidia resistance. The absence of correlation between genetic diversity and parasite resistance was also observed in other host-parasite systems (e.g. Gutierrez-Espeleta et al. 2001, Boyce et al. 2011, Bateson et al. 2016). Although a lack of statistical power cannot be excluded to explain this result, the genetic effects detected for GINs with the same dataset suggested that genetics had much less effect on variation in micro-parasite resistance than in macro-parasite resistance. Repeatability was notably lower for FOC than FEC (yet comparable to other studies, e.g. Gauly et al. 2001), indicating that variation in FOC is primarily driven by short-term effects or measurement errors, rather than genetic effects.

Differences between results for coccidia and GINs may be due to the fact that coccidia are intracellular protozoa while GINs are macro-parasitic nematodes. Micro- and macro-parasites are thought to be controlled by different immune responses (Th1 and Th2 respectively, Cox 2001, Cizausk et al. 2014) that can be involved in trade-offs and thus not active at the same time (e.g. Carmo et al. 2009, Cizausk et al. 2014, see also Ezenwa 2016 for a review). Different immune pathways may be impacted by different genetic factors explaining the differences observed between GINs and coccidia in the present study. MHC class II genes such as DRB1 seem also more specifically linked to an extracellular parasite-derived peptide presentation (Dukkipati et al. 2006b, Piertney and Oliver 2006) that may explain the impacts of DRB1 on GINs but not on coccidia.

1.4.2. Neutral genetic diversity effects on nematode resistance

We observed a U-shaped relationship between sMLH and GINs burden with a maximal parasite resistance obtained for individuals with intermediate heterozygosity levels. Parasite burden decreased with increasing heterozygosity until a threshold (~1), after which highly heterozygous individuals were parasitized as much as highly homozygous individuals, suggesting the presence of both positive and negative HFCs. While a positive relationship between parasite resistance and genetic diversity is the rule (e.g. Cassinello et al. 2001,

Olano-Marin et al. 2011a, b, Brambilla et al. 2015, Mitchell et al. 2017), quadratic relationships have also been previously reported (e.g. in Soay sheep, Coltman et al. 1999; lesser kestrel, *Falco naumanni*, Ortego et al. 2007a; rostrum dace, *Leuciscus leuciscus*, Blanchet et al. 2009; raccoons, *Procyon lotor*, Ruiz-Lopez et al. 2012; blue tits, *Cyanistes caeruleus*, Ferrer et al. 2014) but most often in the opposite direction with individuals carrying intermediate heterozygosity levels being less resistant (see e.g. Blanchet et al. 2009, Ruiz-Lopez et al.2012, Ferrer et al. 2014). Optimal parasite resistance was nevertheless observed for an intermediate level of genetic diversity in studies considering the number of MHC alleles (Wegner et al. 2003a, Kloch et al. 2010). Indeed, when considering encoding genes such as MHC genes, theory predicts that while a high diversity of alleles enables a large spectrum of pathogen recognition (diversifying selection), it could also limit the immune response efficiency by causing self-reacting (Nowak et al. 1992). Accordingly, an intermediate number of alleles is expected to confer the highest fitness to individuals due to the two contradictory evolutionary forces acting on MHC diversity. The U-shaped relationship observed here for multi-locus heterozygosity might thus suggest that two contradictory evolutionary forces are also acting on neutral genetic diversity.

A positive relationship between genetic diversity and fitness-related traits such as parasite resistance can be explained by inbreeding depression with more inbred individuals exhibiting lower levels of heterozygosity and fitness (Keller and Waller 2002). On the other hand, negative HFCs and thus heterozygote disadvantage might be explained by outbreeding depression (Edmands 2007). Negative HFCs have been documented much less than positive ones (Marshall and Spalton 2000, Chapman et al. 2009, Szulkin and David 2011 but see e.g. Goldberg et al. 2005, Olano-Marin et al. 2011b, Soulsbury and Lebigre 2018) but the U-shaped relationship observed here may suggest the presence of both inbreeding and outbreeding depression in our population. In- and outbreeding depression co-occurrence have been observed within the same populations (e.g. Dolgin et al. 2007, Escobar et al. 2008) and on the same fitness traits (Marshall and Spalton 2000, Neff 2004a, Phillips et al. 2017, Atalay and Schausberger 2018). It requires that population structure (e.g. philopatry, founder events) induce both local adaptation and inbreeding in the population (Phillips et al. 2017). Due to high female philopatry in the study population (Dupuis et al. 2002, Portanier et al. 2017), moderate inbreeding (a low number of individuals exhibiting low sMLH) is likely to occur in females. On the other hand, the release of founders originating from three diverse origins (Garel et al. 2005a) is likely to have generated outbreeding depression that still persists as observed in this population for other genetic signals (Portanier et al. 2017).

Finally, the absence of support for the local effect hypothesis suggested that the observed HFC was due to a genome-wide diversity effect. However, g_2 was not significantly different from zero, preventing us from coming to a conclusion about global or local effect of multi-locus heterozygosity. Detection of significant identity disequilibrium using g_2 is only rarely achieved (see Miller and Coltman 2014) and numerous studies have evidenced significant HFCs despite no detectable identity disequilibrium (Szulkin et al. 2010, Miller and Coltman 2014, Kardos et al. 2014, Brambilla et al. 2015). Accordingly, studies where g_2 and global/local tests (Szulkin et al. 2010) highlighted opposing results are not scarce (see e.g. Garcia-Navas et al. 2014, Arct et al. 2017). However, even when not detected, local effects cannot be fully discarded since their detection is very difficult due to dilution effects of unlinked loci on linked loci (see Szulkin et al. 2010 but see e.g. Garcia-Navas et al. 2014).

1.4.3. Candidate gene effects on nematode resistance

Links between MHC heterozygosity and fitness were evidenced across a wide range of taxa (e.g. Oliver et al. 2009, Sin et al. 2014, but see Bateson et al. 2016). Three main mechanisms that can co-occur have been proposed to explain the impacts of MHC diversity on pathogen resistance: (i) heterozygote advantages (i.e. heterozygote recognizing and binding a wider range of antigens than homozygotes, through overdominance or dominance), (ii) rare-allele advantages (negative frequency-dependence) in which new alleles confer advantages since selection favors parasites overcoming the more common resistance alleles and (iii) fluctuating selection proposing that spatio-temporal variability of pathogen types and abundances induce fluctuating selection on MHC, inducing differential links between pathogen resistance and MHC diversity (see Spurgin and Richardson 2010 for a review). Heterozygous advantage can be detected when MHC heterozygosity and parasite resistance are associated, while rare-allele and fluctuating selection will be detected through specific MHC allele effects on resistance (Spurgin and Richardson 2010). In the present study, genotypes, specific alleles and heterozygosity effects were evidenced suggesting that heterozygote advantage, rare-allele effects (e.g. DRB1*0114 allele was the rarest) and/or fluctuating selection might occur. Genotypes effects were the weakest and seemed mostly linked to heterozygosity effects. Indeed, although differences between genotypes were not significant, heterozygous genotypes (genotypes B, C, and E) were significantly less parasitized than homozygous genotypes (see Figure 2A and 2C). Heterozygosity effects were also stronger than specific allele effects, supporting a predominant heterozygote advantage. Distinguishing between the overdominance and dominance explanation for heterozygote advantage is challenging (Spurgin and Richardson 2010), but heterozygous individuals were less parasitized than both

types of homozygous individuals, suggesting that the heterozygote advantage we observed was due to overdominance (see Oliver et al. 2009, Spurgin and Richardson 2010). Evaluating impacts of parasitism on survival and/or reproductive success might help to determine through which trait heterozygote advantage occurs.

Specific allele effects might also be explained in the light of heterozygosity effects. Indeed, the negative effects of DRB1*0114 on FEC could be attributed to its presence in heterozygous individuals, since it was only present in heterozygous individuals (genotype F individuals removed from the dataset because of a too-small sample size). However, models containing alleles were among the best models, and specific allele effects might more likely be due to the immunological properties of their products (i.e. peptide binding sites in our case). Specific MHC and DRB1 allele effects on fitness and parasite resistance were observed elsewhere (e.g. Schwaiger et al. 1995, Tollenaere et al. 2008, Bateson et al. 2016). However, to our knowledge, the three DRB1 alleles sequences identified in our population were previously observed in only one study (Herrmann-Hoesing et al. 2008). Hermann-Hoesing et al. (2008) studied the impacts of DRB1 alleles on ovine progressive pneumonia virus resistance in domestic ewes. They evidenced that allele DRB1*0324 and DRB1*0114 were associated with a higher provirus level, while DRB1*07012 allele was associated with a lower provirus level. The authors explained that these differences were linked with specific amino-acid encoded by the diverse alleles and determining the immune response. Indeed, immunological theory predicts that specific alleles could be advantageous (disadvantageous) if their products are more (less) effective in presenting pathogen-derived peptides (Potts and Slev 1995). Thus our results suggested that protein binding sites encoded by DRB1*0114 conferred an advantage against GINs infections. Since different functional links between genetics and resistance could indeed be expected when considering different parasite classes (see e.g. Ortego et al. 2007a, 2007b, Ezenwa et al. 2010, Ruiz-Lopez et al. 2012), the opposing effects of DRB1*0114 observed between Herrmann-Hoesing et al. (2008) and the present study are not surprising since provirus and macro-parasitic strongyles are very different pathogen types.

1.5 Conclusions and management implications

Our findings brought important insights for Mediterranean mouflon and more generally for large ungulate management. Firstly, the positive impact of genetic diversity on parasite resistance detected emphasizes the importance of promoting genetic diversity and preventing inbreeding in populations. Gene flow (Epps et al. 2007, Wilson et al. 2015, Roffler et al. 2016, Creech et al. 2017, Portanier et al. 2018) and thus genetic diversity (e.g. Epps et al.

2005, Gubili et al. 2017) might be impacted by landscape in wild sheep and ungulates. Accordingly, careful attention must be given to maintaining landscape connectivity, especially in threatened populations (e.g. Corsican mouflon, Shackleton and IUCN/SSC Caprinae Specialist Group 1997, Argali, *Ovis ammon*, Harris and Pletscher 2002, Harris and Reading 2008, Singh et al. 2010, Cypriot mouflon, *Ovis orientalis ophion*, Valdez 2008, Sierra Nevada bighorn sheep, *Ovis canadensis sierrae*, USFW 2007, Cahn et al. 2011). Secondly, when planning introductions or translocations in conservation and genetic reinforcement strategies, maximizing the admixture of founder/translocated individuals might increase parasite resistance by increasing genetic diversity (Biebach and Keller 2012). Similarly, in accordance with the direct effects of the DRB1 gene, translocated individuals might be chosen according to their parasite resistance characteristics (e.g. carrying resistance alleles). We nevertheless also evidenced that outbreeding depression can decrease parasite resistance. Wildlife managers must thus be careful regarding local adaptations when choosing individuals and source populations. In addition, in wild populations, another concern when introducing new individuals might be the introduction of alien parasite species which might have substantial negative consequences (Woodford and Rossiter 1993, Cunningham 1996, Kock et al. 2010). Finally, gathering more data on males would allow us to determine if genetic effects are sex-specific, and to measure the impacts of selective hunting on parasite resistance. Indeed, parasite-mediated sexual selection (Hamilton and Zuk 1982) posits that secondary sexual characteristics, such as horns, are an honest signal about parasitism rates of males (see e.g. Ezenwa and Jolles 2008, Brambilla et al. 2015, but see Buczek et al. 2016). Since in most wild sheep and Mediterranean mouflon populations males are hunted for their trophies, hunting can counter natural selection and could modify resistance allele frequencies (Coltman et al. 2001, 2003, Ditchkoff et al. 2001, 2005).

1.6. Acknowledgements

We warmly thank all the professionals from the Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (Service Départemental 34) and numerous trainees for their technical support in trapping, sampling and tagging mouflons. We would like to thank all the technical personnel of LBBE for helping with laboratory steps of the study, and the Antagene laboratory (Limonest, France, www.antagene.com) for DNA extraction and genotyping. We would also like to thank Elodie Bonneau and Julie Andru for the first laboratory and genetic analyses.

1.7. Appendices

1.7.1. Results of non-genetic model selection

None of the non-genetic predictors showed VIF higher than three indicating no correlations issues (Tableau 38). No quadratic term of non-genetic predictors improved AICc values by more than two indicating no quadratic relationship between FEC and FOC and ICC, the time elapsed between sampling and coproscopy and the Julian date of sampling (Tableau 39). Regarding FOC, the best model (lowest AICc) included age-classes and the time lapse between sampling and coproscopy (Tableau 40). However, the six first models were equivalent (ΔAICc < 2) and also included the day of sampling and the SMI as significant variables (Tableau 40). The best non genetic model retained for *Eimeria* spp. thus accounted for these four non-genetic variables and had a goodness-of-fit of $R^2c = 0.34$, $R^2m = 0.15$. The averaged estimates of FOC for age-classes 2 and 3 were $\beta = 1.39 \pm 0.39$ and 0.71 ± 0.28, respectively and were significantly different of those of individuals from age-class > 4 (intercept, $p < 0.05$). Parasite burden decreased with age-classes (Figure 61). The estimate for the time lapse between sampling and coproscopy was $\beta = 0.07 \pm 0.11$ ($p > 0.05$) indicating that parasite burden linearly increased with the number of days elapsed between sampling and coproscopic analyses (Figure 61). On the opposite, the relationship between FOC and SMI or the Julian day of sampling was negative ($\beta = -0.03 \pm 0.07$ and -0.02 ± 0.06, respectively, $p > 0.05$,Figure 61) indicating that individuals in better body condition were less parasitized and that parasite burden decreased linearly during the capture period.

Regarding FEC, the best model included only effects of SMI (Tableau 40) and all subsequent models had a ΔAICc > 2. The best non-genetic model retained for GINs thus only accounted for SMI and had a goodness-of-fit of $R^2c = 0.45$, $R^2m = 0.15$. Relationship between FEC and SMI was negative ($\beta = -0.53 \pm 0.12$, $p < 0.001$,Figure 62) indicating that individuals in better condition had lower GINs burden.

Tableau 38: Variables used in non-genetic mixed-effects linear models and relative Variance Inflation Factors values (VIF) for both FEC and FOC.

SMI stands for the body condition, SSU is the socio-spatial unit of individuals, age-class is the age class of individuals, time lapse represent the time elapsed between sampling and coproscopic analyses and Julian day is the Julian day of sampling. All models included the individual identity and the year of sampling as random effects.

	SMI	SSU *Nf*	SSU *Sf*	Age-class 2	Age-class 3	Time lapse	Julian day
FEC	1.22	1.14	1.28	1.11	1.06	1.50	1.43
FOC	1.23	1.12	1.26	1.12	1.07	1.43	1.38

Tableau 39:Model selection of mixed-effects models based on corrected Akaike's Information Criterion (AICc) for testing the effects of quadratic terms of continuous non-genetic predictors on parasite resistance as measured by FOC and FEC.

SMI stands for the body condition, SSU is the socio-spatial unit of individuals, age is the age class of individuals, Julian day is the Julian day of sampling and time lapse represent the time elapsed between sampling and coproscopic analyses. All models included the individual identity and the year of sampling as random effects.

Response variable	Component of the model	AICc
FOC	SMI + Julian day + time lapse + SSU + age	382.97
	SMI + SMI² + Julian day + time lapse + SSU + age	384.43
	SMI + Julian day + Julian day² + time lapse + SSU + age	385.37
	SMI + Julian day + time lapse + time lapse² + SSU + age	384.57
FEC	SMI + Julian day + time lapse + SSU + age	398.40
	SMI + SMI² + Julian day + time lapse + SSU + age	400.37
	SMI + Julian day + Julian day² + time lapse + SSU + age	399.81
	SMI + Julian day + time lapse + time lapse² + SSU + age	399.48

Tableau 40: Model selection of mixed-effects models based on corrected Akaike's Information Criterion (AICc) for testing the effects of non-genetic predictors on parasite resistance as measured by FOC and FEC.

D.f are the degree of freedom, weight is the Akaike weight, R^2m and R^2c represent marginal and conditional pseudo-R^2-values, respectively. Only the best models are shown. SMI stands for the body condition, SSU is the socio-spatial unit of individuals, age is the age class of individuals, Julian day is the Julian day of sampling and time lapse represent the time elapsed between sampling and coproscopic analyses. All models included the individual identity and the year of sampling as random effects.

	d.f.	Log-likelihood	AICc	ΔAICc	Weight
FOC					
age + time lapse	7	-180.10	375.2	0.00	0.23
age	6	-181.36	375.5	0.26	0.20
age + Julian day	7	-180.86	376.7	1.53	0.11
age + time lapse + SMI	8	-179.73	376.8	1.57	0.10
age + SMI	7	-181.01	377.0	1.82	0.09
age + time lapse + Julian day	8	-180.08	377.5	2.26	0.07
age + SMI + Julian day	8	-180.54	378.4	3.19	0.05
FEC					
SMI	5	-188.54	387.6	0.00	0.39
SMI + Julian day	6	-188.52	389.8	2.19	0.13
SMI + time lapse	6	-188.54	389.8	2.22	0.13
SMI + age	7	-187.79	390.6	2.99	0.09
SMI + SSU	7	-187.91	390.8	3.23	0.08

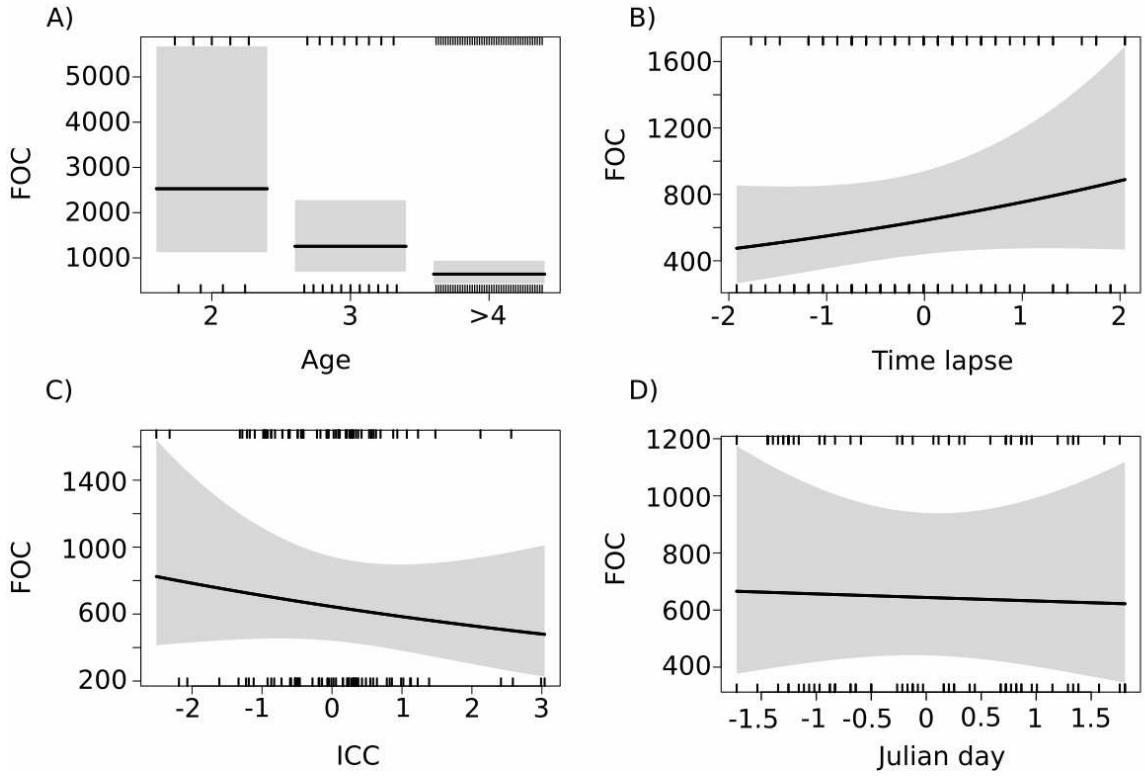

Figure 61:Predicted Eimeria spp. burden (FOC) values a function of age-classes (A), scaled time lapse (scaled number of days) between sampling and coproscopic analyses (B), SMI (C) and scaled Julian day of sampling (D) from the best non genetic model. Individuals of 2 (3) years are grouped in the class "2" ("3") while class ">4" grouped individuals 4 and more years old.

Black lines represent predicted values and grey bands represent the 95% confidence interval. Upper and lower ticks represent positive and negative residuals, respectively.

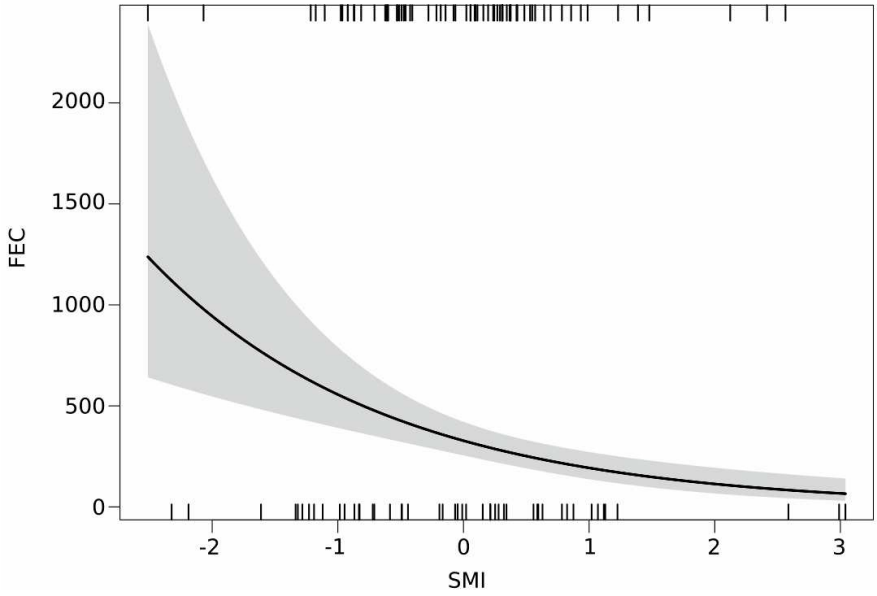

Figure 62: Predicted GINs burden (FEC) values a function of scaled SMI from the best non genetic model.

Black lines represent predicted values and grey bands represent the 95% confidence interval. Upper and lower ticks represent positive and negative residuals, respectively.

1.7.2. Normality tests of (non)-genetic models

Residuals of the non-genetic model for *Eimeria* spp. followed a normal distribution (Shapiro-Wilk W = 0.99, p = 0.82) while not for GINs (Shapiro-Wilk W = 0.98, p = 0.03). The significance of the Shapiro-Wilk normality tests for GINs was nevertheless though to be due to only few points (Figure 63) and since p-value was closed to 0.05, normality could be assumed. In addition, none of the best non-genetic models had structured residuals (Figure 64).

When adding the genetic predictors, for FEC, the full genetic models (ii) and (iii) had normal residuals (W = 0.98, p = 0.07 and W = 0.98, p = 0.08, respectively). Regarding model set (i), residuals of the full genetic model did not follow a normal distribution (W = 0.98, p = 0.03). However, as previously, the significance of the Shapiro-Wilk normality tests for GINs was thought to be due to only few points (see Figure 65) and since p-value was closed to 0.05, normality could be assumed. In addition, one of the best genetic models had structured residuals (Figure 66).

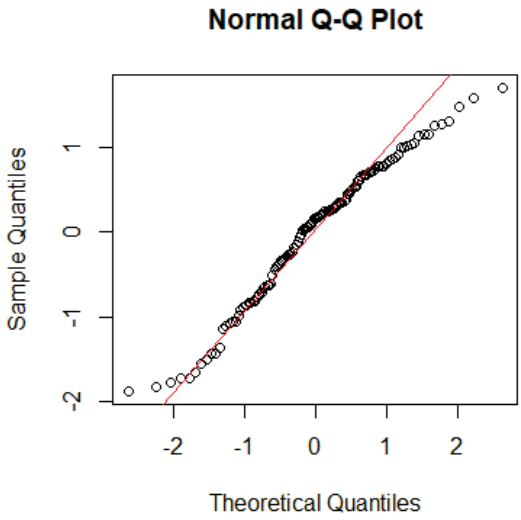

Figure 63: QQplot of GINs in non-genetic model

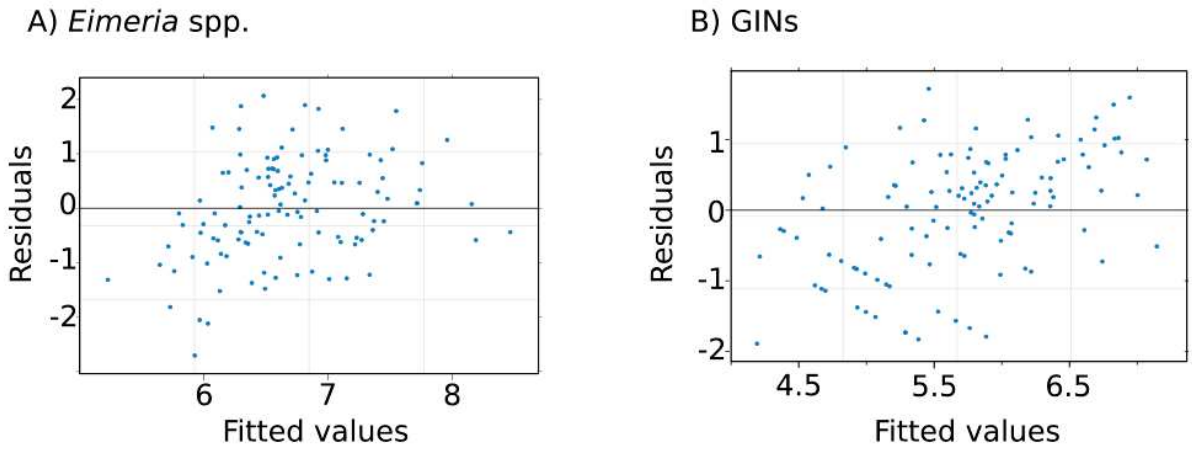

Figure 64: Residuals of best non-genetic models for Eimeria spp. (A) and GINs (B) plotted against fitted values.

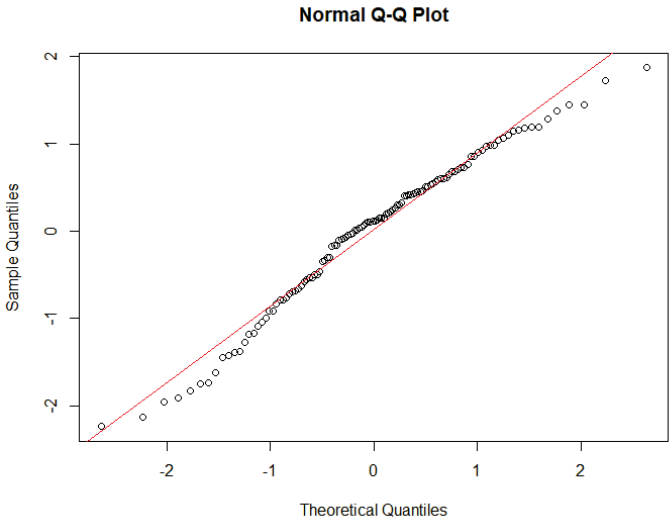

Figure 65: QQplot of GINs in genetic model set (i) testing the effects of DRB1 heterozygosity.

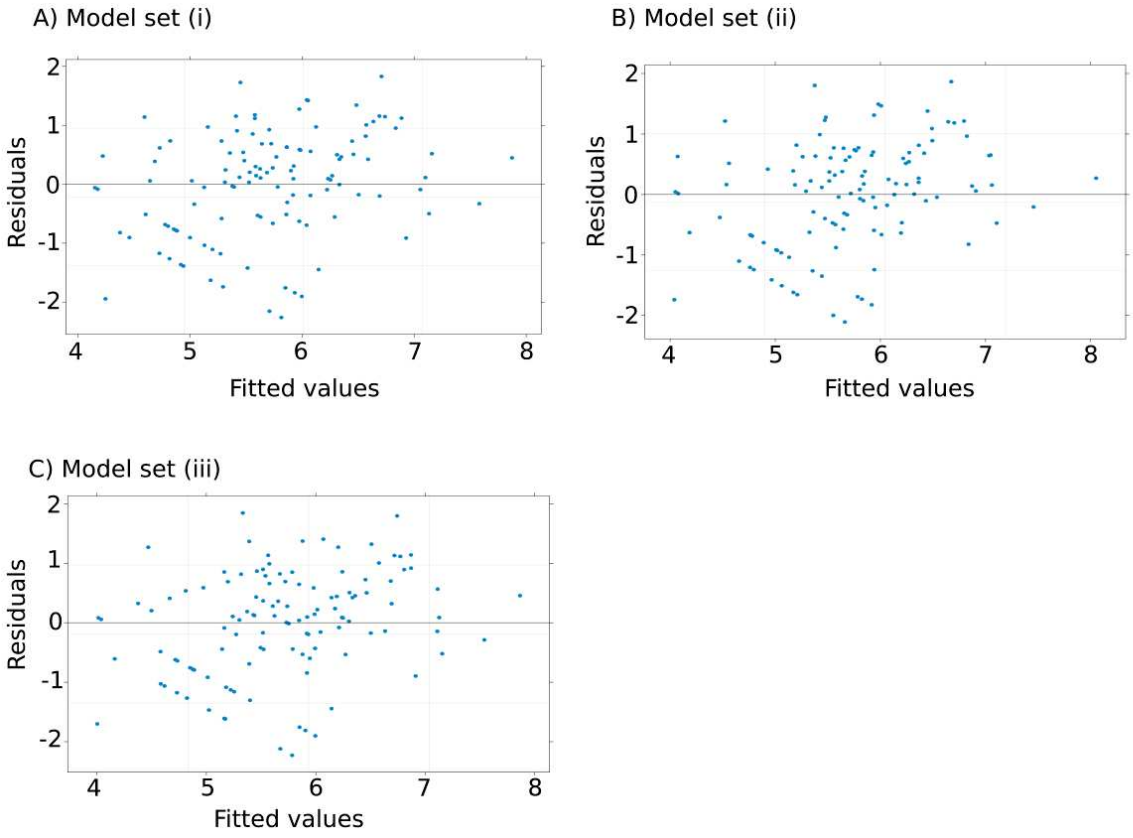

*Figure 66: Residuals of best genetic models for GINs plotted against fitted values for model sets (i) sMLH + DRB1 heterozygosity status (A), (ii) sMLH + DRB1*0114 alleles (B) and (iii) sMLH + DRB1genotypes (C).*

1.7.3. Variance Inflation Factors and quadratic terms selection

*Tableau 41: Variables used in genetic mixed-effects linear models and relative Variance Inflation Factors values (VIF) for both FEC and FOC in the three model sets: (i) sMLH + DRB1 heterozygosity status (H_DRB1), (ii) sMLH + presence of specific DRB1 alleles (R1, R2 and R3, for *0324, *07012 * and *0114, respectively) and (iii) sMLH + DRB1genotypes (G_DRB1).*

SMI stands for the body condition, sMLH is the multilocus heterozygosity, age is the age class of individuals, Julian day is the Julian day of sampling and time lapse represent the time elapsed between sampling and coproscopic analyses. Non-genetic terms were retained in the first step of the inferential approach (see main text). All models included the individual identity and the year of sampling as random effects.

FOC

model set (i)

SMI	Age-class 2	Age-class 3	Time lapse	Julian day	H_DRB1	sMLH	sMLH²
1.02	1.06	1.09	1.45	1.43	1.05	1.02	1.04

model set (ii)

SMI	Age-class 2	Age-class 3	Time lapse	Julian day	R1	R2	R3	sMLH	sMLH²
1.05	1.06	1.12	1.47	1.45	1.49	1.64	1.27	1.05	1.13

model set (iii)

SMI	Age-class 2	Age-class 3	Time lapse	Julian day	G_DRB1 B	G_DRB1 C	G_DRB1 D	G_DRB1 E	sMLH	sMLH²
1.06	1.07	1.12	1.48	1.46	1.35	1.25	1.25	1.17	1.05	1.22

FEC

model set (i)

SMI	H_DRB1	sMLH	sMLH²
1.01	1.02	1.00	1.01

model set (ii)

SMI	R1	R2	R3	sMLH	sMLH²
1.02	1.47	1.52	1.25	1.03	1.08

model set (iii)

SMI	G_DRB1 B	G_DRB1 C	G_DRB1 D	G_DRB1 E	sMLH	sMLH²
1.04	1.29	1.25	1.23	1.11	1.03	1.18

*Tableau 42: Model selection of mixed-effects models based on corrected Akaike's Information Criterion (AICc) for testing the effects of quadratic terms of sMLH on parasite resistance as measured by FOC and FEC in the three model sets: (i) sMLH + DRB1 heterozygosity status (H_DRB1), (ii) sMLH + presence of specific DRB1 alleles (R1, R2 and R3, for *0324, *07012 * and *0114, respectively) and (iii) sMLH + DRB1genotypes (G_DRB1).*

NG stands for the non-genetic variables retained from the first step of the modeling approach (see main text and Supplementary A). NG included body condition, Julian day of sampling, age class of individuals and the time elapsed between sampling and coproscopic analyses for FOC. For FEC, NG only included body condition. All models included the individual identity and the year of sampling as random effects.

Response variable	Component of the model	AICc
FOC	*NG* + H_DRB1 + sMLH	383.26
	NG + H_DRB1 + sMLH+ sMLH²	382.01
	NG + R1 + R2 + R3 + sMLH	386.38
	NG + R1 + R2 + R3 + sMLH+ sMLH²	386.09
	NG + G_DRB1 + sMLH	388.65
	NG + G_DRB1 + sMLH+ sMLH²	388.71
FEC	*NG* + H_DRB1 + sMLH	384.03
	NG + H_DRB1 + sMLH+ sMLH²	378.34
	NG + R1 + R2 + R3 + sMLH	384.52
	NG + R1 + R2 + R3 + sMLH+ sMLH²	381.07
	NG + G_DRB1 + sMLH	386.86
	NG + G_DRB1 + sMLH+ sMLH²	383.27

2. Et avec d'autres marqueurs et mesures de diversité génétique ? (Addendum 1)

2.1. Introduction

En complément des approches décrites dans l'Article 3, et afin de baser nos résultats sur un nombre plus important de marqueurs génétiques, nous nous sommes intéressés au lien entre résistance face aux parasites et plusieurs autres grandeurs génétiques. Dans un premier temps, pour l'approche « diversité génétique neutre », en plus de l'hétérozygotie multi-locus (sMLH, voir Chapitre 10, 1.2.2.1), nous avons considéré d^2 (Coulson et al. 1998), une mesure de diversité génétique spécifiquement désignée pour les microsatellites, calculée sur la base de la distance entre allèles, et mesurant la distance génétique entre les gamètes parentaux (Coltman & Slate 2003). L'hétérozygotie multi-locus est attendue pour quantifier la consanguinité récente alors que d^2 semble retranscrire des évènements plus anciens dans le

pédigrée (e.g. le brassage génétique entre populations, Coulson et al. 1998, Coltman & Slate 2003, Neff 2004b). C'est une grandeur régulièrement utilisée dans le cadre des études de corrélations hétérozygotie-valeur sélectives (HFCs, voir par exemple Coltman et al. 1998, McDougall-Shackleton et al. 2005, Da Silva et al. 2009, Chapitre 1) qui peut donc être complémentaire à sMLH. Les utiliser conjointement peut permettre de mieux comprendre les processus micro-évolutifs en œuvre dans les populations (Neff 2004a). Dans un second temps, pour l'approche « gène candidat », nous avons également génotypé les individus à un marqueur supplémentaire : le DYMS1, un microsatellite situé dans le CMH qui est lié à l'immunité et à la résistance face aux nématodes intestinaux (Buitkamp et al. 1996, Janssen et al. 2002, Dukkipati et al. 2010). Etudier le DYMS1 en plus du DRB1 pourra nous permettre de mieux comprendre les liens entre CMH et résistance face aux parasites.

2.2. Matériels et méthodes

Le DYMS1 a été génotypé avec les 16 microsatellites utilisés dans les études précédentes (voir Chapitre 7) en suivant la même procédure. Ce locus est polymorphe, avec 7 allèles et 7 génotypes différents représentés dans la population du Caroux-Espinouse. Comme précédemment, nous avons appliqué une approche en 2 temps (optimisation des modèles non-génétiques suivi de l'ajout des variables génétiques) en utilisant les 3 mêmes jeux de modèles en fonction des différentes caractéristiques du DRB1 mesurées : (i) sMLH et/ou l'hétérozygotie au DRB1 (hétérozygotes codés 1 et homozygotes codés 0), (ii) sMLH et/ou la présence d'allèles spécifiques du DRB1 (codés 1 si présents et 0 si absents), et (iii) sMLH et/ou le génotype des individus au DRB1. Le génotype au DYMS1 et d^2 et ont été ajouté à tous les modèles. Les variables non génétiques considérées étaient les même que précédemment.

2.3. Résultats

Comme précédemment, pour éviter les biais dus à une trop petite taille d'échantillon, les 2 individus ayant le génotype F au DRB1 et les 2 seuls individus présentant le génotype 225227 au DYMS1 n'ont pas été considérés dans les analyses. Un total de 70 individus (109 observations) ayant à la fois les données non génétiques, génétiques et parasitologiques ont été inclus dans les analyses.

2.3.1. Modèles non génétiques

Aucun des termes quadratiques des prédicteurs non génétiques n'ont amélioré l'AICc de plus de 2 points, indiquant qu'il n'y a pas de relation quadratique entre FEC/FOC, la

condition corporelle, le temps écoulé entre l'échantillonnage et l'analyse coproscopique, et la date d'échantillonnage (Tableau 43). Aucune des variables non génétique n'a présenté de VIF supérieur à 3, indiquant qu'il n'y avait pas de problèmes de corrélation (Tableau 44). Pour FOC, les 2 premiers modèles étaient équivalents ($\Delta AICc < 2$) et incluaient la classe d'âge et le temps écoulé entre échantillonnage et l'analyse coproscopique (Tableau 45). Le meilleur modèle non génétique retenu pour les coccidies est donc celui tenant compte de ces 2 variables. Ce modèle avait une « goodness-of-fit » de $R^2c = 0.30$ et $R^2m = 0.14$. Les estimations pour FOC pour les classes d'âges 2 et 3 étaient $\beta = 1.31 \pm 0.40$ et 0.66 ± 0.31, respectivement, et étaient différentes de celles de la classe d'âge 4 ($p > 0.05$). La charge parasitaire décroit donc avec l'âge. Pour le temps écoulé entre échantillonnage et coproscopie, l'estimation était $\beta = 0.10 \pm 0.12$ ($p > 0.05$) indiquant que la charge parasitaire augmentait linéairement avec le nombre de jours écoulés entre échantillonnage et coproscopie.

Pour FEC, le meilleur modèle incluait seulement la condition corporelle (Tableau 45) et tous les modèles suivants avaient un $\Delta AICc > 2$. Le meilleur modèle non génétique retenu pour les strongles intestinaux tenait compte de cette unique variable et avait une « goodness-of-fit » de $R^2c = 0.52$ et $R^2m = 0.17$. La relation entre FEC et la condition corporelle était négative ($\beta = -0.57 \pm 0.13$, $p < 0.001$) indiquant que les individus en meilleure condition corporelle avaient une charge parasitaire plus faible.

Tableau 43: Sélection des modèles mixtes sur la base de l'AICc pour tester, dans les analyses où DYMS1 et d² ont été inclus, les effets des termes quadratiques des variables continues non génétiques sur la résistance face aux parasites (FEC et FOC).

« Age » représente la classe d'âge des individus, « Date » est la date Julienne d'échantillonnage et « Temps écoulé » est le temps écoulé entre échantillonnage et coproscopie. Tous les modèles incluaient l'identifiant de l'individu et l'année d'échantillonnage comme variables aléatoires.

Variable réponse	Modèles	AICc
FOC	Condition Corporelle + Date + Temps écoulé + Unité socio-spatiale + Age	360.18
	Condition Corporelle + Condition Corporelle² + Date + Temps écoulé + Unité socio-spatiale + Age	361.65
	Condition Corporelle + Date + Date² + Temps écoulé + Unité socio-spatiale + Age	362.51
	Condition Corporelle + Date + Temps écoulé + Temps écoulé² + Unité socio-spatiale + Age	362.34
FEC	Condition Corporelle + Date + Temps écoulé + Unité socio-spatiale + Age	370.93
	Condition Corporelle + Condition Corporelle² + Date + Temps écoulé + Unité socio-spatiale + Age	372.98
	Condition Corporelle + Date + Date² + Temps écoulé + Unité socio-spatiale + Age	372.30
	Condition Corporelle + Date + Temps écoulé + Temps écoulé² + Unité socio-spatiale + Age	372.88

Tableau 44: Variance Inflation Factors des variables non génétiques incluses dans les modèles mixtes pour FEC et FOC et les analyses incluant DYMS1 et d².

« Temps écoulé » est le temps écoulé entre échantillonnage et coproscopie. Tous les modèles incluaient l'identifiant de l'individu et l'année d'échantillonnage comme variables aléatoires.

	Condition Corporelle	Unité socio-spatiale *Nf*	Unité socio-spatiale *Sf*	Classe d'âge 2	Classe d'âge 3	Temps écoulé	Date Julienne
FEC	1.24	1.15	1.29	1.11	1.05	1.46	1.41
FOC	1.24	1.13	1.26	1.13	1.05	1.41	1.40

Tableau 45: Sélection de modèles mixtes sur la base de l'AICc pour tester, dans les analyses ou DYMS1 et d² ont été inclus, les effets des variables non génétiques sur la résistance face aux parasites (FOC et FEC).

D.f. sont les degrés de liberté, « weight » est le poids Akaike. Seulement les meilleurs modèles sont montrés. « Age » représente la classe d'âge des individus, « Date » est la date Julienne d'échantillonnage et « Temps écoulé » est le temps écoulé entre échantillonnage et coproscopie. Tous les modèles incluaient l'identifiant de l'individu et l'année d'échantillonnage comme variables aléatoires.

	d.f.	Log-likelihood	AICc	ΔAICc	Weight
FOC					
âge + temps écoulé	7	-168.27	351.6	0.00	0.26
âge	6	-169.65	352.1	0.46	0.21
âge + temps écoulé + condition corporelle	8	-168.12	353.7	2.03	0.09
âge + temps écoulé + date	8	-168.25	353.9	2.29	0.08
âge + date	7	-169.42	354.0	2.31	0.08
FEC					
condition corporelle	5	-174.64	359.9	0.00	0.39
condition corporelle + temps écoulé	6	-174.64	362.1	2.24	0.13
condition corporelle + date	6	-174.64	362.1	2.24	0.13
condition corporelle + unité socio-spatiale	7	-173.69	362.5	2.62	0.11
condition corporelle + âge	7	-174.33	363.8	3.90	0.06

2.3.2. Modèles génétiques

Aucune des variables génétiques (exceptés les génotypes DYMS1 215215 et 215217 dans tous les jeux de modèles pour FEC et FOC) n'avaient de VIF supérieur à 3 (Tableau 46). Les génotypes 215215 et 215217 ont tout de même été inclus dans les analyses car ils sont biologiquement intéressants. Lorsque l'on considère les coccidies, aucune relation quadratique n'a été détectée (Tableau 47) et le meilleur modèle était le modèle non-génétique (Tableau 48) indiquant que les variables génétiques incluses ici ne sont pas liées à la charge parasitaire en *Eimeria* spp. Pour les strongles, une relation quadratique a été détectée en sMLH et FEC dans les 3 jeux de modèles (Tableau 47). Dans tous les modèles où sMLH et sMLH² apparaissaient, la relation était négative ave sMLH et positive avec sMLH² indiquant une relation en forme de U entre sMLH et FEC (Tableau 49).

Le modèle incluant l'hétérozygotie au DRB1 (jeu (i)) était le meilleur modèle génétique (plus petit AICc) indiquant que parmi les différentes variables liées au DRB1 et incluses dans les analyses, l'hétérozygotie est celle ayant le plus fort effet sur la résistance face aux parasites. Dans le jeu de modèles incluant les effets des différents allèles du DRB1 (jeu (ii)), le meilleur modèle était celui comportant sMLH, sMLH² et l'allèle DRB1*0114 (Tableau 48). Enfin, dans le jeu (iii), les modèles incluant sMLH, sMLH² et les génotypes au DRB1, ou seulement les génotypes au DRB1, n'étaient pas meilleurs que le modèle non génétique (Tableau 48). Comme précédemment, les individus hétérozygotes au DRB1 ou possédant l'allèle DRB1*0114 étaient moins parasités que les individus homozygotes à ce locus (Tableau 49).

Plusieurs modèles contenant d² étaient meilleurs que le modèle non génétique, mais pour chacun de ces modèles, le modèle équivalant incluant sMLH était meilleur, indiquant que sMLH est plus corrélé à la résistance face aux strongles intestinaux que d² dans notre population (Tableau 48). D'un autre côté, aucun des modèles incluant les génotypes au locus DYMS1 n'étaient meilleurs que le modèle non génétique (Tableau 48) indiquant que ce marqueur n'est pas lié à la résistance face aux strongles dans la population étudiée.

Tableau 46: Variance inflation factors (VIF) des variables génétiques ou non, incluses dans les modèles mixtes pour FOC et FEC dans les 3 jeux de modèles pour les analyses incluant DYMS1 et d² : (i) sMLH + d² + génotype au DYMS1 (G_DY) + Hétérozygotie au DRB1 (H_DRB), (ii) sMLH + d² + G_DY + Allèles au DRB1 et (iii) sMLH + d² + G_DY + génotype au DRB1 (G_DRB1).

*« SMI » représente la condition corporelle, « temps écoulé » représente le temps écoulé entre échantillonnage et coproscopie et « date » est la date Julienne d'échantillonnage. Tous les modèles incluaient l'identifiant de l'individu et l'année d'échantillonnage comme variables aléatoires. R1, R2 et R3 représentent les allèles du DRB1 : *0324, *07012 * et *0114, respectivement. DY_A, DY_B, DY_C, DY_D, DY_E représentent les génotypes au DYMS1 : 209215, 215215, 215217, 215225, 215227, respectivement.*

	Model set	SMI	Age 2	Age 3	Délais	Date	sMLH	sMLH²	DY_A	DY_B	DY_C	DY_D	DY_E	d²	H_DRB	R1	R2	R3	DRB_B	DRB_C	DRB_D	DRB_E
	i	1.2	1.2	1.1	1.5	1.5	1.3	1.2	2.8	5.3	3.4	2.0	2.2	1.2	1.1	-	-	-	-	-	-	-
FOC	ii	1.3	1.2	1.2	1.5	1.5	1.4	1.3	2.8	5.5	3.5	2.1	2.5	1.3	-	1.8	1.8	1.3	-	-	-	-
	iii	1.3	1.2	1.2	1.5	1.5	1.4	1.4	2.8	5.5	3.5	2.1	2.5	1.3	-	-	-	-	1.5	1.4	1.4	1.3
	i	1.2	-	-	-	-	1.2	1.3	2.7	5.1	3.1	1.9	2.3	1.2	1.1	-	-	-	-	-	-	-
FEC	ii	1.2	-	-	-	-	1.3	1.2	2.8	5.3	3.2	1.9	2.5	1.2	-	1.7	1.7	1.3	-	-	-	-
	iii	1.2	-	-	-	-	1.3	1.3	2.8	5.3	3.2	1.9	2.5	1.3	-	-	-	-	1.5	1.4	1.4	1.3

*Tableau 47: Sélection de modèles mixtes sur la base de l'AICc pour tester, dans les analyses où DYMS1 et d² ont été inclus, les effets des termes quadratiques de sMLH et d² sur la résistance face aux parasites (FOC et FEC), pour les 3 sets de modèles génétiques : (i) sMLH + d² + génotype au DYMS1 (G_DY) + Hétérozygotie au DRB1 (H_DRB), (ii) sMLH + d² + G_DY + Allèles au DRB1 (R1, R2 et R3 pour *0324, *07012 * et *0114, respectivement)et (iii) sMLH + d² + G_DY + génotype au DRB1 (G_DRB1).*

«NG » représente les variables non génétiques incluses dans les modèles (voir plus haut). Tous les modèles incluaient l'identifiant de l'individu et l'année d'échantillonnage comme variables aléatoires.

Variable réponse	Composition du modèle	AICc
FOC	*NG* + H_DRB1 + G_DY + sMLH + d²	364.89
	NG + H_DRB1 + G_DY + sMLH+ sMLH² + d²	363.27
	NG + H_DRB1 + G_DY + sMLH + (d²)²	366.91
	NG + R1 + R2 + R3 + G_DY + sMLH + d²	367.57
	NG + R1 + R2 + R3 + G_DY + sMLH+ sMLH² + d²	366.76
	NG + R1 + R2 + R3 + G_DY + sMLH + (d²)²	369.76
	NG + G_DRB1 + G_DY + sMLH + d²	370.18
	NG + G_DRB1 + G_DY + sMLH+ sMLH² + d²	369.69
	NG + G_DRB1 + G_DY + sMLH + (d²)²	363.90
FEC	*NG* + H_DRB1 + G_DY + sMLH + d²	371.77
	NG + H_DRB1 + G_DY + sMLH + sMLH² + d²	367.77
	NG + H_DRB1 + G_DY + sMLH + sMLH² + (d²)²	374.20
	NG + R1 + R2 + R3 + G_DY + sMLH + d²	372.82
	NG + R1 + R2 + R3 + G_DY + sMLH+ sMLH² + d²	370.72
	NG + R1 + R2 + R3 + G_DY + sMLH+ sMLH² + (d²)²	372.44
	NG + G_DRB1 + G_DY + sMLH + d²	375.43
	NG + G_DRB1 + G_DY + sMLH + sMLH² + d²	373.40
	NG + G_DRB1 + G_DY + sMLH + sMLH² + (d²)²	378.14

*Tableau 48: Sélection de modèles mixtes sur la base de l'AICc pour tester, dans les analyses où DYMS1 et d² ont été inclus, les effets des variables génétiques sur la résistance face aux parasites (FOC et FEC), pour les 3 sets de modèles génétiques : (i) sMLH + d² + génotype au DYMS1 (G_DY) + Hétérozygotie au DRB1 (H_DRB), (ii) sMLH + d² + G_DY + Allèles au DRB1 (R1, R2 et R3 pour *0324, *07012 * et *0114, respectivement)et (iii) sMLH + d² + G_DY + génotype au DRB1 (G_DRB1).*

D.f. sont les degrés de liberté, « weight » est le poids Akaike. Seulement les meilleurs modèles sont montrés. «NG » représente les variables non génétiques incluses dans les modèles (voir plus haut). Tous les modèles incluaient l'identifiant de l'individu et l'année d'échantillonnage comme variables aléatoires.

	d.f.	*AICc*	*ΔAICc*	*Weight*
FOC				
NG	7.00	351.65	0.00	0.13
NG + R1	8.00	351.78	0.14	0.12
NG + R2	8.00	352.57	0.93	0.08
NG + R1 + d2	9.00	353.73	2.09	0.05
NG + MLH	8.00	353.77	2.13	0.04
NG + d2	8.00	353.79	2.14	0.04
NG + R1 + R2	9.00	353.89	2.24	0.04
NG + HDRB	8.00	353.90	2.26	0.04
NG + R3	8.00	353.96	2.31	0.04
NG + MLH + R1	9.00	353.98	2.33	0.04
NG + R1 + R3	9.00	354.15	2.51	0.04
NG + R2 + d2	9.00	354.63	2.99	0.03
NG + R2 + R3	9.00	354.70	3.06	0.03
NG + MLH + R2	9.00	354.85	3.21	0.03
NG + MLH + R1 + d2	10.00	355.78	4.14	0.02
NG + MLH + d2	9.00	355.82	4.18	0.02
NG + R1 + R2 + d2	10.00	355.86	4.22	0.02
NG + MLH + HDRB	9.00	356.07	4.42	0.01
NG + MLH + R3	9.00	356.10	4.46	0.01
NG + HDRB + d2	9.00	356.11	4.47	0.01
NG + R1 + R3 + d2	10.00	356.13	4.49	0.01
NG + R3 + d2	9.00	356.16	4.51	0.01
NG + MLH + R1 + R2	10.00	356.18	4.54	0.01
NG + R1 + R2 + R3	10.00	356.29	4.64	0.01
NG + MLH + R1 + R3	10.00	356.40	4.76	0.01
NG + MLH + R2 + d2	10.00	356.84	5.19	0.01
NG + R2 + R3 + d2	10.00	356.86	5.21	0.01
NG + MLH + R2 + R3	10.00	356.99	5.34	0.01
NG + DY	12.00	357.77	6.12	0.01
NG + MLH + R1 + R2 + d2	11.00	358.03	6.39	0.01
NG + R1 + DY	13.00	358.15	6.51	0.01
NG + MLH + HDRB + d2	10.00	358.20	6.55	0.01

NG + MLH + R3 + d2	10.00	358.23	6.58	0.01
NG + MLH + R1 + R3 + d2	11.00	358.25	6.61	0.01
NG + R1 + R2 + R3 + d2	11.00	358.33	6.69	0.01
NG + G_DRB1	11.00	358.35	6.70	0.00
NG + MLH + R1 + R2 + R3	11.00	358.62	6.97	0.00
NG + MLH + R2 + R3 + d2	11.00	359.07	7.42	0.00
NG + R2 + DY	13.00	359.36	7.72	0.00
NG + MLH + DY	13.00	360.02	8.37	0.00
NG + DY + d2	13.00	360.16	8.52	0.00
NG + R1 + DY + d2	14.00	360.29	8.65	0.00
NG + HDRB + DY	13.00	360.30	8.65	0.00
NG + R3 + DY	13.00	360.32	8.67	0.00
NG + MLH + R1 + DY	14.00	360.33	8.68	0.00
NG + MLH + R1 + R2 + R3 + d2	12.00	360.55	8.90	0.00
NG + G_DRB1 + d2	12.00	360.57	8.92	0.00
NG + R1 + R3 + DY	14.00	360.65	9.00	0.00
NG + R1 + R2 + DY	14.00	360.68	9.03	0.00
NG + MLH + G_DRB1	12.00	360.74	9.09	0.00
NG + R2 + DY + d2	14.00	361.65	10.01	0.00
NG + MLH + R2 + DY	14.00	361.78	10.14	0.00
NG + R2 + R3 + DY	14.00	361.97	10.32	0.00
NG + MLH + R1 + DY + d2	15.00	362.18	10.54	0.00
NG + MLH + DY + d2	14.00	362.31	10.66	0.00
NG + MLH + HDRB + DY	14.00	362.58	10.94	0.00
NG + MLH + R3 + DY	14.00	362.64	10.99	0.00
NG + HDRB + DY + d2	14.00	362.72	11.08	0.00
NG + R3 + DY + d2	14.00	362.74	11.09	0.00
NG + R1 + R3 + DY + d2	15.00	362.76	11.11	0.00
NG + R1 + R2 + DY + d2	15.00	362.83	11.19	0.00
NG + MLH + G_DRB1 + d2	13.00	362.87	11.22	0.00
NG + MLH + R1 + R3 + DY	15.00	362.92	11.28	0.00
NG + MLH + R1 + R2 + DY	15.00	362.97	11.33	0.00
NG + R1 + R2 + R3 + DY	15.00	363.31	11.66	0.00
NG + MLH + R2 + DY + d2	15.00	363.97	12.33	0.00
NG + R2 + R3 + DY + d2	15.00	364.33	12.69	0.00
NG + MLH + R2 + R3 + DY	15.00	364.43	12.79	0.00
NG + MLH + R1 + R3 + DY + d2	16.00	364.76	13.12	0.00
NG + MLH + R1 + R2 + DY + d2	16.00	364.87	13.23	0.00
NG + MLH + HDRB + DY + d2	15.00	364.89	13.24	0.00
NG + MLH + R3 + DY + d2	15.00	364.96	13.32	0.00
NG + R1 + R2 + R3 + DY + d2	16.00	365.46	13.82	0.00
NG + G_DRB1 + DY	16.00	365.62	13.97	0.00
NG + MLH + R1 + R2 + R3 + DY	16.00	365.67	14.02	0.00
NG + MLH + R2 + R3 + DY + d2	16.00	366.70	15.05	0.00
NG + MLH + R1 + R2 + R3 + DY + d2	17.00	367.57	15.92	0.00
NG + G_DRB1 + DY + d2	17.00	367.97	16.33	0.00
NG + MLH + G_DRB1 + DY	17.00	368.05	16.40	0.00
NG + MLH + G_DRB1 + DY + d2	18.00	370.18	18.53	0.00

FEC				
NG + MLH² + HDRB	8.00	353.69	0.00	0.13
NG + MLH² + R3	8.00	354.02	0.34	0.11
NG + R1 + R3	7.00	354.58	0.89	0.09
NG + R3	6.00	354.65	0.96	0.08
NG + MLH² + R1 + R3	9.00	354.97	1.29	0.07
NG + MLH² + HDRB + d2	9.00	355.89	2.21	0.04
NG + MLH² + R3 + d2	9.00	356.16	2.47	0.04
NG + R1 + R2 + R3	8.00	356.20	2.52	0.04
NG + MLH² + R1 + R2 + R3	10.00	356.24	2.55	0.04
NG + HDRB	6.00	356.24	2.56	0.04
NG + MLH² + R2 + R3	9.00	356.34	2.65	0.04
NG + R3 + d2	7.00	356.51	2.82	0.03
NG + R1 + R3 + d2	8.00	356.64	2.95	0.03
NG + MLH²	7.00	356.86	3.17	0.03
NG + R2 + R3	7.00	356.91	3.22	0.03
NG + MLH² + R1 + R3 + d2	10.00	357.24	3.56	0.02
NG + HDRB + d2	7.00	358.09	4.40	0.02
NG + R1 + R2 + R3 + d2	9.00	358.30	4.62	0.01
NG + G_DRB1	9.00	358.48	4.80	0.01
NG + MLH² + R2 + R3 + d2	10.00	358.52	4.83	0.01
NG + MLH² + R1 + R2 + R3 + d2	11.00	358.57	4.88	0.01
NG + MLH² + G_DRB1	11.00	358.59	4.90	0.01
NG + MLH² + R1	8.00	358.76	5.07	0.01
NG + R2 + R3 + d2	8.00	358.83	5.14	0.01
NG + MLH² + d2	8.00	358.98	5.29	0.01
NG + MLH² + R2	8.00	359.14	5.46	0.01
NG	5.00	359.86	6.18	0.01
NG + G_ DRB1 + d2	10.00	360.56	6.88	0.00
NG + MLH² + R1 + d2	9.00	360.97	7.28	0.00
NG + MLH² + G_DRB1 + d2	12.00	361.02	7.33	0.00
NG + MLH² + R1 + R2	9.00	361.12	7.44	0.00
NG + R1	6.00	361.21	7.53	0.00
NG + MLH² + R2 + d2	9.00	361.32	7.63	0.00
NG + R2	6.00	361.50	7.81	0.00
NG + d2	6.00	361.61	7.93	0.00
NG + R1 + d2	7.00	363.10	9.42	0.00
NG + R2 + d2	7.00	363.34	9.66	0.00
NG + R1 + R2	7.00	363.36	9.67	0.00
NG + MLH² + R1 + R2 + d2	10.00	363.38	9.70	0.00
NG + MLH² + R3 + DY	13.00	365.24	11.55	0.00
NG + R1 + R2 + d2	8.00	365.30	11.62	0.00
NG + MLH² + HDRB + DY	13.00	365.38	11.70	0.00
NG + R3 + DY	11.00	365.64	11.96	0.00
NG + R1 + R3 + DY	12.00	365.92	12.23	0.00
NG + MLH² + R1 + R3 + DY	14.00	366.36	12.68	0.00
NG + HDRB + DY	11.00	367.47	13.78	0.00
NG + R3 + DY + d2	12.00	367.53	13.84	0.00
NG + MLH² + R3 + DY + d2	14.00	367.53	13.84	0.00
NG + MLH² + HDRB + DY + d2	14.00	367.77	14.09	0.00

NG + MLH² + R2 + R3 + DY	14.00	367.85	14.17	0.00
NG + R1 + R2 + R3 + DY	13.00	367.88	14.20	0.00
NG + MLH² + DY	12.00	368.05	14.37	0.00
NG + MLH² + R1 + R2 + R3 + DY	15.00	368.12	14.43	0.00
NG + R1 + R3 + DY + d2	13.00	368.15	14.46	0.00
NG + R2 + R3 + DY	12.00	368.15	14.47	0.00
NG + MLH² + R1 + R3 + DY + d2	15.00	368.89	15.21	0.00
NG + HDRB + DY + d2	12.00	369.26	15.58	0.00
NG + R2 + R3 + DY + d2	13.00	370.11	16.42	0.00
NG + R1 + R2 + R3 + DY + d2	14.00	370.13	16.45	0.00
NG + MLH² + R1 + DY	13.00	370.17	16.48	0.00
NG + MLH² + R2 + R3 + DY + d2	15.00	370.18	16.50	0.00
NG + MLH² + DY + d2	13.00	370.35	16.67	0.00
NG + G_DRB1 + DY	14.00	370.44	16.76	0.00
NG + MLH² + R2 + DY	13.00	370.51	16.82	0.00
NG + DY	10.00	370.65	16.96	0.00
NG + MLH² + G_DRB1 + DY	16.00	370.69	17.00	0.00
NG + MLH² + R1 + R2 + R3 + DY + d2	16.00	370.71	17.03	0.00
NG + R1 + DY	11.00	372.34	18.66	0.00
NG + DY + d2	11.00	372.41	18.73	0.00
NG + R2 + DY	11.00	372.49	18.80	0.00
NG + MLH² + R1 + DY + d2	14.00	372.62	18.93	0.00
NG + G_DRB1 + DY + d2	15.00	372.68	18.99	0.00
NG + MLH² + R1 + R2 + DY	14.00	372.80	19.12	0.00
NG + MLH² + R2 + DY + d2	14.00	372.89	19.20	0.00
NG + MLH² + G_DRB1 + DY + d2	17.00	373.40	19.71	0.00
NG + R1 + DY + d2	12.00	374.33	20.65	0.00
NG + R2 + DY + d2	12.00	374.44	20.75	0.00
NG + R1 + R2 + DY	12.00	374.67	20.99	0.00
NG + MLH² + R1 + R2 + DY + d2	15.00	375.31	21.62	0.00
NG + R1 + R2 + DY + d2	13.00	376.75	23.06	0.00

*Tableau 49: Estimations des coefficients pour les meilleurs modèles génétiques pour FEC. "H_DRB1" représente l'hétérozygotie au DRB et R1, R2, R3 sont les allèles au DRB1 (*0324, *07012 * et*0114, respectivement).*

*Les p-valeurs sont codées avec des astérisques: "***" for p = 0.001, "**" for p = 0.01, "*" for p = 0.05, "." for p = 0.1.*

	β ± SE	t value	p
Model set (i)			
Intercept	6.09 ± 0.20		
Condition corporelle	-0.52 ± 0.13	-4.25	***
sMLH	-0.71 ± 1.29	-055	
sMLH²	3.20 ± 1.23	2.60	*
HDRB	-0.60 ± 0.26	-2.32	*
Model set (ii)			
Intercept	5.95 ± 0.16		
Condition corporelle	-0.55 ± 0.12	-4.49	***
sMLH	-0.34 ± 1.31	-0.26	
sMLH²	2.84 ± 1.26	2.25	*
DRB1*0114	-0.64 ± 0.28	-2.24	*

2.4. Discussion

Les résultats mis en évidence dans cette partie complémentaire correspondent à ce qui avait été observé précédemment. Ici également, aucun effet génétique du DYMS1 ou de d^2 sur le taux de coccidies n'a été détecté (voir Chapitre 10, 1.4.1 pour une discussion à ce sujet). Pour les strongles, l'hétérozygotie et l'allèle DRB1*0114 apparaissent, ici encore (voir aussi Chapitre 10, Article 2), comme les meilleurs prédicteurs génétiques de la charge parasitaire. Aucun effet du génotype au DYMS1 n'a été détecté. Enfin, bien qu'il semble que d^2 puisse avoir un effet sur le taux de nématodes, cet effet est toujours moins fort que celui de sMLH indiquant que, dans la population d'étude, sMLH est un meilleur descripteur des effets de la diversité neutre sur la résistance face aux strongles que d^2.

Ce dernier résultat est en accord avec ce que l'on peut observer dans la littérature. En effet, même si dans certaines populations d^2 est plus corrélé à la valeur sélective que l'hétérozygotie (e.g. Coulson et al. 1998, Da Silva et al. 2009), cette grandeur semble moins informative que l'hétérozygotie dans plusieurs autres études (voir Hedrick et al. 2001b, Coltman & Slate 2003, Chapman et al. 2009). Il semblerait que les cas où d^2 est meilleur que l'hétérozygotie, pour décrire les HFC, correspondent à des populations présentant des patrons particuliers de consanguinité et de brassage génétique (e.g. brassage génétique entre populations très différenciées, Coulson et al. 1998, Tsitrone et al. 2001, Neff 2004a, Da Silva

et al. 2009). Dans la population du Caroux-Espinouse, des individus d'origines différentes ont été introduits et nous aurions alors pu nous attendre à observer un effet de d^2 sur la résistance face aux parasites (voir aussi Coulson et al. 1998, Da Silva et al. 2009). Bien que les résultats obtenus avec sMLH suggèrent la présence d'une dépression hybride (voir Chapitre 10, 1.4.2), il semblerait que dans la population d'étude, d^2 ne soit pas la grandeur la plus adaptée pour détecter ce signal génétique. De la même manière, les résultats de la présente étude suggèrent que le marqueur DYMS1 n'est pas lié à la résistance face aux strongles et coccidies dans la population du Caroux-Espinouse, malgré son lien avec l'immunité chez les moutons Mérinos (Dukkipati et al. 2010) et la résistance face aux nématodes gastro-intestinaux chez les moutons Blackface (Buitkamps et al. 1996).

PARTIE V :
SYNTHÈSE GÉNÉRALE

Chapitre 11

Discussion des principaux résultats et perspectives

1. Structure génétique et spatiale des hôtes

L'un des objectifs de cette thèse était de caractériser la structure génétique spatiale des populations de mouflons Méditerranéens et Corses et d'identifier les éléments susceptibles d'impacter les flux de gènes chez cette espèce. Dans le Caroux-Espinouse (CE), nous avons pu mettre en évidence que les mâles ne présentaient pas de structuration génétique contrairement aux femelles (Chapitres 7 et 8). Des différences de comportements spatiaux entre les deux sexes avaient déjà été mis en évidence dans cette population (Dubois et al. 1992, 1993, 1994, 1996, Dupuis et al. 2002, King & Brooks 2003, Marchand et al. 2015b, 2017a), et les études de génétique des populations et du paysage menées ici ont permis de montrer que ces différences comportementales avaient également des conséquences sur les flux génétiques.

1.1. À propos de l'histoire d'introduction et de la structure socio-spatiale

Le premier niveau de structure génétique détecté chez les femelles mouflons Méditerranéens semble être en lien avec l'histoire d'introduction de la population. Nous avons, en effet, détecté une proximité génétique plus importante entre les individus situés au nord et au sud de la réserve, qu'entre ces deux groupes d'individus et ceux situés plus au centre (Article 1). Cette proximité génétique pourrait être expliquée par la persistance d'une empreinte génétique historique, des individus issus de la population de Cadarache ayant été relâchés au nord et au sud. Toutefois, en utilisant du matériel génétique des populations sources, nous n'avons pas pu totalement confirmer cette hypothèse (Chapitre 7, Addendum 2). Au niveau de l'ADN nucléaire, des résultats contradictoires ont été observés entre DAPC et valeurs de *Fst*. Cela peut indiquer que le signal génétique détecté par la DAPC est faible. Les microsatellites étant des loci neutres connus pour évoluer rapidement, le fait de ne pas détecter ce faible signal avec les différentes méthodes n'est pas particulièrement étonnant. En effet, entre l'échantillonnage réalisé à Cadarache (2016) et l'introduction des mouflons de Cadarache au CE (1956-1959), environ 14 générations de mouflons se sont écoulées. Durant ce laps de temps, les deux populations ont pu être soumises à différentes forces évolutives les faisant diverger (*Fst* élevé, voir Chapitre 7, Addendum 2). Agissant suite au goulot d'étranglement imposé par l'introduction, la dérive génétique, associée au brassage génétique entre les individus de Cadarache et les autres individus introduits (Tableau 1), peut être à l'origine de la divergence entre les populations sources et celle du CE.

Au contraire, l'absence de signal mitochondrial est plus surprenante. En effet, les loci mitochondriaux sont connus pour évoluer moins rapidement que les microsatellites,

permettant de retracer des évènements historiques anciens, et sont transmis uniquement par les femelles. Les femelles mouflons Méditerranéens sont plus philopatriques que les mâles (voir e.g. Article 1) et l'on s'attendait donc à observer un signal historique plus fort avec l'ADN mitochondrial qu'avec l'ADN nucléaire (e.g. Simpson et al. 2013). On retrouve bien l'haplotype de la population de Cadarache dans celle du CE, mais cet haplotype n'est pas l'haplotype majoritaire au nord contrairement à ce que l'on attendait (Chapitre 7, Addendum 2). Le brassage génétique entre les différentes unités socio-spatiales, et les mouvements des individus introduits, peuvent avoir participé à homogénéiser la répartition spatiale des deux haplotypes identifiés dans le CE, expliquant pourquoi nous ne retrouvons pas l'empreinte historique attendue (Chapitre 7). Afin de vérifier cette hypothèse, obtenir des informations sur la population Tchécoslovaque dans laquelle ont été prélevés les individus lâchés au CE (Tableau 1) serait crucial. En séquençant des individus issus de cette population au gène du Cytb, nous pourrions savoir quels haplotypes ils ont apporté au CE, et ainsi mieux comprendre la distribution haplotypique spatiale observée. Augmenter les tailles d'échantillon dans les différentes unités socio-spatiales (actuellement N = 18, 19 et 12 individus pour les groupes *Nf*, *Cf* et *Sf,* respectivement) pourrait également permettre de confirmer ce patron haplotypique spatial.

Le second niveau de structure génétique détecté chez les femelles correspondait à leur organisation socio-spatiale, la différenciation génétique étant significative entre les 3 unités socio-spatiales identifiées (Chapitre 7). L'agrégation est un phénomène répandu chez les animaux et présente plusieurs avantages, tels que la protection face aux prédateurs ou encore l'accès aux ressources (Parrish & Edelstein-Keshet 1999). La fidélité spatiale peut également être expliquée par différents bénéfices tels qu'une meilleure connaissance de l'environnement, et donc des sites adéquats aux diverses activités d'un individu (e.g. élevage des jeunes, recherche de ressources). Chez les ongulés, la familiarité spatiale est un facteur important définissant l'utilisation de l'espace et la philopatrie. Par exemple, chez le cerf hémione (*Odocoileus hemionus*), Northup et al. (2016) ont mis en évidence que la philopatrie des femelles était liée à la disponibilité en ressources, suggérant que les individus restent dans des sites où ils savent qu'ils pourront trouver des ressources suffisantes, *a fortiori* durant la période où les femelles sont suitées. De même, chez les mouflons, la familiarité joue un rôle crucial dans le déterminisme des mouvements et la définition des domaines vitaux des individus (Marchand et al. 2017a). La structure socio-spatiale et la philopatrie observées chez les femelles mouflons peuvent donc résulter des avantages de la philopatrie pour l'individu. Cette fidélité spatiale joue probablement aussi un rôle important dans le maintien du signal génétique historique évoqué plus haut. Le maintien des 2 signaux génétiques (historique et

socio-spatial) peut également être le résultat de la limitation des flux de gènes imposée par le paysage (voir Chapitre 8 et ci-dessous).

Les effets des introductions sur les structures génétiques sont souvent étudiés, notamment chez les ongulés, un groupe dans lequel de nombreuses populations ont fait l'objet de (ré)introductions. Cependant, la majorité des études semblent être réalisées à l'échelle inter-populationnelle (e.g. chez le mouflon Mexicain, *Ovis canadensis mexicana*, Hedrick et al. 2001a, chez le cerf de Virginie, *Odocoileus virginianus*, DeYoung et al. 2003, chez le bouquetin des Alpes, *Capra ibex ibex*, Biebach & Keller 2009, chez les troupeaux domestiques, *Bos* sp., Martinez et al. 2012). L'impact de l'histoire d'introduction révélé dans la population de mouflons du CE, à la petite échelle spatiale de la RNCFS, met en évidence l'importance de mener ce type d'étude également à une échelle intra-populationnelle. Par ailleurs, dans de nombreuses espèces de grands herbivores, la structure socio-spatiale et la philopatrie peuvent impacter la structure génétique (e.g. mouton de Soay, Coltman et al. 2003, éléphants, *Loxodonta africana*, Archie et al. 2008, chevreuil, *Capreolus capreolus*, Bonnot et al. 2010, cerfs de Sitka, Colson et al. 2013, sangliers, *Sus scrofa*, Podgórski et al. 2014). Toutefois, à notre connaissance, l'étude présentée dans le Chapitre 7 est la première à tenter de distinguer l'apport relatif de l'histoire d'introduction et de la structure socio-spatiale à la structure génétique d'une population introduite chez les ongulés. Il pourrait être intéressant d'appliquer des approches similaires à celles développées dans ce manuscrit à d'autres espèces. Cela permettrait de généraliser nos résultats et donnerait des informations supplémentaires aux gestionnaires lors de la planification des stratégies de gestion et de conservation (e.g. réintroduction du cerf élaphe en Corse, Klein 2013).

1.2. À propos du paysage et des implications pour la gestion des populations

La structure génétique spatiale des femelles dans le CE est également dépendante de l'habitat dans lequel elles évoluent. La sélection d'habitat chez les mouflons du CE, comme chez d'autres ongulés, est dirigée par un compromis entre nourriture et couverture (Mysterud et Ostbye, 1999 Dussault et al. 2005, Marchand et al. 2015b). En déterminant la distribution spatiale des individus, ce comportement spatial détermine à son tour les flux de gènes chez les femelles dans la population. Plus précisément, les types d'habitats dans lesquels elles passent la majorité de leur temps durant la période de reproduction (habitats perçus comme « sûrs », i.e. protégeant contre les prédateurs) sont ceux présentant la plus faible résistance aux flux de gènes, alors que ceux qu'elles évitent (habitats « non-sûrs » ou ne fournissant pas de ressources) restreignent les flux de gènes (Article 2). Par ailleurs, les structures linéaires, participant à la définition des limites des domaines vitaux en servant de repères visuels

(Marchand et al. 2017a), qu'elles soient naturelles ou anthropiques, réduisent les flux de gènes, et leur effet est plus important que celui lié aux types d'habitats (Article 2). Dans une optique de gestion et de conservation, ces résultats fournissent des informations cruciales. Au CE, la création de nouvelles routes ou chemins de randonnées pourrait drastiquement réduire la connectivité du paysage pour les femelles. Cela pourrait également subdiviser les unités socio-spatiales en groupes plus petits. De la même manière, dans le contexte actuel de fermeture des habitats dans lequel se trouve la population d'étude (Chapitre 5), une augmentation de la proportion des forêts de conifères pourrait accroître l'isolement des différentes unités socio-spatiales femelles puisque c'est un habitat limitant les flux de gènes (Article 2).

Les mâles mouflons Méditerranéens sont moins philopatriques et plus mobiles que les femelles (i.e. avec des comportements spatiaux moins stables dans le temps, des mouvements moins impactés par les structures linéaires et moins influencés par la familiarité du paysage, Dubois et al. 1993, 1996, Dupuis et al. 2002, Marchand et al. 2017a). Ce comportement spatial détermine, comme pour les femelles, les flux de gènes puisque, dans les études menées ici, les mâles apparaissent moins structurés génétiquement que les femelles (Articles 1 et 2). Cette différence de structure génétique entre mâles et femelles suggère que, chez le mouflon Méditerranéen, les flux de gènes dans les populations sont majoritairement assurés par les mâles. Dans la population du CE, il y a peu ou pas de dispersion natale (Dubois et al. 1996, Battistella 2016) et les flux de gènes se font très probablement au travers d'excursions de reproduction. Plusieurs mécanismes peuvent expliquer ce comportement d'excursions, observé également chez d'autres espèces d'ongulés, chez les mâles comme les femelles. Par exemple l'évitement de consanguinité (e.g. chez le chevreuil, Debeffe et al. 2014) ou encore la recherche de partenaires pour se reproduire (e.g. chez le cerf de Virginie, Kolodzinski et al. 2010, Karns et al. 2011) peuvent être à l'origine de ces mouvements en dehors des domaines vitaux.

Chez le mouflon Méditerranéen, faire des excursions de reproduction peut permettre, pour un mâle, de rencontrer des femelles non déjà accaparées par d'autres mâles (stratégie du « tending », Chapitre 5). Dans la population du CE, l'effectif est haut et stable, au moins depuis les années 1990 (Garel et al. 2005b), et la fermeture du milieu induit une perte conséquente d'habitat (Bousquel 1999, Garel et al. 2007, voir Chapitre 5). La densité en mouflons mâles est donc probablement élevée dans la réserve, exacerbant la compétition intra-sexuelle pour l'accès à la reproduction et favorisant les excursions de reproduction. Ces excursions, bien que se faisant sur de courtes distances (en moyenne, une excursion de 2

heures ou plus amène un individu à 189.8 ± 245.3 m du centre de son domaine vital et au maximum à 1.9 km), durent relativement longtemps (en moyenne 16.2 ± 63.5 h et au maximum 41.8 jours, Marchand et al. données non publiées) et peuvent ainsi permettre à la reproduction d'avoir lieu, induisant une homogénéisation des fréquences alléliques entre groupes socio-spatiaux (Article 1). Une étude visant à confirmer le lien entre excursions et flux de gènes pourrait permettre de confirmer les hypothèses émises ici (e.g. détermination génétique de paternité sur les agneaux). Par ailleurs, à ce jour, assez peu d'informations existent sur la dispersion (natale et de reproduction) chez le mouflon Méditerranéen et mener des études permettant de déterminer s'il y en a, et comment elle se fait, pourrait permettre de mieux comprendre la biologie et la génétique des populations de mouflons.

Les résultats mis en évidence, sur les mâles comme les femelles, indiquent que le comportement spatial et la sélection d'habitat ont des effets sur les flux de gènes chez le mouflon Méditerranéen. Cela pourrait également être le cas dans d'autres espèces d'ongulés. En effet, le compromis spatial entre couverture et nourriture (e.g. Mysterud & Ostbye 1999, Dussault et al. 2005, Mabille et al. 2012) et l'impact de diverses structures linéaires sur les flux de gènes (e.g. chevreuil, Coulon et al. 2006, Hepenstrick et al. 2012, élan, Wilson et al. 2015) ont été mis en évidence chez plusieurs espèces de ce groupe. Il pourrait donc être intéressant de mener des études de génétique du paysage en se focalisant sur le compromis couverture/nourriture dans d'autres taxons afin de voir si, comme chez le mouflon, ce comportement impacte également les flux de gènes. Par ailleurs, la majeure partie des études sur les effets barrières chez les ongulés se focalisent sur les structures linéaires constituant des barrières physiques. Ici nous avons mis en évidence les effets de barrières comportementales sur les flux de gènes, et ce type de barrière pourrait également impacter les flux de gènes d'autres espèces aux domaines vitaux bien définis et stables.

Il est important de noter ici que les résultats obtenus dans les études de génétique du paysage sont dépendants des conditions dans lesquelles se trouvaient les individus au moment de l'étude. Toute modification du paysage (e.g. augmentation de la densité en structure linéaire) ou facteur modifiant la « favorabilité » d'un habitat (e.g. zones refuges ne l'étant plus en raison d'activités anthropiques accrues), peut impacter la structure génétique de la population, puisque ces habitats ont des effets sur flux de gènes. De la même manière, une modification du comportement des individus peut modifier les conclusions tirées ici. Par exemple, chez le mouflon du désert, Epps et al. (2018) ont mis en évidence que les individus traversaient aujourd'hui (2013-2015) une barrière (autoroute) qu'ils ne traversaient pas 10 ans auparavant (2000-2003), réduisant ainsi grandement la différenciation génétique entre deux

populations en seulement deux générations. Des réplications spatiales et temporelles sont donc nécessaires en génétique du paysage. Les réplications spatiales (intra- et interspécifiques) peuvent permettent de généraliser les patrons observés dans une population à une espèce ou un groupe entier (Larroque et al. 2016a, Short-Bull et al. 2011). Par exemple, les différentes études de génétique du paysage menées chez les moutons sauvages permettent de mettre en évidence que la topographie est un élément déterminant des flux de gènes dans ce groupe d'espèces (Epps et al. 2007, Roffler et al. 2016, Creech et al. 2017, Article 2). Cette caractéristique semble également s'étendre à d'autres ongulés (e.g. cerf élaphe, Perez-Espona et al. 2008, gazelle de Prewalski, *Procapra przewalskii*, Yang et al. 2011, girafes Masaï, *Giraffa camelopardalis tippelskirchi,* Crowhurst 2012). Les réplications spatiales peuvent ainsi aider à la compréhension du fonctionnement et à la conservation des populations menacées. Les réplications temporelles sont quant à elles importantes pour mesurer l'évolution de la connectivité du paysage et l'évolution des fréquences alléliques dans les populations (e.g. Draheim et al. 2018). En effet, en ne considérant qu'un seul point dans le temps, la plupart des études de génétique font l'hypothèse que la structure génétique spatiale et les facteurs déterminants les flux de gènes (e.g. paysage, comportement) sont stables dans le temps, ce qui n'est pas toujours vrai, en particulier dans le contexte actuel de changements globaux (e.g. comportement de dispersion, Travis et al. 2013).

1.3. Importance de l'échelle spatiale dans les études de structures génétiques

L'un des faits les plus remarquables de ces premiers résultats est d'avoir pu mettre en évidence une structure génétique significative, et des effets sexe-spécifiques du paysage sur les flux de gènes, à la faible échelle spatiale de la réserve du CE. En effet, la RNCFS, englobant 1658 ha (≈ 8 domaines vitaux de mouflons femelles et 4.6 domaines vitaux de mâles) et mesurant environ 7 km de long pour 4 km de large, représente une petite aire d'étude. Chez le mouton sauvage, les études de génétique, et notamment de génétique du paysage, sont classiquement menées à large échelle spatiale (e.g. 3000 km², Buchalski et al. 2015), englobant souvent plusieurs noyaux de populations (voir par exemple Worley et al. 2004, Epps et al. 2005, 2007, Buchalski et al. 2015, Roffler et al. 2014, 2016, Creech et al. 2017). À notre connaissance, hormis l'étude de Petit et al. (1997) dans la population du CE, la seule étude de génétique des populations à petite échelle spatiale réalisée dans une population d'*Ovis* sauvages, ou féraux dans ce cas précis, a été réalisée par Coltman et al. (2003a) sur les moutons de Soay. La population qu'ils ont étudiée occupe une aire de 230 ha, et à cette fine échelle, ils ont également mis en évidence une différence de comportement entre mâles et femelles, les mâles présentant une structure génétique plus faible que les femelles. Les

femelles de cette population dispersent très peu et les individus proches géographiquement sont apparentés. Les résultats de Coltman et al. (2003a), et les études présentées dans ce manuscrit, mettent en lumière l'importance de mener des études à une échelle spatiale locale, particulièrement dans les espèces chez qui les domaines vitaux sont petits, et chez qui les individus ont des capacités de dispersion limitées. Cela permet en effet de comprendre les processus évolutifs intra-populationnels dont la connaissance est fondamentale pour la gestion des populations et des espèces.

Les résultats obtenus dans les populations de mouflons Corses sur la structure génétique soulignent également l'importance de l'échelle spatiale dans l'étude de la biologie d'une espèce. En effet, en raisonnant à une échelle spatiale plus importante que dans la réserve du CE, nous n'avons pas distingué les différences comportementales entre mâles et femelles en Corse (Chapitre 7, Addendum 3). Dans les populations de Bavella et Cinto, les mâles et femelles présentent tous deux des structures génétiques divisées en deux groupes, séparés par la route principale à Bavella et par la chaîne montagneuse du Monte Cinto à Cinto. L'étude de génétique du paysage réalisée à Cinto n'a cependant pas permis de confirmer cet effet des crêtes ou vallées sur les flux de gènes (Chapitre 8, Addendum 2). L'une des principales hypothèses pour expliquer ce phénomène est que nous avons réalisé cette étude à une échelle spatiale trop importante comparée aux capacités de dispersion des mouflons, et que la distinction nord-sud peut masquer des structures génétiques de niveaux hiérarchiques inférieurs. L'échelle spatiale à laquelle sont réalisés les échantillonnages et les analyses a, en effet, un impact important sur les conclusions tirées en génétique du paysage (Anderson et al. 2010, Angelone et al. 2011, Keller et al. 2013, Dalongeville et al. 2018).

Il n'existe malheureusement pas à ce jour d'estimation fiable de la distance de dispersion (natale ou de reproduction) des mouflons Corses et Méditerranéens car aucune étude récente n'a été réalisée. Cependant, les moutons sauvages sont connus pour avoir des capacités de dispersion limitées (e.g. Geist 1971, Gross et al. 2000, Worley et al. 2004), et une étude précédente sur les femelles mouflons Méditerranéens (Dubois et al. 1994) réalisée sur quelques individus a révélé que les individus avaient des domaines vitaux petits et fixés au cours de leur vie. La présence d'une structure génétique significative à petite échelle révélée ici (Chapitres 7 et 8) et la courte distance parcourue lors des excursions de reproduction réalisées par les mâles (Chapitre 11, 1.2) tendent également à confirmer que la distance de dispersion est faible dans cette espèce. Or, l'aire d'étude de la population de Cinto (53 000 ha) est très grande en comparaison de la taille du domaine vital (DV hivernal = 405 ha et estival = 285 ha pour les mâles de Cinto, Sanchis 2018) et de la portée des excursions de reproduction

mis en évidence dans le CE. Même si, du fait que les mouflons Corses vivent depuis toujours dans des aires plus grandes, on peut s'attendre à ce que leur comportement et donc leurs distances de dispersion soient adaptés, cela peut ne pas suffire à couvrir l'entièreté de la zone. La distance géographique peut donc être un élément très structurant pour les mouflons de Cinto, comme semblent le confirmer les résultats du test d'isolement par la distance (Chapitre 8, Addendum 2).

Les structures génétiques hiérarchiques (c'est-à-dire l'existence de plusieurs niveaux de structuration, comme c'est le cas par exemple lorsque 2 clusters génétiques séparés par une barrière sont présents et qu'il existe au sein de chacun de ces clusters une sous-structuration génétique qui peut dépendre de divers éléments, comme le paysage ou la distance géographique) sont courantes dans la nature et rendent plus complexe la caractérisation de la structure génétique d'une population (Balkenhol et al. 2014). Par exemple, chez le puma (*Puma concolor*), dans une population occupant une aire de 217 000 km², Balkenhol et al. (2014) ont mis en évidence l'existence d'une structure génétique hiérarchique résultant de l'effet de barrières, de différentes variables paysagères et de la distance géographique sur les flux de gènes. Ils proposent et recommandent une approche multi-méthodes pour caractériser ce type de structure génétique complexe qui serait incomplètement décrite par l'utilisation de l'une ou l'autre des méthodes seule. Les auteurs expliquent que la détection du signal de la distance géographique dans le premier niveau hiérarchique n'est pas surprenante étant donné que les dimensions de leur aire d'étude sont nettement supérieures aux capacités de dispersion des organismes qu'ils étudient.

Un parallèle peut être fait entre l'étude de Balkenhol et al. (2014) et l'étude réalisée dans la population de Cinto. Dans cette dernière, les deux clusters génétiques peuvent représenter le premier niveau de structure génétique, influencé par la présence d'une barrière (la chaîne de montagne du Monte Cinto) et la distance géographique, alors que le paysage est plutôt susceptible d'agir au sein de chaque cluster. Il faudrait donc refaire les analyses au sein de chaque cluster génétique afin de voir si dans les niveaux de structuration inférieurs, le paysage impacte les flux de gènes. Si tel était le cas, nous pourrions alors comparer les éléments favorisant ou limitant les flux de gènes dans les populations Corses aux éléments structurants la population du CE, et ainsi tirer des conclusions peut être plus générales à l'échelle de l'espèce (réplication spatiale). En raisonnant à une échelle spatiale plus restreinte, les différences de comportements entre mâles et femelles, si elles existent, auraient également plus de chances d'être détectées. Enfin, une poursuite intéressante dans la considération du problème d'échelle spatiale pourrait également être de refaire les analyses de génétique des

populations et du paysage à l'échelle du massif du CE entier (17 000 ha), afin de voir si l'on observe les mêmes patrons spatiaux qu'au sein de la RNCFS chez les mâles et les femelles.

1.4. Perspectives méthodologiques en génétique du paysage

Au-delà des perspectives énoncées plus haut concernant les échelles spatiales, un point qu'il pourrait être également intéressant de développer serait l'application de différentes méthodologies de génétique du paysage. En effet, la génétique du paysage est une discipline relativement récente (Manel et al. 2003, Manel & Holderegger 2013) et un nombre considérable d'approches différentes ont été développées depuis son introduction, sans qu'aucun consensus sur la méthode la plus performante ne soit trouvé (Balkenhol et al. 2016). Les approches de génétique du paysage reposent généralement sur deux étapes (Manel et al. 2003), la première consistant à caractériser la structure génétique (e.g. calculs de distances génétiques) et la seconde mesurant la corrélation entre cette structure et le paysage (e.g. caractérisé par la mesure de distances dites « écologiques » tenant compte de la résistance du paysage aux flux de gènes).

Pour réaliser cette seconde étape, il existe plusieurs manières de mesurer les distances écologiques et de quantifier leur corrélation avec la distance génétique. Au cours de cette thèse, nous avons utilisé les chemins de moindres coûts (LCPs pour Least-Costs Paths). Cette approche est cependant basée sur la forte hypothèse que les animaux considérés sont capables de choisir le chemin optimal et connaissent donc parfaitement le paysage dans lequel ils évoluent (Balkenhol et al. 2016). Nous avons vu que cette hypothèse n'est pas irréaliste pour le mouflon Méditerranéen (voir Chapitre 8, Article 2, Conclusions), mais employer d'autres méthodes ne faisant pas cette hypothèse pourrait permettre d'affiner les résultats obtenus avec les LCPs. La méthode la plus utilisée ne reposant pas sur cette hypothèse est la théorie des circuits électriques (McRae & Beier 2007, McRae et al. 2008). Au contraire des LCPs, les distances par paires calculées en utilisant la théorie des circuits tiennent compte des différents chemins qui peuvent exister entre deux points, la contribution des différents chemins étant pondérée en fonction de leur importance (e.g. facilitant plus ou moins le déplacement). L'incorporation de plusieurs chemins possibles rend la mesure de distance plus réaliste et permet de ne pas sous-estimer la connectivité lorsque par exemple, il existe différents chemins de coûts équivalents. Plusieurs études ont ainsi révélé de meilleures performances de la théorie des circuits par rapport aux chemins de moindres coûts (e.g. McClure et al. 2016, Simpkins et al. 2018) bien que cela ne soit pas systématique et dépende des caractéristiques biologiques de l'espèce étudiée (voir Spear et al. 2016 et références incluses, Zeller et al. 2018).

Une fois les distances écologiques calculées, l'objectif de la génétique du paysage va être de déterminer si la structure génétique est mieux décrite par un modèle d'isolement par la distance (IBD) ou d'isolement par la résistance (i.e. tenant compte du coût des déplacements, IBR). Ici aussi, de nombreuses méthodes ont été développées (voir par exemple Balkenhol et al. 2009, Zeller et al. 2016, Shirk et al. 2018). Au cours des travaux présentés dans ce manuscrit, nous avons utilisé des tests de Mantel et le causal modeling (Legendre & Troussellier 1988, Legendre 1993, Cushman et al. 2006, 2013) afin de mesurer la corrélation entre distances génétiques et distances de moindres coûts. Si l'utilisation des tests de Mantel demeure l'approche la plus couramment utilisée en génétique du paysage (Storfer et al. 2010, Zeller et al. 2016), c'est également l'une des plus controversée (e.g. Legendre et al. 2015, Zeller et al. 2016 mais voir Kierepka & Latch 2015). L'un des principaux désavantages de l'utilisation des tests de Mantel réside dans le fait que, lorsque l'on mesure la corrélation entre deux matrices de distances par paires, l'hypothèse d'indépendance des données n'est pas respectée. Cela aboutit à une grande erreur de type 1 pour ce type d'analyse (i.e. grande probabilité de rejeter l'hypothèse nulle à tort et donc de conclure à un effet du paysage n'existant pas réellement, Balkenhol et al. 2009, Graves et al. 2013, Legendre et al. 2015). Pour palier à cela, une approche prometteuse est l'utilisation de modèles linéaires à effet mixtes avec « maximum-likelihood population effects » (MLPE, Clarke et al. 2002, van Strien et al. 2012). Les MLPE intègrent la dépendance des données dans la structure des effets aléatoires permettant ainsi de corriger pour ce biais. La comparaison des différents modèles se fait alors classiquement par AIC. Cette approche a donné de meilleurs résultats que toutes les autres méthodes testées dans l'étude de Shirk et al. (2018). Etant donnés les différents désavantages que nous avons décrit en rapport avec les LCP et les tests de Mantel, il serait intéressant de mener des investigations en utilisant la théorie des circuits et les MLPE chez les mouflons Méditerranéens et Corses. Cela pourrait permettre de confirmer, et éventuellement préciser, les résultats obtenus dans les travaux de cette thèse.

2. Impact de la structure spatiale des hôtes sur l'agrégation des parasites

La description de la structure génétique des mouflons visait deux objectifs : 1) la compréhension du fonctionnement des populations de cette espèce qui n'avait jusqu'alors été que très peu étudié d'un point de vue génétique, 2) l'obtention d'une description détaillée de la structure spatiale et des mouvements effectués par les individus afin de déterminer si ces

éléments sont en lien avec la transmission des parasites dans les populations. Nous avons discuté ci-dessus du premier objectif et cette partie visera donc à remplir le second.

Le strongle digestif *Haemonchus contortus* (voir Chapitre 9) étudié dans ce manuscrit, est un parasite ayant un cycle monoxène (un seul hôte) avec une phase environnementale. Les phases environnementales sont néanmoins attendues pour être peu mobiles étant donnés la taille des larves et leur mode d'infestation (voir Chapitre 4). Leurs mouvements sont donc dépendants de ceux de leurs hôtes lors de leur stade parasitaire. En raison de la forte philopatrie des femelles mouflons, nous avions plus particulièrement émis l'hypothèse que la structure génétique spatiale des parasites correspondrait à la structure spatiale des femelles. En effet, nous avons vu que les flux mâles ne suffisent pas à compenser l'impact de la philopatrie des femelles sur la structure génétique de ces dernières (Chapitre 11, 1) et nous nous attendions donc à observer également une structure génétique chez les parasites.

Au contraire de nos attentes, les analyses préliminaires ont révélé, qu'à l'échelle spatiale considérée, les *H. contortus* ne présentaient pas de structure génétique spatiale. Plusieurs hypothèses et perspectives ont été proposées pour expliquer et confirmer ce résultat (voir Chapitre 9). Une autre poursuite intéressante dans l'étude de la structure spatiale des parasites pourrait être de se focaliser sur leur abondance au sein des hôtes. Il existe en effet souvent une très forte hétérogénéité dans le nombre de parasites par hôte dans une population (« agrégation », Poulin 2007). En utilisant l'outil génétique, nous ne prenons pas en compte cet aspect quantitatif. L'agrégation des parasites peut dépendre de l'agrégation des hôtes mais également de nombreux autres facteurs, la distribution observée étant le résultat des interactions de ces différents éléments (e.g. probabilités de rencontre, Poulin 2007). L'agrégation dépend aussi de la susceptibilité des hôtes face aux parasites, certains individus étant plus résistants que d'autres. L'un des éléments clés de la résistance des hôtes face aux parasites est l'immunité, qui est elle-même liée aux caractéristiques génétiques des individus (Partie I, Chapitre 2, Partie IV, Chapitre 10). Si les allèles responsables d'une résistance ou d'une susceptibilité accrue face aux parasites sont structurés spatialement dans la population, alors il se peut que les abondances soient elles aussi structurées spatialement. Cette structure dépendra des critères impactant la structure génétique spatiale des hôtes puisqu'en présentant une homogénéité génétique, les hôtes peuvent également présenter une homogénéité dans leur réponse immunitaire.

Dans l'étude visant à déterminer quels éléments génétiques déterminent la résistance des mouflons face à leurs parasites, nous avons mis en évidence des effets de la diversité génétique neutre et du gène du DRB1 (Partie IV, Chapitre 10). Nous avons vu que la

variabilité génétique neutre était structurée spatialement (Article 1) et il se peut donc que la résistance face aux parasites, et donc leurs abondances, soient également structurées. Parmi les caractéristiques du DRB1 qui s'avèrent déterminantes pour la résistance, nous avons identifié l'allèle DRB1*0114 qui procure une résistance supérieure face aux strongles intestinaux aux individus le portant. Si l'on s'intéresse à la proportion de chaque allèle dans chaque unité socio-spatiale femelle, on observe effectivement que l'allèle DRB1*0114 varie en proportion entre les différentes unités socio-spatiales (Tableau 50). Cependant, nous n'avons pas mis en évidence d'effet significatif de l'unité socio-spatiale sur le taux de strongles intestinaux (Chapitre 10, Appendice 1). Ces unités socio-spatiales ont été définies à l'échelle de la RNCFS, et il est envisageable qu'elles ne représentent pas les unités spatiales « de résistance », c'est-à-dire que l'homogénéité immunitaire apparaît à une échelle différente que nous n'avons pas considérée ici. Augmenter la taille de la zone d'étude pourrait permettre de détecter une plus grande variabilité spatiale des fréquences alléliques d'interêt et d'identifier une structure spatiale des abondances de strongles digestifs.

Tableau 50: Proportion d'individus portant les différents allèles identifiés au gène du DRB1 dans les différentes unités socio-spatiales femelles de la population de mouflons du Caroux-Espinouse (Nf, Cf et Sf, voir Article 1).

Unité socio-spatiale	DRB1 *0324	DRB1*07012	DRB1*0114
Nf	0.83	0.44	0.17
Cf	0.88	0.38	0.25
Sf	0.86	0.57	0.43

3. Résistance face aux parasites

3.1. Synthèse des résultats et implications pour la gestion des populations

Le troisième objectif de ce manuscrit était d'identifier les caractéristiques génétiques déterminant la résistance face aux parasites. Nous avons dans un premier temps observé que les individus présentant une hétérozygotie intermédiaire étaient moins parasités par les strongles intestinaux que les individus très homozygotes ou très hétérozygotes (Chapitre 10). Ce résultat correspond à ce que l'on pouvait attendre en accord avec la théorie du croisement optimal (« optimal outbreeding theory » en anglais, Bateson 1983) qui soutient l'existence d'un compromis entre consanguinité et croisements délétères, maximisant la valeur sélective des descendants (voir Chapitre 1, 2.3). Il faut cependant noter que dans notre étude, peu d'individus très hétérozygotes ou homozygotes ont été échantillonnés, et la relation quadratique n'était pas maintenue lorsque ces individus (sMLH < 0.6 ou > 1.3, 4 individus, 5

observations) n'étaient pas inclus dans les analyses (résultats non montrés). Une étude complémentaire considérant plus d'individus avec une hétérozygotie faible ou élevée permettrait de confirmer la présence de cette relation en U entre hétérozygotie et résistance face aux strongles. Dans un second temps, nos résultats ont mis en évidence que le statut hétérozygote au DRB1 (Complexe Majeur d'Histocompatibilité, CMH) des individus et la présence de certains allèles ou génotypes sont liés à la résistance face aux strongles intestinaux. Ces résultats suggèrent la cooccurrence de différents mécanismes sous-jacents au lien entre diversité génétique au CMH et résistance (avantage aux hétérozygotes, aux allèles rares et sélection fluctuante, voir Chapitre 2) dans la population (voir aussi Lenz et al. 2009 chez le rat géant à longue queue *Leopoldamys sabanus*). L'effet de l'hétérozygotie était néanmoins le plus fort suggérant une prépondérance de l'avantage aux hétérozygotes.

L'un des mécanismes souvent évoqués pour expliquer l'avantage des hétérozygotes est que la présence de deux allèles différents leur permet de reconnaître une plus grande diversité d'antigènes, leur procurant ainsi une meilleure résistance (Doherty & Zinkernagel 1975, Hedrick 1999, voir Chapitre 2). Cependant, le lien entre hétérozygotie et résistance peut également être en interaction avec d'autres caractéristiques de l'hôte, comme la condition corporelle. Par exemple, chez le cerf ibérique (*Cervus elaphus hispanicus*), Fernandez-de-Mera et al. (2009) ont mis en évidence que la condition corporelle et la résistance face aux parasites étaient liées aux haplotypes au DRB-2 (CMH). Les auteurs proposent l'hypothèse de la « qualité générale » pour expliquer cette interaction. C'est-à-dire que si un individu présente une certaine configuration au CMH qui lui confère une meilleure résistance, alors les effets de « bonne qualité » du CMH devraient se transcrire également dans d'autres caractéristiques comme la condition corporelle. Une autre explication possible (mais n'excluant pas la précédente) est que ces individus peuvent être plus performants que les autres dans l'acquisition des ressources ou leur métabolisation, induisant une meilleure condition corporelle chez eux que chez les autres (Fernandez-de-Mera et al. 2009). Cette interaction entre diversité génétique et condition corporelle s'observe également au niveau de marqueurs neutres tels que les microsatellites (e.g. Coulson et al. 1998, Kojo et al. 2012).

Dans notre étude, nous n'avons pas déterminé si les individus hétérozygotes étaient plus performants que les homozygotes à d'autres traits que la résistance face aux parasites et cela pourrait être une poursuite intéressante. Nous pourrions chercher à déterminer si le lien entre résistance et diversité génétique (au DRB1 mais aussi aux marqueurs microsatellites) interagit avec la condition corporelle. De même, nous pourrions déterminer si les individus les plus résistants face aux parasites ont également une meilleure survie ou un meilleur succès

reproducteur comme cela a été mis en évidence dans d'autres espèces (e.g. lagopède d'Écosse, Hudson et al. 1992a). Enfin, nous avons vu que la diversité génétique pouvait être liée au comportement de dispersion (e.g. Selonen & Hanski 2010, Debeffe et al. 2014, voir Chapitre 1), et que les mâles mouflons assurent une grande majorité des flux de gènes via des excursions de reproduction (Articles 1 et 2). Ces excursions sont supposées augmenter le succès reproducteur des mâles (Chapitre 11, 1.2). Les individus réalisant les excursions les plus efficaces (e.g. les plus longues, les plus lointaines) sont peut-être également les individus ayant une diversité génétique optimale. Mieux comprendre les liens entre diversité génétique, résistance face aux parasites et divers traits liés à la valeur sélective serait intéressant pour caractériser plus précisément l'importance de la diversité génétique dans les populations. Étant donnés ces liens existant entre la diversité génétique et la valeur sélective, il est important de tenir compte de la diversité génétique dans les stratégies de gestion et de conservation.

Dans les troupeaux domestiques, la méthode la plus utilisée pour lutter contre les infections est l'utilisation de traitement médicamenteux (Sayers & Sweeney 2005). Cependant, comme de plus en plus de parasites développent une résistance accrue face à ces traitements (Gilleard 2006), les éleveurs ont également recours à la sélection artificielle (croisements entre individus résistants, Sayers & Sweeney 2005). Dans les populations sauvages, la gestion des infections (parasitaires, bactériennes ou virales) est beaucoup plus compliquée avec les méthodes classiques. Par exemple, la vaccination et les traitements nécessitent des interventions anthropiques régulières (e.g. captures), susceptibles de perturber les individus et populations, et induisant un coût important, qu'il n'est probablement pas possible d'assumer sur du long terme et à large échelle spatiale par les autorités compétentes. Ce type de stratégie peut, de plus, avoir une efficacité variable selon les espèces de parasites (e.g. Murray et al. 1996) et des conséquences inattendues, telle que l'augmentation des taux d'infections par d'autres parasites (e.g. Pedersen & Antonovics 2013). Cela demeure donc des stratégies utilisées uniquement dans les cas les plus critiques, où la conservation des espèces (Woodroffe 1999, Calvete 2006), la santé humaine ou celle des animaux domestiques sont engagées (e.g. infections par la rage, Rosatte et al. 1992, Slate et al. 2005, Boyer et al. 2011). Il faut donc envisager d'utiliser des alternatives, et ici, comme chez les animaux domestiques, la résistance génétique peut constituer une stratégie intéressante.

Par exemple, au moment de fonder une population ou lorsque l'on planifie la translocation d'individus pour renforcer une population déjà existante (e.g. sauvetage génétique), on peut envisager de sélectionner des individus porteurs d'allèles de résistance

afin d'accroître la valeur sélective des descendants qui seront issus du croisement entre immigrants et résidents de la population cible (Whiteley et al. 2015). Également, afin de permettre aux individus de la population néoformée d'avoir une hétérozygotie optimale, il faut veiller à assurer une diversité génétique suffisante au sein des fondateurs pour limiter la consanguinité, tout en s'assurant de ne pas causer non plus de dépression hybride : les deux pouvant accroître la sensibilité des individus aux parasites (voir Chapitres 1 et 10). Le nombre et l'origine des individus fondateurs, ou introduits, jouent un rôle crucial dans le déterminisme de la diversité génétique des populations (voir Article 1 pour une discussion sur ce point) et revêtent donc une grande importance pour la résistance face aux parasites dans les stratégies de gestion. Par ailleurs, une réflexion sur le lieu des lâchers devra être faite afin de s'assurer que les individus pourront assurer des déplacements et des flux de gènes suffisant au maintien d'un niveau de diversité génétique maximisant la résistance face aux parasites et à la diffusion des allèles de résistance. Restaurer les flux de gènes peut aussi être intéressant en termes de résistance face aux parasites dans une population subdivisée. Dans le cas des introductions comme de la restauration des flux de gènes, il faut aussi veiller à ne pas confronter les organismes à des pathogènes contre lesquels ils ne seraient pas adaptés (e.g. traiter les individus avant de les relâcher, pré-exposer les individus aux pathogènes qu'ils rencontreront après avoir été relâchés, Faria et al. 2010). Toutes ces questions se posent notamment en lien avec les réintroductions planifiées dans la population de Bavella (voir Chapitre 5).

Il est à noter ici que se focaliser sur la diversité génétique n'est pas forcément suffisant pour lutter contre le parasitisme, et les stratégies de gestion doivent également tenir compte des autres éléments pouvant impacter la résistance. Par exemple, les effets de la condition corporelle et de la nutrition et leurs liens avec la résistance face aux parasites ont été illustrés dans différentes parties de ce manuscrit (Chapitres 2 et 10) et ailleurs (Stien et al.2002, Yoseph et al. 2005, Hakkarainen et al. 2007, Irvine et al. 2006, Body et al. 2011, Cornet et al. 2015, Davidson et al. 2015, Debeffe et al. 2016, Knutie et al. 2017). Ainsi, une mesure de gestion pour lutter contre les infections parasitaires peut être de veiller à la disponibilité en ressources pour les individus (Sayers & Sweeney 2005).

3.2. Perspectives en immunogénétique

L'un des points non abordés dans l'étude de l'immunogénétique chez le mouflon Méditerranéen concerne la diversité génétique aux loci de l'immunité. Plusieurs forces évolutives peuvent interagir et déterminer la diversité génétique (Chapitre 1). Nous avons identifié 3 haplotypes différents dans notre population pour le gène du DRB1. Cette valeur est

relativement faible comparée à ce qui peut être observé dans d'autres taxons (e.g. rongeurs, Galan et al. 2010, chevreuils, Quéméré et al. 2015). Sur les gènes du CMH et notamment le DRB1, on s'attend théoriquement à observer une grande diversité génétique du fait de la sélection conditionnée par les parasites (sélection balancée, voir Chapitres 1 et 2, Piertney & Oliver 2006, Spurgin & Richardson 2010). L'évènement fondateur, en déterminant le nombre d'allèles historiquement introduits dans le massif du CE, et en donnant lieu à une dérive génétique importante, peut avoir joué un rôle dans la détermination de cette variabilité génétique limitée, malgré l'action de la sélection naturelle. C'est par exemple ce qui peut s'être produit dans une population néoformée de chevreuils dans le sud de la France (Quéméré et al. 2015).

Une poursuite intéressante à l'étude menée ici pourrait être de chercher à distinguer quel type de force évolutive (e.g. tests pour détecter l'action de la sélection naturelle, voir Quéméré et al. 2015 pour un exemple) a permis d'aboutir au patron observé au CE. Parallèlement, en comparant la diversité génétique au DRB1 de la population d'étude à d'autres populations, nous pourrions déterminer si la dérive génétique a pris le pas sur la sélection. Enfin, en étudiant le cortège parasitaire et en génotypant des individus des populations sources du CE au gène du DRB1 (e.g. Cadarache, Chambord), nous pourrions voir si les allèles présents dans les différentes populations sont les mêmes et donc si la diversité génétique observée a bien été déterminée par l'histoire de la population, ou bien par des pressions de sélection propres aux conditions que les individus ont rencontré après leur introduction (e.g. différences dans le cortège parasitaire).

Un autre point intéressant à soulever ici est que, dans le présent manuscrit, nous n'avons étudié la résistance face aux parasites que chez les femelles mouflons. Cependant, il pourrait exister des différences de résistance au parasitisme entre les sexes. Notamment, mâles et femelles n'ont pas les mêmes comportements, cela pourrait conduire à des différences de taux de parasitisme en modulant les contacts entre individus et entre hôtes et parasites (Altizer et al. 2011, van Schaik & Kerth 2017). Le développement des caractères sexuels secondaires (en lien avec la testostérone, voir Chapitre 1) pourrait également être à l'origine de différences de résistance entre les sexes. Il serait intéressant de mesurer si à potentiel génétique égal (e.g. individus porteurs des mêmes allèles ou ayant la même hétérozygotie), de telles différences existent entre sexes. Par ailleurs, une autre piste serait de comparer les taux de parasites entre mâles (ou femelles non reproductrices) et femelles reproductrices pendant le printemps. Cela permettrait de déterminer si, pendant le spring-rise et le périparturient-rise (augmentation des taux de strongles digestifs en raison de la sortie

d'hypobiose et de la baisse d'immunité induite par la mise bas qui a lieu au printemps, voir Chapitre 4), les femelles porteuses d'une diversité génétique favorisant la résistance sont toujours avantagées, ou si la baisse d'immunité remet toutes les femelles au même niveau de sensibilité, gommant l'avantage génétique.

4. Perspectives en lien avec la chasse

Lors de la création de ce projet de thèse, l'un des éléments sur lequel nous souhaitions travailler était l'impact de la chasse sélective sur la population de mouflons du CE, notamment en termes de structure génétique, de réceptivité aux agents pathogènes et de transmission de ces derniers. N'ayant pas encore eu l'opportunité de réaliser ces travaux, ils constituent l'une des perspectives de cette thèse. Cette partie a pour but de détailler pourquoi de telles études peuvent être importantes et intéressantes.

4.1. Effets de la chasse sur la résistance face aux parasites

La chasse sélective, qui consiste à prélever des individus ciblés car ils exhibent un trait phénotypique particulier (e.g. chasse aux trophées chez le mouflon, les sangliers, les cerfs), peut avoir d'importantes conséquences pour la dynamique (e.g. Langvatn & Loison 1999, Milner et al. 2007) et l'évolution des populations (Allendorf & Hard 2009, Darimont et al. 2009) et des écosystèmes (Palkovacs et al. 2018). A terme cela peut aboutir à des effondrements de populations, les mettant en danger d'extinction (e.g. antilope saïga, *Saiga tatarica*, Milner-Gulland et al. 2001). Bien que la chasse soit souvent considérée comme une stratégie de contrôle des agents pathogènes, dans certains cas, les prélèvements peuvent favoriser leur prévalence (e.g. Donnelly et al. 2003, Choisy & Rohani 2006). Par exemple, en impactant le comportement des individus, et notamment leurs mouvements (e.g. Bechet et al. 2003, Cleveland et al. 2012, Leclerc et al. 2017), la chasse peut modifier la structure sociale, les flux de gènes, les contacts entre individus et donc la transmission des parasites (Donnelly et al. 2003, Qviller et al. 2016). Par ailleurs, en modifiant la dynamique des populations et les effectifs, la chasse peut également impacter la diversité génétique (Harris et al. 2002, Allendorf et al. 2008, voir Chapitre 1) et donc la résistance face aux parasites.

Un autre mécanisme peut être en lien avec les changements morphologiques que peut induire la chasse dans les populations. Chez l'éléphant, par exemple, la taille des défenses diminue sous la pression du braconnage (Chiyo et al. 2015). Une diminution de la qualité des trophées et de la masse corporelle a également été mise en évidence chez les mouflons Méditerranéens (Garel et al. 2007), de Stone (*Ovis dalli stonei*, Douhard et al. 2016) et

d'Amérique (Coltman et al. 2003b, Pigeon et al. 2016) en réponse à la chasse sélective[38]. Chez les ongulés, les trophées sont des caractères sexuels secondaires (Darwin 1871, Andersson 1994) et sont associés au succès reproducteur (e.g. Coltman et al. 2002, Preston et al. 2003). Cette association peut être due à l'avantage que confèrent les trophées (i) lors de la compétition intra-sexuelle déterminant l'accès à la reproduction, (ii) lors du choix du partenaire par les femelles, les trophées représentant un signal honnête de la qualité des mâles (Vanpé et al. 2007, Malo et al. 2005). En effet, d'après la théorie du handicap (Zahavi 1975, Zahavi & Zahavi 1997, Grafen 1990), les caractères sexuels secondaires étant coûteux à produire et à maintenir, ils renseignent sur la qualité des individus car seuls les individus de bonne qualité sont capables de produire, et de survivre avec ces caractéristiques coûteuses. La théorie de la sélection sexuelle conditionnée par les parasites, une variante de la théorie du handicap (Hamilton & Zuk 1982), prédit quant à elle que les mâles qui ont des gènes associés à une meilleure résistance face aux parasites auront des caractères sexuels secondaires de meilleure qualité : leurs « bons gènes » leur permettant d'être moins parasités et/ou de mieux compenser les infections et donc d'allouer plus d'énergie au développement de ces caractères.

Plusieurs études ont ainsi mis en évidence un lien entre caractères sexuels secondaires et charge parasitaire dans divers taxons (e.g. oiseaux, Costa & Machedo 2005, Dunn et al. 2012, mammifères, Ezenwa & Jolles 2008, insectes, Demuth et al. 2012). Ce lien peut notamment être expliqué par la diversité génétique au CMH. Par exemple, chez le cerf de virginie, Ditchkoff et al. (2001) ont montré que l'exon 2 du DRB était lié au développement des bois et que le développement des bois était négativement corrélé avec l'abondance en nématodes gastro-intestinaux. Par la suite, Ditchkoff et al. (2005) ont mis en évidence que le DRB était également lié à la résistance face aux parasites, les individus porteurs d'allèles issus de lignées phylogénétiques différentes ayant les scores de trophées les plus élevés et étant moins parasités que d'autres. Chez le bouquetin des Alpes (*Capra ibex*), Von Hardenberg et al. (2007) et Brambilla et al. (2015) ont mis en évidence que la relation entre croissance des cornes et hétérozygotie était expliquée par la charge parasitaire. Une explication à cette relation peut être que les individus ayant une hétérozygotie faible présentent une charge parasitaire plus importante, et ne peuvent pas investir autant d'énergie dans la croissance des caractères sexuels secondaires que les individus plus hétérozygotes. Ainsi, si le développement des trophées est lié à des gènes de résistance face aux pathogènes, et que la

[38] Il faut noter ici que les effets de la chasse sur les caractéristiques morphologiques sont modulés par différents éléments tels que l'intensité de la pression de chasse (e.g. Douhard et al. 2016) ou encore la méthode de chasse (e.g. Martinez et al. 2005). D'autres éléments peuvent également impacter la qualité des trophées comme l'environnement dans lequel évoluent les individus ou encore la densité des populations (e.g. Mysterud et al. 2005, Schmidt et al. 2007, Garel et al. 2007, Pigeon et al. 2016, Festa-Bianchet 2017, Douhard et al. 2017, Monteith et al. 2018)

chasse contre-sélectionne les trophées bien développés dans les populations, alors la chasse peut contre-sélectionner la résistance face aux parasites en éliminant les allèles concernés.

Chez le mouflon Méditerranéen, la chasse est connue comme ayant des conséquences phénotypiques (condition corporelle et trophées, Garel et al. 2007) et comportementales (augmentation de la vigilance, Benoist et al. 2013, rythme d'activité Marchand et al. 2014b). Nous avons également mis en évidence que la résistance face aux strongles intestinaux était liée à la diversité génétique neutre et au DRB1 chez les femelles (Article 3). Nous n'avons pas pu réaliser cette étude chez les mâles en raison d'un manque de données. Une poursuite intéressante serait donc d'obtenir des données supplémentaires pour les mâles afin de voir si, comme chez les femelles, la résistance est liée à la diversité génétique, et si elle est aussi liée à la qualité des trophées. Si tel était le cas, alors l'une des conséquences possibles de la chasse pourrait être de contre-sélectionner la résistance face aux parasites dans la population.

4.2. Effets de la chasse sur la structure génétique

En plus des effets potentiels sur la résistance face aux parasites, la chasse pourrait avoir des conséquences sur la structure génétique de la population de mouflons du CE. En impactant la sélection d'habitat (Marchand et al. 2015b) qui détermine les flux de gènes (Article 1), la chasse peut impacter la structure génétique. Par ailleurs, le dérangement induit par les chasseurs (chasse des mouflons, mais aussi des sangliers) peut modifier les mouvements des individus (voir ci-dessus). Bien qu'actuellement les flux de gènes assurés par les mâles ne semblent pas être restreints (Articles 1 et 2), si la pression de chasse était modifiée, cela pourrait impacter la structure génétique (Harris et al. 2002). Enfin, dans les parties précédentes nous avons abordé la notion de coûts des déplacements dans la matrice paysagère. Nous n'avons pas mis en évidence d'effet des différentes structures paysagères testées sur les flux de gènes chez les mâles (Article 2). Cependant, nous n'avons pas pris en compte le coût supplémentaire que peut représenter la chasse lors de la dispersion (e.g. Devillard & Bray 2009) dans nos modèles. Par exemple, la pression de capture imposée aux fouines (*Martes foina*) est l'un des éléments déterminant les flux de gènes chez les mâles, en plus du paysage (Larroque et al. 2016b).

Dans le CE, bien que le plan de chasse soit équilibré entre les sexes (Chapitre 5), les méthodes de chasse diffèrent (battues pour les femelles, approche pour les mâles, Garel et al. 2005b, 2007) et les pressions de chasse différentes sur les deux sexes ont été envisagées comme responsables des différences comportementales observées dans cette population (Benoist et al. 2013, Marchand et al. 2014b, 2015b). Il est donc envisageable que la chasse ait

un effet plus fort que celui du paysage chez les mâles. Nous pourrions envisager d'appliquer une approche similaire à celle déployée dans Larroque et al. (2016b) et extrapoler, à partir des localisations des individus abattus à la chasse, une valeur de coût liée à la chasse pour chaque pixel d'une carte de résistance. En suivant la procédure appliquée jusqu'ici en génétique du paysage, nous pourrions déterminer si la chasse impacte ou non les flux de gènes des individus dans le massif du CE. Afin de mettre en place ce type d'approche, il faudrait disposer de plus de données pour les mâles (e.g. utilisation des données acquises par les chasseurs) afin de ne pas rencontrer de problèmes de puissance statistique (voir Article 2).

BIBLIOGRAPHIE

Abrahms B, Sawyer SC, Jordan NR, McNutt JW, Wilson AM, Brashares JS (2017) Does wildlife resource selection accurately inform corridor conservation? J Appl Ecol 54:412–422

Acevedo-Whitehouse K, Gulland FMD, Bowen L (2018) MHC class II DRB diversity predicts antigen recognition and is associated with disease severity in California sea lions naturally infected with Leptospira interrogans. Infect Genet Evol 57:158–165.

Acevedo-Whitehouse K, Vicente J, Gortazar C, Hofle U, Fernandez-de-Mera IG, Amos W (2005) Genetic resistance to bovine tuberculosis in the Iberian wild boar. Mol Ecol 14:3209–3217.

Adriensen F, Chardon JP, De Blust G, Swnnen E, Villalba S, Gulinck H, Matthysen E (2003) The application of 'least-cost' modelling as a functional landscape model. Landscape and Urban Planning 64 : 233–247.

Ahmad TA, El-Sayed BA, El-Sayed LH (2016) Development of immunization trials against *Eimeria* spp. Trials in Vaccinology 5 : 38–47.

Aleuy OA, Ruckstuhl K, Hoberg EP, et al (2018) Diversity of gastrointestinal helminths in Dall's sheep and the negative association of the abomasal nematode, *Marshallagia marshalli*, with fitness indicators. PLoS One 13:1–21. doi: 10.1371/journal.pone.0192825

Alim MA, Fu Y, Wu Z, Zhao S, Cao J (2016) Single Nucleotide Polymorphisms of Toll-Like Receptors and Association with *Haemonchus contortus* Infection in Goats . Pakistan Veterinary Journal 36 : 286–291.

Allendorf F, Hard JJ (2009) Human-induced evolution caused by unnatural selection through harvest of wild animals. PNAS 106 : 9987–9994.

Allendorf FW, England PR, Luikart G, Ritchie PA, Ryman N (2008) Genetic effects of harvest on wild animal populations. Trends in Ecology and Evolution 23 : 327-337.

Allendorf FW, Luikart G, Aitken SN (2013) Conservation and genetics of populations. Second Edition. Wiley Blackwell, Sussex, UK.

Altizer S, Bartel R, Han B (2011) Animal migration and infectious disease risk. Science 331 : 296-302.

Altizer S, Dobson A, Hosseini P, Hudson P, Pascual M, Rohani P (2006) Seasonality and the dynamics of infectious diseases. Ecology Letters 9 : 467–484.

Altizer S, Nunn CL, Thrall PH, Gittleman JL, Antonovics J, Cunnigham AA, Dobson AP, Ezenwa V, Jones KE, Pedersen AB, Poss M, Pulliam JRC (2003) Social organization and parasite risk in mammals: integrating theory and empirical studies. Annu Rev Ecol Evol Syst 34 : 517–547.

Anciaux MR, Libois RM (1991) Le mouflon (*Ovis ammon*). Cahiers d'Ethologie 11 : 91–102.

Anderson CD, Epperson BK, Fortin MJ, Holderegger R, James PMA, Rosenberg MS, Scribner KT, Spear S (2010) Considering spatial and temporal scale in landscape-genetic studies of gene flow. Molecular Ecology 19 : 3565–3575.

Anderson RM, May RM (1978) Regulation and stability of host-parasite population interactions: I. regulatory processes. Journal of Animal Ecology 47 : 219-247.

Anderson RM, May RM (1979) Population biology of infectious diseases: Part I. Nature 280: 361-367.

Andersson MB (1994) Sexual selection. Princeton University Press, Princeton, NJ.

Angelone S, Kienast F, Holderegger R (2011) Where movement happens: scale-dependent landscape effects on genetic differentiation in the European tree frog. Ecography 34 : 714-722.

Anholt BR, Werner EE (1995) Interaction between food availability and predation mortality mediated by adaptive behavior. Ecology 7 6: 2230–2234.

Archie EA, Luikart G, Ezenwa VO (2009) Infecting epidemiology with genetics: a new frontier in disease ecology. Trends in Ecology and Evolution 24 : 21-30.

Archie EA, Maldonado JE, Hollister-Smith JA, Poole JH, Moss CJ, Fleischer RC, Alberts SC (2008) Fine-scale population genetic structure in a fission-fusion society. Molecular Ecology 17 : 2666–2679.

Archie EA, Ezenwa VO (2011) Population genetic structure and history of a generalist parasite infecting multiple sympatric host species. International Journal for Parasitology 41 : 89–98.

Arct A, Sudyka J, Podmokła E, et al (2017) Heterozygosity–fitness correlations in blue tit nestlings (*Cyanistis caeruleus*) under contrasting rearing conditions. Evol Ecol 31:803–814. doi: 10.1007/s10682-017-9911-6

Arevalo, E. et al., 1994. Caprine microsatellite dinucleotide repeat polymorphisms at the SR-CRSP-1, SR-CRSP-2, SR-CRSP-3, SR-CRSP-4 and SR-CRSP-5 loci. Animal genetics, 25(3), p.202.

Armstrong, D.P. & Seddon, P.J., 2008. Directions in reintroduction biology. Trends in Ecology and Evolution, 23(1), pp.20–25.

Arneberg P, Folstad I, Karter AJ (1996) Gastrointestinal nematodes depress food intake in naturally infected reindeer. Parasitology 112 : 213–219.

Arneberg P, Skorping A, Grenfell B, Read AF (1998) Host densities as determinants of abundance in parasite communities. Proc R Soc Lond B 265 : 1283-1289.

Atalay D, Schausberger P (2018) Balancing in- and out-breeding by the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. Exp Appl Acarol 74:159–169. doi: 10.1007/s10493-018-0225-3

Atkinson CT, Lapointe DA (2009) Introduced avian diseases, climate change, and the future of hawaiian honeycreepers. Journal of Avian Medicine and Surgery 23 : 53–63.

Aurelle D, Ledoux JB (2013) Interplay between isolation by distance and genetic clusters in the red coral *Corallium rubrum*: insights from simulated and empirical data. Conserv Genet 14 : 705–716.

Baguette M, Van Dyck H (2007) Landscape connectivity and animal behavior: Functional grain as a key determinant for dispersal. Landsc Ecol 22:1117–1129

Balic A, Bowles VM, Meeusen ENT (2000) The immunology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. Adv Parasitol 45 : 181-241.

Balkenhol N, Cushman SA, Storfer AT, Waits LP (2016) Landscape genetics: Concepts, Methods, Applications. Wiley-Blackwell, West Sussex, UK

Balkenhol N, Holbrook JD, Onorato D, Zager P, White C, Waits LP (2014) A multi-method approach for analyzing hierarchical genetic structures: a case study with cougars *Puma concolor*. Ecography 37: 552–563.

Balkenhol N, Waits LP, Dezzani J (2009) Statistical approaches in landscape genetics: an evaluation of methods for linking landscape and genetic data. Ecography 32 : 818-830.

Barbanera, F., Forcina, G., Cappello, A., Guerrini, M., van Grouw, H., & Aebischer, N. J., 2015, Introductions over introductions: the genomic adulteration of an early genetically valuable alien species in the United Kingdom. Biological Invasions, 17, pp. 409–422.

Barbraud C, Johnson AR, Bertault G (2003) Phenotypic correlates of post-fledging dispersal in a population of greater flamingos: the importance of body condition. J Anim Ecol 72 : 246-257.

Barrett LG, Thrall PH, Burdon JJ, Linde CC (2008) Life history determines genetic structure and evolutionary potential of host–parasite interactions. Trends Ecol Evol 23 : 678-685.

Barros T, Cushman SA, Carvalho J, Fonseca C (2016) Mediterranean scrubland and elevation drive gene flow of a Mediterranean carnivore, the Egyptian mongoose *Herpestes ichneumon* (*Herpestidae*). Biol J Linn Soc. 120:195-209

Barth SA, Blome S, Cornelis D, Pietschmann J, Laval M, Maestrini O, Geue L, Charrier F, Etter E, Menge C, Beer M, Jori F (2018) Faecal Escherichia coli as biological indicator of spatial interaction between domestic pigs and wild boar (*Sus scrofa*) in Corsica. Transbound Emerg Dis 65 : 746-757.

Barton K (2016). MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.15.6. https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn

Bartzke GS, May R, Solberg EJ, Rolandsen CM, Røskaft E (2015) Differential barrier and corridor effects of power lines, roads and rivers on moose (*Alces alces*) movements. Ecosphere 6:art67

Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting linear mixed-effects models using lme4. J Stat Softw 67: 1–48. doi: 10.18637/jss.v067.i01

Bateson P (1983) Optimal outbreeding. In P. Bateson (ed) Mate choice. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, pp 257–277

Bateson ZW, Hammerly SC, Johnson JA, et al (2016) Specific alleles at immune genes, rather than genome-wide heterozygosity, are related to immunity and survival in the critically endangered Attwater's prairie-chicken. Mol Ecol 25:4730–4744. doi: 10.1111/mec.13793

Batson, W.G. Gordon, I. J., Fletcher, D. B., & Manning, A. D., 2015. Translocation tactics: A framework to support the IUCN Guidelines for wildlife translocations and improve the quality of applied methods. Journal of Applied Ecology, 52(6), pp.1598–1607.

Battistella G (2016) Rôle des facteurs phénotypiques, environnementaux et maternels sur la dispersion post-natale du mouflon méditerranéen. Rapport de stage Master 1 : Ingénierie en Ecologie et Gestion de la Biodiversité. Université de Montpellier, Montpellier, France.

Baudière A (1962) Le Parc National du Caroux – Essai de synthèse climatique. de la Société Languedocienne de Géographie, 33 : 169–186. Bulletin de la Société Languedocienne de Géographie, 33 : 169–186.

Baudière A (1970) Recherches phytogéographiques sur la bordure méridionale du Massif Central français (Les Monts de l'Espinouse). Thèse de doctorat, Université de Montpellier, France.

Bechet A, Giroux JF, Gauthier G, Nichols JD, Hines JE (2003) Spring hunting changes the regional movements of migrating greater snow geese. Journal of Applied Ecology 40 : 553–564.

Bedhomme S, Agnew P, Sidobre C, Michalakis Y (2004) Virulence reaction norms across a food gradient. Proc R Soc Lond B 271 : 739-744.

Beldomenico PM, Begon M (2010) Disease spread, susceptibility and infection intensity: vicious circles? Trends in Ecology & Evolution 25 : 21-27.

Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N. & Bonhomme F. 1996-2004 GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier (France).

Benavides MV, Sonstegard TS, Van Tassell C (2016) Genomic regions associated with sheep resistance to gastrointestinal nematodes. Trends Parasitol 32:470–480.

Bender DJ, Contreras TA, Fahrig L (1998) Habitat loss and population decline: a meta-analysis of the patch size effect. Ecology 79 : 517–33.

Benhaeim S, Delon M, Lourtet B, Cargnelutti B, Aulagnier S, Hewison AJM, Morellet N, Verdheyden H (2008) Hunting increases vigilance levels in roe deer and modifies feeding site selection. Animal Behaviour 76 : 611e618.

Benoist S, Garel M, Cugnasse JM, Blanchard P (2013) Human disturbances, habitat characteristics and social environment generate sex-specific responses in vigilance of mediterranean mouflon. PLoS ONE 8 : e82960.

Beraldi D, McRae AF, Gratten J, Pilkington JG, Slate J, Visscher PM, Pemberton J (2007) Quantitative trait loci (QTL) mapping of resistance to strongyles and coccidia in the free-living Soay sheep (*Ovis aries*). Int J Parasitol 37:121–129.

Bernatchez L, Landry C (2003) MHC studies in nonmodel vertebrates: What have we learned about natural selection in 15 years? J Evol Biol 16:363–377. doi: 10.1046/j.1420-9101.2003.00531.x

Bertolino S, Di Montezemolo NC, Bassano B (2009) Food-niche relationships within a guild of alpine ungulates including an introduced species. J Zool 277:63–69

Bertolino S, Wauters LA, De Bruyn L, Canestri-Trotti G (2003) Prevalence of coccidia parasites (*Protozoa*) in red squirrels (*Sciurus vulgaris*): Effects of host phenotype and environmental factors. Oecologia 137:286–295. doi: 10.1007/s00442-003-1345-x

Beugin MP, Gayet T, Pontier D, Devillard S, Jombart T (2018) A fast likelihood solution to the genetic clustering problem. Methods Ecol Evol 9 : 1006–1016.

Beyer HL, Gurarie E, Borger L, Panzacchi M, Basille M, Herfindal I, Van Moorter B, R. Lele S, Matthiopoulos J (2016) ‘‘You shall not pass!’’: quantifying barrier permeability and proximity avoidance by animals. J Anim Ecol 85 : 43–53.

Bhebhe, E. et al., 1994. Caprine microsatellite dinucleotide repeat polymorphisms at the SR-CRSP-6, SR-CRSP-7, SR-CRSP-8, SR-CRSP-9 and SR-CRSP-10 loci. Animal genetics, 25, p.203.

Bichet C, Sauzet S, Averty L, Dupont P, Ferrandiz-Rovira M, Ferrari C, Figueroa I, Tafani M, Rézouki C, Lopez BC, Cohas A (2016) Multiple geographic origins and high genetic differentiation of the Alpine marmots reintroduced in the Pyrenees. Conserv genet 17 : 1157–1169.

Biebach I, Keller L (2009) A strong genetic footprint of the re-introduction history of Alpine ibex (*Capra ibex ibex*). Molecular Ecology 18 : 5046–5058.

Biebach I, Keller L (2012) Genetic variation depends more on admixture than number of founders in reintroduced Alpine ibex populations. Biol Cons 147 : 197-203.

Biek R, Real LA (2010) The landscape genetics of infectious disease emergence and spread. Mol Ecol 19 : 3515-3531.

Bishop SC (2012) Possibilities to breed for resistance to nematode parasite infections in small ruminants in tropical production systems. Animal 6:741–747. doi: 10.1017/S1751731111000681

Bishop SC, Stear MJ (2003) Modeling of host genetics and resistance to infectious diseases: Understanding and controlling nematode infections. Vet Parasitol 115:147–166. doi: 10.1016/S0304-4017(03)00204-8

Bishop, M.D. et al., 1994. A genetic linkage map for cattle. Genetics, 136(2), pp.619–639.

Blair C, Weigel DE, Balazik M, Keeley AT, Walker FM, Landguth E, Cushman S, Murphy M, Waits L, Balkenhol N (2012) A simulation-based evaluation of methods for inferring linear barriers to gene flow. Molecular Ecology Resources 12 : 822-833.

Blanchet S, Rey O, Berthier P, et al (2009) Evidence of parasite-mediated disruptive selection on genetic diversity in a wild fish population. Mol Ecol 18:1112–1123. doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04099.x

Blanchong JA, Samuel MD, Scribner KT, Weckworth BV, Langenberg JA, Filcek KB (2008) Landscape genetics and the spatial distribution of chronic wasting disease. Biol Lett 4 : 130–133.

Blazquez-Cabrera S, Gastón A, Beier P, Garrote G, Simón MÁ, Saura S (2016) Influence of separating home range and dispersal movements on characterizing corridors and effective distances. Landsc Ecol 31:2355–2366

Bocci A, Aiello V, Lovari S (2013) Excursion behaviour of female roe deer may depend on density. Behavioural Processes 97 : 18– 20.

Body G, Ferté H, Gaillard JM, et al (2011) Population density and phenotypic attributes influence the level of nematode parasitism in roe deer. Oecologia 167:635–646.

Bohn SJ, Webber QMR, Florko KR, Paslawski KR, Peterson AM, Piche JE, Menzies AK, Willis CKR (2017) Personality predicts ectoparasite abundance in an asocial sciurid. Ethology 123 : 761–771.

Bon R, Campan R (1989) Social tendencies of the Corsican Mouflon *Ovis ammon musimon* in the caroux-espinouse massif (South of France). Behav Processes 19:57–78

Bon R, Dardaillon M, Estevez I (1993b) Mating and lambing periods as related to age of female mouflon. Journal of Mammalogy 74 : 752–757.

Bon R, Dubois M, Maublanc ML (1993a), Does age influence between-rams companionship in mouflon (*Ovis gmelini*) ? Revue d'Écologie 48 : 57–64.

Bon R, Gonzalez G, Bosch MD, Cugnasse JM (1992) Ram rut-involvement in a hunted population of mouflons. Acta Theriol 37:63–71

Bon R, Gonzalez G, Im S, Badia J (1990) Seasonal grouping in female moufflons in relation to food availability. Ethology 86 : 224-236.

Bon R, Joachim J, Maublanc M (1995b), Do lambs affect feeding habitat use by lactating female mouflons in spring in areas free of predators ? Journal of Zoology, 235 : 43–51.

Bon R, Recarte JM, Gonzalez G, Cugnasse JM (1995a) Courtship and behavioral maturation of male mouflons. Acta Theriologica, 40 : 283–294.

Bonferroni CE (1936) Teoria statistica delle classi e calcolo delle probabilità. Pubblicazioni del R Istituto Superiore di Scienze Economiche e Commerciali di Firenze 8 : 3–62.

Bonneaud C, Perez-Tris J, Federici P, Chastel O, Sorci G (2006b) Major histocompatibility alleles associated with local resistance to malaria in a passerine. Evolution 60 : 383-389.

Bonnot N, Gaillard J-M, Coulon A, Galan M, Cosson J-F, Delorme D, Klein F, Hewison AJM (2010) No Difference between the sexes in fine-scale spatial genetic structure of Roe deer. PLoS ONE 5(12): e14436.

Bourgoin G, Garel M, Blanchard P, Dubray D, Maillard D, Gaillard JM (2011), Daily responses of mouflon activity to summer climatic conditions. Canadian Journal of Zoology, 89 : 765–773.

Bourgoin G, Garel M, Van Moorter B, Dubray D, Maillard D, Marty E, Gaillard JM (2008), Determinants of seasonal variation in activity patterns of mouflon. Canadian Journal of Zoology, 86 : 1410–1418.

Bourgoin G, Marchand P, Hewison AJM, Ruckstuhl KE, Garel M (2018) Social behaviour as a predominant driver of sexual, age-dependent and reproductive segregation in Mediterranean mouflon. Anim Behav, 136: 87–100.

Bourgoin G, Portanier E, Cockenpot A, Poirel MT, Itty C, Benabed S, Callait-Cardinal MP, Garel M (in prep) Gastro-intestinal parasitism in mouflon (*Ovis gmelini musimon* x *Ovis* sp.) in France.

Bousquel V (1999) Analyse historique de l'évolution de la végétation sur le massif du Caroux-Espinouse. Rapport Life "Gestion conservatoire des pelouses et landes en région méditerranéenne". 53p. + annexes.

Boussès P, Réale D (1998), Biology of twinning and origin of an unusually high twinning rate in an insular mouflon population. Zeitschrift für Säugetierkunde, 63 : 147–153.

Boyce WM, Ramey RR, Rodwell TC, Rubin ES, Singer RS (1999) Population subdivision among desert bighorn sheep (*Ovis canadensis*) ewes revealed by mitochondrial DNA analysis. Molecular Ecology 8 : 99–106.

Boyce WM, Weisenberger ME, Penedo MCT, Johnson CK (2011) Wildlife translocation: The conservation implications of pathogen exposure and genetic heterozygosity. BMC Ecol 11:5–11. doi: 10.1186/1472-6785-11-5

Boyce, W.M., Ramey, R. R., Rodwell, T. C., Rubin, E. S., & Singer, R. S., (1999). Population subdivision among desert bighorn sheep (*Ovis canadensis*) ewes revealed by mitochondrial DNA analysis. Molecular Ecology, 8, pp.99–106.

Boyer JP, Canac-Marquis P, Guérin D, Mainguy J, Pelletier F (2011) Oral vaccination against raccoon rabies: landscape heterogeneity and timing of distribution influence wildlife contact rates with the onrab vaccine bait. Journal of Wildlife Diseases 47 : 593–602.

Brambilla A, Biebach Iris, Bassano B, Bogliani G, von Hardenberg A (2015) Direct and indirect causal effects of heterozygosity on fitness-related traits in Alpine ibex. Proc R Soc B Biol Sci 282 : 20141873.

Breed MD & Moore J (2015) Chapter 1 - Of Cockroaches and Wolves: Framing Animal Behavior in Animal Behavior (Second Edition). Academic Press.

Breheny P, Burchett W (2017) Visualization of regression models using visreg. The R Journal, 9: 56–71.

Breyne P, Mergeay J, Casaer J (2014) Roe deer population structure in a highly fragmented landscape. Eur J Wildl Res 60:909–917

Brown EA, Pilkington JG, Nussey DH, Watt KA, Hayward AD, Tucker A, Graham AL, Paterson S, Beraldi D, Pemberton JM, Slate J (2013) Detecting genes for variation in parasite burden and immunological traits in a wild population: testing the candidate gene approach. Mol Ecol 22:757–773. doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.05757.x

Bruggeman JE, Garrott RA, Bjornlie D, White PJ, Watson FGR, Borkowski JJ (2006) Temporal variability in winter travel patterns of Yellowstone bison: the effects of road grooming. Ecol Appl 16:1539–1554

Bruggeman JE, Garrott RA, White PJ, Watson FGR, Wallen R (2007) Covariates affecting spatial variability in bison travel behavior in Yellowstone National Park. Ecol Appl 17:1411–1423

Buchalski MR, Navarro AY, Boyce WM, Vickers TW, Tobler MW, Nordstrom LA, García JA, Gille DA, Penedo MCT, Ryder OA, Ernest HB (2015) Genetic population structure of Peninsular bighorn sheep (*Ovis canadensis nelsoni*) indicates substantial gene flow across US–Mexico border. Biological Conservation 184 : 218–228.

Buchanan, F.C. & Crawford, A.M., 1992. Ovine dinucleotide repeat polymorphism at the MAF70 locus. Animal Genetics, 23, p.185.

Buchanan, F.C. & Crawford, A.M., 1993. Ovine microsatellites at the OarFCB11, OarFCBl28,OarFCB193,OarFCB266 and OarFCB304 loci. Animal Genetics, 24(2), p.145.

Buchanan, F.C., Galloway, S.M. & Crawford, A.M., 1994. Ovine microsatellites at the OarFCB5 , OarFCB19,OarFCB20,OarFCB48,OarFCB129 and OarFCB226 loci. Animal genetics, 25, p.60.

Buczek M, Okarma H, Demiaszkiewicz AW, Radwan J (2016) MHC, parasites and antler development in red deer: No support for the Hamilton & Zuk hypothesis. J Evol Biol 29:617–632. doi: 10.1111/jeb.12811

Buitkamp J, Filmether P, Stear MJ, Epplen JT (1996) Class I and class II major histocompatibility complex alleles are associated with faecal egg counts following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. Parasitol Res 82 : 693-696.

Bull RAS, Cushman SA, Mace R, Chilton T, Kendall KC (2011) Why replication is important in landscape genetics: American black bear in the Rocky Mountains. Mol Ecol 20:1092–1107

Burdick RK, Quiroz J, Iyer HK (2006) The present status of confidence interval estimation for one-factor random models. J Stat Plan Inference 136:4307–4325. doi: 10.1016/j.jspi.2005.07.004

Cahn ML, Conner MM, Schmitz OJ, et al (2011) Disease, population viability, and recovery of endangered Sierra Nevada bighorn sheep. J Wildl Manage 75:1753–1766. doi: 10.1002/jwmg.232

Cahn ML, Conner MM, Schmitz OJ, Stephenson TR, Wehausen JD, Johnson HE (2011) Disease, population viability, and recovery of endangered Sierra Nevada bighorn sheep. The Journal of Wildlife Management 75: 1753-1766.

Calenge, C., 2006. The package “adehabitat” for the R software: A tool for the analysis of space and habitat use by animals. Ecological Modelling, 197(3–4), pp.516–519.

Calvete C (2006) The use of immunization programs in wild populations: Modelling effectiveness of vaccination campaigns against rabbit hemorrhagic disease. Biological conservation 130 : 290-300.

Carmo AM, Vicentini MA, Dias AT, et al (2009) Increased susceptibility to *Strongyloides venezuelensis* in mice due to *Mycobacterium bovis* co-infection which modulates production of Th2 cytokines. Parasitology 136:1357–1365. doi: 10.1017/S0031182009990655

Cassinello J, Gomendio M, Roldan ERS (2001) Relationship between coefficient of inbreeding and parasite burden in endangered gazelles. Conserv Biol 15:1171–1174. doi: 10.1046/j.1523-1739.2001.0150041171.x

Cassirer EF, Manlove KR, Almberg ES, Kamath PL, Cox M, Wolff P, Roug A, Shannon J , Robinson R, Harris RB, Gonzales BJ, Plowright RK, Hudson PJ, Cross PC, Dobson A, Besser TE (2018) Pneumonia in bighorn sheep: Risk and resilience. Jour Wild Mgmt 82 : 32-45.

Catchpole CK (2000) Sexual Selection and the Evolution of Song and Brain Structure in Acrocephalus Warblers. Advance in the Study of Behavior 29 : 45-97.

Cattadori I, Boag B, Bjornstad O, Cornell S, Hudson P (2005) Peak shift and epidemiology in a seasonal host-nematode system. Proc R Soc Lond B 272 : 1163–1169.

Catusse M, Corti R, Cugnasse JM, Dubray D, Gibert P, Michallet J (1996) La grande faune de montagne. Hatier Littérature générale.

Cazau M, Garel M, Maillard D (2011) Responses of heather moorland and Mediterranean mouflon foraging to prescribed-burning and cutting. J Wildl Manage 75:967–972

Cazau M, Garel M, Maillard D (2011), Responses of heather moorland and Mediterranean mouflon foraging to prescribed-burning and cutting. The Journal of Wildlife Management 75 : 967–972.

Chandra RK (1996) Nutrition, immunity and infection: From basic knowledge of dietary manipulation of immune responses to practical application of ameliorating suffering and improving survival. Proc Natl Acad Sci 93 : 14304–14307.

Chapman JR, Nakagawa S, Coltman DW, et al (2009) A quantitative review of heterozygosity-fitness correlations in animal populations. Mol Ecol 18:2746–2765. doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04247.x

Chapuis JL, Boussès P, Barnaud G (1994) Alien mammals, impact and management in the French subantarctic islands. Biol Conserv 67:97–104

Chapuis MP, Estoup A (2007) Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. Mol Biol Evol 24 : 621–631.

Charlier J, Morgan ER, Rinaldi L, et al (2014) Practices to optimise gastrointestinal nematode control on sheep, goat and cattle farms in Europe using targeted (selective) treatments. Vet Rec 175:250–255. doi: 10.1136/vr.102512

Charpentier MJE, Williams CV, Drea CM (2008) Inbreeding depression in ring-tailed lemurs (*Lemur catta*): genetic diversity predicts parasitism, immunocompetence, and survivorship. Conserv Genet 9 : 1605–1615.

Chartier C, Paraud C (2012) Coccidiosis due to *Eimeria* in sheep and goats, a review. Small Rumin Res 103 : 84–92.

Chen HL, Koprowski JL (2016) Barrier effects of roads on an endangered forest obligate: influences of traffic, road edges, and gaps. Biol Conserv 199:33–40

Chessa B, Pereira F, Arnaud F, et al. (2009) Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations. Science 324 : 532-536.

Chesser RK (1991) Gene diversity and female philopatry. Genetics 127 : 437-447.

Cheynel L, Lemaître JF, Gaillard JM, Rey B, Bourgoin G, Ferté H, Jégo M, Débias F, Pellerin M, Jacob L, Gilot-Fromont E (2017) Immunosenescence patterns differ between populations but not between sexes in a long-lived mammal. Sci Rep 7:13700.

Chiyo PI, Obanda V, Korir DK (2015) Illegal tusk harvest and the decline of tusk size in the African elephant. Ecology and Evolution 5 : 5216–5229.

Choisy M, Rohani P (2006) Harvesting can increase severity of wildlife disease epidemics. Proc R Soc B 273 : 2025–2034.

Ciuti S, Northrup JM, Muhly TB, Simi S, Musiani M, Pitt JA, Boyce MS (2012) Effects of humans on behaviour of wildlife exceed those of natural predators in a landscape of fear. PLoS One 7:e50611

Ciuti S, Pipia A, Grignolio S, Ghiandai F, Apollonio M (2009) Space use, habitat selection and activity patterns of female sardinian mouflon (*Ovis orientalis musimon*) during the lambing season. Eur J Wildl Res 55:589–595

Cizauskas CA, Turner WC, Wagner B, et al (2014) Gastrointestinal helminths may affect host susceptibility to anthrax through seasonal immune trade-offs. BMC Ecol 14:1–15.

Clarke RT, Rothery P, Raybould AF (2002) Confidence limits for regression relationships between distance matrices: estimating gene flow with distance. Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics 7 : 361–372.

Cleveland SM, Hebblewhite M, Thompson M, Henderson R (2012) Linking elk movement and resource selection to hunting pressure in a heterogeneous landscape. Wildlife Society Bulletin 36 : 658—668.

Clutton-Brock TH, Lukas D (2012) The evolution of social philopatry and dispersal in female mammals. Mol Ecol 21:472–492

Cockenpot A (2013) Etude des facteurs de variation de l'excretion parasitaire mesuree par analyse coproscopique chez le mouflon Mediterraneen (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.) dans le massif du Caroux-Espinouse. Veterinary dissertation, VetAgro Sup, Campus veterinaire de Lyon, Université de Lyon, France.

Cody ML (1966) A general theory of clutch size. Evolution 20 : 174-184.

Colditz IG (2008) Six costs of immunity to gastrointestinal nematode infections. Parasite Immunol 30:63–70. doi: 10.1111/j.1365-3024.2007.00964.x

Coltman D, Slate J (2003) Microsatellite measures of inbreeding: a meta-analysis. Evolution 57 : 971–983.

Coltman DW, Bowen WD, Wright JM (1998) Birth weight and neonatal survival of harbour seal pups are positively correlated with genetic variation measured by microsatellites. Proc R Soc Lond B 265 : 803-809.

Coltman DW, Festa-Bianchet M, Jorgenson JT, Strobeck C (2002) Age-dependent sexual selection in bighorn rams. Proc R Soc B 269 : 165–172.

Coltman DW, O'Donoghue P, Jorgenson JT, Hogg JT, Strobeck C, Festa-Bianchet M (2003b) Undesirable evolutionary consequences of trophy hunting. Nature 426 : 655–658.

Coltman DW, Pilkington JG, Pemberton M (2003a) Fine-scale genetic structure in a free-living ungulate. Population. Molecular Ecology 12 : 733–742.

Coltman DW, Pilkington JG, Smith JA, Pemberton JM (1999) Parasite-mediated selection against inbred Soay sheep in a free-living, island population. Evolution 53:1259–1267.

Coltman DW, Wilson K, Pilkington JG, Stear MJ, Pemberton JM (2001) A microsatellite polymorphism in the gamma interferon gene is associated with resistance to gastrointestinal nematodes in a naturally-parasitized population of Soay sheep. Parasitology 122:571–582.

Colson KA, Brinkman TJ, Person DK, Hundertmark KJ (2013) Fine-scale social and spatial genetic structure in Sitka black-tailed deer. Conserv Genet 14 : 439–449.

Combes C (1995) Interactions Durables. Ecologie et Evolution du Parasitisme. Masson, Paris.

Combes C (2001) L'art d'être parasite. Les associations du vivant. Flammarion, Paris.

Conet S, Bichet C, Lacombe S, Faivre B, Sorci G (2014) Impact of host nutritional status on infection dynamics and parasite virulence in a bird-malaria system. Journal of Animal Ecology 83 : 256–265.

Conner MM, Miller MW (2004) Movement patterns and spatial epidemiology of a prion disease in mule deer population units. Ecol Appl 14:1870–1881

Cooper J, Gordon IJ, Pike AW (2000) Strategies for the avoidance of faeces by grazing sheep. Applied Animal Behaviour Science 69 : 15-33.

Cornet S ,Bichet C, Larcombe S, Faivre B, Sorci G (2015) Impact of host nutritional status on infection dynamics and parasite virulence in a bird-malaria system.

Cornuet, J.M. & Luikart, G., 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. Genetics, 144, pp.2001–2014.

Corti R, Cugnasse JM, Dubray D (1994), Le Mouflon méditerranéen (populations continentales) (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.). Rapport technique, Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage.

Corti R, Réseau Ongulés Sauvages – ONCFS, Fédération Nationale des Chasseurs (2011) Inventaire des populations françaises d'ongulés de montagne – Mise à jour 2011. ONCFS.

Costa FJV, Machedo RH (2005) Coccidian oocyst parasitism in the blue-black grassquit: influence on secondary sex ornaments and body condition. Animal Behaviour 70 : 1401-1409.

Côté SD, Stien A, Irvine RJ, et al (2005) Resistance to abomasal nematodes and individual genetic variability in reindeer. Mol Ecol 14:4159–4168. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02733.x

Coulon A, Cosson JF, Angibault JM, Cargnelutti B, Galan M, Morellet N, Petit E, Aulagnier S, Hewisson AJM (2004) Landscape connectivity influences gene flow in a roe deer population inhabiting a fragmented landscape: an individual–based approach. Mol Ecol 13: 2841–2850

Coulon A, Guillot G, Cosson JF, Angibault MA, Aulagnier S, Cargnelutti B, Galan M, Hewison JM (2006) Genetic structure is influenced by landscape features: empirical evidence from a roe deer population. Molecular Ecology 15 : 1669–1679.

Coulson T, Albon S, Pilkington J, Clutton-Brock T (1999) Small scale spatial dynamics in fluctuating ungulate population. J Anim Ecol 68:658–671

Coulson TN, Pemberton JM, Albon SD, Beaumont M, Marshall TC, Slate J, Guinness FE, Clutton-Brock TH (1998) Microsatellites reveal heterosis in red deer. Proc R Soc Lond B 265 : 489–495.

Cox FE (2001) Concomitant infections, parasites and immune responses. Parasitology 122 Suppl:S23--S38.

Cozzi G, Broekhuis F, Mcnutt JW, Schmid B (2013) Comparison of the effects of artificial and natural barriers on large African carnivores: Implications for interspecific relationships and connectivity. J Anim Ecol 82:707–715

Craig BH, Tempest L J, Pilkington JG, Pemberton JM (2008) Metazoan-protozoan parasite co-infections and host body weight in St Kilda Soay sheep. Parasitology 135 : 433-441.

Cransac N, Gerard JF, Maublanc ML, Pépin D (1998) An example of segregation between age and sex classes only weakly related to habitat use in mouflon sheep (*Ovis gmelini*). J Zool 244:371–378

Cransac N, Hewison AJM (1997c), Seasonal use and selection of habitat by mouflon (*Ovis gmelini*) : comparison of the sexes. Behavioural Processes, 41 : 57–67.

Cransac N, Hewison AJM, Gaillard JM, Cugnasse JM, Maublanc ML (1997b) Patterns of mouflon (*Ovis gmelini*) survival under moderate environmental conditions: effects of sex, age, and epizootics. Can J Zool 75: 1867–1875.

Cransac N, Valet G, Cugnasse JM, Rech J (1997a) Seasonal diet of mouflon (*Ovis gmelini*) : comparison of population sub-units and sex-age classes. Rev Ecol (Terre Vie) 52 : 21–36.

Cransac, N. Gerard, J. F., Maublanc, M. L., & Pépin, D., 1998. An example of segregation between age and sex classes only weakly related to habitat use in mouflon sheep (*Ovis gmelini*). Journal of Zoology, 244(3), pp.371–378.

Crawford, A.M. et al., 1995. An Autosomal Genetic Linkage Map of the Sheep Genome. Genetics, 140, pp.703–724.

Creech TG, Epps CW, Landguth EL, Wehausen JD, Crowhurst RS, Holton B, Monello RJ (2017) Simulating the spread of selection-driven genotypes using landscape resistance models for desert bighorn sheep. PLoS One 12:e0176960

Criscione CD, Blouin MS (2004) Life cycles shape parasite evolution: comparative population genetics of salmon trematodes. Evolution 58 : 198–202.

Criscione CD, Cooper B, Blouin MS (2006) Parasite genotypes identify source populations of migratory fish more accurately than fish genotypes. Ecology 87 : 823–828.

Crofton HD (1957) Nematode parasite populations in sheep on lowland farms. III. The seasonal incidence of species. Parasitology 47 : 304-318.

Crofton HD (1971) A quantitative approach to parasitism. Parasitology 62 : 179-193.

Crooks KR, Sanjayan M (2006) Connectivity conservation: maintaining connections for nature. In Crooks KR, M. Sanjayan M (ed) Connectivity Conservation. Cambridge University Press, Cambridge, pp 1–28

Crowhurst R (2012) Landscape features affecting genetic diversity and structure in east African ungulate species. Msc thesis, Oregon State University, USA.

CRPF Languedoc-Roussillon (2001) forêts privées des Monts du Somail-Espinouse et de la Bordure des Monts de Lacaune orientations de gestion. Orientations régionales de production, Schéma régional de gestion sylvicole, Tome 2.

Cugnasse JM (1982) La capture de mouflons par enclos-piège - Bilan technique de 8 années d'expérimentation dans la réserve nationale de chasse du Caroux-Espinouse. Bulletin mensuel de l'Office National de la Chasse, 59 : 21–23.

Cugnasse JM, Teillaud P, Bon R (1987) Résultats préliminaires sur l'activité diurne et sur la structure des groupes de sangliers (*Sus scrofa L.*) dans les monts de l'Espinouse. Gibier Faune Sauvage 4 : 267-277.

Cugnasse JM (1990) Inventaire faunistique du massif du Caroux et des monts de l'Espinouse (Hérault) (Mammifères, Oiseaux, Reptiles et Batraciens). ONCFS, RNCFS du Caroux-Espinouse.

Cugnasse JM, Chiappin D (1992) Statut ancien et actuel du Chevreuil (*Capreolus capreolus*) dans le départment du Gard, perspectives. Bull. mens. O.N.C. 164 : 26-38.

Cugnasse JM (1993) Résultat de l'enquête sur le mouflon de Corse en France : statut et perspective d'avenir.- Bull. mens. O.N.C., 182 : 8–17.

Cugnasse JM, Houssin H (1993) Acclimatation du mouflon en France : la contribution des réserves de l'Office national de la chasse. Bulletin Mensuel de l'Office National de la Chasse, 183 : 26–37.

Cugnasse JM (1994) Révision taxinomique des mouflons des îles Méditerranéennes. Mammalia 58 : 507–512.

Cugnasse JM (1995) L'animal sauvage peut-il être un atout économique ? Bulletin Mensuel de l'Office National de la Chasse 156 : 22-25.

Cugnasse JM (1997a) Développement de nouvelles populations sauvages de mouflons de Corse (*Ovis gmelini musimon var. corsicana*), en Corse, à partie de sujets issus d'élevage. Bulletin Mensuel de l'Office National de la Chasse 219 : 14–28.

Cugnasse JM (1997b) Le mouflon en France - Résultats de l'enquête patrimoniale nationale. Bulletin Mensuel de l'Office National de la Chasse 218 : 36–41.

Cugnasse JM (1997c) L'enzootie de kérato-conjonctivite chez le mouflon méditerranéen (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.) dans le massif du Caroux-Espinouse (Hérault) à l'automne 1993. Gibier Faune Sauvage, 14 : 569–584.

Cugnasse, J.-M. (1997d). Les enquêtes de fréquentation : une écoute essentielle de la nature et des hommes en vue d'une gestion pérenne du patrimoine. In Roussillon, D.r.d.l. A.R.L. editor, Fréquentation et acceuil du public dans les espaces naturels : 12–17, Bézier, France.

Cugnasse, J.-M., Descaves, B., Gilbert, Y., Lemmet, S., & Martinetto, K. (1997). Chercheurs de champignons et déplacement des mouflons dans le massif de l'Espinouse. Bulletin Mensuel de l'Office National de la Chasse, 224 : 10–23.

Cugnasse JM (2001) Mouflon (*Ovis gmelini musimon*) in France : past, present and future. In : Proc. Third International Symposium on Mouflon, Sopron, Hungary, October 27-29, 2000, A.Nalhlik & W. Uloth eds. : 149–156.

Cullingham CI, Kyle CJ, Pond BA, Rees EE, White BN (2009) Differential permeability of rivers to raccoon gene flow corresponds to rabies incidence in Ontario, Canada. Mol Ecol 18 : 43–53.

Cunningham AA (1996) Disease risks of wildlife translocations. Conserv Biol 10:349–353. doi: 10.1046/j.1523-1739.1996.10020349.x

Cushman S, McRae B, McGarigal K (2016) Basics of landscape ecology: an introduction to landscapes and population processes for landscape geneticists in Lanscape genetics : concepts, methods, applications (Balkehnol N, Cushman S, Stofer A, Waits L). John Wiley & Sons Ltd, United Kingdom.

Cushman SA, McKelvey KS, Hayden J, Schwartz M (2006) Gene flow in complex landscapes: testing multiple hypotheses with causal modeling. Am Nat 168:486–499

Cushman SA, Wasserman TN, Landguth EL, Shirk AJ (2013) Re-evaluating causal modeling with mantel tests in landscape genetics. Diversity 5:51–72

D'Amico M, Périquet S, Román J, Revilla E (2016) Road avoidance responses determine the impact of heterogeneous road networks at a regional scale. J Appl Ecol 53:181–190

Da Silva A, Gaillard JM, Yoccoz NG, Hewison M, Galan M, Coulson T, Allainé D, Vial L, Delorme D, Van Laere G, Klein F, Luikart G (2009) Heterozygosity-fitness correlations

revealed by neutral and candidate gene markers in roe deer from a long-term study. Evolution 63 : 403–417.

Dalongeville A, Andrello M, Mouillot D, Lobreaux S, Fortin MJ, Lasram F, Belmaker J, Rocklin D, Manel S (2018) Geographic isolation and larval dispersal shape seascape genetic patterns differently according to spatial scale. Evolutionary Applications 11 : 1437–1447.

Darimont CT, Carlson SM, Kinnison MT, Paquet PC, Reimchen TE, Wilmers CC (2009) Human predators outpace other agents of trait change in the wild. PNAS 106 : 952-954.

Darwin (1871) The descent of man, and selection in relation to sex. J. Murray, London.

Daszak P, Cunningham AAA, Hyatt AD (2000) Emerging infectious diseases of wildlife - threats to biodiversity and Human health. Science 287:443–449. doi: 10.1126/science.287.5452.443

David P, Pujol B, Viard F, et al (2007) Reliable selfing rate estimates from imperfect population genetic data. Mol Ecol 16:2474–2487. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03330.x

Davidson RK, Licina T, Gorini L, Milner JM (2015) Endoparasites in a Norwegian moose (*Alces alces*) population – Faunal diversity, abundance and body condition. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife 4 : 29–36.

Debeffe L, Mcloughlin PD, Medill SA, et al (2016) Negative covariance between parasite load and body condition in a population of feral horses. Parasitology 143:983–997.

Debeffe L, Morellet N, Verheyden H, Hoste H, Gaillard JM, Cargnelutti B, Picot D, Sevila J, Hewison AJM (2014) Parasite abundance contributes to condition-dependent dispersal in a wild population of large herbivores. Oikos 123 : 1121–1125.

Debinski DM, Holt RD (2000) A survey and overview of habitat fragmentation experiments. Conservation Biology 14 : 342–55.

Delahay RJ, Speakman JR, Moss R (1995) The energetic consequences of parasitism: effects of a developing infection of Trichostrongylus tenuis (*Nematoda*) on red grouse (*Lagopus lagopus scoticus*) energy balance, body weight and condition. Parasitology 110 : 473-482.

Demuth JP, Naidu A, Mydlarz LD (2012) Sex, war, and disease: the role of parasite infection on weapon development and mating success in a horned beetle (*Gnatocerus cornutus*). PLoS ONE 7 : e28690.

Dérioz P, Grillo X (2006) Un demi-siècle de présence du mouflon dans le massif du Caroux (Hérault) : de l'expérience naturaliste à la gestion du territoire et à la valorisation de la ressource. Revue de Géographie Alpine / Journal of Alpine Research, Association pour la diffusion de la recherche alpine, 2006, pp.27–45. <halshs-00261836>

Devillard S, Bray Y (2009) Assessing the effect on survival of natal dispersal using multistate capture–recapture models. Ecology 90 :2902–2912.

DeWoody YD, DeWoody JA (2005) On the estimation of genome-wide heterozygosity using molecular markers. J Hered 96:85–88. doi: 10.1093/jhered/esi017

DeYoung, R.W. Demarais, S., Honeycutt, R. L., Rooney, A. P., Gonzales, R. A., & Gee, K. L., 2003. Genetic consequences of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) restoration in Mississippi. Molecular Ecology, 12(12), pp.3237–3252.

Ditchkoff SS, Hoofer SR, Lochmiller RL, et al (2005) Mhc-Drb evolution provides insight into parasite resistance in white-tailed deer. Southwest Nat 50:57–64. doi: 10.1894/0038-4909(2005)050<0057:MEPIIP>2.0.CO;2

Ditchkoff SS, Lochmiller RL, Masters RE, et al (2001) Major-histocompatibility-complex-associated variation in secondary sexual traits of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*): evidence for good-genes advertisement. Evolution 55:616–25. doi: 10.1554/0014-3820(2001)055\{[\}0616:MHCAVI]2.0.CO;2

Dobson A, Lafferty KD, Kuris AM, Hechinger RF, Jetz W (2008) Homage to Linnaeus: How many parasites? How many hosts? PNAS 105 : 11482–11489.

Doherty P, Zinkernagel RM (1975) Enhanced immunological surveillance in mice heterozygous at the H-2 gene complex. Nature 256:50–52.

Dolgin ES, Charlesworth B, Baird SE, Cutter AD (2007) Inbreeding and outbreeding depression in *Caenorhabditis* nematodes. Evolution 61:1339–1352. doi: 10.1111/j.1558-5646.2007.00118.x

Donnelly CA, Woodroffe R, Cox DR, Bourne J, Gettinby G, Le Fevre AM, McInerney JP, Morrison WI (2003) Impact of localized badger culling on tuberculosis incidence in British cattle. Nature 426 : 834-837.

Douhard M, Festa-Bianchet M, Pelletier F, Gaillard JM, Bonenfant C (2016) Changes in horn size of Stone's sheep over four decades correlate with trophy hunting pressure. Ecological Applications, 26 : 309–321.

Douhard M, Pigeon G, Festa-Bianchet M, Coltman DW, Guillemette S, Pelletier F (2017) Environmental and evolutionary effects on horn growth of male bighorn sheep. Oikos 126 : 1031–1041

Draheim HM, Moore JA, Fortin MJ, Scribner KT (2018) Beyond the snapshot: Landscape genetic analysis of time series data reveal responses of American black bears to landscape change. Evolutionary Applications 11 : 1219–1230.

Drimtzia A, Papadopoulos E (2016) Reduction rate of nematode egg counts and third-stage larvae development from sheep and goat faeces preserved at 4°C. J Hell Vet Med Soc 67:177–182. doi: 10.12681/jhvms.15636

Dubois M, Bon R, Cransac N, Maublanc ML (1994) Dispersal patterns of Corsican mouflon ewes: importance of age and proximate influences. Appl Anim Behav Sci 42:29–40. doi: 10.1016/0168-1591(94)90004-3

Dubois M, Gerard J, Maublanc ML (1992) Seasonal movements of females Corsican mouflon (*Ovis ammon*) in a Mediterranean mountain range, southern France. Behav Processes 26:155–166.

Dubois M, Khazrziie K, Guilhem C, Maublanc ML, Le Pendu Y (1996) Philopatry in mouflon rams during the rutting season: Psycho-ethological determinism and functional consequences. Behavioural Processes 35 : 93–100.

Dubois M, Quenette P, Bideau E (1993) Seasonal range use by European mouflon rams in medium altitude mountains. Acta Theriologica 38 : 185–198.

Dubray D (1988) Origine de la population de mouflons du parc de Cadarache (Bouches du Rhone - 13) : essai de reconstitution. ONCFS Station d'Etude sur la Faune des Milieux Mediterranéens.

Dubray D, Roux D (1990) Statut et gestion du mouflon (*Ovis ammon musimon S.*) de Corse. Bull. Mens. ONC 149 : 41-46.

Dubray D (ed.) (1993), Techniques de capture et de marquage des ongulés sauvages : Actes du symposium : Mèze (Hérault) 20, 21 et 22 mars 1990. ONCFS - Ministère de l'Environnement.

Dubray D (2010a) Le mouflon de Corse. In : Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage [en ligne]. Disponible http://www.oncfs.gouv.fr/Connaitre-les-especes-ru73/Le-Mouflon-mediterraneen-ar768 (consultée le 26/06/2018)

Dubray D (2010b) Le mouflon Méditerranéen. In : Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage [en ligne]. Disponible http://www.oncfs.gouv.fr/Connaitre-les-especes-ru73/Le-Mouflon-mediterraneen-ar768 (consultée le 16/06/2018)

Dukkipati V, Blair H, Garrick D, Murray A (2006a) 'Ovar-Mhc' — Ovine major histocompatibility complex: Role in genetic resistance to diseases. N Z Vet J 54:153–160. doi: 10.1080/00480169.2006.36689

Dukkipati V, Blair H, Garrick D, Murray A (2006b) "Ovar-Mhc" - ovine major histocompatibility complex: structure and gene polymorphisms. Genet Mol Res 5:581–608.

Dukkipati VSR, Blair HT, Garick DJ, Lopez-Villalobos N, Whittington RJ, Reddacliff LA, Eppleston J, Windsor P, Murray A (2010) Association of microsatellite polymorphisms with immune responses to a killed *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis vaccine in Merino sheep. New Zealand Veterinary Journal 58 : 237-245.

Dunn PO, Bollmer JL, Freeman-Gallant CR, Whittingham LA (2012) Mhc variation is related to a sexually selected ornament, survival, and parasite resistance in common yellowthroats. Evolution 67 : 679–687.

Dupuis J, Badia J, Maublanc ML, Bon R (2002) Survival and spatial fidelity of mouflon (*Ovis gmelini*): A bayesian analysis of an age-dependent capture-recapture model. J Agric Biol Environ Stat 7:277–298

Dussault C, Ouellet J, Courtois R, Huot J, Breton L, Jolicoeur H (2005) Linking moose habitat selection to limiting factors. Ecography 28:619–628

Earl DA, vonHoldt BM (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources 4 : 359-361.

Ebert D (2005) Ecology, epidemiology, and evolution of parasitism in Daphnia (Internet). Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information.

Ebert D, Lipsitch M, Mangin KL (2000) The effect of parasites on host population density and extinction: experimental epidemiology with Daphnia and six microparasites. The American Naturalist 156 : 459–477.

Ede, A.J., Pierson, C.A. & Crawford, A.M., 1995. Ovine microsatellites at the OarCP34, OarCP38, OarCP43, OarCP49,OarCP73,OarCP79 and OarCP99 loci. Animal Genetics, 26, pp.130–131.

Edmands S (2007) Between a rock and a hard place: evaluating the relative risks of inbreeding and outbreeding for conservation and management. Mol Ecol 16 : 463–475.

Ehrlich PR (1961) Intrinsic Barriers to Dispersal in Checkerspot Butterfly. Science 134:108–9

El Mousadik, A. & Petit, R.J., 1996. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [Argania spinosa (L.) Skeels] endemic to Morocco. Theoretical and Applied Genetics, 92(7), pp.832–839.

Endler JA (1977) Geographic variation, speciation, and clines. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

England PR (1997) Conservation genetics of population bottlenecks. PhD thesis, Macquaire University, Sydney, NSW, Australia.

Epps CW, Crowhurst RS, Nickerson BS (2018) Assessing changes in functional connectivity in a desert bighorn sheep metapopulation after two generations. Molecular Ecology 27 : 2334–2346.

Epps CW, McCullough DR, Wehausen JD, Bleich VC, Rechel JL (2004) Effects of Climate Change on Population Persistence of Desert-Dwelling Mountain Sheep in California. Conserv Biol 18:102–113

Epps CW, Palsbøll PJ, Wehausen JD, Roderick GK, McCullough DR (2006) Elevation and connectivity define genetic refugia for mountain sheep as climate warms. Mol Ecol 15:4295–4302

Epps CW, Palsboll PJ, Wehausen JD, Roderick GK, Ramey RR, McCullough DR (2005) Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. Ecol Lett 8:1029–1038

Epps CW, Wehausen JD, Bleich VC, Torres SG, Brashares JS (2007) Optimizing dispersal and corridor models using landscape genetics. J Appl Ecol 44:714–724

Escobar JS, Nicot A, David P (2008) The different sources of variation in inbreeding depression, heterosis and outbreeding depression in a metapopulation of *Physa acuta*. Genetics 180:1593–1608. doi: 10.1534/genetics.108.092718

Etherington TR, Penelope Holland E (2013) Least-cost path length versus accumulated-cost as connectivity measures. Landsc Ecol 28:1223–1229

Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. Molecular Ecology 14 : 2611–2620.

Excoffier L (2006) Cours II Evolution des fréquences alléliques – Dérive génétique [en ligne]. Disponible http://genet.univ-tours.fr/EXCOFFIER/Laurent/GMDP_subdiv.htm#Subdivision. Consulté le 20/07/2018.

Excoffier L, Heckel G (2006) Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide. Nature Reviews Genetics 7 : pages 745–758.

Ezard THG, Travis JMJ (2006) The impact of habitat loss and fragmentation on genetic drift and fixation time. Oikos 114 : 367–375.

Ezenwa V, Jolles A (2008) Horns honestly advertise parasite infection in male and female African buffalo. Anim Behav 75:2013–2021. doi: 10.1016/j.anbehav.2007.12.013

Ezenwa VO (2004a) Interactions among host diet, nutritional status and gastrointestinal parasite infection in wild bovids. International Journal for Parasitology 34 : 535–542.

Ezenwa VO (2004b) Host social behavior and parasitic infection: a multifactorial approach. Behavioral Ecology 15 : 446–454.

Ezenwa VO (2016) Helminth–microparasite co-infection in wildlife: lessons from ruminants, rodents and rabbits. Parasite Immunol 38:527–534.

Ezenwa VO, Etienne RS, Luikart G, et al (2010) Hidden consequences of living in a wormy world: Nematode-induced immune suppression facilitates tuberculosis invasion in African buffalo. Am Nat 176:613–624. doi: 10.1086/656496

Fahrig L (2003) Effects of habitat fragmentation on biodiversity. Annu Rev Ecol Evol Syst 34:487–515. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419

Faria PJ, van Oosterhout C, Cable J (2010) Optimal release strategies for captive-bred animals in reintroduction programs: Experimental infections using the guppy as a model organism. Biological Conservation 143 : 35–41.

Fenner F, Fantini B (1999) Biological control of vertebrate pests: The history of myxomatosis – an experiment in evolution, first edition. CABI, New York.

Fernandez-de-Mera IG, Vicente J, Naranjo V, Fierro Y, Garde JJ, de la Fuente J, Gortazar C (2009) Impact of major histocompatibility complex class II polymorphisms on Iberian red deer parasitism and life history traits. Infection, Genetics and Evolution 9 : 1232–1239.

Ferrer ES, García-Navas V, Sanz JJ, Ortego J (2014) Individual genetic diversity and probability of infection by avian malaria parasites in blue tits (*Cyanistes caeruleus*). J Evol Biol 27:2468–2482. doi: 10.1111/jeb.12489

Festa-Bianchet M (1988) Seasonal range selection in bighorn sheep: conflicts between forage quality, forage quantity, and predator avoidance. Oecologia 75:580–586

Festa-Bianchet M (1989) Individual differences, parasites, and the costs of reproduction for bighorn ewes (*Ovis canadensis*). Journal of Animal Ecology 58 : 785–795.

Festa-Bianchet M (1991) The social system of bighorn sheep: grouping patterns, kinship and female dominance rank. Anim Behav 42:71–82

Festa-Bianchet M (2012) The cost of trying: weak interspecific correlations among life-history components in male ungulates. Can J Zool 90:1072–1085

Festa-Bianchet M (2017) When does selective hunting select, how can we tell, and what should we do about it? Mammal Reviews 47 : 76–81.

Festa-Bianchet M, Gaillard JM, Jorgenson JT (1998) Mass- and density-dependent reproductive success and reproductive costs in a capital breeder. Am Nat 152 : 367–379.

Festa-Bianchet M, Jorgenson JT, Bérubé CH, Portier C, Wishart WD (1997) Body mass and survival of bighorn sheep. Can J Zool 75 : 1372–1379.

Fidler AE, van Oers K, Drent PJ, Kuhn S, Mueller KC, Kempenaers B (2007) Drd4 gene polymorphisms are associated with personality variation in a passerine bird. Proc R Soc B 274 : 1685–1691.

Figueroa Castillo JA, Medina RDM, Villalobos JMB, et al (2011) Association between major histocompatibility complex microsatellites, fecal egg count, blood packed cell volume and blood eosinophilia in Pelibuey sheep infected with *Haemonchus contortus*. Vet Parasitol 177:339–344. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.11.056

Fisher J, Lindenmayer DB (2007) Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. Global Ecol Biogeogr 16 : 265–280.

Focardi S, Raganella Pelliccioni E, Petrucco R, Toso S (2002) Spatial patterns and density dependence in the dynamics of a roe deer (*Capreolus capreolus*) population in central Italy. Oecologia 130:411–419

Folstad I, Nielssen AC, Halvorsen O, Andersen J (1991) Parasite avoidance: the cause of post-calving migrations in Rangifer? Can J Zool 69 : 2423-2429.

Forbes AB, Huckle CA, Gib, MJ, Rook AJ, Nuthall R (2000) Evaluation of the effects of nematode parasitism on grazing behaviour, herbage intake and growth in young grazing cattle. Veterinary Parasitology 90 : 111–118.

Forbes MRL (1993) Parasitism and host reproductive effort. Oikos 67: 444–450.

Forrester GE, Finley RJ (2006) Parasitism and a shortage of refuges jointly mediate the strength of density dependence in a reef fish. Ecology 87 : 1110-1115.

Forsyth, D.M. & Caley, P., 2006. Testing the irruptive paradigm of large-herbivore dynamics. Ecology, 87(2), pp.297–303.

Frankham R (2006) Genetics and landscape connectivity. In: Crooks KR, Sanjayan M (eds) Connectivity conservation. Cambridge University Press, Cambridge.

Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2004) A Primer of Conservation Genetics. Cambridge University Press, New York

Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2010) Introducition to Conservation Genetics. Cambridge University Press, New York

Frantz AC, Bertouille S, Eloy MC, Licoppe A, Chaumont F, Flamand MC (2012) Comparative landscape genetic analyses show a Belgian motorway to be a gene flow barrier for red deer (*Cervus elaphus*), but not wild boars (*Sus scrofa*). Mol Ecol 21:3445–3457

Frantz AC, Cellina S, Krier A, Schley L, Burke T (2009) Using spatial Bayesian methods to determine the genetic structure of a continuously distributed population: clusters or isolation by distance? Journal of Applied Ecology 46 : 493–505.

Frantz AC, Pope LC, Etherington TR, Wilson GJ, Burke T (2010) Using isolation-by-distance-based approaches to assess the barrier effect of linear landscape elements on badger (*Meles meles*) dispersal. Mol Ecol 19:1663–1674

Frisina MR, Frisina RM (1997) Fall diet of red and fallow deer, black buck, and mouflon sheep on Argentina's Patagonian steppe. Rangelands, 19 : 26–28.

Fuller RJ, Gill RMA (2001) Ecological impacts of increasing numbers of deer in British woodland. Forestry 74 : 193-199.

Gaillard JM, Festa-Bianchet M, Delorme D, Jorgenson J (2000) Body mass and individual fitness in female ungulates: bigger is not always better. Proc R Soc Lond B 267 : 471–477.

Gaillard JMl, Sempéré A J, Boutin JM, Laere GV, Boisaubert B (1992) Effects of age and body weight on the proportion of females breeding in a population of roe deer (*Capreolus capreolus*). Canadian Journal of Zoology 70 : 1541-1545.

Galan M, Guivier E, Caraux G, Charbonnel N, Cossion JR (2010) MAe t4ho5do4lo gmy aruticlletiplex sequencing method for rapid and reliable genotyping of highly polymorphic genes in large-scale studies. BMC Genomics 11:296.

Galan M, Pons JB, Tournayre O, et al (2018) Metabarcoding for the parallel identification of several hundred predators and their prey: Application to bat species diet analysis. Mol Ecol Resour 18: 474–489. doi: 10.1111/1755-0998.12749

Garamszegi LZ (2011) Climate change increases the risk of malaria in birds. Global Change Biology 17 : 1751-1759.

Garant, D., Forde, S.E. & Hendry, A.P., 2007. The multifarious effects of dispersal and gene flow on contemporary adaptation. Functionnal Ecology, 21, pp. 434–443.

García-Navas V, Cáliz-Campal C, Ferrer ES, et al (2014) Heterozygosity at a single locus explains a large proportion of variation in two fitness-related traits in great tits: A general or a local effect? J Evol Biol 27:2807–2819. doi: 10.1111/jeb.12539

Garel M (2006) Conséquences de la chasse et des contraintes environnementales sur ladémographie des populations d'ongulés. L'exemple du mouflon méditerranéen (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.) en France et de l'élan (*Alces alces*) en Norvège. Thèse de doctorat, Université de Grenoble, France.

Garel M, Cugnasse JM, Gaillard JM, Loison A, Gibert P, Douvre P, Dubray D (2005a), Reproductive output of female mouflon (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.) : a comparative analysis. Journal of Zoology, 266 : 65–71.

Garel M, Cugnasse JM, Loison A, Gaillard JM, Vuiton C, Maillard D (2005b). Monitoring the abundance of mouflon in South France. European Journal of Wildlife Research, 51: 69–76.

Garel M, Cugnasse JM, Maillard D, Gaillard JM, Hewison AJM, Dubray D (2007) Selective harvesting and habitat loss produce long-term life history changes in a mouflon population. Ecol Appl 17:1607–1618

Garel M, Loison A, Gaillard JM, Cugnasse JM, Maillard D (2004) The effects of a severe drought on mouflon lamb survival. Proc R Soc B Biol Sci 271:S471–S473. doi: 10.1098/rsbl.2004.0219

Gauly M, Krauthahn C, Bauer C, Erhardt G (2001) Pattern of *Eimeria* oocyst output and repeatability in naturally infected suckling Rhön lambs. J Vet Med Ser B 48:665–673. doi: 10.1046/j.1439-0450.2001.00493.x

Gautheret D (2012) Biologie Moléculaire L2 (BIOL201) Cours 2: Structure de la Chromatine et Structure des génomes [en ligne]. Disponible sur http://rna.igmors.u-psud.fr/gautheret/cours/L2-ADN2.pdf (Consulté le 06/07/2018).

Geist V (1966), Validity of horn segment counts in aging bighorn sheep. The Journal of Wildlife Management, 30 : 634–635.

Geist V (1971) Mountain sheep: a study in behavior and evolution. University of Chicago Press, Chicago, Illinois

Gibbs HC (1986) Hypobiosis and the periparturient rise in sheep. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2: 345–353.

Gibert P (2018) Surveillance sanitaire de la faune sauvage - L'oeil d'un vétérinaire pas comme les autres. Point Vétérinaire, France.

Giffin JG (1979) Ecology of the Mouflon Sheep on Mauna Kea. Pittman-Robertson project No. W-17-R, Study no. R-III 1975-1979. Rapport technique, State of Hawaii - Department of land and natural resources - Division of forestry and wildlife, USA.

Gilleard JS, Redman E (2016) Genetic Diversity and Population Structure of *Haemonchus contortus*. Advance in Parasitology 93 : 31-68.

Gilleard JS (2006) Understanding anthelmintic resistance: The need for genomics and genetics. International Journal for Parasitology 36 : 1227–1239.

Goater TM, Goather C, Esch G (2013) Parasitism. The Diversity and Ecology of Animal Parasites. 2nd Edition. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Goldberg TL, Grant EC, Inendino KR, Kassler TW, Claussen JE, Philipp DP (2005) Increased infectious disease susceptibility resulting from outbreeding depression. Conservation Biology 19 : 455–462.

Gordon IJ, Hester AJ, Festa-Bianchet M (2004) The management of wild large herbivores to meet economic, conservation and environmental objectives. Journal of Applied Ecology 41 : 1021–1031.

Goslee SC, Urban DL (2007) The ecodist package for dissimilarity-based analysis of ecological data. J Stat Softw 22:1–19

Goudet J (1995) FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-Statistics. The Journal of Heredity 86 : 485–486.

Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm. Updated from Goudet (1995).

Goudet J, Jombart T (2015) Estimation and tests of hierarchical F-statistics. R Core Team, p. 58. Available at: https://cran.r-project.org/package=hierfstat.

Goudet, J., Perrin, N. & Waser, P., 2002. Tests for sex-biased dispersal using bi-parentally inherited genetic markers. Molecular Ecology, 11(6), pp.1103–1114.

Grafen A (1990) Biological signals as handicaps. Journal of Theoretical Biology 144 : 517e546.

Graham AL, Allen JE, Read AF (2005) Evolutionary causes and consequences of immunopathology. Annu Rev Ecol Evol Syst 36 : 373–97.

Graves TAA, Beier P, Royle A (2013) Current approaches using genetic distances produce poor estimates of landscape resistance to interindividual dispersal. Molecular Ecology 22 : 3888–3903.

Greenwood P J (1980) Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. Animal Behaviour 28 : 1140–1162.

Grenfell B, Gulland FMD (1995) Introduction: Ecological impact of parasitism on wildlife host populations. Parasitology 111 Suppl:S3–S14. doi: 10.1017/S0031182000075788

Grenfell BT (1992) Parasitism and the dynamics of ungulate grazing systems. The American Naturalist 139 : 907-929.

Grillo V, Jackson F, Cabaret J, Gilleard JS (2006) Population genetic analysis of the ovine parasitic nematode Teladorsagia circumcincta and evidence for a cryptic species. Int J Parasitol 37 : 435-447.

Gross JE, Singer FJ, Moses ME (2000) Effects of disease, dispersal and area on Bighorn sheep restoration. Restor Ecol 8:25–37

Gubili C, Mariani S, Weckworth B V., Galpern P, McDevitt AD, Hebblewhite M, Nickel B, Musiani M (2017) Environmental and anthropogenic drivers of connectivity patterns: A basis for prioritizing conservation efforts for threatened populations. Evol Appl 10:199–211

Guerrini M, Forcina M, Panayides P, Lorenzini R, Garel M, Anayiotos P, Kassinis N, Barbanera F (2015) Molecular DNA identity of the mouflon of Cyprus (*Ovis orientalis ophion*, Bovidae): Near Eastern origin and divergence from Western Mediterranean conspecific populations, Systematics and Biodiversity 13 : 472-483.

Guillot G, Estoup A, Mortier F, Cosson JF (2005a) A spatial statistical model for landscape genetics. Genetics 170 : 1261–1280.

Guillot G, Mortier F, Estoup A (2005b) GENELAND : a computer package for landscape genetics. Molecular Ecology Notes 5 : 712–715.

Gulland FMD (1992) The role of nematode parasites in Soay sheep (*Ovis aries L.*) mortality during a population crash. Parasitology, 105:493–503.

Gulland FMD (1995) Impact of infectious diseases on wild animal populations, a review. In Ecology of Infectious Diseases in Natural Populations (ed. Grenfell, B. T. & Dobson, A. P.). Cambridge: Cambridge University Press.

Gutierrez-Espeleta GA, Hedrick PW, Kalinowski ST, et al (2001) Is the decline of desert bighorn sheep from infectious disease the resulot of low MHC variation. Heredity 86:439–450.

Gutiérrez-Espeleta GA, Kalinowski ST, Boyce WM, Hedrick PW (2000) Genetic variation and population structure in desert bighorn sheep: implications for conservation. Conservation Genetics 1 : 3–15.

Hakkarainen H, Huhta E, Koskela E, et al (2007) Eimeria-parasites are associated with a lowered mother's and offspring's body condition in island and mainland populations of the bank vole. Parasitology 134:23–31.

Hamel S, Gaillard JM, Yoccoz NG, Albon S, Côté SD, Craine JM, Festa-Bianchet M, Garel M, Lee P, Moss C, Nussey DH, Pelletier F, Stien A, Tveraa T (2016) Cohort variation in individual body mass dissipates with age in large herbivores. Ecol Monogr 86:517–543

Hamilton W, Zuk M (1982) Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? Science 218:384–387.

Handley, L.J.L., Perrin, N., 2007. Advances in our understanding of mammalian sex-biased dispersal. Molecular Ecology, 16, pp. 1559–1578.

Hansson B, Westerberg L (2002) On the correlation between heterozygosity and fitness in natural populations. Mol Ecol 11:2467–2474.

Hardy GH (1908) Mendelian proportions in a mixed population. Science 28: 49–50

Hardy OJ, Vekemans X (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. Mol Ecol Notes 2: 618–620.

Harris RB, Pletscher DH (2002) Incentives toward conservation of argali *Ovis ammon*: A case study of trophy hunting in Western China. Oryx 36: 373–381

Harris RB, Reading R (2008) *Ovis ammon*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T15733A5074694.

Harris RB, Wall WA, Alendorf FW (2002) Genetic consequences of hunting : wha do w know and what should we do ? Wildlife Society Bulletin 30 : 634-643.

Harris RJ, Reed JM (2002) Behavioral barriers to non-migratory movements of birds. Ann Zool Fenn 39 : 275–290.

Hars J, Rautureau S, Vaniscotte A, Herbaux JP, Pasquier JJ, Depecker A, Le Bourg V, Game Y, Toigo Y, Mick V, Garin-Bastuji B (2015) La brucellose des bouquetins du massif du Bargy (Haute-Savoie) : où en est-on en 2015 ? Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation 70 : 14-18.

Hawlena H, Krasnov BR, Abramsky Z, Khokhlova IS, Gouy de Bellocq J, Pinshow B (2008) Effects of food abundance, age, and flea infestation on the body condition and

immunological variables of a rodent host, and their consequences for flea survival. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 150 : 66–74.

Hayward A, Wilson A, Pilkington J, Pemberton J, Kruuk L (2009) Ageing in a variable habitat: environmental stress affects senescence in parasite resistance in St. Kilda Soay sheep. Proc R Soc Lond B 276 : 3477–3485.

Hayward AD (2013) Causes and consequences of intra- and inter-host heterogeneity in defence against nematodes. Parasite Immunol 35:362–373.

Hazlitt SL, Eldridge MDB, Goldizen AW (2004) Fine-scale spatial genetic correlation analyses reveal strong female philopatry within a brush-tailed rock-wallaby colony in southeast Queensland. Molecular Ecology 13 : 3621–3632.

Hedrick P, Fredrickson R, Ellegren H (2001b) Evaluation of d^2, a microsatellite measure of inbreeding and outbreeding, in wolves with a known pedigree. Evolution 55 : 1256–1260.

Hedrick PW (1994) Evolutionary Genetics of the Major Histocompatibility Complex. American Naturalist 143 : 945-964.

Hedrick PW (1999) Balancing selection and MHC. Genetica 104 : 207-214.

Hedrick PW (2002) Pathogen resistance and genetic variation at MHC loci. Evolution 56 : 1902-1908.

Hedrick PW (2011) Genetics of populations, 4th ed. London: Jones and Bartlett Publishers.

Hedrick PW, Gutierrez EGA, Lee RN (2001a) Founder effect in an island population of bighorn sheep. Molecular Ecology 10 : 851–857.

Heller R, Okello JBA, Siegismund H (2010) Can small wildlife conservancies maintain genetically stable populations of large mammals? Evidence for increased genetic drift in geographically restricted populations of Cape buffalo in East Africa. Mol Ecol 19:1324–1334. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04589.x

Henry, H.M. et al., 1993. Ovine microsatellites at the OarHH35, OarHH41, OarHH44, OarHH47 and OarHH64 loci. Animal Genetics, 24(3), pp.222–222.

Hepenstrick D, Thiel D, Holderegger R, Gugerli F (2012) Genetic discontinuities in roe deer (*Capreolus capreolus*) coincide with fenced transportation infrastructure. Basic Appl Ecol 13:631–638

Herrmann-Hoesing LM, White SN, Mousel MR, et al (2008) Ovine progressive pneumonia provirus levels associate with breed and Ovar-DRB1. Immunogenetics 60:749–758. doi: 10.1007/s00251-008-0328-9

Hewison AJM, Vincent JP & Reby D (1998) Social organisation of European roe deer. The European Roe Deer: The Biology of Success (eds R. Andersen, P. Duncan & J. Linnell), pp. 189–219. Scandinavian University Press, Oslo.

Hoeck PEA, Keller LF (2012) Inbreeding, immune defence and ectoparasite load in different mockingbird populations and species in the Galapagos Islands. J Avian Biol 43:423–434. doi: 10.1111/j.1600-048X.2012.05725.x

Hofer D (2002) The lion's share of the hunt: Trophy hunting and conservation: A review of the legal eurasian tourist hunting market and trophy trade under cites. Technical report, TRAFFIC Europe, Brussels, Belgium.

Hogg JT (1984) Mating in bighorn sheep: multiple creative male strategies. Science 225:526–529

Hogg JT (1987) Intrasexual competition and mate choice in rocky mountain bighorn sheep. Ethology 75:119–144

Hogg JT, Forbes SH (1997) Mating in bighorn sheep: frequent male reproduction via a high-risk "unconventional" tactic. Behav Ecol Sociobiol 41: 33–48.

Holderegger, R., Wagner, H.H., 2008. Landscape genetics. Bioscience 58 : 199-207.

Horne, J.S. et al., 2007. Analyzing animal movements using Brownian bridges. Ecology, 88(9), pp.2354–2363.

Houdjik JGM (2008) Influence of periparturient nutritional demand on resistance to parasites in livestock. Parasite Immunology 30 : 113–121.

Howard W (1960) Innate and environmental dispersal of individual vertebrates. American Midland Naturalist 63: 152-161.

Hudson P J, Dobson AP, Lafferty KD (2006) Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? Trends in Ecology and Evolution 21 : 381–385.

Hudson P J, Dobson AP, Newborn D (1992a) Do parasites makes prey vulnerable to predation: red grouse and parasites. Journal of Animal Ecology 61 : 681–692.

Hudson PJ, Dobson AP, Newborn D (1998) Prevention of population cycles by parasite removal. Science (80-) 282:2256–2258. doi: 10.1126/science.282.5397.2256

Hudson PJ, Newborn D, Dobson AP (1992b) Regulation and stability of a free-living host-parasite system : Trichostrongylus tenuis in red grouse. I. Monitoring and parasite reduction experiments. Journal of Animal Ecology 61 : 477–486.

Hufbauer, R.A. Rutschmann, A., Serrate, B., deVermeil Conchard, H., & Facon, B., 2013. Role of propagule pressure in colonization success: Disentangling the relative importance of demographic, genetic and habitat effects. Journal of Evolutionary Biology, 26(8), pp.1691–1699.

Hulme, D.J. et al., 1995. Polymorphic sheep microsatellites at the McM2, McM131, McM135, McMl36, McM140, McM200, McM214, McM373, McM505, McM507 and McM522 loci. Animal Gene, 26, pp.369–370.

Hunt PW, Knox MR, Le Jambre LF, McNally J, Anderson LJ (2008) Genetic and phenotypic differences between isolates of *Haemonchus contortus* in Australia. Int J Parasitol 38 : 885–900.

Hutchings MR, Gordon IJ, Kyriazakis I, Jackson F (2001) Sheep avoidance of faeces-contaminated patches leads to a trade-off between intake rate of forage and parasitism in subsequent foraging decisions. Animal Behaviour 62 : 955-964.

Hutchings MR, Kyriazakis I, Anderson DH, Gordon IJ, Coop RL (1998) Behavioural strategies used by parasitized and non-parasitized sheep to avoid ingestion of gastro-intestinal nematodes associated with faeces. Animal Science 67 : 97-106.

Ilmonen P, Penn DJ, Damjanovich K, Morrison L, Ghotbi L, Potts WK (2007) Major histocompatibility complex heterozygosity reduces fitness in experimentally infected mice. Genetics 176:2501–2508.

Ilmonen P, Taarna T, Hasselquist D (2000) Experimentally activated immune defence in female pied ycatchers results in reduced breeding success. Proc R Soc Lond B 267 : 665–670.

Imong I, Robbins MM, Mundry R, Bergl R, Kühl HS (2014) Informing conservation management about structural versus functional connectivity: A case-study of Cross River gorillas. Am J Primatol 76:978–988

Irvine RJ, Corbishley H, Pilkington JG, Albon SD (2006) Low-level parasitic worm burdens may reduce body condition in free-ranging red deer (*Cervus elaphus*). Parasitology 133 : 465–475.

Jakobsson M, Rosenberg NA (2007) CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. Bioinformatics 23 : 1801–1806.

Janssen M, Weimann W, Gauly M, Erhardt G (2002) Associations between infections with haemonchus contortus and genetic markers on ovine chromosome 20. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 19-23, 2002, Montpellier, France.

Jarman P (1983) Mating system and sexual dimorphism in large, terrestrial, mammalian herbivores. Biol Rev 58:485–520

Jarnemo A (2011) Male red deer (*Cervus elaphus*) dispersal during the breeding season. J Ethol 29:329–336

Johnson AR, Wiens JA, Milne BT, Crist TO (1992) Animal movements and population dynamics in heterogeneous landscapes. Landscape Ecology 7 : 63–75.

Jombart T (2008a) Adegenet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers. Bioinformatics 24 : 1403–1405.

Jombart T, Devillard S, Balloux F (2010) Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured populations. BMC Genetics 11 : 94–108.

Jombart T, Devillard S, Dufour AB, Pontier D (2008b) Revealing cryptic spatial patterns in genetic variability by a new multivariate method. Heredity 101 : 92–103.

Jullien JM, Maillard D, Darmon G, Calenge C, Loison A (2009) Le mouflon dans les Bauges : cinquante ans d'histoire. Faune Sauvage, 285 : 4–9.

Kaeuffer, R. Coltman, D. W., Chapuis, J. L., Pontier, D., & Réale, D., 2007. Unexpected heterozygosity in an island mouflon population founded by a single pair of individuals. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 274(1609), pp.527–533.

Kardos M, Allendorf FW, Luikart G (2014) Evaluating the role of inbreeding depression in heterozygosity-fitness correlations: How useful are tests for identity disequilibrium? Mol Ecol Resour 14:519–530. doi: 10.1111/1755-0998.12193

Karns GR, Lancia RA, DePerno CS, Conner MC (2011) Investigation of adult male white-tailed deer excursions outside their home range. Southeast Nat 10:39–52

Karrow NA, Goliboski K, Stonos N, et al (2014) Review: Genetics of helminth resistance in sheep. Can J Anim Sci 94:1–9. doi: 10.4141/cjas2013-036

Keeley ATH, Beier P, Keeley BW, Fagan ME (2017) Habitat suitability is a poor proxy for landscape connectivity during dispersal and mating movements. Landsc Urban Plan 161:90–102

Keeney DB, King TM, Rowe DL, Poulin R (2009) Contrasting mtDNA diversity and population structure in a direct-developing marine gastropod and its trematode parasites. Mol Ecol 18 : 4591–4603.

Kekkonen, J. & Brommer, J.E., 2015. Reducing the loss of genetic diversity associated with assisted colonization -like introductions of animals. Current Zoology, 61(5), pp.827–834.

Keller D, Holderegger R, van Strien MJ (2013) Spatial scale affects landscape genetic analysis of a wetland grasshopper. Molecular Ecology 22 : 2467–2482.

Keller LF, Waller DM (2002) Inbreeding effects in wild populations. Trends in Ecology & Evolution 17 : 230–241.

Kheir MM, Eltoum IA, Saad AM, Ali MM, Baraka OZ, Homeida MMA (1999) Mortality due to *schistosomiasis mansoni*: a field study in Sudan. Am J Trop Med Hyg 60 : 307–310.

Kierepka EM, Latch EK (2015) Performance of partial statistics in individual-based landscape genetics. Molecular Ecology Resources 15 : 512–525.

Kimura M (1968) Evolutionary Rate at the Molecular Level. Nature 217: 624-626.

Kimura M (1983) The neutral theory of molecular evolution. Cambridge University Press.

Kimura M (1953) ‘‘Stepping-stone’’ model of population. Annual Report of the National Institute of Genetics Japan 3 : 62–63.

King R, Brooks SP (2003) Survival and spatial fidelity of mouflons: The effect of location, age, and sex. J Agric Biol Environ Stat 8:486–513

Kjellander P, Hewison AJM, Liberg O, Angibault JM, Bideau E, Cargnelutti B (2004) Experimental evidence for density-dependence of home-range size in roe deer (*Capreolus capreolus L.*): a comparison of two long-term studies. Oecologia 139 : 478–485.

Klein SL (2004) Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. Parasite Immunology 26 : 247–264.

Klein F (2013) Le cerf élaphe. In : Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage [en ligne]. Disponible http://www.oncfs.gouv.fr/Connaitre-les-especes-ru73/Le-Cerf-elaphe-ar978 (consultée le 14/09/2018)

Kloch A, Babik W, Bajer A, Sinski E, Radwan J (2010) Effects of an MHC-DRB genotype and allele number on the load of gut parasites in the bank vole *Myodes glareolus*. Mol Ecol 19:255–265.

Kloch, A. Baran, K., Buczek, M., Konarzewski, M., & Radwan, J., 2013. MHC influences infection with parasites and winter survival in the root vole *Microtus oeconomus*. Evolutionary Ecology, 27(3), pp.635–653.

Knutie SA, Wilkinson CL, Wu QC, Ortega CN, Rohr JR (2017) Host resistance and tolerance of parasitic gut worms depend on resource availability. Oecologia 183 : 1031–1040.

Kock RA, Woodford MH, Rossiter PB (2010) Disease risks associated with the translocation of wildlife. Rev Sci Tech l’OIE 29:329–350. doi: 10.20506/rst.29.2.1980

Koen EL, Garroway CJ, Wilson PJ, Bowman J (2010) The effect of map boundary on estimates of landscape resistance to animal movement. PLoS One 5:1–8

Kojo N, Higuchi N, Minami M, Ohnish N, Okada A, Takatsuki S, Tamate HB (2012) Correlation between genetic diversity and neonatal weight of sika deer (*Cervus nippon*) fawns. Mammal Study 37: 11–19.

Kolodzinski JJ, Tannenbaum LV, Muller LI, Osborn DA, Osborn DA, Adams KA, Conner MC, Ford M, Ford WM, Miller KV (2010) excursive behaviors by female white-tailed deer during estrus at two mid-atlantic sites. Am Midl Nat 163 : 366–373.

Kool JT, Moilanen A, Treml EA (2013) Population connectivity: recent advances and new perspectives. Landscape Ecol 28 : 165–185.

Kruuk LEB, Clutton-Brock TH, Rose KE, Guinness FE (1999) Early determinants of lifetime reproductive success differ between the sexes in red deer. Proc R Soc Lond B 266 : 1655-1661.

Kuehn R, Hindenlang KE, Holzgang O, Senn J, Stoeckle B, Sperisen C (2007) Genetic effect of transportation infrastructure on roe deer populations (*Capreolus capreolus*). J Hered 98:13–22

Kurtz J, Kalbe M, Aeschlimann PB, Haberli MA, Wegner KM, Reush TBH, Milinski M (2004) Major histocompatibility complex diversity influences parasite resistance and innate immunity in sticklebacks. Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences 271 : 197-204.

Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB (2016) lmerTest: Tests in linear mixed effects models. R package version 2.0-33. https://CRAN.R-project.org/package=lmerTest

Lafuma L, Lambrechts MM, Raymond M (2001) Aromatic plants in bird nests as a protection against blood-sucking flying insects? Behavioural Processes 56 : 113-120.

Lande R, Barrowclough GF (1987) Effective population size, genetic variation, and their use in population management. In Viable Populations for Conservation (Ed. Soulé ME), Cambridge University Press.

Lande R (1988) Genetics and Demograhy in Biological Conservation. Science 241 : 1455-1460.

Lande R (1994) Risk of population extinction from fixation of new deleterious mutations. Evolution 48 : 1460-1469.

Lande R (1998) Anthropogenic, ecological and genetic factors in extinction and conservation. Res. Popul Ecol 40:259–269.

Lande R, Shanon S (1996) The role of genetic variation in adaptation and population persistence. Evolution 50 : 434-437.

Landguth EL, Cushman SA, Schwartz MK, McKelvey KS, Murhpy M, Luikart G (2010) Quantifying the lag time to detect barriers in landscape genetics. Mol Ecol 19:4179–4191

Langvatn R, Loison A (1999) Consequences of harvesting on age structure, sex ratio and population dynamics of red deer *Cervus elaphus* in Central Norway. Wildlife Biology 5 : 213-223.

Larroque J (2015) Same looks, different ecology: Ecological and genetic insights on two syntopic mustelids species, the European Pine marten (*Martes martes*) and the Stone marten (*Martes foina*). Thèse de doctorat, Université de Lyon, Lyon, France.

Larroque J, Ruette S, Vandel J-M, Devillard S (2016a) Divergent landscape effects on genetic differentiation in two populations of the European pine marten (*Martes martes*). Landsc Ecol 31:517–531

Larroque J, Ruette S, Vandel JM, Queney G, Devillard S (2016b) Age and sex-dependent effects of landscape cover and trapping on the spatial genetic structure of the stone marten (*Martes foina*). Conserv Genet 17:1293–1306

Larroque J, Ruette S, Vandel JM, Queney G, Devillard S (2016b) Age and sex-dependent effects of landscape cover and trapping on the spatial genetic structure of the stone marten (*Martes foina*). Conserv Genet 17:1293–1306

Latch EK, Rhodes OE (2005) The effects of gene flow and population isolation on the genetic structure of reintroduced wild turkey populations: Are genetic signatures of source populations retained? Conservation Genetics 6 : 981–997.

Laundré JW, Hernández L, Altendorf KB (2001) Wolves, elk, and bison: reestablishing the "landscape of fear" in Yellowstone National Park, U.S.A. Can J Zool 79:1401–1409

Laurian C, Dussault C, Ouellet J-P, Courtois R, Poulin M, Breton L (2008) Behavior of moose relative to a road network. J Wildl Manage 72:1550–1557

Le Pendu Y, Briedermann L, Gerard JF, Maublanc ML (1995) Inter-individual associations and social structure of a mouflon population (*Ovis orientalis musimon*). Behavioural Processes 34 : 67-80.

Le Pendu Y, Guilhem C, Briedermann L, Maublanc ML, Gerard JF (2000) Interactions and associations between age and sex classes in mouflon sheep (*Ovis gmelini*) during winter. Behavioural Processes 52 : 97–107.

Le Pendu Y, Maublanc ML, Briedermann L, Dubois M (1996) Spatial structure and activity in groups of Mediterranean mouflon (*Ovis gmelini*). A comparative study. Appl Anim Behav Sci 46:201–216

Leclerc M, Frank SC, Zedrosser A, Swenson JE, Pelletier F (2017) Hunting promotes spatial reorganization and sexually selected infanticide. Scientific Reports 7:45222.

Lefèvre T, Adamo SA, Biron DG, Missé D, Hughes D, Thomas F (2009) Invasion of the body snatchers: the diversity and evolution of manipulative strategies in host–parasite interactions. Advances in Parasitology 68 : 45–83.

Legendre P (1993) Spatial autocorrelation: trouble or new paradigm? Ecology 74:1659–1673

Legendre P, Fortin MJ, Borcard D (2015) Should the Mantel test be used in spatial analysis? Methods Ecol Evol 6:1239–1247

Legendre P, Troussellier M (1988) Aquatic heterotrophic bacteria: modeling in the presence of spatial autocorrelation. Limnol Oceanogr 33:1055–1067

Lenz TL, Wells K, Pfeiffer M, Sommer S (2009) Diverse MHC IIB allele repertoire increases parasite resistance and body condition in the Long-tailed giant rat (*Leopoldamys sabanus*). BMC Evolutionary Biology 9:269.

Lin YS, Zhou H, Forrest RHJ, Frampton CM, Burrows LER, Hickford JGH (2016) Association between variation in faecal egg count for a natural mixed field-challenge of nematode parasites and TLR4 variation. Vet Parasitol 218:5–9.

Lincoln GA (1998) Reproductive seasonality and maturation throughout the complete life-cycle in the mouflon ram (*Ovis musimon*). Animal Reproduction Science 53 : 87-105.

Liu J, Ding X, Zeng Y, Yue Y, Guo X, Guo T, Chu M, Wang F, Han J, Feng R, Sun X, Niu C, Yang B, Guo J, Yuan C (2016) Genetic diversity and phylogenetic evolution of tibetan sheep based on mtdna d-loop sequences. PLoS ONE 11(7): e0159308.

Long ES, Diefenbach DR, Wallingford BD, Rosenberry CS (2010) Influence of roads, rivers, and mountains on natal dispersal of white-tailed deer. J Wildl Manage 74:1242–1249.

Lotka, A.J., 1932. The growth of mixed populations: two species competing for a common food supply. J Wash Acad Sci 22 : 461–469.

Lowe WH, Allendorf FW (2010) What can genetics tell us about population connectivity? Mol Ecol 19:3038–3051

Luhken G, Gauly M, Kaufmann F, Erhardt G (2011) Association study in naturally infected helminth layers shows evidence for influence of interferon-gamma gene variants on Ascaridia galli worm burden. Veterinary Research 42 : 84.

Luikart G, Pilgrim K, Visty J, Ezenwa VO, Schwartz MK (2008) Candidate gene microsatellite variation is associated with parasitism in wild bighorn sheep. Biol Lett 4:228–231.

Luong LT, Heath BD, Polak M (2007) Host inbreeding increases susceptibility to ectoparasitism. J Evol Biol 20:79–86. doi: 10.1111/j.1420-9101.2006.01226.x

Lynch M, Conery J, Burger R (1995) Mutation accumulation and the extinction of small populations. Am Nat 146 : 489–518.

Mabille G, Dussault C, Ouellet JP, Laurian C (2012) Linking trade-offs in habitat selection with the occurrence of functional responses for moose living in two nearby study areas. Oecologia 170:965–977

MacDougall-Shackleton EA, Derryberry EP, Foufopoulos J, et al (2005) Parasite-mediated heterozygote advantage in an outbred songbird population. Biol Lett 1:105–107. doi: 10.1098/rsbl.2004.0264

Maerten J (2014) Détermination du parasitisme de l'abomasum chez le mouflon méditerranéen (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.) dans le massif du Caroux-Espinouse. Veterinary dissertation, VetAgro Sup, Campus veterinaire de Lyon, Université de Lyon, France

Maillard D, Benedetti P, Mariani JP, Gaudin JC, Garel M (2007) La conservation du mouflon de Corse dans la Réserve d'Asco. Faune Sauvage 278 : 16–21.

Maiorano L, Boitani L, Chiaverini L, Ciucci P (2017) Uncertainties in the identification of potential dispersal corridors: The importance of behaviour, sex, and algorithm. Basic Appl Ecol 21:66–75

Malo AF, Roldan ERS, Garde J, Soler AJ, Gomendio M (2005) Antlers honestly advertise sperm production and quality. Proc. R. Soc. B 272 : 149–157.

Manel S, Schwartz MK, Luikart G, Taberlet P (2003) Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. Trends Ecol Evol 18 : 189–197.

Manel S, Holderegger R (2013) Ten years of landscape genetics. Trends in ecology & evolution 28 : 614-621.

Marchand P (2013). Déterminants spatio-temporels de la sélection de l'habitat chez le mouflon Méditerranéen *Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp. Thèse de doctorat: Université de Grenoble, France.

Marchand P, Freycon P, Herbaux J, Game Y, Toïgo C, Gilot-fromont E, Rossi S, Hars J (2017b) Sociospatial structure explains marked variation in brucellosis seroprevalence in an Alpine ibex population. Scientific Reports 7:1–12

Marchand P, Garel M, Bourgoin G, Dubray D, Maillard D, Loison A (2014a) Impacts of tourism and hunting on a large herbivore's spatio-temporal behavior in and around a French protected area. Biol Conserv 177:1–11

Marchand P, Garel M, Bourgoin G, Dubray D, Maillard D, Loison A (2015a) Sex-specific adjustments in habitat selection contribute to buffer mouflon against summer conditions. Behavioral Ecology 26 : 472–482.

Marchand P, Garel M, Bourgoin G, Dubray D, Maillard D, Loison A (2015b) Coupling scale-specific habitat selection and activity reveals sex-specific food/cover trade-offs in a large herbivore. Anim Behav 102:169–187.

Marchand P, Garel M, Bourgoin G, Duparc A, Dubray D, Maillard D, Loison A (2017a) Combining familiarity and landscape features helps break down the barriers between movements and home ranges in a non-territorial large herbivore. J Anim Ecol 86:371–383

Marchand P, Garel M, Bourgoin G, Michel P, Maillard D, Loison A (2014b) Habitat-related variation in carcass mass of a large herbivore revealed by combining hunting and GPS data. J Wildl Manage 78:657–670

Marchand P, Redjadj C, Garel M, Cugnasse M, Maillard D, Loison A (2013) Are mouflon *Ovis gmelini musimon* really grazers? A review of variation in diet composition. Mammal Review 43 : 275–291.

Marshall RC, Buchanan KL, Catchpole CK (2003) Sexual selection and individual genetic diversity in a songbird. Biol Lett Suppl 270 : S248–S250.

Marshall TC, Spalton JA (2000) Simultaneous inbreeding and outbreeding depression in reintroduced Arabian oryx. Anim Conserv 3:241–248. doi: 10.1111/j.1469-1795.2000.tb00109.x

Martin AM, Presseault-Gauvin H, Festa-Bianchet M, Pelletier F (2013) Male mating competitiveness and age-dependent relationship between testosterone and social rank in bighorn sheep. Behav Ecol Sociobiol 67 : 919–928.

Martinetto K, Cugnasse J, Gilbert Y (1998) La cohabitation du mouflon Méditerranéen *(Ovis gmelini musimon* x *Ovis* sp.) et des touristes dans le massif du Caroux-Espinouse (Hérault). Gibier Faune Sauvage 15:905–919

Martinetto K, Cugnasse JM (2001), Reaction distance in Mediterranean Mouflon (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.) in the presence of hikers with a dog on the Caroux plateau (Hérault, France). Revue d'Écologie 56 : 231–242.

Martinetto K, Cugnasse JM, Gilbert Y (1998), La cohabitation du mouflon méditerranéen (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.) et des touristes dans le massif du Caroux-Espinouse (Hérault). Gibier Faune Sauvage 15 : 905–919.

Martinez M, Rodriguez-Vigual C, Jones OR, Coulson T, San Miguel A (2005) Different hunting strategies select for different weights in red deer. Biol Lett 1 : 353–356.

Martinez AM, Gama LT, Canon J, Ginja C, Delgado JV, Dunner S, Landi V, Martin-Burriel I, Penedo MCT, Rodellar C, Vega-Pla JL, Acosta A, Alvarez LA, Cmacho E, Cortes O, Marques JR, Martinez R, Matinez RD, Melucci L, Martinez-Velazquez G, Munoz JE, Postiglioni A, Quiroz J, Sponenberg P, Uffo O, Villabos A, Zambrano D, Zaragoza P (2012) Genetic footprints of iberian cattle in america 500 years after the arrival of Columbus. PLoS ONE 7(11): e49066.

Martins AG, Netto NT, Aulagnier S, Borges A, Dubois M, Vicente L, Gerard J-F, Maublanc ML (2002) Population subdivision among mouflon sheep (*Ovis gmelini*) ewes and ranging behaviour of rams during the rut. J Zool 258:27–37

Masel J (2011) Genetic drift. Current Biology 21 : R837-R838.

Massei G, Kindberg J, Licoppe A, Gačić D, Šprem N, Kamler J, Baubet E, Hohmann U, Monaco A, Ozoliņš J, Cellina S, Podgórski T, Fonseca C, Markov N, Pokorny B, Rosell C, Náhlik A (2015) Wild boar populations up, numbers of hunters down? A review of trends and implications for Europe. Pest Manag Sci 71 : 492-500.

Massol G (1991) Le Mouflon – Quel avenir pour les grands mammifères sauvages de montagne face à des activités humaines croissantes? Imprimerie Maraval, Saint-Pons de Thommières, France.

Mateo-Sánchez MC, Balkenhol N, Cushman SA, Pérez T, Domínguez A, Saura S (2015) A comparative framework to infer landscape effects on population genetic structure: Are habitat suitability models effective in explaining gene flow? Landsc Ecol 30:1405–1420

Matthysen E (2005) Density-dependent dispersal in birds and mammals. Ecography 28 : 403–416.

Maublanc ML, Dubois M, Bon R, Le Pendu Y (1994), Spatial organization of a corsican mouflon population *Ovis ammon musimon* determined by individual space use. Dans : Proceedings of the XXI Congress of the International Union of Game Biologists, Canadian Forest Service, 343–347.

Maublanc ML, Dubois M, Teillaud P, Cugnasse JM (1992), Effects of recreational and hunting activities on the mouflon (*Ovis ammon musimon*) population of Caroux-Espinouse. Dans : F Spitz, G Janeau, G Gonzalez, S Aulagnier (eds.), Ongulés/Ungulates 91 - Human impact on ungulates, S.F.E.P.M.-I.R.G.M., Paris-Toulouse, France, 2–6.

Maudet, C. Miller, C., Bassano, B., Breitenmoser-Würsten, C., Gauthier, D., Obexer-Ruff, G., … Luikart, G., 2002. Microsatellite DNA and recent statistical methods in wildlife conservation management: Applications in Alpine ibex [*Capra ibex (ibex)*]. Molecular Ecology, 11(3), pp.421–436.

Maudet C, Dubray D (2002) Comparison of the genetic structures of two Corsican mouflon (*Ovis gmelini musimon*) populations (Cinto/Asco and Bavella). Poster. IV International Mouflon Symposium

Mazé-Guilmo E, Blanchet S, McCoy KD, Loot G (2016) Host dispersal as the driver of parasite genetic structure: a paradigm lost? Ecology Letters 19 : 336–347.

May RM, Anderson RM (1979) Population biology of infectious diseases: Part II. Nature 280: 455-461.

McCallum H, Dobson A (2006) Disease and connectivity. In: Crooks KR, Sanjayan M (eds) Connectivity conservation. Cambridge University Press, Cambridge.

McClure ML, Hansen AJ, Inman RM (2016) Connecting models to movements: testing connectivity model predictions against empirical migration and dispersal data. Landscape Ecol 31:1419–1432.

McCoy KD, Boulinier T, Tirard C (2005) Comparative host–parasite population structures: disentangling prospecting and dispersal in the black-legged kittiwake Rissa tridactyla. Mol Ecol 14 : 2825–2838.

McElligott AG, Gammell MP, Harty HC, Paini DR, Murphy DT, Walsh JT, Hayden TJ (2001) Sexual size dimorphism in fallow deer (*Dama dama*): do larger, heavier males gain greater mating success? Behavioral Ecology and Sociobiology 49 : 266-272.

McRae BH (2006) Isolation By Resistance. Evolution 60:1551–1561

McRae BH, Beier P (2007) Circuit theory predicts gene flow in plant and animal populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104 : 19885-19890.

McRae BH, Dickson BG, Keitt TH, Shah VB (2008) Using circuit theory to model connectivity in ecology, evolution, and conservation. Ecology 89 : 2712-2724.

Mejía-Salazar MF, Goldizen AW, Menz CS, et al (2017) Mule deer spatial association patterns and potential implications for transmission of an epizootic disease. PLoS One 12:1–21. doi: 10.1371/journal.pone.0175385

Miller JM, Coltman DW (2014) Assessment of identity disequilibrium and its relation to empirical heterozygosity fitness correlations: A meta-analysis. Mol Ecol 23:1899–1909. doi: 10.1111/mec.12707

Miller JM, Malenfant RM, David P, et al (2014) Estimating genome-wide heterozygosity: Effects of demographic history and marker type. Heredity 112:240–247. doi: 10.1038/hdy.2013.99

Milner JM, Bonenfant C, Mysterud A, Gaillard JM, CSÁNYI S, STENSETH NC (2006) Temporal and spatial development of red deer harvesting in Europe: biological and cultural factors. Journal of Applied Ecology 43: 721-734.

Milner JM, Nilsen EB, Andreassen HP (2007) Demographic side effects of selective hunting in ungulates and carnivores. Conservation Biology 21 : 36–47.

Milner-Gulland EJ, Bennett EL (2003) Wild meat : the bigger picture. Trends in Ecology & Evolution 18 : 351–357.

Milner-Gulland EJ, Kholodova MV, Bekenov A, Bukreeva OM, Grachev IA, Amgalan L, Lushchekina AA (2001) Dramatic declines in saiga antelope populations. Oryx 35 : 340-345.

Minchella DJ, LoVerde PT (1981) A cost of increased early reproductive effort in the snail *Biomphalaria glabrata*. Am Nat 118 : 876–881.

Mitchell J, Vitikainen EIK, Wells DA, Cant MA, Nichols HJ (2017) Heterozygosity but not inbreeding coefficient predicts parasite burdens in the banded mongoose. J Zool 302:32–39.

Miyashita T, Suzuki M, Ando D, Fujita G, Ochiai K, Asada M (2008) Forest edge creates small-scale variation in reproductive rate of sika deer. Popul Ecol 50 : 111–120.

Mock, K.E., Latch, E.K. & Rhodes, O.E., 2004. Assessing losses of genetic diversity due to translocation: Long-term case histories in Merriam's turkey (*Meleagris gallopavo merriami*), Conservation Genetics, 5(5), pp.631–645.

Moilanen A & Hanski I (2006) Connectivity and metapopulation dynamics in highly fragmented landscapes. In: Crooks KR, Sanjayan M (eds) Connectivity conservation. Cambridge University Press, Cambridge.

Moilanen A, Hanski I (1998) Metapopulation dynamics: Effects of habitat quality and landscape structure. Ecology 79:2503–2515

Monteith KL, Long RA, Stephenson TR, Bleich VC, Bowyer RT, Lasharr TN (2018) Horn Size and Nutrition in Mountain Sheep: Can Ewe Handle the Truth? Jour Wild Mgmt 82 : 67–84.

Montgelard C, Nguyen Tc, Dubray D (1994) Genetic variability in French populations of the Corsican mouflon (*Ovis ammon musimon*): analysis of 2 blood proteins and red-cell blood groups. Genet Sel Evol 26:303–315.

Moore J (2002) Parasites and the Behavior of Animals. Oxford, Oxford University Press.

Moran E V., Hartig F, Bell DM (2016) Intraspecific trait variation across scales: Implications for understanding global change responses. Glob Chang Biol 22:137–150

Moran, P.A.P., 1948. The interpretation of statistical maps. Journal of the Royal Statistical Society, 10(2), pp.243–251.

Moran, P.A.P., 1950. Notes on continuous stochastic phenomena. Biometrika, 37(1), pp.17–23.

Morgan ER, van Dijk J (2012) Climate and the epidemiology of gastrointestinal nematode infections of sheep in Europe. Vet Parasitol 189:8–14.

Mulvey M, Aho JM, Rhodes E (1994) Parasitism and white-tailed deer : Timing and components of female reproduction. Oikos 70:177–182.

Murray DL, Keith LB, Cary JR (1996) The efficacy of anthelmintic treatment on the parasite abundance of f ree-ranging snowshoe hares. Can J Zool 74 : 1604 – 1611.

Murray DL, Cary JR, Keith LB (1997) Interactive effects of sublethal nematodes and nutritional status on snowshoe hare vulnerability to predation. Journal of Animal Ecology 66 : 250–264.

Myers RA, Worm B (2003), Rapid worldwide depletion of predatory fish communities. Nature, 423 : 280–283.

Mysterud A (1999) Seasonal migration pattern and home range of roe deer (*Capreolus capreolus*) in an altitudinal gradient in southern Norway. J Zool Lond 247 : 479–486.

Mysterud A, Ostbye E (1999) Cover as a Habitat Element for Temperate Ungulates: Effects on Habitat selection and Demography. Wildlife Society Bulletin 27 : 385-394.

Mysterud A, Meisingset E, Langvatn R, Yoccoz NG, Stenseth NC (2005) Climate-dependent allocation of resources to secondary sexual traits in red deer. Oikos 111: 245-252.

Nadler SA (1995) Microevolution and the genetic structure of parasite populations. J Parasitol 81 : 395–403.

Nathan R, Getz WM, Revilla E, Holyoak M, Kadmon R, Saltz D, Smouse PE (2008) A movement ecology paradigm for unifying organismal movement research, PNAS, 105:19052–19059

Nature Education (2014a) "mutation | Learn Science at Scitable" [en ligne]. Disponible : https://www.nature.com/scitable/definition/mutation-8. Consulté le 25/09/2018.

Nature Education (2014b) The Genetic Variation in a Population Is Caused by Multiple Factors [en ligne]. Disponible : https://www.nature.com/scitable/ebooks/essentials-of-genetics-8/118523195#bookContentViewAreaDivID. Consulté le 11/07/2018.

Neff BD (2004a) Stabilizing selection on genomic divergence in a wild fish population. Proc Natl Acad Sci U S A 101:2381–2385. doi: 10.1073/pnas.0307522100

Neff BD (2004b) Mean d² and divergence time: transformations and standardizations. Journal of Heredity 95 : 165–171.

Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 70 : 3321–3323.

Nei M, Maruyama T, Chakraborty R (1975) The bottleneck effect and genetic variability in populations. Evolution 29 : 1–10.

New LF, Matthiopoulos J, Redpath S, Buckland S (2009) Fitting models ofmultiple hypotheses to partial population data: investigating the causes of cycles in red grouse. American Naturalist 174 : 399–412.

Newey S, Shaw DJ, Kirby A, Monieth P, Hudson PJ, Thirgood SJ (2005) Prevalence, intensity and aggregation of intestinal parasites in mountain hares and their potential impact on population dynamics. International Journal for Parasitology 35 : 367–373.

Newey S, Thirgood S (2004) Parasite-mediated reduction in fecundity of mountain hares. Proc R Soc Lond 271 (Suppl. 6) : S413–S415.

Nielsen MK, Vidyashankar AN, Andersen UV, et al (2010) Effects of fecal collection and storage factors on strongylid egg counts in horses. Veterinary Parasitology 167:55–61. doi:10.1016/j.vetpar.2009.09.043

Noble CW, Bono JM, Pigage HK, Hale DW, Pigage JC (2016) Fine-scale genetic structure in female mule deer (Odocoileus hemionus). West North Am Nat 76:417–426

Nogales M, Rodriguez-Luengo JL, Marrero P (2006) Ecological effects and distribution of invasive non-native on the Canary Islands. Mamm Rev 36:49–65

Northrup JM, Anderson CR, Wittemyer G (2016) Environmental dynamics and anthropogenic development alter philopatry and space-use in a North American cervid. Diversity Distrib 22 : 547–557.

Nowak M a, Tarczy-Hornoch K, Austyn JM (1992) The optimal number of major histocompatibility complex molecules in an individual. Proc Natl Acad Sci 89:10896–10899.

Nussey DH, Coltman DW, Coulson T, Kruuk LEB, Donald A, Morris SJ, Clutton-Brock TH, Pemberton J (2005) Rapidly declining fine-scale spatial genetic structure in female red deer. Mol Ecol 14 : 3395–3405.

O'Connor LJ, Walkden-Brown SW, Kahn LP (2006) Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. Veterinary Parasitology 142 : 1–15.

Olah G, Smith AL, Asner GP, Brightsmith DJ, Heinsohn RG, Peakall R (2017) Exploring dispersal barriers using landscape genetic resistance modelling in scarlet macaws of the Peruvian Amazon. Landsc Ecol 32:445–456

Olano-Marin J, Mueller JC, Kempenaers B (2011a) Correlations between heterozygosity and reproductive success in the blue tit (*Cyanistes caeruleus*): An analysis of inbreeding and single locus effects. Evolution 65:3175–3194. doi: 10.1111/j.1558-5646.2011.01369.x

Olano-Marin J, Mueller JC, Kempenaers B (2011b) Heterozygosity and survival in blue tits (*Cyanistes caeruleus*): Contrasting effects of presumably functional and neutral loci. Mol Ecol 20:4028–4041. doi: 10.1111/j.1365-294X.2011.05177.x

Oliver M., Telfer S, Piertney S. (2009) Major histocompatibility complex (MHC) heterozygote superiority to natural multi-parasite infections in the water vole (*Arvicola terrestris*). Proc R Soc B Biol Sci 276:1119–1128.

Ortego J, Aparicio JM, Calabuig G, Cordero PJ (2007a) Risk of ectoparasitism and genetic diversity in a wild lesser kestrel population. Mol Ecol 16:3712–3720. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03406.x

Ortego J, Calabuig G, Codero PJ, Aparicio JM (2007c) Egg production and individual genetic diversity in lesser kestrels. Mol Ecol 16 : 2383-2392.

Ortego J, Cordero PJ, Aparicio JM, Calabuig G (2007b) No relationship between individual genetic diversity and prevalence of avian malaria in a migratory kestrel. Mol Ecol 16:4858–4866. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03554.x

Osborne AJ, Pearson J, Negro SS, et al (2015) Heterozygote advantage at MHC DRB may influence response to infectious disease epizootics. Mol Ecol 24:1419–1432. doi: 10.1111/mec.13128

Otsen M, Plas ME, Lenstra JA, Roos MH, Hoelstra R (2000) Microsatellite diversity of isolates of the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. Molecular and Biochemical Parasitology 110 : 69–77.

Packer C, Holt RD, Hudson PJ, et al (2003) Keeping the herds healthy and alert: Implications of predator control for infectious disease. Ecol Lett 6:797–802. doi: 10.1046/j.1461-0248.2003.00500.x

Panzacchi M, Van Moorter B, Strand O, Saerens M, Kivimaki I, St. Clair CC, Herfindal I, Boitani L (2016) Predicting the continuum between corridors and barriers to animal movements using Step Selection Functions and Randomized Shortest Paths. J Anim Ecol 85 : 32–42.

Papkou A, Gokhale CS, Traulsen A, Schulenburg H (2016) Host–parasite coevolution: why changing population size matters. Zoology 119 : 330-338.

Parker MA, Spoerke JM (1998) Geographic structure of lineage associations in a plant-bacterial mutualism. J Evol Biol 11 : 549–562.

Palkovacs EP, Moritsch MM, Contolini GM, Pelletier F (2018) Ecology of harvest-driven trait changes and implications for ecosystem management. Front Ecol Environ 16 : 20–28.

Panzacchi M, Van Moorter B, Strand O, Saerens M, Kivimaki I, St. Clair CC, Herfindal I, Boitani L (2016) Predicting the continuum between corridors and barriers to animal movements using Step Selection Functions and Randomized Shortest Paths. J Anim Ecol 85 : 32–42.

Parks LC, Wallin DO, Cushman SA, McRae BH (2015) Landscape-level analysis of mountain goat population connectivity in Washington and southern British Columbia. Conserv Genet 16 : 1195–1207.

Parmesan C (2006) Ecological and evolutionary responses to recent climate change. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 37 : 637–669.

Parrish JK, Edelstein-Keshet L (1999) Complexity, Pattern, and Evolutionary Trade-Offs in Animal Aggregation. Science 284 : 99-101.

Paterson S, Wilson K, Pemberton JM (1998) Major histocompatibility complex variation associated with juvenile survival and parasite resistance in a large unmanaged ungulate population. Proc Natl Acad Sci U S A 95:3714–3719.

Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Mol Ecol Notes 6:288–295

Peakall R, Smouse PE (2012) GenALEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics 28:2537–2539

Pedersen AB, Antonovics J (2013) Anthelmintic treatment alters the parasite community in a wild mouse host. Biol Lett 9: 20130205.

Pedrosa S, Uzun M, Arranz JJ, Gutierrez-Gil B, San rimitivo F, Bayon Y (2005) Evidence of three maternal lineages in near eastern sheep supporting multiple domestication events. Proc R Soc B 272 : 2211–2217.

Peig J, Green AJ (2009) New perspectives for estimating body condition from mass/length data: The scaled mass index as an alternative method. Oikos 118:1883–1891. doi: 10.1111/j.1600-0706.2009.17643.x

Pelletier F (2015) Stratégies de reproduction des mâles du mouflon d'amérique (*Ovis canadensis*).Thèse de doctorat , Université de Sherbrooke, Canada.

Pelletier F, Festa-Bianchet M (2006) Sexual selection and social rank in bighorn rams. Anim Behav 71 : 649–655.

Pelletier F, Mainguy J, Côté SD (2009) Rut-induced hypophagia in male bighorn sheep and mountain goats: Foraging under time budget constraints. Ethology 115:141–151

Pelletier F, Page KA, Ostiguy T, Festa-Bianchet M (2005) Fecal counts of lungworms larvae and reproductive effort in bighorn sheep, *Ovis canadensis*. Oikos 110:473–480.

Pépin D, Morellet N, Goulard M (2009) Seasonal and daily walking activity patterns of free-ranging adult red deer (*Cervus elaphus*) at the individual level. Eur J Wildl Res 55:479–486

Perez-Espona S, Perez-Barberia FJ, Mcleod JE, Jiggins CD, Gordon IJ, Pemberton JM (2008) Landscape features affect gene flow of Scottish Highland red deer (*Cervus elaphus*). Mol Ecol 17:981–996

Perrin C, Allaine D, Le Berre M (1993) Socio-spatial organization and activity distribution of the alpine marmot *Marmota marmota*: Preliminary results. Ethology 93 : 21–30.

Perrin N, Christe P Richner H (1996) On host life-history response to parasitism. Oikos 75 : 317–320.

Peters L, Humble E, Kröcker N, Fuchs B, Forcada J, Hoffman JI (2017) Born blonde: a recessive loss-of-function mutation in the melanocortin 1 receptor is associated with cream coat coloration in Antarctic fur seals. Ecology and Evolution 6 : 5705–5717.

Petit E, Aulagnier S, Bon R, Dubois M, Crouau-Roy B (1997), Genetic structure of populations of the Mediterranean mouflon (*Ovis gmelini*). Journal of Mammalogy, 78 : 459–467.

Pettorelli N, Gaillard JM, Duncan P, Ouellet JP, Van Laere G (2001) Population density and small-scale variation in habitat quality affect phenotypic quality in roe deer. Oecologia 128:400–405.

Pettorelli N, Dray S, Gaillard JM, Chessel D, Duncan P, Illius A, Guillon N, Klein F, Van Laere G (2003) Spatial variation in springtime food resources influences the winter body mass of roe deer fawns. Oecologia 137:363–369

Pfeffer P (1967) Le mouflon de Corse (*Ovis ammon musimon* Schreber, 1782) ; position systématique, écologie et éthologie comparées, Mammalia 31 suppl : 1–262.

Pfeffer P, Genest H (1969) Biologie comparée d'une population de mouflons de Corse (*Ovis ammon musimon*) du parc naturel du Caroux. Mammalia 33 : 165–192.

Pfeifer GP, You YH, Besaratinia A (2005) Mutations induced by ultraviolet light. Mutation Research 571 : 19–31.

Phillips KP, Jorgensen TH, Jolliffe KG, Richardson DS (2017) Evidence of opposing fitness effects of parental heterozygosity and relatedness in a critically endangered marine turtle? J Evol Biol 30:1953–1965.

Pierson, C.A. et al., 1993. Ovine microsatellites at the OarVH34,OarVH58,OarVH61 and OarVH72 loci. Animal Genetics, 24, p.224.

Piertney SB, Oliver MK (2006) The evolutionary ecology of the major histocompatibility complex. Heredity 96:7–21.

Pigeon G, Festa-Bianchet M, Coltman DW, Pelletier F (2016) Intense selective hunting leads to artificial evolution in horn size. Evol Appl 9 : 521–530.

Piry S, Guivier E, Realini A, Martin JF (2012) |SE|S|AM|E| Barcode: NGS-oriented software for amplicon characterization - application to species and environmental barcoding. Mol Ecol Resour 12:1151–1157.

Piry, S., Luikart, G. & Cornuet, J.M., 1999. BOTTLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. Journal of Heredity, 90(4), pp.502–503.

Plard F, Gaillard J, Coulson T, Delorme D, Warnant C, Michallet J, Tuljapurkar S, Krishnakumar S, Bonenfant C, Lyon D, Lyon F-, Biom L De (2015) Quantifying the influence of measured and unmeasured individual differences on demography. J Anim Ecol 84:1434–1445

Plowright RK, Manlove KR, Besser TE, et al (2017) Age-specific infectious period shapes dynamics of pneumonia in bighorn sheep. Ecol Lett 20:1325–1336.

Podgórski T, Scandura M, Jedrzejewska B (2014) Next of kin next door - philopatry and socio-genetic population structure in wild boar. J Zool 294:190–197

Poplin F (1979) Origine du Mouflon de Corse dans une nouvelle perspective paléontologique : par marronnage. Annales de génétique et de sélection animale, INRA Editions 11:133–143. <hal-00893114>

Portanier E, Garel M, Devillard S, Marchand P, Andru J, Maillard D, Bourgoin G (2017) Introduction history overrides social factors in explaining genetic structure of females in Mediterranean mouflon. Ecol Evol 7:1–12

Portanier E, Larroque J, Garel M, Marchand P, Maillard D, Bourgoin G, Devillard S (2018) Landscape genetics matches with behavioral ecology and brings new insight on the functional connectivity in Mediterranean mouflon. Landsc Ecol 33 : 1069-1085.

Poteaux C, Baubet E, Kaminski G, Brandt S, Dobson FS, Baudoin C (2009) Socio-genetic structure and mating system of a wild boar population. Journal of Zoology 278 : 116–125.

Potts WK, Slev PR (1995) Pathogen-based models favoring MHC genetic diversity. Immunol Rev 143:181–197.

Poulin R (2007) Evolutionary Ecology of Parasites, 2nd Edition. Princeton: Princeton University Press.

Preston BT, Stevenson IR, Pemberton JM, Coltman DW, Wilson K (2003) Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the importance of weaponry and testes size to male reproductive success. Proc R Soc Lond B 270 : 633–640.

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155 : 945–959.

Prokopenko CM, Boyce MS, Avgar T (2017) Characterizing wildlife behavioural responses to roads using integrated step selection analysis. J Appl Eco 54:470–479

Puechmaille SJ (2016) The program STRUCTURE does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: sub-sampling and new estimators alleviate the problem. Molecular Ecology Resources 16 : 608-627.

Quéméré E, Galan M, Cosson JF, Klein F, Aulagnier S, Gilot-Fromont E, Merlet J, Bonhomme M, Hewison AJM, Charbonnel N (2015) Immunogenetic heterogeneity in a widespread ungulate: the European roe deer (*Capreolus capreolus*). Molecular Ecology 24 : 3873–3887.

Qviller L, Viljugrein H, Loe LE, Meisingset EL, Mysterud A (2016) The influence of red deer space use on the distribution of *Ixodes ricinus* ticks in the landscape. Parasites & Vectors 9 : 545.

R Core Team (2016) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

Raberg L, Graham AL, ead AF (2009) Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. Phil Trans R Soc B 364 : 37–49.

Ray N, Lehmann A, Joly P (2002) Modeling spatial distribution of amphibian populations: a GIS approach based on habitat matrix permeability. Biodivers Conserv 11 : 2143–2165.

Reding DM, Cushman SA, Gosselink TE, Clark WR (2013) Linking movement behavior and fine-scale genetic structure to model landscape connectivity for bobcats (*Lynx rufus*). Landsc Ecol 28:471–486

Redman E, Packard E, Grillo V, Smith J, Jackson F, Gilleard JS (2008) Microsatellite analysis reveals marked genetic differentiation between *Haemonchus contortus* laboratory isolates and provides a rapid system of genetic fingerprinting. International Journal for Parasitology 38 : 111–122.

Redpath SM, Mougeot F, Leckie FM, Elston DA, Hudson PJ (2006) Testing the role of parasites in driving the cyclic population dynamics of a gamebird. Ecology Letters 9 : 410–418.

Rezaei H (2007) Phylogénie moléculaire du genre *Ovis* (Mouton et Mouflons) – Implications pour la conservation du genre et pour l'origine de l'espèce domestique. Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier Grenoble 1, France.

Rezaei HR, Naderi S, Chintauan-Marquier IC, Taberlet P, Virk AT, Naghash HR, Rioux D, Kaboli M, Pompanon F (2010) Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). Mol Phylogenet Evol 54 :315–326. doi:10.1016/j.ympev.2009.10.037

Říčanová, Š., Bryja, J., Cosson, J. F., Gedeon, C., Choleva, L., Ambros, M., & Sedláček, F., 2011. Depleted genetic variation of the European ground squirrel in Central Europe in both

microsatellites and the major histocompatibility complex gene: Implications for conservation. Conservation Genetics, 12(4), pp.1115–1129.

Richardson JL, Brady SP, Wang IJ, Spear SF (2016) Navigating the pitfalls and promise of landscape genetics. Mol Ecol 25 : 849–863.

Richomme C, Boadella M, Courcoul A, Durand B, Drapeau A, et al. (2013) Exposure of wild boar to *Mycobacterium tuberculosis* complex in France since 2000 is consistent with the distribution of bovine tuberculosis outbreaks in cattle. PLoS ONE 8(10): e77842.

Rieu L (2007) LIFE NATURE Conservation et extension des populations de mouflons corses en Corse - Projet LIFE03NAT/F/000099 (2003-2007). Rapport technique, Parc Naturel Régional de Corse.

Rivals F (2002) Les petits bovidés pléistocènes dans le bassin méditerranéen et le Caucase. Étude paléontologique, biostratigraphique, archéozoologique et paléoécologiqueskogan. Thèse de doctorat: Université de Perpignan, Perpignan, France.

Robasky K, Lewis NE, Church GM (2014) The role of replicates for error mitigation in next-generation sequencing. Nat Rev Genet 15:56–62. doi: 10.1038/nrg3655

Robinson RA, Crick HQP, Learmonth JA, Maclean IMD, Thomas CD, Bairlein F, Forchhammer MC, Francis Cm, Gill JA, Godley BJ, Harwood J, Hays GC, Huntley B, Hutson AM, Pierce GJ, Rehfisch MM, Sims DW, Santos MB, Sparks TH, Stroud DA, Visser ME (2009) Travelling through a warming world: climate change and migratory species. Endang Species Res 7 : 87-99.

Robinson SJ, Samuel MD, Lopez DL, Shelton P (2012) The walk is never random: Subtle landscape effects shape gene flow in a continuous white-tailed deer population in the Midwestern United States. Mol Ecol 21:4190–4205

Rodríguez JL, Rodríguez JC, Ramos MT (1988), Autumn diet selectivity of the Corsica mouflon (*Ovis ammon musimon* Schreber, 1782) on Tenerife (Canary Islands). Mammalia, 4 : 476–481.

Roeber F, Jex AR, Gasser RB (2013) Impact of gastrointestinal parasitic nematodes of sheep, and the role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance - An Australian perspective. Parasites and Vectors 6:1–13. doi: 10.1186/1756-3305-6-153

Roffler GH, Schwartz MK, Pilgrim KL, Talbot SL, Sage GK, Adams LG, Luikart G (2016) Identification of landscape features influencing gene flow: How useful are habitat selection models? Evol Appl 9:805–817

Roffler GH, Talbot SL, Luikart G, Sage GK, Pilgrim KL, Adams LG, Schwartz MK (2014) Lack of sex-biased dispersal promotes fine-scale genetic structure in alpine ungulates. Conserv Genet 15 : 837–851.

Ronce O (2007) How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal evolution. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics, Annu Rev Ecol Evol Syst 38 : 231-253.

Rosatte RC, Power MJ, Malcinnes CD, Campbell JB (1992) Trap-vaccinate-release and oral vaccination for rabies control in urban skunks, raccoons and foxes. Journal of Wildlife Diseases 28 : 562-571.

Rose H, Wang T, Van Dijk J, Morgan E (2015) GLOWORM-FL: A simulation model of the effects of climate and climate change on the free-living stages of gastro-intestinal nematode parasites of ruminants. Ecol Modell 297:232–245.

Rousset F (2000) Genetic differentiation between individuals. J Evol Biol 13:58–62

Rozsa J, Strand TM, Montadert M, Kozma R, Hoglund J (2016) Effects of a range expansion on adaptive and neutral genetic diversity in dispersal limited Hazel grouse (*Bonasa bonasia*) in the French Alps. Conserv Genet 17 : 401–412.

Ruckstuhl KE (2007) Sexual segregation in vertebrates: proximate and ultimate causes. Integrative and Comparative Biology 47 : 245–257.

Ruckstuhl KE, Neuhaus P (2006) Sexual segregation in vertebrates - ecology of the two sexes. Cambridge University Press

Ruiz-Lopez M. J, Monello RJ, Gompper ME, Eggert LS (2012) The effect and relative importance of neutral genetic diversity for predicting parasitism varies across parasite taxa. PLoS One 9:e45404.

Ryder ML (1983) Sheep and man. London: Duckworth

Saccheri I, Kuussaari M, Kankare M, Vikman P, Fortelius W, Hanski I (1998) Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulations. Nature 392 : 491-494.

Saddiqi HA, Jabbar A, Sarwar M, et al (2011) Small ruminant resistance against gastrointestinal nematodes: A case of *Haemonchus contortus*. Parasitol Res 109:1483–1500. doi: 10.1007/s00436-011-2576-0

Said S, Servanty S (2005) The influence of landscape structure on female roe deer home-range size. Lands Ecol 20 : 1003–1012.

Sanchis F (2018) …. Rapport EPHE, Montpellier, France.

Samuel WM, Pybus MJ, Kocan AA (2001) Parasitic diseases of wild mammals 2nd edition. Iowa State University Press, Ames

Santin-Duran M, Alunda JM, Hoberg EP (2008) Age distribution and seasonal dynamics of abomasal helminths in wild red deer from central Spain. J Parasitol 94 : 1031–1037.

Saunders D, Hobbs RJ, Margules CR (1991) Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. Conservation Biology 5 : 18–32.

Sayers G, Good B, Hanrahan JP, Ryan M, Angles JM, Sweeney T (2005) Intron 1 of the interferon c gene : Its role in nematode resistance in Suffolk and Texel sheep breeds. 79:191–196.

Sayers G, Sweeney T (2005) Gastrointestinal nematode infection in sheep – a review of the alternatives to anthelmintics in parasite control. Animal Health Research Reviews 6 : 159–171.

Schmidt JI, Ver Hoef JM, Bowyer RT (2007) Antler size of Alaskan moose Alces alces gigas: effects of population density, hunter harvest and use of guides. Wildlife Biology 13 : 53-65.

Schwaiger FW, Gostomski D, Stear MJ, Duncan JL, McKellar QA, Epplen JT, Buitkamp J (1995) An ovine major histocompatibility complex DRB1 allele is associated with low faecal egg counts following natural, predominantly *Ostertagia circumcincta* infection. Int J Parasitol 25:815–822.

Schwanz LE (2008) Chronic parasitic infection alters reproductive output in deer mice. Behav Ecol Sociobiol 62 : 1351–1358.

Schwartz MK, McKelvey KS (2009) Why sampling scheme matters: the effect of sampling scheme on landscape genetic results. Conserv Genet 10 : 441–452.

Schwensow N, Fietz J, Dausmann KH, Sommer S (2007) Neutral versus adaptive genetic variation in parasite resistance: importance of major histocompatibility complex supertypes in a free-ranging primate. Heredity 99:265–277. doi: 10.1038/sj.hdy.6800993

Schwensow N, Mazzoni CJ, Marmesat E, Fickel J, Peacock D, Kovaliski J, Sinclair R, Cassey P, Cooke B, Sommer S (2017) High adaptive variability and virus-driven selection on major histocompatibility complex (MHC) genes in invasive wild rabbits in Australia. Biol Invasions 19 : 1255–1271.

Segelbacher G, Cushman SA, Epperson BK, Fortin MJ, Francois O, Hardy OJ, Holderegger R, Taberlet P, Waits LP, Manel S (2010) Applications of landscape genetics in conservation biology: Concepts and challenges. Conserv Genet 11:375–385

Seidler RG, Long RA, Berger J, Bergen S, Beckmann JP (2014) Identifying impediments to long-distance mammal migrations. Conserv Biol 29:99–109

Seigle-Ferrand J (2017) Déterminants et valeur adaptative de la socialité chez une espèce d'ongulé en fission-fusion : Le mouflon méditerranéen (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.). Rapport de Master 2, Université de Lyon, France.

Selonen V, Hanski IK (2010) Condition-dependent, phenotype-dependent and genetic-dependent factors in the natal dispersal of a solitary rodent. J Anim Ecol 79 : 1093–1100.

Shackleton, DM, IUCN/SSC Caprinae Specialist Group (1997) Wild sheep and goats and their 849 relatives: status survey and conservation action plan for Caprinae. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK

Shalom, A., Soller, M. & Friedman, A., 1993. Dinucleotide repeat polymorphism at the bovine HUJ616 locus. Animal Genetics, 24, p.327.

Shen D, Wan J, Zhang D, Peng Z, Yang T, Wang Z, Bowman D, Hou Z, Liu Z (2017) Genetic diversity of *Haemonchus contortus* isolated from sympatric wild blue sheep (*Pseudois nayaur*) and sheep in Helan Mountains, China. Parasites & Vectors 10 : 437.

Shirk AJ, Landguth EL, Cushman SA (2017) A comparison of individual-based genetic distance metrics for landscape genetics. Mol Ecol Resour 17:1308–1317

Shirk AJ, Landguth EL, Cushman SA (2018) A comparison of regression methods for model selection in individual-based landscape genetic analysis. Mol Ecol Resour 18:55–67

Shirk AJ, Wallin DO, Cushman SA, Rice CG, Warheit KI (2010) Inferring landscape effects on gene flow: A new model selection framework. Mol Ecol 19:3603–3619

Sigurdardottir S, Borsch C, Gustafsson K, Andersson L (1991) Cloning and sequence analysis of 14 DRB alleles of the bovine major histocompatibility complex by using the polymerase chain reaction. Anim Genet 22:199–209.

Silvestre A, Sauve C, Cortet J, Cabaret J (2009) Contrasting genetic structures of two parasitic nematodes, determined on the basis of neutral microsatellite markers and selected anthelmintic resistance markers. Mol Ecol 18 : 5086–5100.

Simi P (1964) Le climat de la Corse (Imprimerie nationale).

Simpkins CE, Dennis TE, Etherington TR, Perry GLW (2018) Assessing the performance of common landscape connectivity metrics using a virtual ecologist approach. Ecological Modelling 367 : 13–23.

Simpson S, Blampied N, Peniche G, Dozières A, Blackett T, Coleman S, Cornish N, Groombridge JJ (2013) Genetic structure of introduced populations: 120-year- old DNA footprint of historic introduction in an insular small mammal population. Ecology and Evolution 3 : 614–628.

Sin YW, Annavi G, Dugdale HL, et al (2014) Pathogen burden, co-infection and major histocompatibility complex variability in the European badger (*Meles meles*). Mol Ecol 23:5072–5088. doi: 10.1111/mec.12917

Singh NJ, Yoccoz NG, Lecomte N, Côté SD, Fox JL (2010) Scale and selection of habitat and ressources: Tibetan argali (*Ovis ammon hodgsoni*) in high-altitude rangelands. Can J Zool 88:436–447. https://doi-org.inee.bib.cnrs.fr/10.1139/Z10-015

Skryabin KI, Shikhobalova NP, Schulz RS, Popova TI, Boev SN, Delyamure SL (1961) Key to Parasitic Nematodes, Vol. 3. Strongylata. Israel Program for Scientific Translation, Jerusalem.

Slate D, Rupprecht CE, Rooney JA, onovan D, Lein DH (2005) Status of oral rabies vaccination in wild carnivores in the United States. Virus Research 111 : 68–76.

Slate J, Kruuk LEB, Marshall T, Pemberton JM, Clutton-Brock TH (2000) Inbreeding depression in• uences lifetime breeding success in a wild population of red deer (*Cervus elaphus*). Mol Ecol 9 : 801–808.

Slate J, Pemberton J (2006) Does reduced heterozygosity depress sperm quality in wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)? Curr Biol 16:790–791. doi: 10.1016/j.cub.2006.08.047

Slatkin M (1985) Gene Flow in Natural Populations. Annual Review of Ecology and Systematics 16: 393-430.

Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. Science 236 : 787-792.

Smith KF, Acevedo-Whitehouse K, Pedersen AB (2009) The role of infectious diseases in biological conservation. Anim Conserv 12:1–12. doi: 10.1111/j.1469-1795.2008.00228.x

Sommer S (2005) The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation. Front Zool 2:1–18.

Soulsbury CD, Lebigre C (2017) Viability selection creates negative heterozygosity–fitness correlations in female Black Grouse *Lyrurus tetrix*. J Ornithol 159:93–101. doi: 10.1007/s10336-017-1474-3

Spear SF, Cushman SA, McRae BH (2016) Resistance surface modeling in landscape genetics. In Lanscape genetics : concepts, methods, applications (Balkehnol N, Cushman S, Stofer A, Waits L). John Wiley & Sons Ltd, United Kingdom.

Spurgin LG, Richardson DS (2010) How pathogens drive genetic diversity: MHC, mechanisms and misunderstandings. Proc R Soc B Biol Sci 277:979–988.

Städele, V., Van Doren, V., Pines, M., Swedell, L., & Vigilant, L. (2015) Fine-scale genetic assessment of sex-specific dispersal patterns in a multilevel primate society. Journal of Human Evolution, 78, pp.103–113.

Stephen, C.L., Whittaker, D. G., Gillis, D., Cox, L. L., & Rhodes, O. E., (2005). Genetic consequences of reintroductions: an example from Oregon pronghorn antelope (*Antilocapra americana*). Journal of Wildlife Management, 69(4), pp.1463–1474.

Stien A, Irvine RJ, Ropstad E, Halvorsen O, Langvatn R, Albon SD (2002) The impact of gastrointestinal nematodes on wild reindeer: experimental and cross-sectional studies. Journal of Animal Ecology 71 : 937-945.

Stoffel MA, Esser M, Kardos M, et al (2016) inbreedR: an R package for the analysis of inbreeding based on genetic markers. Methods Ecol Evol 7:1331–1339. doi: 10.1111/2041-210X.12588

Storfer A, Murphy MA, Spear SF, Holderegger R, Waits LP (2010) Landscape genetics: where are we now? Molecular Ecology 19 : 3496–3514.

Storz JF (1999) Genetic consequences of mammalian social structure. Journal of Mammalogy, 80 : 553–569.

Sugg, D.W. Chesser, R. K., Dobson, F. S., & Hoogland, J. L., 1996. Population genetics meets behavioral ecology. Trends in Ecology and Evolution, 11(8), pp.338–342.

Sutherland I, Scott I (2010) Gastrointestinal Nematoes of sheep and cattle. Wiley-Blackwell.

Sweeney T, Hanrahan JP, Ryan MT, Good B (2016) Immunogenomics of gastrointestinal nematode infection in ruminants - breeding for resistance to produce food sustainably and safely. Parasite Immunol 38:569–586.

Szulkin M, Bierne N, David P (2010) Heterozygosity-fitness correlations: A time for reappraisal. Evolution 64:1202–1217. doi: 10.1111/j.1558-5646.2010.00966.x

Szulkin M, David P (2011) Negative heterozygosity-fitness correlations observed with microsatellites located in functional areas of the genome. Mol Ecol 20:3949–3952.

Taylor EL (1935) Seasonal fluctuation in the number of eggs in the faeces of ewes. J. Parasit. 21: 175–179.

Taylor HR, Colbourne RG, Robertson HA, Nelson NJ, Allendorf FW, Ramstad KAM (2017) Cryptic inbreeding depression in a growing population of a long-lived species. Mol Ecol 26 : 799–813.

Taylor M, Coop RL, Wall R (2015) Veterinary parasitology. Fourth edition. Wiley-Blackwell.

Taylor MA, Coop RL, Wall RL (2014) Veterinary Parasitology, 4th Edition. Wiley-Blackwell.

Taylor P, Fahrig L, With K (2006) Landscape connectivity: A return to the basics. In Crooks KR, M. Sanjayan M (ed) Connectivity Conservation. Cambridge University Press, Cambridge, pp 29–43

Taylor PD, Fahrig L, Henein K, Merriam G (1993) Connectivity is a vital element of landscape structure. Oikos 68 : 571–573.

Thouless CR, Dublin HT, Blanc JJ, Skinner DP, Daniel TE, Taylor RD, Maisels F, Frederick HL, Bouche P (2016) African elephant status report 2016 : an update form the African elephant database. Occasional paper series of the IUCN species survival commission, N0 60 IUCN */ SSC Africa Elephant Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland.

Tizard IR (2004) Veterinary Immunology : An Introduction, 7th edition. Saunders, USA.

Toledano-Diaz A, Santiago-Moreno J, Gomez-Brunet A, Pulido-Pastor A, Lopez-Sebastian A (2007) Horn growth related to testosterone secretion in two wild Mediterranean ruminant species: The Spanish ibex (*Capra pyrenaica hispanica*) and European mouflon (*Ovis orientalis musimon)*. Animal Reproduction Science 102 : 300-307.

Tollefson TN, Shipley LA, Myers WL, Keisler DH, Dasgupta N (2010) Influence of summer and autumn nutrition on body condition and reproduction in lactating mule deer. The Journal of Wildlife Management 74 : 974-986.

Tollenaere C, Bryja J, Galan M, Cadet P, Deter J, Chaval Y, Berther K, Salvador AR, Voutilainen L, Laakkonen J, Henttonen H, Cosson JF, Charbonnel N (2008) Multiple parasites mediate balancing selection at two MHC class II genes in the fossorial water vole: insights from multivariate analyses and population genetics. J Evol Biol 21:1307–1320.

Tompkins DM, Dunn AM, Smith MJ, Telfer S (2011) Wildlife diseases: from individuals to ecosystems. J Anim Ecol 80 : 19–38.

Tournant P (2013) Impact du paysage sur la distribution spatiale et génétique des colonies de petits rhinolophes. Thèse de doctorat, Université de Franche-Comté, Besançon, France.

Toussaint JF, Swynghedauw B, Gilles B (2012) L'homme peut-il s'adapter à lui-même ?. Versailles, France: Editions Quæ.

Travis JMJ, Delgado M, Bocedi G, Baguette M, Barton K, Bonte D, Boulangeat I, Hogdson JA, Kubish A, Penteriani V, Saastamoinen M, Stevens VM, Bullock JM (2013) Dispersal and species' responses to climate change. Oikos 122 : 1532-1540.

Trefilov A, Berard J, Krawczak M, Schmidtke J (2000) Natal dispersal in rhesus macaques is related to serotonin transporter gene promoter variation. Behav Genet 30 : 295–301.

Tripet F, Richner H (1997) Host responses to ectoparasites: food compensation by parent blue tits. Oikos 78 : 557–561.

Tronchot M (2008) Cartographie des habitats du massif du Caroux-Espinouse (Hérault) à partir de photos aeriennes de 2005. Technical report. Groupement d'Interêt Environnemental et Cynégétique du Caroux-Espinouse - Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, Paris, France.

Tsitrone A, Rousset F, David P (2001) Heterosis, marker mutational processes and population inbreeding history. Genetics 159 : 1845–1859.

Turner MG (2005) Landscape ecology: what is the state of the science?. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 36 : 319–44.

Uloth W (1972) To the history of the distribution, introduction and cross-breeding of the Tyrrhenis mouflon in Europe and oversea. Acta Theriologica 17 : 412-413.

U.S. Fish andWildlife Service (2007) Recovery plan for Sierra Nevada bighorn sheep. U.S. Fish and Wildlife Service, Sacramento, California, USA.

UICN France, MNHN, SFEPM & ONCFS (2017). La Liste rouge des espèces menacées en France – Chapitre Mammifères de France métropolitaine. Paris, France.

Unterthiner S, Ferretti F, Rossi L, Lovari S (2012) Sexual and seasonal differences of space use in Alpine chamois. Ethol Ecol Evol 24:257–274

Vaiman, D. et al., 1994. A set of 99 cattle microsatellites: characterization, synteny mapping, and polymorphism. Mammalian Genome, 5(5), pp.288–297.

Valdez R (2008) *Ovis orientalis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: 867 e.T15739A5076068.

Vale PF, Little TJ (2012) Fecundity compensation and tolerance to a sterilizing pathogen in Daphnia. J Evol Biol 25 : 1888–1896.

Väli Ü, Einarsson A, Waits L, Ellegren H (2008) To what extent do microsatellite markers reflect genome-wide genetic diversity in natural populations? Mol Ecol 17:3808–3817. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03876.x

Valilou RH, Rafat SA, Notter DR, et al (2015) Fecal egg counts for gastrointestinal nematodes are associated with a polymorphism in the MHC-DRB1 gene in the Iranian Ghezel sheep breed. Front Genet 6:1–11. doi: 10.3389/fgene.2015.00105

Van Dijk J, Sargison ND, Kenyon F, Skuce PJ (2010) Climate change and infectious disease: Helminthological challenges to farmed ruminants in temperate regions. Animal 4:377–392. doi: 10.1017/S1751731109990991

van Etten J (2017) R Package gdistance: Distances and routes on geographical grids. J Stat Softw 76: 1–21

Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Mol Ecol Notes 4:535–538

van Noordwijk AJ & de Jong G (1986) Acquisition and allocation of resources: their influence on variation in life history tactics. American Naturalist 128 : 137-142.

van Schaik J, Kerth G (2017) Host social organization and mating system shape parasite transmission opportunities in three European bat species . Parasitol Res 116: 589-599.

van Strien MJ, Keller D, Holderegger R (2012) A new analytical approach to landscape genetic modelling: least-cost transect analysis and linear mixed models. Molecular Ecology 21 : 4010–4023.

Vander Wal E, Paquet PC, Andraés JA (2012) Influence of landscape and social interactions on transmission of disease in a social cervid. Mol Ecol 21:1271–1282. doi: 10.1111/j.1365-294X.2011.05431.x

Vander Wal E, Delorme AG, Festa-Bianchet M, Pelletier F (2016) Dyadic associations and individual sociality in bighorn ewes. Behavioral Ecology 27 : 560–566.

Vanpé C, Debeffe L, Galan M, Hewison AJM, Gaillard JM, Gilot-Fromont E, Morellet N, Verheyden H, Cosson JF, Cargnelutti B, Merlet J, Quéméré E (2016) Immune gene variability influences roe deer natal dispersal. Oikos 125 : 1790–1801.

Vanpé C, Gaillard JM, Kjellander P, Mysterud A, Magnien P, Delorme D, Van Laere G, Klein F, Liberg O, Hewison AJM (2007) Antler size provides an honest signal of male phenotypic quality in roe deer. The American Naturalist 169 : 481–493.

Velando A, Barros A, Moran P (2015) Heterozygosity–fitness correlations in a declining seabird population. Mol Ecol 24 : 107-1018.

Vergara M, Basto MP, Madeira MJ, Gómez-Moliner BJ, Santos-Reis M, Fernandes C, Ruiz-Gonzalez A (2015) inferring population genetic structure in widely and continuously distributed carnivores: the stone marten (*Martes foina*) as a case study. PLoS ONE 10(7): e0134257.

Vigne JD (1983) Les mammifères post-glaciaires de Corse. Etude arch6ozoologique. Gallia Préhistoire, XXVI supplement, Editions du CNRS, Paris, France.

Vigne JD (1988) Paléontologie, archéologie et mammalogie. XIème Colloque Francophone de Mammalogie, Maison-Alfort, France.

Volterra V (1928) Variations and fluctuations of the number of individuals in animal species living together. J Cons Int Explor Mer 3 : 3–51.

VonHardenberg A, Bassano B, Festa—Bianchet M, Luikart G, Lanfranchi P, Coltman D (2007) Age-dependent genetic effects on a secondary sexual trait in male Alpine ibex, *Capra ibex*. Molecular Ecology 16 : 1969–1980.

Waits L, Storfer A (2016) Basics ofpopulation genetics: quantifying neutral andadaptive genetic variationfor landscape genetic studies in Lanscape genetics : concepts, methods, applications (Balkehnol N, Cushman S, Stofer A, Waits L). John Wiley & Sons Ltd, United Kingdom.

Walther GR, Post E, Convey P, Menzel A, Parmesan C, Beebee TJC, Fromentin JM, Hoegh-Guldberg O, Bairlein F, et al. (2002), Ecological responses to recent climate change. Nature 416 : 389–395.

Wasserman TN, Cushman SA, Schwartz MK, Wallin DO (2010) Spatial scaling and multi-model inference in landscape genetics: *Martes americana* in northern Idaho. Landsc Ecol 25:1601–1612

Wasserman, T.N. Cushman, S. A., Shirk, A. S., Landguth, E. L., & Littell, J. S., 2012. Simulating the effects of climate change on population connectivity of American marten (*Martes americana*) in the northern Rocky Mountains, USA. Landscape Ecology, 27(2), pp.211–225.

Wegner KM, Kalbe M, Kurtz J, Reusch TBH, Milinski M (2003a) Parasite selection for immunogenetic optimality. Science 301 : 1343–1343.

Wegner KM, Reusch TBH, Kalbe M (2003b) Multiple parasites are driving major histocompatibility complex polymorphism in the wild. Journal of Evolutionary Biology 16 : 224-232.

Weinberg, W., 1908 U¨ ber den Nachweis der Vererbung beim Menschen. Jahresh. Ver. Vaterl. Naturkd. Wu¨rttemb. 64: 369–382 (English translations in Boyer 1963 and Jameson 1977).

Weir, B.S. & Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution, 38(6), pp.1358–1370.

White KS, Gregovich DP, Barten NL, Scott R (2012) Moose population ecology and habitat use along the Juneau Access road corridor, Alaska. Final wildlife research report. ADF&G/DWC/WRR-2012-03. Alaska Department of Fish and Game, Juneau, AK. USA

Whiteley AR, Fitzpatrick SW, Funk WC, Tallmon DA (2015) Genetic rescue to the rescue. Trends in Ecology & Evolution 30 : 42-49.

Wiens JA, Stenseth NC, van Horne B, Ims RA (1993) Ecological mechanisms and landscape ecology. Oikos 66 : 369–80.

Williams BW, Scribner KT (2010) Effects of multiple founder populations on spatial genetic structure of reintroduced American martens. Mol Ecol 19 : 227–240.

Wilson AJ, Nussey DH (2009) What is individual quality? An evolutionary perspective. Trends Ecol Evol 25:207–214. doi:10.1016/j.tree.2009.10.002

Wilson AJ, Nussey DH (2010) What is individual quality? An evolutionary perspective. Trends Ecol Evol 25:207–214.

Wilson RE, Farley SD, McDonough J, Talbot SL, Barboza PS (2015) A genetic discontinuity in moose (*Alces alces*) in Alaska corresponds with fenced transportation infrastructure. Conserv Genet 16 : 791–800.

Wisenden BD, Goater CP, James CT (2009) Behavioral defenses against parasites and pathogens. In : Fish defenses. Volume 2: pathogens, parasites and predators (Zaccone G, Perrière C, Mathis A, Kapoor BG, Eds). Science Publisher, Inc. USA

Woodford MH, Rossiter PB (1993) Disease risks associated with wildlife translocation projects. Rev Sci Tech 12:115–135. doi: 10.1007/978-94-011-0721-1_9

Woodroffe R (1999) Managing disease threats to wild mammals. Animal Conservation 2 : 185–193.

Worley K, Strobeck C, Arthur A, Carey J, Schwantje H, Veitch A, Coltman DW (2004) Population genetic structure of North American thinhorn sheep (*Ovis dalli*). Mol Ecol 13:2545–2556

Wright S (1931) Evolution in Mendelian populations. Genetics 16: 97-159

Wright S (1943) Isolation by distance. Genetics, 28, 114–138.

Wright S (1946) Isolation by distance under diverse systems of mating. Genetics, 31, 39–59

Yang J, Jiang Z, Zeng Y, Turghan M, Fang H, et al. (2011) Effect of Anthropogenic Landscape Features on Population Genetic Differentiation of Przewalski's Gazelle: Main Role of Human Settlement. PLoS ONE 6(5): e20144.

Yoseph S, Smith DG, Mengitsu A, Teklu F ? Firew T, Betere Y (2005) Seasonal variation in the parasite burden and body condition of working donkeys in east Shewa and west Shewa regions of Ethiopia. Tropical Animal Health and Production 37 Suppl 1 : 35-45.

Zahavi A (1975) Mate selection: a selection for handicap. Journal of Theoretical Biology 53 : 205e214.

Zahavi A, Zahavi A (1997) The handicap principle: a missing piece of drawin's puzzle. New York: Oxford University Press.

Zeller KA, McGarigal K, Whiteley AR (2012) Estimating landscape resistance to movement: A review. Landsc Ecol 27:777–797

Zeller KA, Creech TG, Millette KL, Crowhurst RS, Long RA, Wagner HH, Balkenhol N, Landguth EL (2016) Using simulations to evaluate Mantel-based methods for assessing landscape resistance to gene flow. Ecol Evol 6:4115–4128

Zeller KA, Jennings MK, Vickers TW, Ernest HB, Cushman SA, Boyce WM (2018) Are all data types and connectivity models created equal? Validating common connectivity approaches with dispersal data. Diversity and Distributions 24 : 868–879.

Zimmermann B, Nelson L, Wabakken P, Sand H, Liberg O (2014) Behavioral responses of wolves to roads: Scale-dependent ambivalence. Behav Ecol 25:1353–1364

Zuk M, McKean KA (1996) Sex differences in parasite infections: patterns and processes. Int J Parasitol 26 : 1009–1024.

Zuur AF, Ieno EN, Elphick CS (2010) A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. Methods Ecol Evol 1:3–14. doi: 10.1111/j.2s041-210X.2009.00001.x

Résumé

En utilisant comme cas d'étude le mouflon Méditerranéen (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.), les objectifs de cette thèse étaient de mieux comprendre comment sont liés diversité génétique, comportement des individus, flux de gènes et dynamique parasitaire. Au travers d'approches de génétique des populations et de génétique du paysage, nous avons pu mettre en évidence que la structure génétique spatiale de la population étudiée était impactée par son histoire d'introduction, sa structure socio-spatiale et le paysage dans lequel elle évolue. Etant donné l'impact de ces divers éléments sur les flux de gènes des mouflons, nous nous attendions à ce qu'ils déterminent également les flux de parasites dans la population. Nos résultats ont, au contraire, révélé que les parasites circulent mieux que les gènes de mouflons dans la population. Enfin, nous avons montré que les capacités de résistance des hôtes face à leurs parasites dépendaient de la diversité génétique neutre et adaptative, notamment de l'hétérozygotie d'un gène lié à l'immunité. Les résultats de ce travail décrivent avec précision la distribution de la variabilité génétique et son lien avec les risques sanitaires dans la population d'étude, apportant ainsi des informations cruciales pour la mise en place de stratégies de gestion et de conservation des populations de mouflons dans le contexte actuel de changements globaux et de réémergences de maladies.

Mots clefs: Génétique des populations, Génétique du paysage, Immunocompétence, Ongulés sauvages, Parasitisme

Abstract

Using as a case study the Mediterranean mouflon (*Ovis gmelini musimon* × *Ovis* sp.), we aimed at better understanding how are linked genetic diversity, individual behaviour, gene flows and parasitic dynamic. Using population and landscape genetics approaches, we showed that the spatial genetic structure of the studied population was determined by its introduction history, its socio-spatial structure and the landscape in which it evolves. Given the impact of these elements on mouflon gene flow, we expected them to also determine parasite transmission in the population. Our results nevertheless evidenced that parasite are better dispersed than mouflon genes. Finally, we showed that host resistance to parasites depends on neutral and adaptive genetic diversity, and more specifically on heterozygosity at a immunity-linked locus. Our results precisely describe genetic variability spatial distribution and its link with sanitary risks in the studied population, bringing crucial information for wild sheep population management and conservation in the current context of global changes and disease reemergence.

Keywords: Population genetics, Landscape genetics, Immunocompetence, Wild Ungulates, Parasitism