

# TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	7
<b>1ère PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>CHAPITRE I : PRESENTATION DU LEMUR CORONATUS</b>	<b>11</b>
<b>I MOTIVATIONS DU CHOIX DE CETTE ESPECE</b>	<b>11</b>
<b>II SA PLACE DANS LA CLASSIFICATION DES PRIMATES</b>	<b>12</b>
<b>A) Ordre des Primates : taxonomie</b>	<b>12</b>
<b>B) Sous-ordre des Prosimiens</b>	<b>12</b>
1. Appartenance à l'ordre des Primates	12
2. Particularités anatomiques et physiologiques	13
3. Les différentes superfamilles	14
<b>III SA MORPHOLOGIE</b>	<b>15</b>
<b>IV SA REPARTITION GEOGRAPHIQUE</b>	<b>16</b>
<b>V SON ECOLOGIE EN MILIEU NATUREL</b>	<b>17</b>
<b>A) Habitat</b>	<b>17</b>
1. Répartition selon le type de végétation	17
2. Répartition selon le niveau de végétation	18
<b>B) Ressources : eau et nourriture</b>	<b>18</b>
<b>C) Activités et rythme de vie</b>	<b>19</b>
<b>D) Vie de locomotion</b>	<b>21</b>
<b>E) Vie de reproduction</b>	<b>21</b>

<b>F) Structure sociale</b>	<b>22</b>
1. Relations intraspécifiques entre groupes	22
2. Relations entre membres du groupe	23
<b>G) Densité de population</b>	<b>23</b>
<b>H) Prédateurs et réactions de défense</b>	<b>24</b>
<b>VI SA CONSERVATION EN MILIEU NATUREL</b>	<b>25</b>
<b>A) Situation générale</b>	<b>25</b>
<b>B) Situation particulière du site d'Ankarana</b>	<b>28</b>
<b>C) Une espèce menacée d'extinction</b>	<b>29</b>
<b>D) Statut de conservation des réserves</b>	<b>30</b>
<b>E) Situation sur le terrain</b>	<b>31</b>
<b>F) Solutions proposées</b>	<b>31</b>
<b>VII STRUCTURE ET EVOLUTION DE LA POPULATION CAPTIVE MONDIALE</b>	
<b>A) Historique de la population captive mondiale de <i>L. coronatus</i></b>	<b>32</b>
<b>B) Structure de la population captive mondiale de <i>L. coronatus</i> de 1955 à déc 1998</b>	
<b>C) Situation de la population captive mondiale de <i>L. coronatus</i> en déc. 1998</b>	<b>33</b>
<b>D) Reproduction dans la population captive mondiale de <i>L. coronatus</i></b>	<b>35</b>
1. Fécondité	35
2. Natalité	36
<b>E) Mortalité dans la population captive mondiale de <i>L. coronatus</i></b>	<b>38</b>
<b>CHAPITRE II : PHYSIOLOGIE REPRODUCTRICE</b>	<b>39</b>
<b>I PHYSIOLOGIE REPRODUCTRICE CHEZ LE LEMUR CORONATUS FEMELLE</b>	
<b>A) Particularités morphologiques de l'appareil génital femelle</b>	<b>40</b>
<b>B) Données actuelles concernant leur physiologie reproductrice</b>	<b>40</b>
<b>C) Variations morphologiques et cytologiques au cours du cycle oestral</b>	<b>41</b>
<b>II PHYSIOLOGIE REPRODUCTRICE CHEZ LE LEMUR CORONATUS MALE</b>	
<b>A) Particularités morphologiques de l'appareil génital mâle</b>	<b>42</b>
<b>B) Variations morphologiques aux cours d'une saison de reproduction</b>	<b>43</b>

### **III ETUDES COMPARATIVES AU SEIN DE LA FAMILLE DES LEMURIDES**

<b>A) Durée du cycle et durée de gestation</b>	<b>44</b>
<b>B) Nombre de cycles par saison de reproduction</b>	<b>45</b>
<b>C) Synchronisation des cycles</b>	<b>46</b>
<b>D) Déterminisme de l'entrée en saison de reproduction</b>	<b>46</b>

### **IV DONNEES DE COMPARAISON CHEZ DIFFERENTES ESPECES DE PROSIMIENS**

<b>A) Etudes hormonales de la fonction de reproduction</b>	<b>47</b>
1. Etude morphologique et hormonale chez le <i>Lemur catta</i> mâle	47
2. Etude hormonale durant le cycle oestral pour les femelles, et tout au long de l'année chez les mâles, dans trois espèces différentes de Lémuridés	47
3. Données concernant les variations des hormones sexuelles et leurs effets comportementaux chez le <i>L. catta</i> femelle	50
4. Effet du vieillissement sur le comportement sexuel et la fonction gonadotrope du mâle Microcèbe	53
<b>B) Etudes histologiques : variations saisonnières du cycle de l'épithélium séminifère</b>	
1. Chez le <i>Microcebus murinus</i>	53
2. Chez l' <i>Eulemur fulvus mayottensis</i>	54

## **IIème PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE I : ANIMAUX, MATERIEL ET METHODES**

<b>I ANIMAUX</b>	<b>57</b>
<b>A) Description des sujets d'étude</b>	<b>57</b>
<b>B) Hébergement</b>	<b>58</b>
<b>C) Alimentation et abreuvement</b>	<b>60</b>
<b>D) Facteurs d'ambiance</b>	<b>60</b>

<b>II PROTOCOLE EXPERIMENTAL</b>	<b>61</b>
<b>A) Modifications morphologiques</b>	<b>61</b>
1. Chez les femelles	61
2. Chez les mâles	62
<b>B) Frottis vaginal</b>	<b>63</b>
1. Capture et contention	63
2. Prélèvement	63
3. Etalement sur lame	63
4. Fixation	64
5. Coloration	64
6. Interprétation	65
<b>C) Dosages hormonaux sériques</b>	<b>66</b>
1. Contention	66
2. Prélèvement	66
3. Centrifugation et congélation	67
4. Méthodes d'analyse	67
5. Interprétation	68
<b>D) Histologie</b>	<b>68</b>
1. Méthode de biopsie testiculaire	69
2. Méthode de prélèvement post mortem	70
3. Méthode de préparation des lames histologiques	70
4. Interprétation	70
<b>CHAPITRE II : RESULTATS</b>	<b>73</b>
<b>I CHEZ LES MALES LEMUR CORONATUS</b>	<b>73</b>
<b>A) Etude générale</b>	<b>73</b>
1. Variation de la taille testiculaire	73
2. Variation du taux de testostérone sérique	76
<b>B) Etude spécifique</b>	<b>80</b>
1. Variation de la taille testiculaire	81
2. Variation du taux de testostérone sérique	81
3. Coupes histologiques testiculaires	81

<b>II CHEZ LES FEMELLES LEMUR CORONATUS</b>	<b>87</b>
<b>A) Etude générale</b>	<b>87</b>
1. Modifications morphologiques de l'appareil génital externe femelle	87
2. Modifications du frottis vaginal	90
3. Variations des hormones sexuelles femelles	97
<b>B) Etude spécifique</b>	<b>98</b>
1. Modifications morphologiques de l'appareil génital externe femelle	98
2. Modifications du frottis vaginal	98
3. Variations des hormones sexuelles femelles	99
4. Coupes histologiques ovariennes et utérines	99
<b>CHAPITRE III : DISCUSSION</b>	<b>106</b>
<b>I CONTRAINTES DU CHOIX DES SUJETS D'ETUDE</b>	<b>106</b>
<b>A) Faible nombre de sujets d'étude</b>	<b>106</b>
<b>B) Faible nombre de prélèvements</b>	<b>107</b>
<b>C) Intérêt de l'analyse de selles</b>	<b>108</b>
<b>II LIMITES ET COMPARAISON DES RESULTATS DES MALES L. CORONATUS</b>	
<b>A) Intérêt de l'analyse de sperme</b>	<b>109</b>
<b>B) Etude comparative</b>	<b>110</b>
1. Taille testiculaire	110
2. Variation du taux de testostérone sérique	110
3. Etudes histologiques	111
<b>III LIMITES ET COMPARAISON DES RESULTATS DES FEMELLES LEMUR CORONATUS</b>	<b>111</b>
<b>A) Le cycle oestral</b>	<b>111</b>
1. Nombre de cycles oestraux	111
2. Synchronisation des cycles	111
<b>B) Durée de gestation</b>	<b>112</b>
<b>C) Variations des hormones sexuelles femelles</b>	<b>112</b>
1. Variation du taux de progestérone	112
2. Variation du taux d'œstradiol	112

<b>IV GESTION DE REPRODUCTION : APPLICATION SUR LE TERRAIN DES</b>	
<b>RESULTATS DE NOTRE ETUDE</b>	<b>113</b>
<b>A) Au Zoo de Mulhouse</b>	<b>113</b>
1. Cas de Lulu	113
2. Cas d’Aline	113
3. Cas de Sérapis	114
4. Cas d’Eloi	114
5. Cas de Julie et Félix	115
<b>B) A l’Université de Strasbourg</b>	<b>115</b>
1. Cas de Peter et Deborah	115
2. Cas de Roy et Kim	115
CONCLUSION	117
BIBLIOGRAPHIE	119
ANNEXES	123
Annexe I : Ordre des Primates	
Annexe II : Famille des Lemuridae	
Annexe III : Localisation des sites agréés hébergeant des <i>Lemur coronatus</i> dans le monde	
Annexe IV : Cycle de l’épithélium séminifère chez le <i>Microcebus murinus</i>	
Annexe V : Liste des sujets d’étude <i>Lemur coronatus</i>	
Annexe VI : La coloration de Harris-Shorr	
Annexe VII : Les cellules du frottis vaginal	
Annexe VIII : Représentation schématique des différentes structures testiculaires vues au microscope optique	
Annexe IX : Les différentes étapes de la croissance d’un follicule évolutif	
Annexe X : Tableaux récapitulatifs des relevés morphologiques, des résultats hormonaux et histologiques chez nos mâles <i>L. coronatus</i>	
Annexe XI : Tableaux récapitulatifs des relevés morphologiques, cytologiques et des résultats hormonaux chez nos femelles <i>L. coronatus</i>	
Annexe XII: Historique reproducteur des sujets d’étude durant leur captivité	

Nous nous intéresserons dans cette étude à une espèce de lémuriens peu connue, le lémurien couronné (ou *Lemur coronatus*), peuplant l'extrême Nord de la « grande île » de Madagascar. Classé parmi les espèces vulnérables, le *Lemur coronatus* est en voie de disparition, du fait d'une répartition géographique très localisée en milieu sauvage, et de difficultés de reproduction en captivité.

Ainsi, il s'est avéré ces dernières années que la population captive de *L. coronatus* était vieillissante (50 % de la population captive de *L. coronatus* est âgée de plus de 15 ans), et que l'on assistait à un allongement de l'espérance de vie par rapport aux individus en milieu naturel. Nous nous confrontons alors, en captivité, à l'apparition d'un groupe d'individus âgés ne reproduisant plus, devenus inexploitable dans le cadre de la gestion de la reproduction en parc zoologique.

C'est ainsi que des questions se posent, que peut-on dire du statut reproducteur des *L. coronatus* mâles et femelles âgés de plus de 15 ans ? S'agit-il d'un repos sexuel d'origine physiologique ou comportementale ? Peut-on mettre en évidence une baisse ou un arrêt d'activité des fonctions gonadiques chez les mâles comme chez les femelles *L. coronatus* ?

La difficulté de cette étude réside principalement dans le fait que la population d'étude est très restreinte, en raison d'une part de la parcimonie des structures européennes accueillant cette espèce en captivité, et d'autre part d'une politique non invasive caractérisant certains parcs zoologiques, tel que celui de Cologne, refusant toute intervention humaine sur leurs pensionnaires. Du fait d'une législation très lourde, il apparaît également très contraignant et onéreux de chercher à inclure dans cette étude des individus issus d'organismes non européens.

En outre, nous nous devons de limiter au maximum les manipulations des animaux, pour ne pas compromettre la saison de reproduction des individus « reproducteurs » utilisés comme témoins.

Lors d'une première partie, nous commencerons par présenter le *Lemur coronatus* dans son milieu naturel, puis nous analyserons la structure, ainsi que l'évolution, de la population captive mondiale du *Lemur coronatus*. Dans un deuxième temps, nous nous intéresserons plus particulièrement à la physiologie reproductrice du *L. coronatus*, ainsi qu'à celle des autres espèces de Prosimiens.

Enfin, dans la seconde partie de cet ouvrage, nous tenterons de déterminer si les *L. coronatus* âgés de plus de 15 ans au sein de notre population d'étude présentent encore une activité reproductrice.



**PREMIERE PARTIE :**

**ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

# CHAPITRE I : PRESENTATION DU LEMUR CORONATUS

Le *Lemur coronatus* a été découvert à Madagascar et nommé en 1842 par GRAY. Localement les autochtones malgaches l'appellent « Gidro », « Ankomba » ou « Varika » [PETTER *et al.*, 1977].

## I MOTIVATIONS DU CHOIX DE CETTE ESPECE

[MOISSON et DE MICHELIS, 1999]

Bien que le *Lemur coronatus* n'ait seulement été répertorié que comme espèce vulnérable selon les critères de la dernière liste rouge de l'UIPN (Union Internationale pour la Protection de la Nature), nous nous devons de souligner la situation précaire de cette espèce malgache, que ce soit dans son milieu naturel ou en captivité.

En effet, tout d'abord, leur répartition géographique extrêmement réduite en milieu naturel (la péninsule du Cap d'Ambre) les rend très dépendants de leur milieu de vie. Ils n'en sont alors que plus sensibles à la déforestation massive, aux feux de brousse et surtout au braconnage, qui se perpétuent dans cette région. Ainsi personne ne connaît exactement l'état de l'effectif actuel en milieu sauvage.

Ensuite, il se pose deux problèmes majeurs en captivité. D'une part, les quelques parcs zoologiques essayant d'instituer un programme d'élevage chez le *Lemur coronatus*, se heurtent à des difficultés de reproduction, telles qu'un faible nombre d'accouplements dans cette espèce, et obtiennent donc d'assez mauvais résultats ; d'autre part, nous assistons ces dernières années à un considérable vieillissement de la population, avec une forte augmentation de la moyenne d'âge et du pourcentage d'individus captifs de plus de 15 ans. Ainsi, et principalement pour ces deux raisons, l'effectif total du *Lemur coronatus* en captivité diminue depuis 1998 (taux de croissance de 0.99 en 1998).

## II SA PLACE DANS LA CLASSIFICATION DES PRIMATES

[DIXSON, 1998]

Ordre des Primates ; Sous-ordre des Prosimiens ; Famille des *Lemuridae* ; Sous-famille des *Lemurinae* ; Genre *Lemur* ; Espèce *Lemur coronatus*.

Annexe I : Ordre des Primates [RICHARD, 1995]

Annexe II : Famille des *Lemuridae* [RICHARD, 1995]

### A) Ordre des Primates : Taxonomie

Au sein de l'ordre des Primates, les superfamilles des Lémuriformes, des Lorisiformes et des Tarsiformes sont traditionnellement regroupées en un seul sous-ordre, celui des Prosimiens, alors que les trois superfamilles restantes (Singes du Nouveau monde, Singes de l'Ancien Monde et Anthroïdes) forment ensemble le sous-ordre des Simiens [SIMPSON, 1945].

Cependant, une seconde classification phylogénique met en valeur la position taxonomique particulière de la superfamille des Tarsiers. En effet, on retrouve chez les Tarsiers certaines particularités anatomiques communes à la majorité des Prosimiens, ainsi que des caractéristiques anatomiques spécifiques du sous-ordre des Simiens. Par exemple, chez les Tarsiers, comme chez les Singes, on ne retrouve pas ce rhinarium humide, qui caractérise la structure nasale des Prosimiens.

### B) Sous-ordre des Prosimiens

#### 1. Appartenance à l'ordre des Primates

On retrouve chez les Prosimiens certaines adaptations fondamentales existant chez tous les Primates :

- Un pouce et un hallux opposables aux autres doigts
- La plupart des doigts et des orteils portent des ongles plats plutôt que des griffes (encore présentes chez les espèces les plus archaïques)
- Une clavicule fonctionnelle
- L'absence de soudure entre radius-ulna et tibia-fibula permettant la pronation et la supination des quatre membres
- Les orbites s'orientant vers l'avant, et les deux yeux participant au même champ de vision binoculaire

Cette dernière particularité anatomique, bénéfique à la fois pour le mode de vie arboricole et pour la chasse des petites proies, serait l'héritage des ancêtres nocturnes des Primates. Parallèlement, CARTMILL (1974) décrit comment la sélection a favorisé l'évolution d'une vision binoculaire chez les prédateurs nocturnes, tels que les Hiboux et les Félidés.

## **2. Particularités anatomiques et physiologiques des Prosimiens**

Anatomiquement les Prosimiens se rapprochent plus des formes d'origine, ancêtres de nos Primates modernes. Pour cette raison, ils sont quelquefois injustement qualifiés de « Primates inférieurs », ainsi que de représentants du chaînon de l'évolution reliant les « Primates supérieurs » aux autres mammifères.

Ainsi les Prosimiens se distinguent des Simiens par :

- La présence d'un vrai rhinarium nu fendu latéralement, participant à une activité olfactive encore prépondérante chez les Prosimiens (museau allongé)
- Une céphalisation moins poussée
- L'absence de cloison osseuse entre l'orbite et la fosse temporale

En outre, les Prosimiens possèdent des spécialisations anatomiques et physiologiques caractéristiques :

- une « griffe de toilettage » au niveau du second orteil chez les Lorisiformes, des orteils II et III chez les Tarsiformes
- un peigne dentaire, présent chez la plupart des Prosimiens, formé par les incisives et les deux canines proclives, utilisé pour récolter les exsudats végétaux, comme les gommes, et pour nettoyer la fourrure lors de l'épouillage
- une couche réfléchissante (ou tapetum lucidum) derrière la rétine, leur permettant d'utiliser au maximum la faible luminosité disponible lors des activités nocturnes
- une communication sociale et sexuelle complexe, où les sécrétions produites par des glandes cutanées spécialisées, les signaux urinaires et les vocalisations jouent un rôle important [BEARDER, 1987 ; BEARDER *et al.*, 1995 ; CHARLES-DOMINIQUE, 1977].
- un contrôle strict de la réceptivité sexuelle par la fonction endocrine des ovaires. Ainsi, l'accouplement des Prosimiens est restreint à une brève période au cours de la phase périovulatoire du cycle œstral de la femelle.

### 3. Les différentes superfamilles

La superfamille des Lorisiformes est répandue dans les zones tropicales de l'Afrique et de l'Asie. Elle ne renferme qu'un petit nombre d'espèces de petite taille (entre 200 et 300 g pour la plupart), aux mœurs nocturnes et au régime alimentaire diversifié (petites proies, insectes, fruits et gomme).

Les Tarsiformes sont représentés par trois espèces n'appartenant qu'à un seul genre, celui des Tarsiers, habitant certaines îles d'Indonésie et des Philippines. Ce sont des prédateurs nocturnes de petite taille réputés pour leur grande aptitude au saut (membres postérieurs très développés).

Enfin, les Lémuriformes comprenant 32 espèces (réparties en 50 sous-espèces), de taille variable et aux modes de vie divers, sont strictement localisés à Madagascar, ainsi que sur quelques îles comoriennes, où ils ont été introduits par l'Homme il y a plusieurs siècles (*Eulemur mongoz* et *E. fulvus fulvus*). Au sein des Lémuriformes, il existe quatre familles de lémuriens, les lémuridés (famille *Lemuridae*), les lémurs nains (famille *Cheirogaleidae*), les indriidés (famille *Indriidae*) et le Aye-Aye (dernier représentant de la famille *Daubentoniidae*).

En conséquence, sur l'île de Madagascar, les lémuriens des « temps modernes » sont quasiment les derniers survivants de l'échec évolutif des Prosimiens. En effet, en l'absence de compétition avec les mammifères du continent africain, dont la grande île s'est détachée il y a environ 160 millions d'années, les lémuriens malgaches ont pu développer une grande variété d'espèces arboricoles et terrestres. Mais la plupart de ces espèces se sont éteintes depuis la première occupation humaine de l'île, il y a plus de 2000 ans [TATTERSALL, 1982].

Parmi ces formes éteintes, plusieurs genres étaient caractérisés par leur gigantisme, dont certaines espèces pouvaient peser jusqu'à 100 kg. Ces animaux de grande taille possédant vraisemblablement des rythmes de vie et de reproduction très lents, n'ont pu survivre alors à l'arrivée des nouveaux prédateurs que furent les Hommes.

Ainsi, le *Lemur coronatus* est une espèce appartenant à la famille *Lemuridae*, de petit format, crépusculaire et surtout arboricole, que l'on trouve encore dans les forêts du Nord de Madagascar.

### III SA MORPHOLOGIE

Le lémurien couronné adulte pèse entre 1,1 et 1,3 kg pour une femelle, et entre 1,2 et 1,6 kg pour un mâle. Il mesure de 32 à 36 cm de longueur corporelle, auxquels s'ajoutent 42 à 51 cm de longueur de queue.

Il est sexuellement dichromatique :

- Le pelage de la femelle est généralement gris clair et ponctué de marron sur le dos, plus particulièrement en partie caudale. La queue s'assombrit distalement jusqu'à son extrémité de couleur gris foncé. Les parties ventrales et les extrémités sont pâles, le museau et la région supraorbitale, ainsi que les joues et la gorge, gris très clair. Enfin, le dessus de la tête est gris et comporte deux subtiles marques oranges bilatérales sur le front, en forme de « V », se rencontrant médialement et divergeant vers l'arrière.



FIGURE 1 : *Lemur coronatus* femelle

- Dorsalement, le pelage du mâle tend vers un gris un peu plus sombre que celui de la femelle. De plus, une grande partie de la fourrure dorsale est dichromatique : Les poils sont gris à leur base, et de crème à marron à leurs extrémités. Les membres ont tendance à être plus pâles que le dos, et la queue s'assombrit distalement. Les parties ventrales varient du crème au marron clair. Le museau, la région supraorbitale sont blancs, la gorge pâle et les joues rousses. Comme chez la femelle, on retrouve une marque orange en forme de « V » sur le front noir du mâle. En effet, ce dernier possède une « couronne » triangulaire de fourrure noire entre les deux oreilles, d'où son nom de lémurien couronné.



FIGURE 2 : *Lemur coronatus* mâle

- Dans les deux sexes, les oreilles sont assez proéminentes, aux extrémités blanches, recouvertes de poils sans être touffues. Les régions périnéale et périnéale sont recouvertes de poils, mais présentent également des glandes bien développées chez le mâle comme chez la femelle.

Enfin, deux paires de mamelles sont normalement présentes chez la femelle, mais seulement l'une des deux serait fonctionnelle [TATTERSALL, 1982].

#### **IV SA REPARTITION GEOGRAPHIQUE**

On ne trouve le *Lemur coronatus* qu'au nord de la rivière de Fanambana, située elle-même à environ 170 km de l'extrême nord de Madagascar [TATTERSALL, 1982]. La limite occidentale de leur territoire est marquée par les forêts environnant le massif calcaire d'Ankarana. Ce dernier site est considéré à l'heure actuelle comme abritant une des plus grandes populations de lémuriens couronnés [WILSON *et al.*, 1989].

Etant donné cette répartition géographique très restreinte et la perpétuelle dégradation de leur habitat, cette espèce est considérée aujourd'hui comme menacée d'extinction

## V SON ECOLOGIE EN MILIEU NATUREL

### A) Habitat

#### 1. Répartition selon le type de végétation

Selon les observations de PETTER *et al.* (1977), on rencontre le *L. coronatus* dans des zones de « forêt claire », telles qu'en bordure des cours d'eau, ou dans les forêts pauvres sur sol calcaire ou sableux. Ainsi, leur pelage gris clair, qui semble d'ailleurs s'éclaircir encore en période de sécheresse, est une fourrure vraisemblablement bien adaptée à un biotope forestier très sec et ensoleillé. Dans certaines zones dégradées, on rencontre même des bandes de *L. coronatus* dans un véritable biotope de savane, cherchant refuge dans des arbres isolés, et n'hésitant pas à faire de longues courses à terre pour fuir, si besoin est, d'un petit îlot de végétation à un autre. Au milieu de ce territoire à végétation sèche, quelques zones de forêt demeurent encore. C'est le cas de la Montagne d'Ambre, dont une vaste partie constitue un Parc National. On y trouve une forêt dense et très humide. A l'altitude de 1000 mètres, il y règne un climat froid et humide, et on est étonné de rencontrer de nombreuses bandes de *L. coronatus*, en compagnie de *L. f. sanfordi*.

Nous n'avons aucun document pour connaître la répartition ancienne de cette espèce, et pour savoir si elle existe depuis longtemps dans ces zones humides. Il se pourrait que la population de la grande forêt représente une extension récente de l'aire de répartition de l'espèce, à la suite d'une désertification plus poussée de son ancien habitat, sur les pentes et dans les plaines. Les observations de RAND (1935) sont un argument en faveur de cette hypothèse. En 1929, il signale le *L. coronatus* comme très abondant sur les pentes de la Montagne d'Ambre, dans la forêt sèche, mais remarque son absence au-dessus de 800 mètres dans la forêt humide.

Par contre, selon les observations plus récentes de WILSON *et al.* (1989), le *Lemur coronatus* est retrouvé plus fréquemment et en plus grand nombre dans la forêt épaisse qu'en forêt dégradée.

Ainsi, lors de cette étude effectuée en saison sèche, aucun lémurien n'a été aperçu dans les canyons les plus secs, où prédominent des arbres légumineux (tels que *Mesonovium sp.*) et des arbustes dépourvus de feuilles. Cependant, des selles dessiquées de lémuriens y ont été trouvées. Ainsi cet habitat semble être utilisé en d'autres périodes de l'année par les lémuriens, vraisemblablement en fin de saison des pluies, au moment de la fructification.

De même, le *Lemur coronatus* a été observé dans la savane se déplaçant pour accéder à une parcelle de forêt voisine, ou se nourrissant d'une végétation disparate après les premières pluies. En effet, le parcellement des divers habitats d'Ankarana amène certains groupes à parcourir différents sites au cours d'une même journée, profitant des ressources particulières de chacun, telles que de l'eau, de la nourriture en abondance ou un lieu propice au repos. Ainsi, le *Lemur coronatus* est capable d'exploiter un grand nombre de sites, qui pris isolément, ne supporteraient pas ses besoins.

## **2. Répartition selon le niveau de végétation [WILSON *et al.*, 1989]**

Tous les niveaux de la forêt, du sol à la canopée, sont utilisés par le *Lemur coronatus*. Cependant, ce dernier semble peu disposé à se déplacer sur le sol (niveau 1). Ainsi, dans la région d'Ankarana, les individus observés à ce niveau n'étaient descendus, dans la plupart des cas, que pour manger des fruits tombés des arbres. Par contre, les sauts d'arbuste en arbuste, à peine 10 cm au-dessus du sol, ou les déplacements le long de troncs tombés sur le sol (classés niveau 2) sont tout à fait usuels dans la forêt à canopée d'Ankarana.

Cependant, la situation en forêt dégradée au nord d'Ankarana se révèle différente. En effet, il est fréquent d'y observer des déplacements terrestres de *Lemur coronatus* [PETTER *et al.*, 1977].

Ce changement de comportement s'explique très bien du fait des différences structurelles de ces deux types de forêt. Ainsi, en forêt à canopée il n'y a aucun besoin de voyager sur le sol, alors qu'en forêt dégradée, le *Lemur coronatus* s'est adapté aux modifications de son habitat, en utilisant le sol comme nouveau support de déplacement.

## **B) Ressources : eau et nourriture [WILSON *et al.*, 1989]**

Le *L. coronatus* est essentiellement fructivore et folivore. Néanmoins il peut aussi consommer occasionnellement fleurs, pollen et insectes.

En saison sèche, le lémurien couronné se réfugie dans les forêts humides d'Ankarana, restant exceptionnellement vertes tout au long de l'année, grâce à l'irrigation des rivières souterraines. Ainsi, en cette période, on y retrouve de fortes densités de population de lémuriens, vu que de nombreux autres habitats ne sont plus aptes alors à supporter leurs besoins.

En outre, durant la saison sèche, ce dernier n'a recours à la consommation de feuilles qu'au sein de sites relativement pauvres en fruits, tel qu'à proximité de la Second River Cave. Cette apparente préférence pour les fruits est à mettre en relation avec la parcimonie des points d'eau en saison sèche à Ankarana. En effet, il est fort probable que les feuilles tiennent une

part beaucoup plus importante dans leur régime alimentaire lors de la saison des pluies. Ainsi, les fèces découverts dans les canyons asséchés (désertés par les lémuriens en saison sèche) étaient essentiellement composés de fibres végétales altérées. Par conséquent, il semble qu'une forte consommation de feuilles ne soit possible qu'à condition de disposer d'eau en abondance, pour accomplir la détoxification métabolique.

Il faut alors attendre les premières pluies d'Octobre, pour qu'apparaissent fruits et feuilles sur les espèces xérophiles de la savane, où pourront s'alimenter de nouveau des groupes de *L. coronatus*.

Durant la saison sèche, divers points d'eau sont visités, de préférence en fin d'après-midi ou au crépuscule. Certains groupes parcourent des distances considérables dans le but de s'abreuver. Dès les premières pluies, l'utilisation des points d'eau cesse complètement, car le *Lemur coronatus* peut dorénavant se contenter de lécher les feuilles mortes et de boire dans les flaques d'eau entre les rochers.

### C) Activités et rythme de vie [WILSON et al., 1989]

Le *Lemur coronatus* est actif en moyenne de 4 heures et demi du matin, au lever du soleil, jusqu'à 18h15, après la tombée de la nuit. Mais généralement, il se repose aux environs de midi, soit de 10h30 à 14h30.

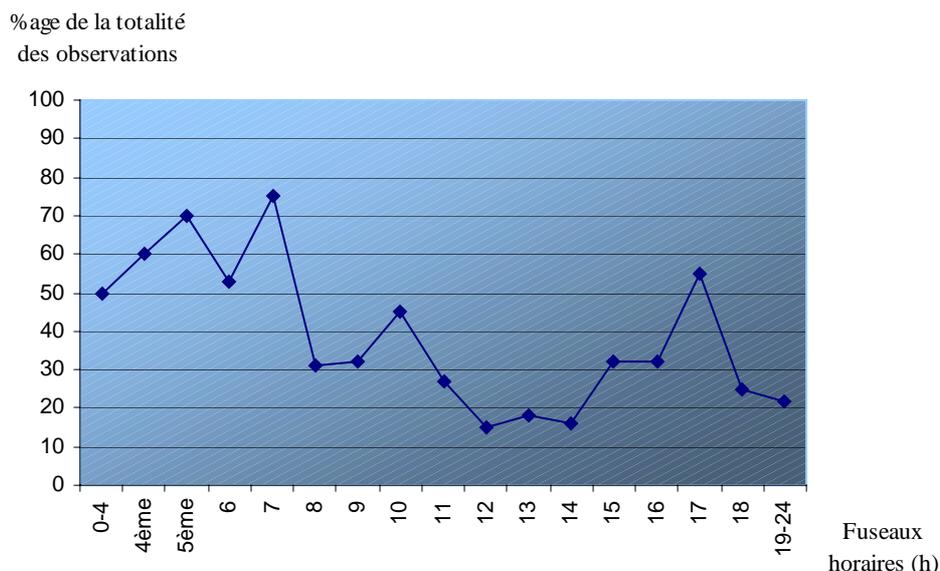


FIGURE 3 : Temps dépensé par les *Lemur coronatus* à se déplacer, en fonction du moment de la journée (en pourcentage de la totalité des observations et par fuseau horaire) [WILSON *et al.*, 1989]

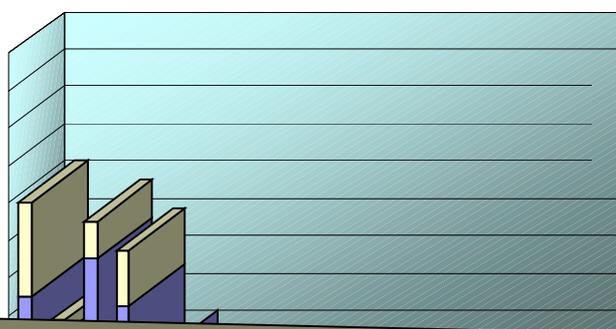
Les premières activités matinales consistent le plus souvent en des déplacements dans la canopée (niveau 4) ou la sous-canopée (niveau 3) . Cependant, il nous faut noter que la proportion de temps à voyager est sûrement surestimée, vu que la présence d'observateurs aura tendance à provoquer la fuite. Les déplacements sont entrecoupés d'arrêts de plus en plus longs au fur et à mesure que la matinée avance, où les lémuriens chercheront à s'alimenter.

Ainsi, juste avant 9h00 du matin, le groupe limite ses déplacements à une zone restreinte (comprenant la canopée de 2 ou 3 arbres), où il pourra essentiellement se nourrir, se mouvoir et se reposer.

Ensuite, la période de repos de la mi-journée est généralement suivie d'un déplacement plus conséquent. Ainsi, au cours d'une observation effectuée durant 18 jours près du Lac Vert, par l'équipe de WILSON, certains groupes ont été vu prendre le même itinéraire quotidiennement, dans un ordre précis. En fait, ils se déplaçaient pour atteindre des Ficus et se nourrir de leurs fruits (présents tout au long de cette période d'observation).

Enfin, dans la soirée, on relève des périodes d'alimentation plus longues et plus de vocalisations que le matin. Puis, la plupart des groupes s'installent pour la nuit, une demi-heure avant le coucher du soleil (vers 18h00), alors que d'autres groupes arrêteront leurs déplacements plus de 2 heures après la tombée de la nuit.

En outre, le *Lemur coronatus* a régulièrement été observé se déplaçant et s'alimentant entre minuit et 2h00 du matin, indépendamment du cycle lunaire. Des séries sporadiques de cris bruyants (provoqués par la présence d'un prédateur ou d'un événement stressant, comme une pluie plus forte que d'habitude) ont également été répertoriés au cours de la nuit. Ainsi, selon les plus récentes observations de WILSON *et al.* (1989), le *Lemur coronatus* se révèle ne pas être une espèce strictement diurne.



En effet, le genre *Lemur* est traditionnellement considéré comme diurne, pourtant plusieurs espèces ont déjà montré des périodes d'activité nocturne, telles que le *L. mongoz* [TATTERSALL, 1982], le *L. rubriventer* [MEIER, notes personnelles 1986] et le *L. catta* [MARTIN, notes personnelles 1988]. Cependant le *L. coronatus* a toujours été classé parmi les espèces strictement diurnes [ARBELOT-TRAQUI, 1983], bien qu'une certaine activité ait déjà été relevée après la tombée de la nuit sur la Montagne d'Ambre [TATTERSALL, 1982].

## **D) Sa locomotion**

Les lémuriniens sont désignés comme étant des quadrupèdes arboricoles, utilisant la course et la marche sur les branches d'arbres, ainsi que la grimpe et le saut [NAPIER et WALKER, 1967].

Ainsi le *Lemur coronatus* se déplace généralement sur les branches horizontales ou inclinées, mais il peut aussi très bien sauter de branche en branche, de tronc en tronc ou de rocher à rocher [WILSON *et al.*, 1989].

## **E) Sa reproduction [WILSON *et al.*, 1989]**

La période d'accouplement du *L. coronatus* est saisonnière (de fin mai à juin). A la suite d'une gestation d'environ 125 jours, la femelle *L. coronatus* donne alors naissance à un petit, ou à des jumeaux, ces derniers étant très fréquents. Les premières naissances se situent donc vers la mi-Septembre, au moment des toutes premières pluies, lesquelles stimulent la poussée des feuilles et l'apparition de fruits en grand nombre. En outre, il semble que ces premières naissances ont lieu dans les zones les plus riches de la forêt primitive, telles que la forêt humide du Grand Canyon, alors que les naissances tardives (fin octobre) sont regroupées dans les forêts les plus arides, où beaucoup moins de fruits sont disponibles. Ainsi, la période des naissances s'étale sur 5 semaines.

Les petits du *Lemur coronatus* restent leurs trois premières semaines de vie accrochés au ventre de leur mère, ne se déplaçant que pour téter. Lorsqu'ils sont plus âgés et plus hardis, vers l'âge de cinq semaines, les jeunes s'éloignent des femelles sur de courtes distances, et peuvent même grimper quelquefois sur le dos des mâles adultes. Ils commencent alors à consommer des aliments solides, goûtant à tout ce que les autres membres du groupe mangent. L'allaitement tient alors une place de moins en moins importante dans l'alimentation du jeune, jusqu'à ce qu'il soit sevré, vers l'âge de 5-6 mois.

Les femelles possédant une progéniture deviennent un pôle d'attraction au sein du groupe. En effet, les individus des deux sexes s'enquêtent de l'éducation des jeunes.

Morphologiquement, le jeune mâle âgé d'un an a atteint la moitié de sa taille adulte, et possède déjà son pelage définitif, à l'exception de discrètes marques annelées retrouvées sur la queue, rappelant celles du *Lemur catta*.

Les jeunes *Lemur coronatus* sont moins habiles que leurs aînés dans leurs déplacements parmi les arbres, et peuvent chuter de temps à autre sans dommage apparent.

Enfin, la maturité sexuelle est atteinte à l'âge de 20 mois dans les deux sexes [KAPPELER, 1987].

## **F) Structure sociale [WILSON *et al.*, 1989]**

Le *Lemur coronatus* est connu pour montrer une faible cohésion sociale au sein du groupe. Ainsi, plusieurs individus (considérés comme formant un groupe) pourront se déplacer tous ensemble, communiquant et se reposant même les uns contre les autres, puis ils se disperseront en laissant certains individus derrière eux. Dans certains cas, ces derniers finiront par les suivre, après une période de repos d'une heure ou plus.

Des petits groupes de 2 ou 3 lémuriens couronnés sont communément rencontrés, ainsi que des individus mâles ou femelles, apparemment solitaires. Mais le groupe type comprend 5 individus : 2 femelles adultes, 2 mâles adultes et un jeune adulte ou un petit.

Enfin, le plus grand groupe observé se composait de neuf adultes et de deux jeunes. Mais le plus souvent, lors des périodes d'alimentation, les grands groupes se séparent en petits groupes (de un à quatre individus) allant à la recherche de nourriture. Des vocalises particulières leur permettent alors de garder contact entre les différents groupes.

### **1. Relations intraspécifiques entre groupes**

Au cours des déplacements, le marquage par les glandes anogénitales des rochers et des troncs proéminents est fréquemment pratiqué, à la fois chez les femelles et chez les mâles.

Excepté ce comportement de marquage, on observe rarement de relations intraspécifiques entre les différents groupes dans cette espèce de lémurien. Par exemple, un groupe attendra qu'un autre groupe, occupant le point d'eau de la Grotte de la Seconde Rivière, soit parti avant d'y pénétrer à son tour. Ainsi deux groupes de *Lemur coronatus* ne semblent pas montrer de comportement agressif concernant l'occupation d'un point d'eau, comme on peut l'observer chez le *L. fulvus fulvus* [HARRINGTON, 1975].

De même, le plus souvent, un petit groupe s'alimentant sur une parcelle de savane comportant quelques buissons isolés, quittera les lieux rapidement à l'arrivée d'un groupe plus imposant.

## 2. Relations entre membres du groupe

On observe peu de hiérarchie sociale au sein du groupe. Ainsi lors des déplacements, le groupe est généralement mené par une femelle, et ceci plus particulièrement en situation de danger. Cependant le rôle de leader du groupe n'est pas tenu par un seul individu, mais successivement par plusieurs membres du groupe au cours d'un déplacement. Par moment, il semblerait même qu'aucun leader ne mène la progression du groupe.

Cette dominance des femelles sur les mâles, leur donnant un accès privilégié à la nourriture, ainsi que le choix des accouplements, est une spécificité des Prosimiens au sein de l'ordre des Primates.

Enfin, la cohésion sociale au sein du groupe est établie et renforcée au cours des séances d'épouillage. Les Prosimiens ont la particularité de posséder un peigne dentaire permettant de nettoyer leur fourrure, ainsi que celle des autres membres du groupe.

## G) Densité de population

Les quelques zones de forêt à canopée existant à Ankarana, fournissent un refuge inestimable aux lémurien au cours de la saison sèche.

		Forêt à canopée	Forêt dégradée ou de bordure
Signes de <i>L. coronatus</i>	Observés	979	34
	Attendus	932	47

FOWLER *et al.*, 1989

TABLEAU I : Nombre de signes de *L. coronatus* en différentes localisations, à Ankarana, d'Août à Octobre 1986 (saison sèche)

Selon un test du  $\chi^2$  ( $\chi^2 = 69,8$  ;  $p \leq 0,001$ ), la population de *L. coronatus* est significativement plus élevée en forêt à canopée qu'en forêt dégradée.

Ces fortes densités observées en saison sèche dans les canyons de la réserve d'Ankarana ( $> 1$  adulte/ha), beaucoup plus élevées que celles attendues habituellement en forêts à feuilles caduques, peuvent s'expliquer en quatre points :

- Tout d'abord, la déforestation sélective ayant lieu sur le site du Grand Canyon a vraisemblablement largement contribué à l'augmentation du nombre de lianes fruitières *Strychnos spp*, très appréciées des lémurien.

- En second lieu, au cours de la saison des pluies, de vastes étendues de surfaces de forêt secondaire sont utilisées par les lémuriens, comme le prouvent les nombreuses traces de fèces disséminées qui y ont été découvertes. Ainsi, durant la saison sèche, du fait des ressources devenues insuffisantes, ces populations de lémuriens migrent vers les canyons.

- En outre, les forêts d'Ankarana sont relativement humides. En effet, l'épaisse couche sédimentaire recouvrant la roche basaltique, localement alimentée en eau par les rivières souterraines, ainsi que les hautes falaises des canyons, protégeant des vents desséchants, contribuent à conserver des forêts denses et humides. Fruits et feuillages y sont alors largement plus concentrés en saison sèche.

- Enfin, la forêt présentant la plus haute densité de lémuriens possède une canopée ininterrompue à 30 mètres au-dessus du sol. La superficie totale de ce type de forêt restant à Ankarana, ne représente probablement pas plus de 5 km<sup>2</sup>. Cette parcelle de forêt, la plus riche et la plus extensive de la réserve, est relativement accessible et pourrait être détruite en l'espace de quelques semaines. Cela aurait alors des conséquences désastreuses sur la population des *Lemur coronatus*, ainsi que sur de nombreuses autres espèces menacées d'extinction.

A l'inverse, au Nord de la réserve d'Ankarana, on trouve une zone de forêt primaire plus aride, à la canopée basse et de superficie plus importante. Les ressources en eau y sont moins abondantes, et les canyons creusés moins profondément dans le massif calcaire, ainsi la forêt n'y est pas aussi protégée des effets desséchants du vent. Les lémuriens y sont présents, mais en densités beaucoup moins importantes que dans les forêts à haute canopée.

## **H) Prédateurs et réactions de défense [WILSON et al., 1989]**

Contrairement aux lémuriens du Parc National de la Montagne d'Ambre, les lémuriens d'Ankarana sont relativement peu effrayés par l'Homme. En effet, ces derniers sont protégés par un tabou local interdisant leur chasse.

Des fèces de Fossa, comportant de la fourrure grise et des os cassés (apparentés à ceux du *L. coronatus*), ont été découverts. Ceci nous amène donc à considérer le *Cryptoprocta ferox* comme un prédateur de lémuriens à Ankarana.

Le Fossa est le plus grand carnivore de Madagascar, capable aussi bien de chasser dans les arbres que sur le sol. Fréquemment observé près de la Grotte de la Seconde Rivière, sa présence déclenche l'alarme et l'agitation chez les lémuriens. Ainsi, ces derniers le fixent du regard, tout en émettant des cris d'alarme, et en balançant leur queue d'un mouvement pendulaire ; les lémuriens peuvent aussi se mettre à déféquer et à uriner à l'unisson. Alors,

alertés par les vocalisations, les lémuriens s'abreuvant dans la grotte, vont prendre rapidement la fuite vers les hauteurs.

Cependant le *L. coronatus* est plus souvent inquiété par les menaces aériennes, fuyant vers le bas, et quelques fois atteignant presque le niveau du sol. Dans ce cas, la réponse initiale est la fuite, et non plus la fixation du regard, les vocalisations et le balancement de queue. Etant donné la vitesse à laquelle certains oiseaux attaquent leurs proies, ce comportement semble plus approprié.

Pourtant le risque semble faible en ce qui concerne un lémurien adulte, ce qui n'est pas le cas des jeunes lémuriens. Ainsi, le plus grand des rapaces d'Ankarana a été vu s'envoler avec un rongeur quatre fois plus grand qu'un nouveau-né de *L. coronatus*, soit pas beaucoup plus petit qu'un jeune d'un an.

Enfin, lors de leurs attaques aériennes, la plupart des oiseaux ne font que froisser des feuilles ou descendre en piqué bruyamment, sans mettre en danger les lémuriens, comme le *Falco* *polliata*, le *Coracopsis vasa* et même la colombe Tortue de Madagascar. Mais le *L. coronatus* semble incapable de différencier ces oiseaux inoffensifs et bruyants, des oiseaux réellement dangereux, tels que les rapaces, au contraire des autres espèces de lémuriens [HARRINGTON, 1975 ; SUSSMAN, 1975 ; BUDNITZ et DAINIS, 1975].

## **VI SA CONSERVATION EN MILIEU NATUREL**

### **A) Situation générale**

Selon les observations de WILSON *et al.* (1989), les frontières forestières du site d'Ankarana, petite réserve isolée, sont restées quasiment intactes durant ces cinquante dernières années.

Malheureusement, la plupart des autres forêts de cette région sont aujourd'hui très amoindries, en comparaison des vastes forêts existant il y a cinquante ans. En effet, le Parc National de la Montagne d'Ambre au Nord, et la réserve d'Analamera à l'Est, ont beaucoup souffert, et souffrent encore, de la déforestation, du défrichement par le feu et du surpâturage.

Les échanges entre les différentes populations de lémuriens, qui étaient encore possibles lorsque les forêts étaient avoisinantes, sont alors de moins en moins fréquents au fur et à mesure du recul des frontières forestières aux alentours d'Ankarana.

De plus, la déforestation subie par la Montagne d'Ambre menace le cours de la rivière Anoranotsisilona, qui draine le versant sud de la montagne, pour approvisionner ensuite les rivières souterraines d'Ankarana qui irriguent les forêts des canyons.

En outre, le défrichement local rend les forêts d'Ankarana plus accessibles, et par conséquent, plus exploitables pour les promoteurs du commerce du bois. Et inversement, les incursions dévastatrices de ces derniers fournissent de nouvelles voies d'accès à la population locale, brûlant de nouvelles zones boisées pour servir de pâtures, comme on a pu l'observer au Sud de la réserve d'Ankarana.

Ainsi, une fois que les forêts des plus grands canyons auront totalement disparu, les inaccessibles forêts du massif ne suffiront plus à subvenir aux besoins, et à assurer la viabilité, des populations de lémuriens.

Actuellement, on ne trouve plus de *Lemur coronatus* qu'au Nord de la rivière Fanambana, et la réserve d'Ankarana est considérée aujourd'hui comme la limite occidentale de leur répartition géographique.

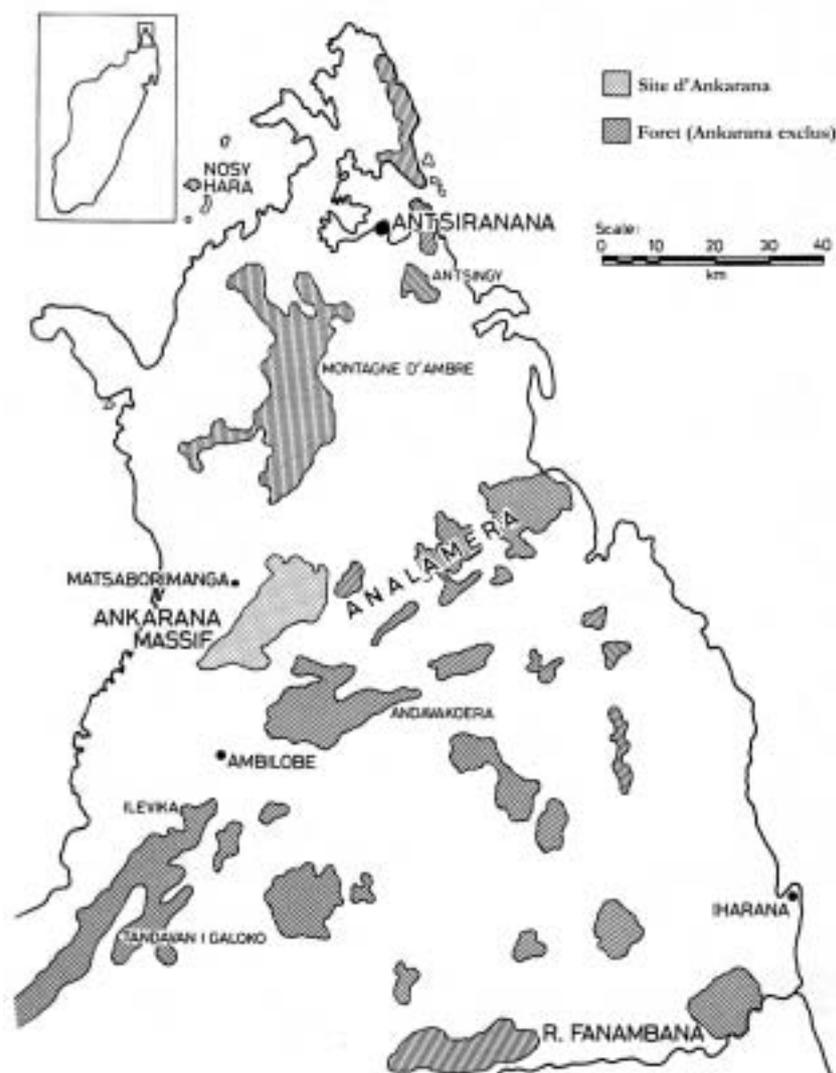


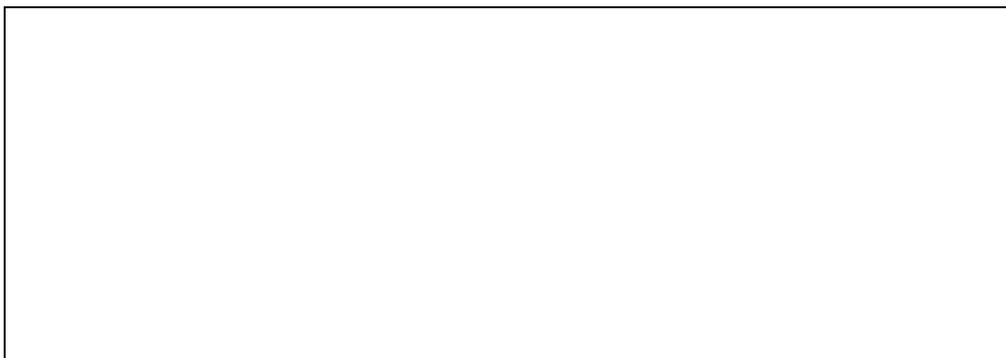
FIGURE 5 : Carte à grande échelle de la péninsule nord de Madagascar indiquant la position des divers sites forestiers présents au Nord de la rivière Fanambana [WILSON et al., 1989]

(Données issues de la carte nationale 1 : 500 000 publiée en 1982 par Foiben Taosarintanin'i Madagasikara)

Ainsi, les forêts dégradées, et en perpétuel déclin, de la Montagne d'Ambre, les quelques zones de longues forêts « galeries », comprenant la Réserve Spéciale d'Analamerana, d'une superficie de 347 km<sup>2</sup> [HAWKINS et GANZHORN, notes personnelles 1988] et les très arides forêts d'Antsingy et des Sakalavas, sont probablement les seuls autres refuges significants de cette espèce de lémuriens. Mais le lémurien couronné présente des densités de population bien moins importantes dans ces forêts que dans celle d'Ankarana.



FIGURE 6 : Carte du massif d'Ankarana présentant une distribution géographique approximative du *Lemur coronatus* sur le site [FOWLER, notes personnelles 1986].



Cependant, au fur et à mesure de la disparition des forêts environnantes et de l'érosion du sol, Ankarana risque de voir se prolonger de plus en plus la période de sécheresse. En outre, l'isolement des lémuriens d'Ankarana, combiné à leurs hautes densités de population à certaines saisons, les rend particulièrement vulnérables face aux maladies.

Chacun de ces deux facteurs entraînerait alors une réduction de la population locale de lémuriens, jusqu'à un certain seuil, à partir duquel on peut observer le rétablissement des survivants.

Enfin, en plus de ces populations, une petite colonie de *Lemur coronatus* a été relâchée sur l'îlot inhabité, à sol calcaire, de Nosy Hara. En effet, on y avait relevé le même type de végétation que celui d'Ankarana, et en avait alors conclu que l'île serait un habitat propice pour cette espèce de lémurien.

## B) Situation particulière du site d'Ankarana

Le site d'Ankarana est un spectaculaire massif de calcaire aux reliefs accidentés. Et les canyons et les grottes y délimitent des zones de forêt isolées, dont certaines, inaccessibles, n'ont encore jamais été visitées par l'Homme.

Cependant, malgré l'hostilité du terrain, la plus grande des zones de forêt à feuilles caduques y est facilement accessible par une vieille piste utilisée par les bûcherons. Ainsi, le déboisement, les feux de brousse mal contrôlés et la pâture des troupeaux laissés en liberté, constituent une perpétuelle menace pour la réserve d'Ankarana [FOWLER *et al.*, 1989].

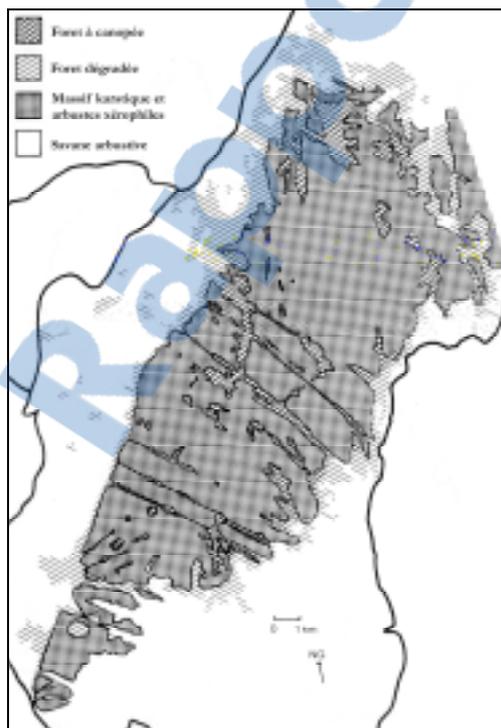


FIGURE 7 : Carte du massif d'Ankarana présentant les principaux types de végétation sur le site.

A proximité des routes, la végétation (non représentée sur la carte par souci de clarté) est constituée de savane, parsemée d'îlots de forêt dégradée, et de rizières le long de rivières propices à cette culture. Le massif karstique est élevé, pauvre en végétation sur son flanc sud-ouest, alors qu'apparaissent progressivement des forêts d'espèces xérophiles au fur et à mesure que le massif perd de l'altitude en progressant vers le nord-est [WILSON *et al.*, 1989].

(Données issues de photographies aériennes prises en 1949 par Foiben Taosarintanin'i Madagasikara et de relevés sur le terrain effectués par FOWLER en 1986)

Pour résumer, le massif d'Ankarana est une « Réserve Spéciale » de seulement 18 220 ha, située au Nord de Madagascar, présentant une grande diversité de biotopes, tels que :

- des massifs karstiques aux pics acérés, parsemés d'arbustes xérophiiles
- des forêts primaires denses, humides et à moitié sempervirentes (au total entre 2000 et 5000 ha de superficie, de 15 à 35 mètres de haut)
- des forêts secondaires, plus arides, constituées d'arbustes à feuilles caduques (de 15 à 20 mètres de haut), et situées principalement à l'Ouest du massif d'Ankarana
- une savane à la végétation clairsemée

Les précipitations y sont modérément élevées, notamment en zone occidentale (environ 1 890 mm/an) [HAWKINS *et al.*, 1990].

### **C) Une espèce menacée d'extinction [WILSON *et al.*, 1989]**

La déforestation, les feux de forêt et le défrichement réduisent chaque année un peu plus l'habitat déjà très limité de cette espèce. Enfin, la chasse vient exacerber le déclin de ces populations.

#### Déforestation

Il y a 40 ans, une majeure partie du site du Grand Canyon fût détruite par cette déforestation, mais aujourd'hui la forêt est en pleine régénération dans la plupart des zones dévastées.

Cependant, on peut encore observer des dégradations dans la forêt d'Ankarana, que ce soit en zone occidentale, dues à la population locale ou aux agents commerciaux du bois agissant en toute illégalité (coupe de 70 arbres au Nord de la réserve en 1987, coupe de 43 arbres *Dalbergia sp.* dans le Grand Canyon en début d'année 1988...).

### Feux de forêt et pâture

Le long de la bordure occidentale d'Ankarana, des dégradations sont commises par le bétail, que l'on mène aux sources situées au bord des falaises. Les habitants y conduisent aussi leurs troupeaux pour les mettre à l'abri du vol. Ainsi, la pâture excessive compromet la régénération naturelle de la forêt.

De même, les feux de forêt sont abondants dans cette région, en particulier en zones arides, qu'ils soient accidentels ou plus souvent volontaires. En effet, chaque année des zones forestières sont brûlées pour procurer au bétail de nouvelles pâtures, ainsi que de nouvelles terres utilisées dans la culture sur brûlis.

### Chasse

Dans le Grand Canyon, les lémuriens sont peu craintifs et prolifèrent, vu qu'ils profitent encore d'un tabou qui interdit leur chasse.

Par contre, dans la région d'Analamera, ils se révèlent beaucoup plus prudents et silencieux à l'approche des humains. En effet, la tradition les protégeant n'est plus respectée près des réserves de la Montagne d'Ambre et d'Analamera [GANZHORN, notes personnelles 1988]. Et ce n'est qu'une question de temps, avant qu'ils ne soient aussi chassés à Ankarana.

Ainsi, comme le décrivent les dernières études écologiques portant sur Ankarana [FOWLER *et al.*, 1989], seules des parcelles très réduites de la réserve sont naturellement protégées. Il s'ensuit que la majeure partie de la faune d'Ankarana sera amenée à disparaître, si l'exploitation forestière se propage aux canyons les plus importants.

En outre, le déboisement sévissant au sein du bassin hydrographique de la rivière Besaboba devrait être restreint, ou le dépôt sédimentaire, provenant de l'érosion du sol, allant en augmentant, les indispensables rivières souterraines seront comblées.

## **D) Statut de conservation des réserves [HAWKINS *et al.*, 1990]**

Depuis 1956, les sites d'Ankarana et d'Analamera possèdent le statut de Réserve Spéciale, les protégeant officiellement de toute activité destructrice (UICN/UNEP/WWF, 1987).

Ainsi, la valeur de cette région a enfin été reconnue, tant d'un point de vue biologique, que d'un point de vue touristique. Cependant, une protection très limitée a été mise en place sur le terrain.

## **E) Situation sur le terrain**

En effet, aucune des personnes rencontrées sur place par l'équipe de FOWLER (1989) n'avait réellement conscience du fait que la région d'Ankarana était un site protégé.

En outre, le seul agent forestier de l'aire d'Ankarana était basé à Anivorano Avaratra, soit à 25 km par la piste du point d'accès le plus proche de la réserve. Et ne possédant aucun moyen de transport, la seule façon pour lui de rejoindre la réserve est alors de parcourir cette distance à pied [HAWKINS *et al.*, 1990].

Par conséquent, la surveillance, comme l'administration de la Réserve d'Ankarana, sont quasi inexistantes.

## **F) Solutions proposées**

Pour mettre en place une protection efficace des réserves, trois problèmes essentiels doivent être solutionnés sur le terrain selon HAWKINS *et al.* (1990) :

- délimiter avec précision les frontières des réserves
- établir un système de gardiennage efficace
- fournir des alternatives concernant l'exploitation locale de la forêt par les villageois

Le développement du tourisme peut alors être envisagé comme un moyen d'approvisionner en fonds le programme de conservation de ces réserves.

En 1987, la zone forestière subsistante à l'extrême Nord de Madagascar, fournissant encore un habitat favorable pour les lémuriens couronnés, ne représentait alors pas plus de 1300 km<sup>2</sup>. Des études plus approfondies sur le terrain seraient nécessaires pour déterminer l'actuelle superficie de ces forêts, les effectifs restants de *Lemur coronatus*, et les chances de survie de cette espèce au sein de ces refuges menacés [WILSON *et al.*, 1989].

Ainsi, du fait d'une répartition géographique très limitée d'une part, et en continuelle restriction d'autre part, le *Lemur coronatus* est menacé d'extinction. Aucun programme de conservation n'a encore été entrepris ; et la situation critique de ce merveilleux et incomparable Primate semble largement ignorée [WILSON *et al.*, 1989].

## VII STRUCTURE ET EVOLUTION DE LA POPULATION CAPTIVE MONDIALE (1955-1998)

### A) Historique de la population captive mondiale de *Lemur coronatus*

[MOISSON et DE MICHELIS, 1999]

Le premier *Lemur coronatus* captif a été enregistré en 1955 au zoo de San Diego, où les 2 premières naissances en captivité eurent lieu en 1957. Mais aucun des 2 nouveau-nés ne survécut.

Puis le zoo de Cologne importa son premier lémurien couronné en 1962, et les 2 premières « véritables » naissances en milieu captif y furent enregistrées en 1969. Ainsi, l'élevage de *Lemur coronatus* y fut prolifique jusqu'en 1985. En effet, dès 1976, tous les jeunes *Lemur coronatus* nés en captivité au zoo de Cologne ont été envoyés aux Etats-Unis. C'est ainsi que, ce zoo n'ayant pas importé de nouvel individu depuis 1969, la population de *Lemur coronatus* vieillit jusqu'à ne posséder exclusivement que des individus âgés (>10 ans) ne reproduisant plus.

Annexe III : Localisation des sites agréés hébergeant des *Lemur coronatus* dans le monde  
[MOISSON et DE MICHELIS, 1999]

### B) Structure de la population captive mondiale de *Lemur coronatus* de 1955 à décembre 1998

		FEMELLES	MALES	Individus de sexe inconnu	TOTAL
<b>Population totale répertoriée en captivité de 1955 à décembre 1998</b>		87	78	11	<b>176</b>
<b>Dont ceux</b>	<b>Capturés en milieu sauvage</b>	19	19	0	38
	<b>Nés en captivité</b>	68	59	11	138

MOISSON et DE MICHELIS, 1999

TABLEAU II : Structure et origines de la population captive mondiale de *Lemur coronatus*,  
en fonction du sexe, de 1955 à décembre 1998

176 lémuriens couronnés en captivité ont été enregistrés entre 1955 et décembre 1998 : 22% d'entre eux ont été capturés en milieu sauvage, et les 78% restant sont nés en captivité.

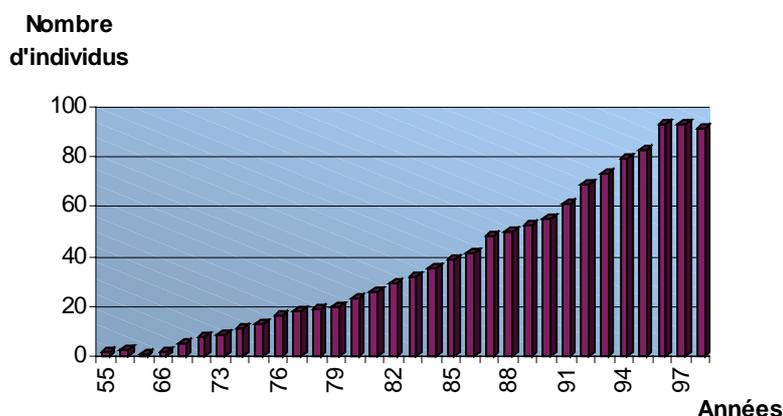


FIGURE 8 : Evolution de l'effectif de la population captive mondiale de *Lemur coronatus* de 1955 à décembre 1998 [MOISSON et DE MICHELIS, 1999]

Depuis 1968, on observe une croissance régulière de l'effectif de la population captive de *Lemur coronatus* (taux de croissance  $\lambda$  fluctuant entre 1 et 1.6). Mais cette croissance est stoppée en 1997 ( $\lambda=1$ ). L'année 1998 connaît même une baisse de cet effectif ( $\lambda=0.99$ ), vu que seulement 5 naissances ont été enregistrées, alors que 7 individus sont décédés au cours de la même année.

### C) Situation de la population captive mondiale de *Lemur coronatus* en décembre 1998

		FEMELLES	MALES	Individus de sexe inconnu	TOTAL
<b>Population en vie en :</b>					
décembre 1998		42	42	5	<b>89</b>
décembre 2000		43	42	4	<b>89</b>
<b>Dont ceux</b>	<b>Capturés en milieu sauvage</b>	8	8	0	16
	<b>Nés en captivité</b>	34	34	5	73

MOISSON et DE MICHELIS, 1999 et MOISSON, 2000

TABLEAU III : Structure et origines de la population captive mondiale de *Lemur coronatus*, en fonction du sexe, en décembre 1998

En décembre 1998, la population restant en vie, d'un effectif total de 89 individus, est composée de 18% d'individus nés en milieu sauvage contre 82% nés en captivité.

		EUROPE	ETATS-UNIS	MADAGASCAR	TOTAL
<b>Population en vie en : décembre 1998</b>		32	25	32	<b>89</b>
<b>Dont ceux</b>	<b>Capturés en milieu sauvage</b>	10	2	4	16
	<b>Nés en captivité</b>	22	23	28	73

MOISSON et DE MICHELIS, 1999

TABLEAU IV : Structure et origines de la population captive mondiale de *Lemur coronatus*, en fonction de leur localisation, en décembre 1998

En décembre 1998, 35% de la population des lémuriens couronnés vivant en captivité sont hébergés dans des zoos européens, et l'on trouve parmi eux 56% des individus vivants nés en milieu sauvage.

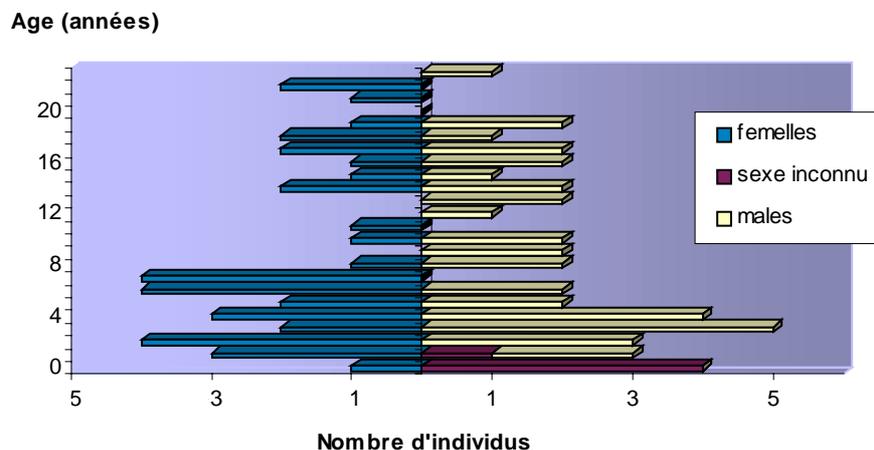


FIGURE 9 : Structure de la population captive mondiale de *Lemur coronatus*, en fonction de l'âge et du sexe, en décembre 1998 [MOISSON et DE MICHELIS, 1999]

Enfin, le sex-ratio de la population captive vivant en décembre 1998 se rapproche du 1/1 (49.4% de mâles pour 44.4% de femelles). Le mâle le plus âgé a 23 ans, alors que la femelle la plus âgée en a 22.

## D) Reproduction dans la population captive mondiale de *L. coronatus*

### 1. Fécondité

	Capturés en milieu sauvage	Nés en captivité	TOTAL
<b>Individus captifs ayant reproduit, répertoriés de 1955 à décembre 1998</b>	18	26	44
<b>Individus encore vivants en décembre 1998</b>	9	19	28
<b>Individus ayant reproduit au cours de l'année 1998</b>	1	9	10

MOISSON et DE MICHELIS, 1999

TABLEAU V : Reproduction de la population captive mondiale de *Lemur coronatus*, en fonction de ses origines, de 1955 à décembre 1998

Seulement 25% de la population captive répertoriée de 1955 à décembre 1998 a reproduit au cours de cette période, 41% de ces individus reproducteurs étant nés en milieu sauvage et 59% en captivité. En décembre 1998, 28 de ces individus reproducteurs étaient encore vivants, mais seulement 5 couples avaient reproduit au cours de l'année 1998, parmi lesquels un unique individu est né en milieu sauvage.

	EUROPE	ETATS-UNIS	MADAGASCAR	TOTAL
<b>Population en vie en décembre 1998</b>	32	25	32	<b>89</b>
<b>Couples ayant reproduit* au cours des années 1997-1998</b>	1	1	3	5

\* ayant mis bas des produits vivants

MOISSON et DE MICHELIS, 1999

TABLEAU VI : Reproduction de la population captive mondiale de *Lemur coronatus*, en fonction de ses localisations, au cours des années 1997-1998

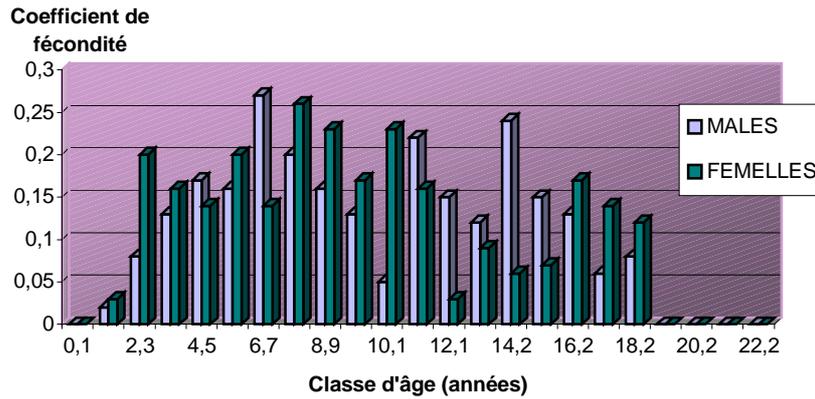


FIGURE 10 : Evolution de la fécondité de la population captive mondiale de *Lemur coronatus*, en fonction de l'âge et du sexe, de 1955 à décembre 1998 [MOISSON et DE MICHELIS, 1999]

Chez les mâles, comme chez les femelles, la fécondité est maximale à l'âge de 8 ans. Or 55% de la population captive vivant en décembre 1998 était âgé de 8 ans ou plus. Et 53% des lémuriens couronnés âgés de moins de 8 ans en décembre 1998 vivaient à Madagascar, alors que 65.6% de la population européenne de *Lemur coronatus* était âgé de plus de 10 ans. Enfin, aucune naissance n'a été enregistrée chez les individus de plus de 18 ans.

Dans l'hémisphère Sud (Madagascar), ces naissances sont le plus souvent regroupées au cours des mois d'Octobre, Novembre et Décembre, alors que dans l'hémisphère Nord (Europe et Etats-Unis), elles se situent plutôt en Avril et en Mai.

Enfin, 16 naissances de jumeaux ont été enregistrées de 1955 à décembre 1998 (10 aux EU, 4 en Europe et 2 à Madagascar). 56.2% de ces jumeaux ont alors survécu.

FIGURE 12 : Femelle *Lemur coronatus* et ses 2 jeunes jumeaux

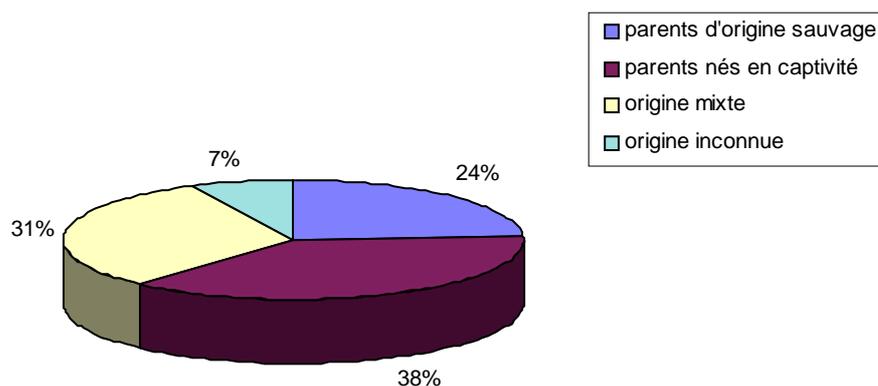


FIGURE 13 : Origines parentales de la population mondiale de *Lemur coronatus* nés en captivité de 1955 à décembre 1998 [MOISSON et DE MICHELIS, 1999]

Parmi les 138 *Lemur coronatus* nés en captivité de 1955 à décembre 1998, 24% possédaient des parents d'origine sauvage, 37.7% des parents nés en captivité et 31.2% des parents d'origine mixte.

## E) Mortalité dans la population captive mondiale de *Lemur coronatus*

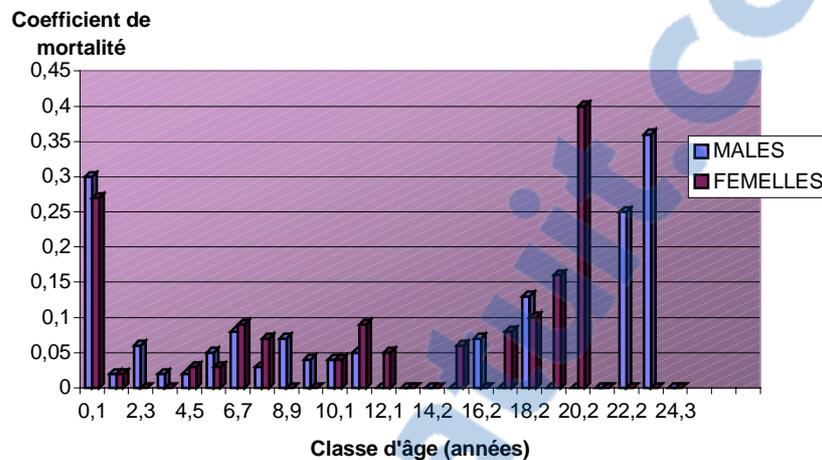


FIGURE 14 : Evolution de la mortalité de la population captive mondiale de *Lemur coronatus*, en fonction de l'âge et du sexe, de 1955 à décembre 1998 [MOISSON et DE MICHELIS, 1999]

La classe d'âge « 0-1 an » montre un taux de mortalité très élevé (0.3 chez les mâles et 0.27 chez les femelles). On observe ainsi 8.7% de mort-nés et 23% de nouveau-nés ne survivant pas au premier mois de leur vie.

En conclusion, dans l'hémisphère Nord, la population captive de *Lemur coronatus* se révèle vieillissante. Il s'ensuit une baisse de la fécondité et de la natalité. C'est ainsi que la population captive globale de *Lemur coronatus* voit son taux de croissance chuter depuis 1997.

Cette situation inquiétante nous a donc amené à nous intéresser plus particulièrement au statut reproducteur des individus âgés (>15 ans). En effet, l'infertilité constatée chez le *Lemur coronatus* âgé a-t-elle une origine comportementale ou physiologique ?

## CHAPITRE III : PHYSIOLOGIE REPRODUCTRICE

Généralités concernant la famille des *Lemuridae*...

Au sein de la famille des Lémuridés, comme chez tous les Prosimiens de Madagascar, les lémuriens connaissent une saison de reproduction bien définie. Ainsi les femelles sont caractérisées par leur polyœstrus saisonnier à ovulation spontanée. [PETTER *et al.*, 1977]

En outre, leur activité reproductrice est déclenchée tout d'abord par un signal photopériodique précédant la saison de reproduction d'environ 2 mois, et inhibée par la suite par la gestation ou l'augmentation de la longueur du jour. [VAN HORN, 1975 ; REYNOLDS et VAN HORN, 1977 ; VAN HORN et EATON, 1979 ; RASMUSSEN, 1985]

Ce changement annuel dans leur statut de reproduction s'accompagne alors de modifications caractéristiques des appareils génitaux, des taux sanguins d'hormones sexuelles et du comportement.

« En ce qui concerne le *Lemur coronatus*... »

Alors que chez certaines espèces de lémuriens, comme le *Lemur catta*, le *Lemur fulvus*, le *Lemur macaco*, le *Lemur mongoz* et le *Varecia variegata*, étudiées à maintes reprises, on possède aujourd'hui de nombreuses données sur leurs activités reproductrices, d'autres espèces, telle que le *Lemur coronatus*, présentent peu d'informations concernant ce domaine. Ainsi, excepté une étude sérieuse portant sur la reproduction du *Lemur coronatus* en captivité [KAPPELER, 1987], les observations portées sur ce sujet dans cette espèce sont soit anecdotiques [HICK, 1976 a,b], soit relatées à partir d'un couple captif constitué d'une femelle *Lemur coronatus* et d'un mâle *Lemur fulvus albifrons* [ARBELOT-TRACQUI, 1983].

# I PHYSIOLOGIE REPRODUCTRICE

## CHEZ LE LEMUR CORONATUS FEMELLE

### A) Particularités morphologiques de l'appareil génital femelle

La région génitale femelle présente, comme chez tous les lémuriens malgaches, un clitoris ventral assez développé.

Dorsalement, l'orifice génital s'ouvre à la base, mais il est fermé chez le jeune. Cet orifice s'ouvre au moment de la maturité sexuelle, mais en période de repos, il reste peu apparent.

[PETTER *et al.*, 1977]

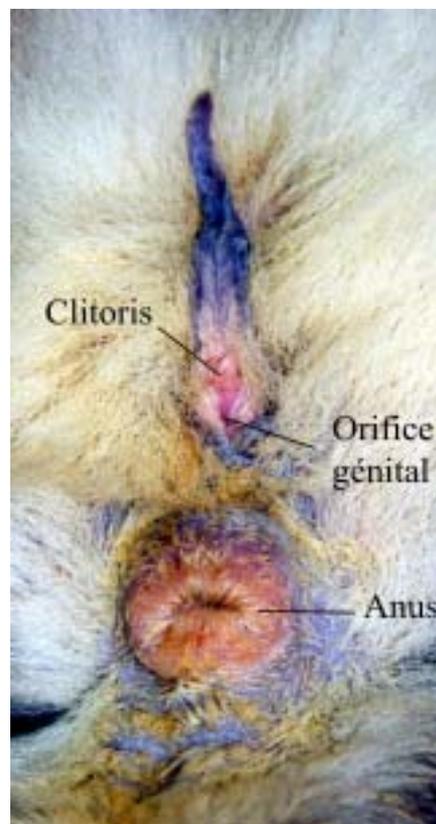


FIGURE 15 : Appareil génital externe d'une femelle *Lemur coronatus*

### B) Données actuelles concernant leur physiologie reproductrice

Selon l'étude de KAPPELER (1987) concernant des *Lemur coronatus* en captivité, les femelles présentent en moyenne 3 cycles œstraux entre novembre et mars. La durée moyenne de ce cycle est de 34,2 +/- 5,8 jours (de 26 à 46 jrs ; n=12). L'œstrus (déterminé par frottis

vaginal) est limité à un seul jour par cycle. Les accouplements ne sont jamais observés sur plus d'une journée. Enfin, les femelles ne semblent pas montrer de synchronisation des cycles entre elles.

A la suite d'une gestation de 124,6 +/- 2,9 jours en moyenne (n=6), les femelles donnent généralement naissance à un seul jeune, mais on remarque assez fréquemment la naissance de jumeaux.

Mâles et femelles atteignent la maturité sexuelle à l'âge d'environ 20 mois.

### C) Variations morphologiques et cytologiques au cours du cycle œstral

STADE DU CYCLE OESTRAL		ANOESTRUS	PROOESTRUS	OESTRUS	METOESTRUS
<b>Aspect morphologique</b>		Appareil génital externe discret	Vulve légèrement rose et enflée	Vulve au maximum de tuméfaction, d'ouverture et de coloration	Réduction rapide de la tuméfaction et de la coloration vaginale
<b>Aspect cytologique</b>	<b>Nombre de neutrophiles</b>	Beaucoup de mucus et de neutrophiles	Diminution	Absence	Augmentation
	<b>Aspect des cellules épithéliales</b>	Petites, rondes et à gros noyaux	Augmentation de la taille des cellules épithéliales, plus anguleuses et avec de petits noyaux sombres	Grandes, kératinisées, anucléés et bien dispersées (>75%)	Réapparition des cellules épithéliales non kératinisées en amas

TABLEAU VII : Variations morphologiques et cytologiques de l'appareil génital de la femelle *Lemur coronatus* en fonction du stade œstral [KAPPELER, 1987]

Les neutrophiles sont les seules cellules sanguines que l'on retrouve dans les frottis vaginaux. En effet, on n'y relève aucune présence d'hématie.

Enfin on prendra l'œstrus, déterminé par frottis vaginal, comme base de repère dans le cycle œstral.

## II PHYSIOLOGIE REPRODUCTRICE

### CHEZ LE LEMUR CORONATUS MALE

#### A) Particularités morphologiques de l'appareil génital mâle

[PETTER *et al.*, 1977]

##### Pénis

L'ouverture de l'urètre est verticale, et l'extrémité du baculum (os pénien) est simple.

Le gland du pénis porte une garniture de petites écailles.

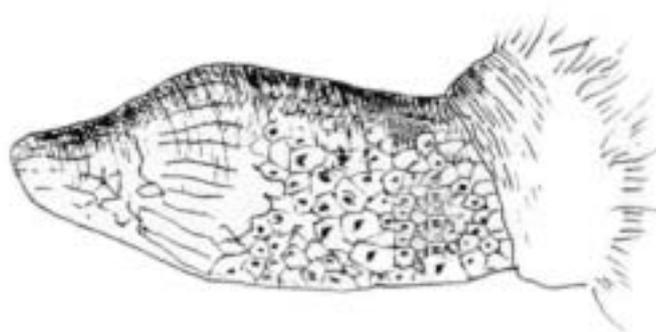


FIGURE 16 : Représentation schématique d'un pénis de *L. coronatus*



##### Testicules

Les testicules sont contenus dans un scrotum postpénien recouvert de poils. La queue de l'épididyme est plus importante que la tête, mais beaucoup moins que le testicule lui-même.

##### Vésicules séminales

Les vésicules séminales sont allongées, relativement minces et recourbées.

FIGURE 17 : Appareil génital externe d'un mâle *Lemur coronatus*

## **B) Variations morphologiques au cours d'une saison de reproduction**

La taille testiculaire (largeur maximale x longueur maximale) est utilisé comme indicatif de mesure de l'activité fonctionnelle des tubes séminifères chez les primates mâles. [EWING 1982]

Ainsi, l'augmentation de cette taille testiculaire en début de saison de reproduction, pour atteindre son apogée vers la fin décembre (au cours de la semaine correspondant au maximum de premiers œstrus chez les femelles), puis sa décroissance de décembre à février, prouve le caractère saisonnier de la physiologie reproductrice chez le mâle. [KAPPELER, 1987]



### III ETUDES COMPARATIVES AU SEIN DE LA FAMILLE DES LEMURIDES

En se basant sur les résultats de KAPPELER (1987), on peut comparer les paramètres de reproduction du *Lemur coronatus* avec ceux des autres espèces de la famille des Lemuridae.

ESPECES	DUREE DU CYCLE (j)	MOYENNE DU NOMBRE DE CYCLES PAR SAISON DE REPRODUCTION	DUREE DE GESTATION (j)	REFERENCES
<i>Lemur catta</i>	39	3	135	Evans et Goy, 1968
<i>L. coronatus</i>	34	3	125	Kappeler, 1987
<i>L. fulvus</i>	30	8	120	Boskoff, 1978b
<i>L. macaco</i>	33	3	127	Bogart et al, 1977a
<i>L. mongoz</i>	38	4	128	Schaaf et Stuart, 1983
<i>V. variegata</i>	40-42	1(-2)	102	Foerg, 1982

TABLEAU VIII : Paramètres de reproduction chez différentes femelles de la famille des *Lemuridae*

Toutes les femelles de la famille des Lémuridés étudiées jusqu'alors, présentent un polyœstrus saisonnier avec ovulations spontanées. La durée de leur cycle œstral est particulièrement longue (de 30 à 42 jours), comparée à celle de la plupart des autres Primates (les Singes de l'Ancien Monde, les grands Singes et l'Homme).

#### A) Durée du cycle et durée de gestation

Ainsi, la durée moyenne du cycle œstral chez le *Lemur coronatus* se rapproche de celle du *Lemur macaco*, et se distingue du cycle le plus long (*L. catta*) et du cycle le plus court (*L. fulvus*) au sein de la famille.

De plus, on retrouve dans cette espèce la même corrélation positive entre la longueur du cycle et la durée de gestation, que chez les autres espèces du genre *Lemur* (loi de Spearman,  $r = 0.90$ ,  $p < 0.05$ ).

**Durée de gestation**  
(j)

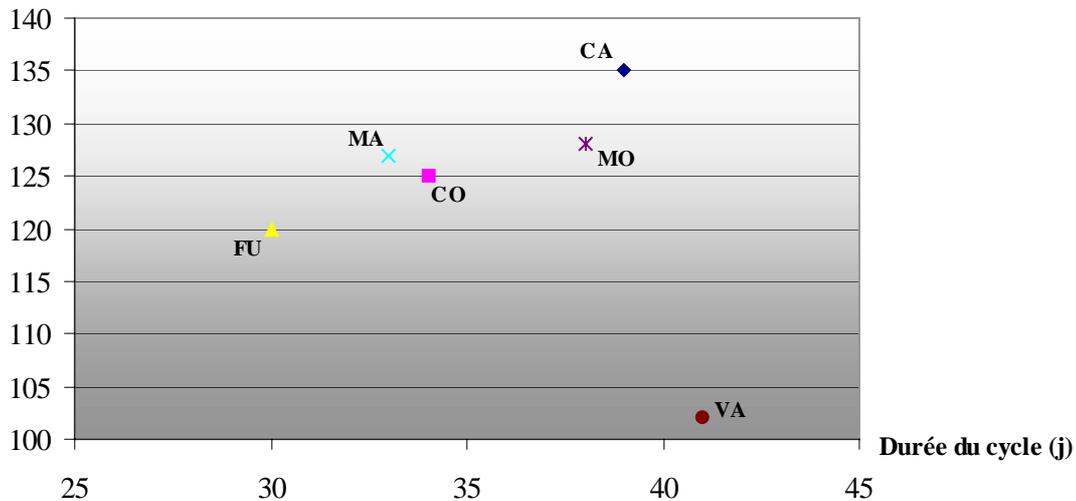


FIGURE 19 : Corrélation entre la durée du cycle et la durée de gestation chez les lémurs  
(FU : *L. fulvus*, MA : *L. macaco*, CO : *L. coronatus*, MO : *L. mongoz*, CA : *L. catta*, VA : *V. variegata*)  
[KAPPELER, 1987]

L'existence d'un même mécanisme physiologique de contrôle pourrait alors expliquer cette relation, qui ne semble pas exister dans le genre *Varieca*.

## **B) Nombre de cycles par saison de reproduction**

De même, le nombre de cycles par saison de reproduction est variable parmi les Lémuridés. Alors que le *Varieca variegata* montre rarement plus de deux cycles par an [FOERG, 1982], les femelles de *Lemur fulvus* peuvent cycler jusqu'à 8 ou 9 fois dans l'année [BOSKOFF, 1978]. Les autres espèces semblent être intermédiaires, présentant une moyenne de 3 cycles par femelle et par saison de reproduction, dans le cas de non-gestation.

Cependant, tous les cycles ne montrent pas vraisemblablement la même probabilité de conception, et il est probable que certains cycles, dits à pseudoœstrus, soient anovulatoires (comme il fût décrit chez le *Lemur catta* [JOLLY, 1966]).

Vu que ces données furent obtenues chez des individus captifs, on ne peut associer clairement ces particularités d'espèces à des différences de stratégies reproductrices.

### **C) Synchronisation des cycles**

Dans l'étude menée par KAPPELER (1987), les femelles de *Lemur coronatus* ne semblent pas montrer de synchronisation entre leurs cycles œstraux, comme il a pu être observé chez le *Lemur catta* [JOLLY, 1967] et le *Lemur fulvus* [BOSKOFF, 1978a].

Cependant, après avoir constaté que les femelles participant à cette étude étaient complètement séparées les unes des autres, on peut alors évoquer l'éventuelle nécessité d'interactions sociales, ou au moins de forte proximité, entre les femelles pour déclencher cette synchronisation.

### **D) Déterminisme de l'entrée en saison de reproduction**

Il existe des différences significatives concernant les dates d'entrée en saison de reproduction au sein de chaque espèce du genre *Lemur*.

Selon la théorie de RASMUSSEN (1985), ces dernières sont dues aux différences de latitude existant entre le lieu d'origine à Madagascar, et le lieu de captivité de ces espèces. Ainsi, la relation entre latitude et fluctuations photopériodiques détermine exactement le déclenchement de l'activité reproductrice dans chaque espèce de lémurien.

En ce qui concerne le *Lemur coronatus*, ce dernier présente une saison de reproduction étalée de mi-novembre à mars chez les individus observés en captivité dans l'hémisphère Nord, alors que celle-ci se situe autour des mois de mai-juin pour les individus vivant à Madagascar. Il en est par conséquent de même concernant la période des naissances décalée d'environ 6 mois entre les lémuriens hébergés dans l'hémisphère Nord (avril-mai) et ceux vivant dans l'hémisphère Sud (octobre à décembre).

## **IV DONNEES DE COMPARAISON CHEZ DIFFERENTES ESPECES DE PROSIMIENS**

Dans le cadre de notre étude, nous nous intéresserons à des méthodes de recherche déjà éprouvées chez d'autres espèces de prosimiens, que nous utiliserons pour la première fois chez le *Lemur coronatus* (variations des taux d'hormones sexuelles circulantes, étude histologique des gonades mâle et femelle). Ainsi il est indispensable de posséder certaines connaissances concernant les résultats obtenus lors de l'application de ces méthodes chez les autres espèces de lémuriens. Ces données nous permettront alors d'effectuer une comparaison au sein de cette grande famille.

### **A) Etudes hormonales de la fonction de reproduction**

#### **1. Etude hormonale chez le *Lemur catta* mâle [EVANS et GOY, 1968]**

Au cours d'une étude exploitant le taux plasmatique mensuel de testostérone chez 5 individus mâles, d'août 1965 à avril 1966 [RESKO et EVANS, données non publiées], on relève quatre valeurs maximales au cours des mois de septembre (2), décembre (1) et janvier (1) (de 10.1 à 28.9 ng/ml). A l'inverse, trois des échantillons prélevés au mois d'Avril se situent en dessous du seuil de détection de la testostérone (< 1.8 ng/ml).

#### **2. Etude hormonale durant le cycle œstral pour les femelles, et tout au long de l'année chez les mâles, dans trois espèces différentes de Lémuridés**

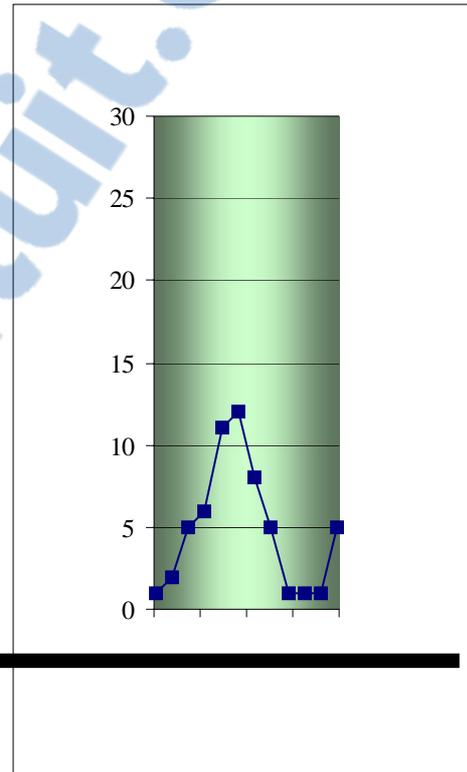
**(*L. macaco*, *L. catta* et *V. variegata*) [BOGART et al., 1977b]**

- Variations du taux de progestérone

Chez le *L. catta*, la phase lutéale dure approximativement 25 jours, précédée d'un « proœstrus » d'environ 14 jours, caractérisé par un niveau de progestérone basal. La période œstrale se situe à cheval entre les derniers jours du « proœstrus » et les premiers jours de la phase lutéale suivante. On observe alors une augmentation brutale du taux de progestérone au début de la phase lutéale, pour atteindre une moyenne de 17,21 ng/ml 5 jours après l'œstrus, et un maximum de 22,35 ng/ml en moyenne. Cependant, les variations individuelles sont

grandes concernant les valeurs maximales de progestérone observées, allant de 10,30 à 47 ng /ml.

Puis, entre la chute de ce taux et l'œstrus suivant, on retrouve un taux de progestérone moyen (1.75 ng/ml) similaire à celui que l'on peut mesurer en période d'anœstrus, en dehors de la saison de reproduction (2.11 ng/ml).



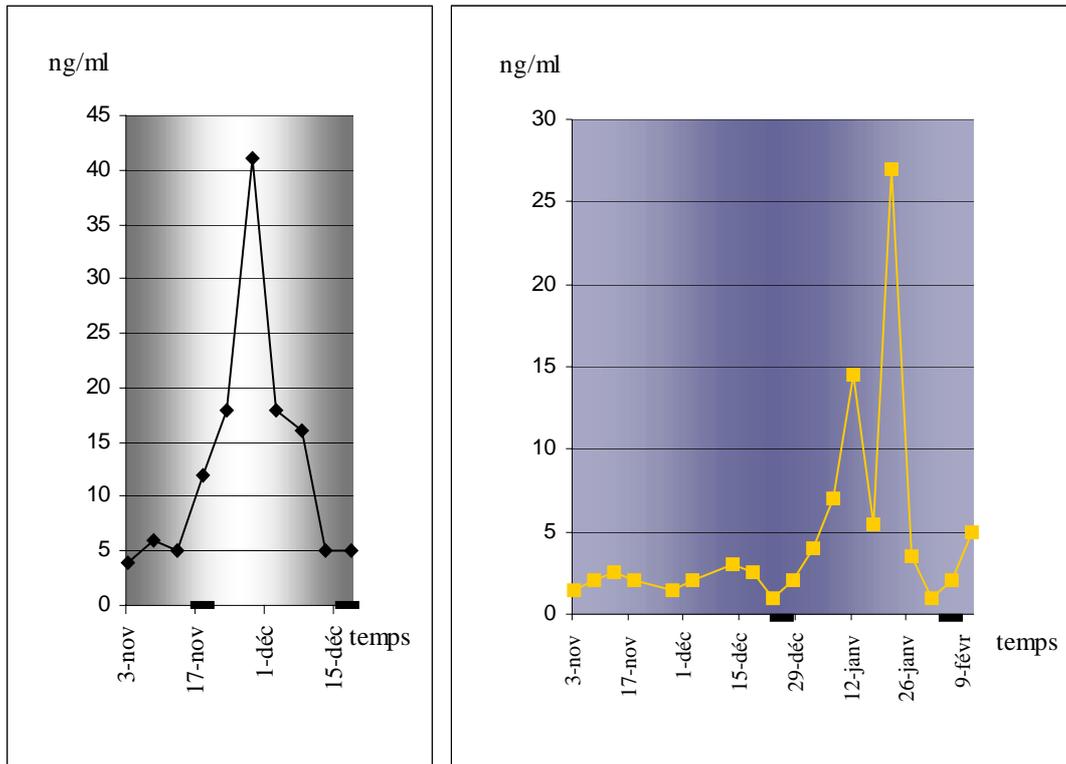


FIGURE 21 : Evolution du taux de progestérone chez un *L. macaco* femelle (à gauche) et un *V. variegata* femelle (à droite), durant la période de reproduction [BOGART et al., 1977b] (Les barres représentent l'œstrus déterminé par frottis vaginal)

Espèce	Durée du Proœstrus (taux basal de Pg)	Durée de la phase lutéale (hausse de la Pg)	Durée totale du cycle œstral
<i>L. catta</i>	14 jrs	25 jrs	<b>39 jrs</b>
<i>V. variegata</i>	14 jrs	24 jrs	<b>38 jrs</b>
<i>L. macaco</i>	5 jrs	28 jrs	<b>33 jrs</b>

TABLEAU IX : Durée moyenne des différentes phases du cycle œstral déterminées par les variations du taux de progestérone chez le *L. catta*, le *L. macaco* et le *V. variegata* [BOGART et al., 1977b]

- Variations du taux d'œstrogènes

Les taux circulants totaux d'œstrogènes (E1 + E2) se maintiennent à un niveau basal tout au long du cycle (<0.20 ng/ml), à l'exception d'un pic survenant juste avant ou au début de l'œstrus (pouvant atteindre des valeurs telles que 0.410 ng/ml chez le *L. catta*, 0.306 et 0.417 ng/ml chez le *L. macaco*).

Du fait de l'absence d'une période prolongée à haut niveau d'œstrogènes, nous ne pouvons plus parler de « phase folliculaire », comme chez les grands Primates, les Singes de l'Ancien

Monde et l'Homme, chez lesquels il existe une production d'œstrogènes importante tout au long de la maturation folliculaire.

Concernant les mesures individuelles de chaque type d'œstrogène (l'œstrone E1 et l'œstradiol E2), les valeurs obtenues s'approchent le plus souvent des limites de détection des techniques d'analyses utilisées dans cette étude (< 50 pg/ml).

- Variations du taux de testostérone

Les variations du taux de testostérone (de 0.19 à 20.7 ng/ml), mises en corrélation avec les variations de la taille testiculaire, mettent en évidence le caractère saisonnier de la reproduction du lémurien mâle, et par conséquent de l'activité des cellules de Leydig et de la spermatogenèse.

Ainsi, le taux moyen de testostérone durant la période des naissances (mars-avril) est de 1.18 ng/ml (de 0.28 à 2.04 ng/ml), alors que celui mesuré au cours de la saison de reproduction (de novembre à janvier) est de 7.13 ng/ml (de 1.74 à 12.32 ng/ml).

### **3. Données concernant les variations des hormones sexuelles et leurs effets comportementaux (réceptivité sexuelle, comportement de marquage...) chez le *Lemur catta* femelle [DIXSON, 1998]**

VAN HORN et RESKO (1977) ont mesuré les taux plasmatiques de  $17\beta$ -œstradiol et de progestérone au cours du cycle ovarien de 39 jours du *Lemur catta*.

- Hormones sexuelles et réceptivité de la femelle

Ces derniers ont alors observé qu'un pic préovulatoire d'œstradiol (de 120 pg/ml en moyenne) précédait la période de réceptivité sexuelle de la femelle de  $26.3 \pm 6.8$  heures, et que les accouplements se déroulaient seulement au cours d'une brève période d'une durée approximative de 21.66 heures. Cette période de réceptivité de la femelle (acceptation du mâle) voyait sa durée varier de 0 h (la femelle n'étant réceptive qu'au cours d'un seul des tests la mettant en présence d'un mâle) jusqu'à 43.67 h au maximum.

Ces données concernant le *Lemur catta* en captivité confirment les observations faites à Madagascar par JOLLY (1966) sur des groupes de *Lemur catta* en milieu naturel. Cependant une étude plus récente, effectuée sur le terrain par KOYAMA (1988), montre des périodes de réceptivité ne durant pas plus de quatre heures chez certaines femelles.

De même, EVANS et GOY (1968) ont observé des périodes de réceptivité sexuelle n'excédant pas 10 heures chez des femelles *Lemur catta* en captivité. Cependant, une différence majeure existe entre l'étude de VAN HORN et RESKO (1977), qui séparent les couples avant qu'il n'y ait eu éjaculation, et l'étude d'EVANS et GOY (1968), qui laissent l'accouplement se dérouler jusqu'à son terme. Ainsi, l'interruption prématurée de l'accouplement induit peut-être chez la femelle l'allongement de la période de réceptivité qui s'ensuit.

Chez le *Lemur catta*, VAN HORN et RESKO (1977) se demandent d'ailleurs si l'échec de l'éjaculation, et par conséquent du dépôt du bouchon copulatoire dans le tractus génital de la femelle, peut rallonger l'œstrus. En effet, ce bouchon copulatoire existant chez le *Lemur catta*, ainsi que dans d'autres espèces de lémuriens (telle que celle du *Lemur coronatus*), est une large structure amorphe, de consistance ferme. Ainsi, la présence de ce bouchon dilatant la portion supérieure du vagin et bloquant le col utérin, pourrait alors déclencher un mécanisme neurologique, ayant pour conséquence d'écourter la réceptivité sexuelle.

Mais de toute évidence, il nous reste beaucoup à apprendre dans le domaine du contrôle de la réceptivité sexuelle chez le *Lemur catta* et les autres espèces de Prosimiens.

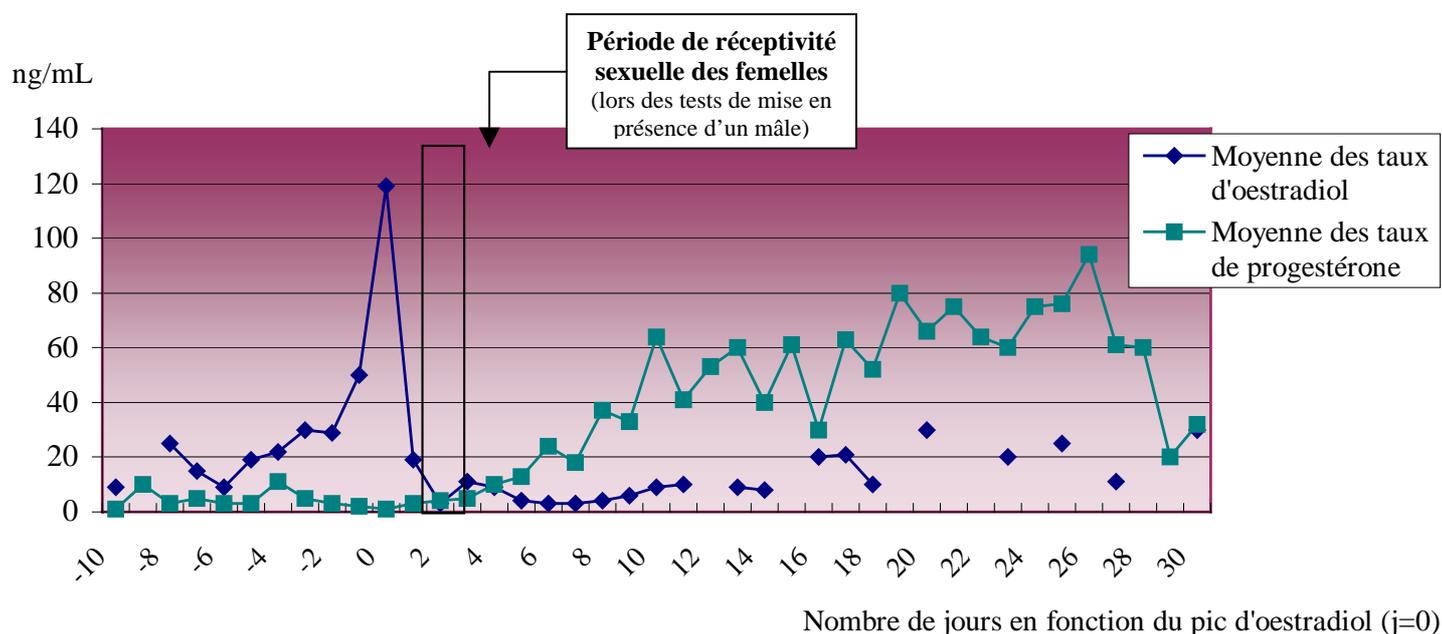


FIGURE 22 : Evolution des taux d'hormones sexuelles circulantes et période de réceptivité sexuelle au cours du cycle ovarien du *Lemur catta* [VAN HORN et RESKO, 1977].

A la vue de ce graphique, il apparaît manifeste que la courte période de réceptivité sexuelle de la femelle *Lemur catta* commence suite au pic du taux circulant de  $17\beta$ -œstradiol. L'évolution de la réceptivité pourrait donc probablement être superposable à celle du taux de LH, dont l'augmentation brutale déclenche l'ovulation.

Il est également important de noter que le taux de progestérone ne commence à augmenter progressivement que 3 à 4 jours après le pic d'œstradiol. Cette constatation nous amène donc à penser que le taux de progestérone n'intervient pas pour faciliter la stimulation œstrogénique de la réceptivité sexuelle. [VAN HORN et RESKO, 1977]

- Hormones sexuelles, comportement de marquage et messages olfactifs

En outre, que ce soit chez les *Lemur catta* étudiés en milieu naturel ou en captivité, on observe dans les deux cas un comportement de marquage plus fréquent au cours des périodes d'activité sexuelle. En effet, chez les espèces diurnes (comme chez les espèces nocturnes) de Prosimiens, l'attrance des mâles pour la femelle augmente avant la période de réceptivité sexuelle, et l'on pense que l'action des hormones sexuelles sur les messages olfactifs vaginaux, urinaires et cutanés en est responsable.

Ainsi, chez les espèces diurnes, telles que les différentes espèces de lémuriens ou de Propithèques, il apparaît que l'olfaction joue un rôle clé dans le domaine de la reproduction, même si celui-ci est de moindre importance que chez les espèces nocturnes. Etant donné que beaucoup de ces espèces possèdent une période d'accouplement très restreinte, les signaux olfactifs permettent ainsi de synchroniser les cycles reproducteurs des femelles, ainsi que le mâle et la femelle entre eux.

Cependant, comme le souligne PEREIRA (1991), deux femelles *Lemur catta* viennent très rarement en œstrus le même jour, malgré la brièveté de leur saison d'accouplement (1 à 3 semaines en milieu sauvage) et de leur période de réceptivité individuelle (moins de 24 heures) [JOLLY, 1966 ; KOYAMA, 1988 ; SAUTHER, 1991]. Une des explications possible de ce phénomène est qu'au sein de la synchronisation sexuelle de groupe, des mécanismes phéromonaux interviennent pour permettre à chaque individu d'avancer, ou de retarder, la survenue de l'œstrus, en fonction de ses congénères. Chez les femelles *Lemur catta*, le marquage olfactif à l'aide de sécrétions vaginales (glandes cutanées de la région anogénitale) et d'urine, pourrait alors remplir ce rôle.

Ainsi l'intérêt évolutif de cette légère asynchronisation des cycles œstraux se situerait notamment sur la baisse de compétitivité entre femelles. De plus, chaque individu a alors la possibilité d'augmenter sa marge de choix concernant l'accouplement, cette dernière restant bornée du fait de la brièveté de la période de réceptivité sexuelle.

#### **4. Effet du vieillissement sur le comportement sexuel et la fonction gonadotrope du mâle *Microcebus murinus* [AUJARD, 1998]**

Chez les Primates, on considère souvent que le vieillissement s'accompagne soit d'une réduction des aptitudes sexuelles, soit d'une perte dans le statut social, soit de l'association des deux.

Ainsi, une étude physiologique (taux de testostérone circulant) et comportementale de la fonction de reproduction a été effectuée, en captivité, chez le Microcèbe mâle âgé, petit lémurien nocturne de Madagascar.

On retrouve alors une variation saisonnière du taux de testostérone chez les individus âgés, mais leurs valeurs moyennes (27.5 +/- 2.7 ng/ml) sont significativement moins élevées que celles mesurées chez les jeunes individus (48.7 +/- 3.7 ng/ml). En outre, les vieux mâles exhibent moins de comportements sexuels que les jeunes, alors que leur comportement de compétition vis à vis des autres mâles ne semble pas modifié. De même, leurs capacités de perception olfactive ne sont vraisemblablement pas altérées, vu que leur comportement de communication par les odeurs (marquage odorant et reniflement) est inchangé.

### **B) Etudes histologiques : Variations saisonnières du cycle de l'épithélium séminifère**

#### **1. Chez le *Microcebus murinus* [PETTER-ROUSSEAU, 1974]**

Chez la plupart des Mammifères, le cycle de l'épithélium séminifère, d'une durée constante pour une espèce donnée, peut être divisé en un certain nombre de stades aux associations cellulaires bien définies, se succédant régulièrement dans le temps. L'Homme cependant fait exception, et parmi les Primates étudiés jusqu'à présent, il constitue le seul exemple où les associations cellulaires soient difficiles à préciser.

Le cycle de l'épithélium séminifère du *Microcebus murinus* a donc été divisé en 8 stades d'après les associations cellulaires. Six divisions de spermatogonies ont été comptées, la dernière d'entre elles donnant naissance aux spermatoctytes de premier ordre, au cours du stade I du cycle.

Annexe IV : Cycle de l'épithélium séminifère chez le *Microcebus murinus*

[PETTER-ROUSSEAU, 1974]

Le rendement de la spermatogénèse est relativement élevé en saison d'activité sexuelle. Cependant, il est fort probable qu'en fin de saison de reproduction, le rendement est bien moindre. En effet, pendant l'arrêt hivernal, l'épithélium séminifère ne contient que des spermatogonies, des cellules de Sertoli, et occasionnellement quelques spermatoctytes parvenus au stade zygotène.

## **2. Chez l'*Eulemur fulvus mayottensis* [RASAMIMANANA *et al.*, 1990]**

Chez la plupart des Mammifères, une coupe de tube séminifère montrera une succession de différentes associations cellulaires (ou stades), lesquelles constituent le cycle de l'épithélium séminifère. Par contre, chez les Primates, une coupe tubulaire donnée ne présentera le plus souvent qu'un seul type d'association cellulaire bien défini, comme il a pu être observé chez le *Microcebus murinus* et le *Lemur fulvus mayottensis*. Seuls les humains y font exception, vu qu'ils peuvent présenter de 3 à 6 stades mal délimités les uns des autres sur une même coupe tubulaire.

Durant la saison de reproduction du *Lemur f. mayottensis*, on observe peu de cellules en dégénérescence (spermatoctytes et spermatides), alors que cette dernière prend des proportions beaucoup plus importantes en saison de non-reproduction. Ainsi, lors de cette saison de repos sexuel, on ne retrouve plus que des spermatogonies et des spermatoctytes bloqués au stade pachytène, dans des tubules à large lumière.

Cet arrêt de la spermatogénèse est particulièrement évident chez les jeunes adultes. Au contraire, une activité spermatogénique semble se prolonger à bas bruit durant la période d'inactivité sexuelle des *Lemur f. mayottensis* âgés.

**DEUXIEME PARTIE :**

**ETUDE EXPERIMENTALE**

# CHAPITRE I : ANIMAUX, MATERIEL ET METHODES

## I ANIMAUX

### A) Description des sujets d'étude

Dans le cadre de cette étude portant sur la reproduction chez le *Lemur coronatus* en captivité, nous disposons d'une population d'étude très restreinte.

En effet, d'une part, l'effectif mondial des *Lemur coronatus* vivant en captivité est peu élevé. D'autre part, de nombreux facteurs, tels que la contrainte économique (coût des échantillons provenant des USA) et la barrière éthique (responsable des Primates du Zoo de Cologne), ont contribué à réduire considérablement le nombre de nos sujets d'étude. C'est ainsi que le nouveau responsable des Primates au Zoo de Cologne (depuis janvier 2000), ayant donné préalablement son avis favorable pour participer à cette étude, a préféré finalement poursuivre la politique non-invasive instituée par son prédécesseur.

Au total, 8 femelles et 9 mâles, dont la répartition par parc zoologique et par classe d'âge est donnée dans le tableau suivant, participeront à cette étude.

	Localisation	FEMELLES	MALES	TOTAL
<b>JEUNES (&lt; 20 mois)</b>	Mulhouse	1	0	1
	Strasbourg	0	0	
<b>INDIVIDUS « REPRODUCTEURS »</b>	Mulhouse	3	3	8
	Strasbourg		2 <sup>□</sup>	
<b>INDIVIDUS AGES (&gt; 15 ans)</b>	Mulhouse	1	1	8
	Strasbourg	1+1*	1+1*	
	Vincennes	1 <sup>°</sup>	1 <sup>°</sup>	

TABLEAU X : Répartition des sujets d'étude, en fonction de leur âge et de leur localisation en captivité [Au cours de cette étude, les deux mâles reproducteurs<sup>□</sup> de l'université de Strasbourg ont été transférés en Angleterre. En outre, nous avons pris en compte dans ce tableau de répartition le couple d'individus âgés décédé le 15 novembre 1999 (Prosper<sup>°</sup> et Pinky<sup>°</sup>), ainsi que celui décédé en début d'étude à l'université de Strasbourg (Roy\* le 12/06/99 et Kim\*le 24/11/99).]

Nous pourrions ainsi utiliser les 8 individus « reproducteurs », ainsi que la jeune femelle en cours de maturité, comme témoins de référence nous permettant de mettre en évidence les éventuelles modifications de la physiologie reproductrice chez les individus âgés (8 individus de plus de 15 ans).

Annexe V : Liste des sujets d'étude *Lemur coronatus* [MOISSON et DE MICHELIS, 1999]

## **B) Hébergement**

### **1. Zoo de Mulhouse**

Les *Lemur coronatus* disposent en tout de 5 cages intérieures et de 3 cages extérieures.

#### Description et composition des cages

Les *Lemur coronatus* sont installés en couple, accompagnés de leur éventuelle progéniture, dans des cages situées dans un bâtiment consacré aux lémuriens du zoo. La jeune *Lemur coronatus*, Odile, partage sa cage avec Brigitte, une femelle *Lemur rubriventer*.

Chaque famille a accès à une cage extérieure servant de lieu d'exhibition pour les visiteurs du zoo. Deux des familles (celle de Julie, Félix et leur fille Pauline, ainsi que celle d'Aline, Emeric et leur fille Pia) se partagent la même cage extérieure des « chats des marais », l'une sortant le matin, l'autre l'après-midi. Le couple formé par Nicole et Serapis sort dans la cage extérieure « lémuriens 2 ». Enfin, Odile et Brigitte ont accès en journée à la cage extérieure « lémuriens 5 ».

Seul le couple d'Eloi et Lulu est hébergé dans une cage située dans un autre bâtiment, ne possédant pas de cage extérieure.

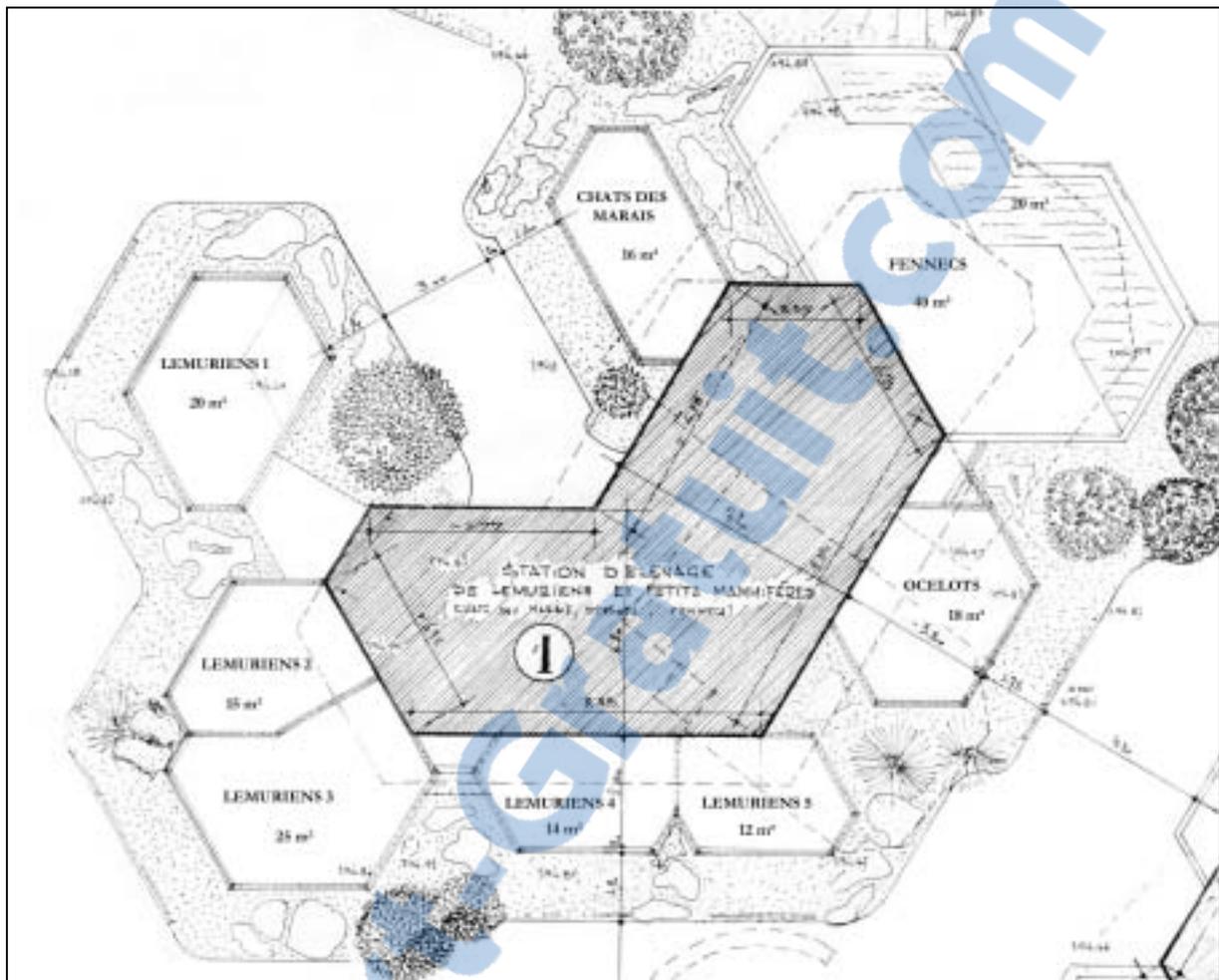


FIGURE 23 : Plan descriptif de l'organisation du bâtiment des lémuriens et répartition des *Lemur coronatus* [Services techniques de la ville de Mulhouse, 1977]

### Equipement des cages

Les cages sont agrémentées de cordes, de branches, de planchettes horizontales disposées en hauteur, d'écorces de pin et de balançoires.

### **2. Université de Strasbourg**

Les *L. coronatus* sont installés par couple (Peter et Deborah, Roy et Kim) dans des cages grillagées de 1,44 m<sup>2</sup> au sol, et 2,88 m<sup>3</sup> de volume (1,2 m x 1,2 m, h = 2 m).

Ces cages sont équipées de supports plats horizontaux et de branches.

## C) Alimentation et abreuvement

### 1. Zoo de Mulhouse

Les soigneurs du Zoo de Mulhouse nourrissent les *Lemur coronatus* deux fois par jour :

- des croquettes riches en protéines le matin
- un mélange de pommes, carottes, bananes, fruits divers et salade l'après-midi

Enfin, dans chaque cage, tous les jours, on remplit une gamelle d'eau de 800 ml laissée à disposition toute la journée.

CONSTITUANTS	Pommes	Carottes	Bananes et fruits divers	Croquettes
QUANTITES (g)	180	60	120	4,5 unités

TABLEAU XI : Constituants, et quantités pour 3 individus, du régime alimentaire des *Lemur coronatus* au Zoo de Mulhouse

### 2. Université de Strasbourg

Le régime alimentaire des *L. coronatus* est constitué de pommes, bananes, carottes et de pain, distribués deux fois par jour. L'eau est laissée à volonté.

## D) Facteurs d'ambiance

### 1. Zoo de Mulhouse

Le thermostat du bâtiment des lémuriens est réglé pour assurer une température constante de 23 à 25°C.

L'éclairage est artificiel dans les cages intérieures. Ainsi, on allume tous les matins vers les 7h30-8h00, et on éteindra le soir vers 16h45, sauf en été, où l'on prolongera jusqu'à 19h30 pour respecter l'allongement de la photopériode.

Enfin, les familles pouvant accéder à la cage extérieure y resteront de 3 à 4 heures et demi par jour, selon la saison.

### 2. Université de Strasbourg

La température des locaux abritant les *L. coronatus* est maintenue aux alentours de 20°C.

L'éclairage est naturel (lumière du jour).

## II PROTOCOLE EXPERIMENTAL

### A) Modifications morphologiques

#### 1. Chez les femelles

Au cours d'une contention manuelle, on a pu à la fois examiner le degré de tuméfaction vulvaire, la couleur des muqueuses vulvaires, ainsi que l'ouverture vaginale, lors du prélèvement vaginal. Un examen hebdomadaire a été effectué chez les femelles *Lemur coronatus*, au cours de la saison de reproduction.

On a choisi ce rythme en raison de l'objectif de cette étude. En effet, nous cherchions à déterminer si les femelles âgées *Lemur coronatus* montraient encore un cycle œstral, et non à étudier en détail les différentes phases du cycle, comme dans l'étude de KAPPELER (1987). Les femelles « reproductrices » nous serviront alors de référence pour être comparées avec les femelles âgées.

Dans ce but, on s'intéressera donc à ces 3 critères morphologiques, que l'on notera selon certains stades bien précis [CRANZ et al., 1986 ; KAPPELER, 1987] :

- Tuméfaction des lèvres vulvaires

Stade 1 : légèrement enflées

Stade 2 : enflées

Stade 3 : très enflées

- Coloration des lèvres vulvaires

Rose pâle, rose, rose foncé ou rouge

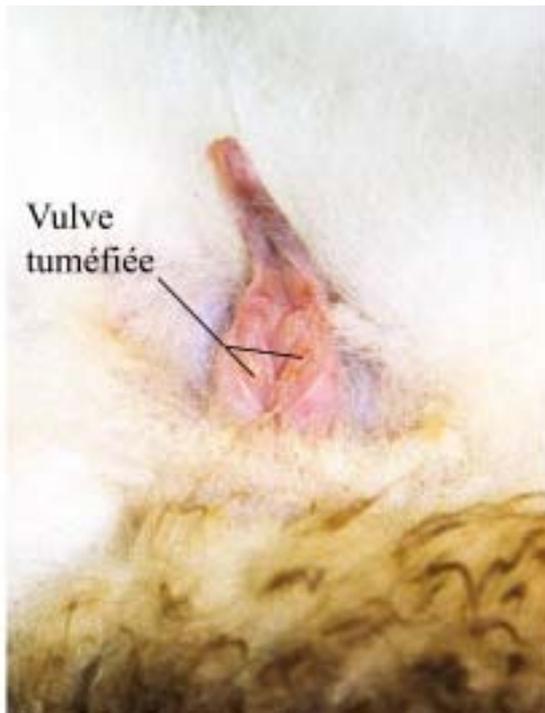
- Degré d'ouverture vaginale

Stade 0 : fermée

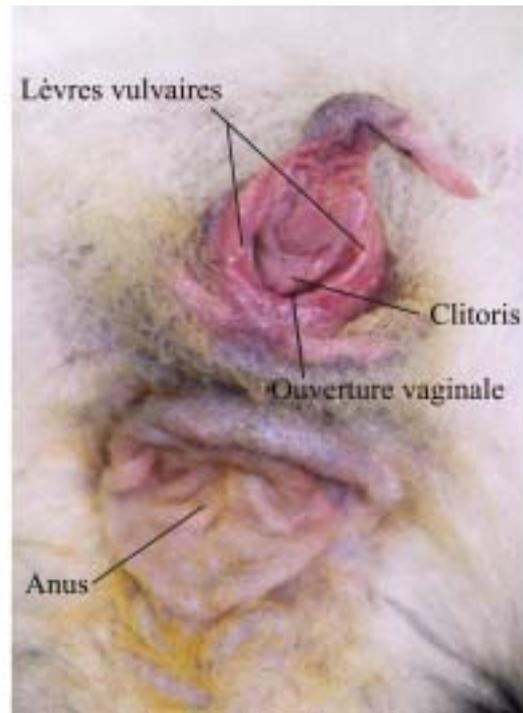
Stade 1 : introduction difficile du spéculum

Stade 2 : introduction facile du spéculum

Stade 3 : large ouverture



Tuméfaction stade 2  
Coloration rose  
Ouverture stade 1-2



Tuméfaction stade 3  
Coloration rose foncé  
Ouverture stade 3

FIGURE 24 : Différents stades morphologiques  
de l'appareil génital femelle externe au cours du cycle œstral

## 2. Chez les mâles

En ce qui concerne les mâles âgés, toutes les deux semaines, lors de la saison de reproduction, on mesure la longueur et la largeur maximales de chacun de leurs deux testicules, à l'aide d'un pied à coulisse. Par contre, cette manipulation n'est effectuée qu'une fois par mois chez les mâles « reproducteurs », utilisés comme témoins, au cours de la prise de sang mensuelle.

Au cours de la saison de repos sexuel, ces mesures sont relevées mensuellement chez tous les individus mâles « reproducteurs » et âgés.

Le produit « largeur maximale x longueur maximale » du testicule droit est alors utilisé comme indicatif de mesure de son activité fonctionnelle. [KAPPELER, 1987]

On cherchera donc à déterminer s'il existe une différence « significative » concernant l'évolution saisonnière de cet indicatif entre les mâles âgés et les mâles « reproducteurs ».

## **B) Frottis vaginal [NEVEUX, 1999 ; DUMON, 1991 ; CRANZ *et al.*, 1986]**

Pour les mêmes raisons que précédemment (mise en évidence d'un éventuel cycle œstral chez les femelles âgées), nous avons considéré comme suffisant de n'effectuer ce frottis vaginal qu'une fois par semaine durant la saison de reproduction, chez toutes les femelles *Lemur coronatus*.

### **1. Capture et contention**

Le lémurien est capturé dans sa cage à l'aide d'un filet, attrapé par la peau du cou, puis maintenu sur le dos, posé sur la table de travail. Un premier soigneur lui maintient la tête par la peau du cou, ainsi que les deux membres antérieurs, tandis qu'un deuxième soigneur lui immobilise le bassin, les membres postérieurs et la queue.

### **2. Prélèvement**

Le prélèvement est simple à réaliser, néanmoins certaines précautions doivent être respectées pour éviter de biaiser l'interprétation du frottis.

On utilise un écouvillon stérile de 15 cm de long, dont le coton est légèrement humidifié à l'aide d'une goutte de sérum physiologique. Après avoir écarté les lèvres vulvaires, on introduit l'écouvillon le long du bord dorsal du vagin, afin d'éviter la fosse clitoridienne dont le contact aurait pour conséquences de déclencher une réaction de défense et de fournir un frottis de mauvaise qualité.

L'écouvillon est alors introduit délicatement le plus profondément possible (de 1.5 à 2 cm), et quelques rotations sont réalisées autour du cul de sac du col de l'utérus, pour prélever les cellules de l'épithélium vaginal. Puis l'écouvillon est retiré doucement.

### **3. Étalement sur lame**

L'étalement doit être effectué immédiatement après le prélèvement pour éviter toute dessiccation.

L'écouvillon est alors roulé sur une lame propre (dégraissée à l'alcool), sans frottement pour ne pas détériorer les cellules, sur plusieurs lignes parallèles (3-4) non superposées (ce qui générerait et fausserait la lecture des lames).

#### 4. Fixation

De même, la fixation de la lame est réalisée immédiatement après l'étalement. On utilise dans ce but un cytofixateur en spray (Cytotfixateur RAL).

Puis on laisse sécher la lame quelques minutes, avant de la ranger dans un porte-lame utilisé pour le transport.

#### 5. Coloration (au laboratoire du CERCA de l'ENVA)

La coloration des lames fixées peut, quant à elle, être différée de plusieurs jours, voire des semaines.

Nous disposons au CERCA de 2 types de coloration :

##### a) Coloration de HARRIS SHORR :

La lecture est aisée car les cellules sont différenciées selon leurs affinités tinctoriales.

- 1<sup>er</sup> colorant : Hématoxyline (coloration des noyaux)
- 2<sup>ème</sup> colorant : Colorant de Shorr (distinction des cellules épithéliales basophiles colorées en bleu et des cellules épithéliales acidophiles colorées en rouge orangé)

##### b) Coloration de MAY-GRÜNWARD-GIEMSA (MGG) :

Elle permet davantage la mise en évidence des polynucléaires que des différents types de cellules de l'épithélium. Les cellules vaginales ne sont alors appréciables que par leurs seuls critères morphologiques.

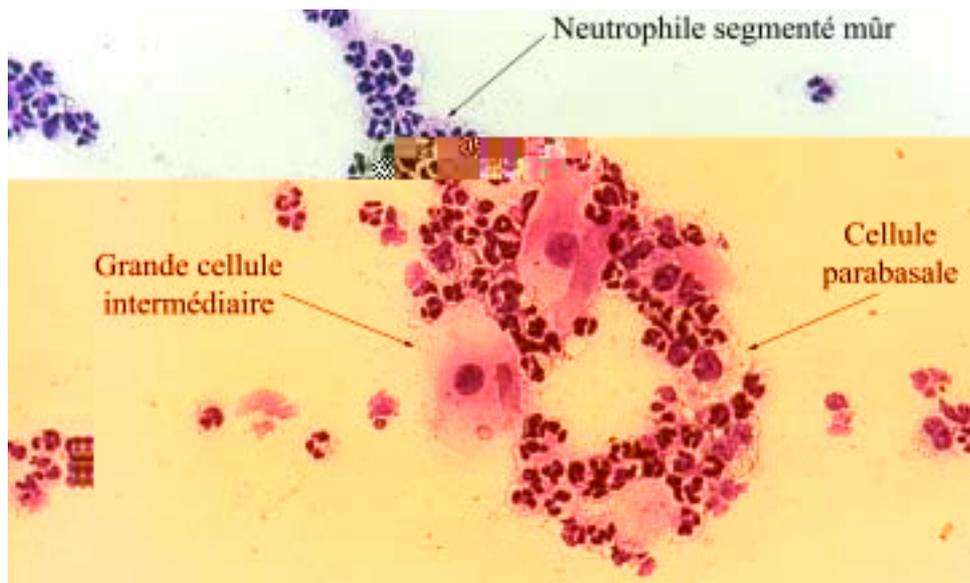


FIGURE 25 : Frottis vaginal effectué sur une femelle *Lemur coronatus* au cours de notre étude (coloration MGG, x 400 M.O.)

Concernant le suivi du cycle œstral des femelles *Lemur coronatus*, la coloration de Harris-Shorr nous paraît être la coloration de choix. En effet, la kératinisation des cellules épithéliales y est bien mise en évidence : Les cellules acidophiles deviennent rouge orange au fur et à mesure que la kératinisation progresse.

Annexe VI : La coloration de Harris-Shorr

Concernant les frottis vaginaux de Deborah effectués à l'Université de Strasbourg, les lames ont été fixées dans un mélange alcool-éther à 50%, puis colorées au Papanicolaou.

## 6. Interprétation

L'interprétation des frottis se fait également au CERCA, à l'aide d'un microscope optique disposant d'objectifs grossissants x 100 et x 400.

On pourra alors répertorier la présence, ainsi que la quantité relative, des différentes catégories de cellules, que l'on peut retrouver dans les frottis vaginaux.

Annexe VII : Les cellules du frottis vaginal [NEVEUX, 1999]

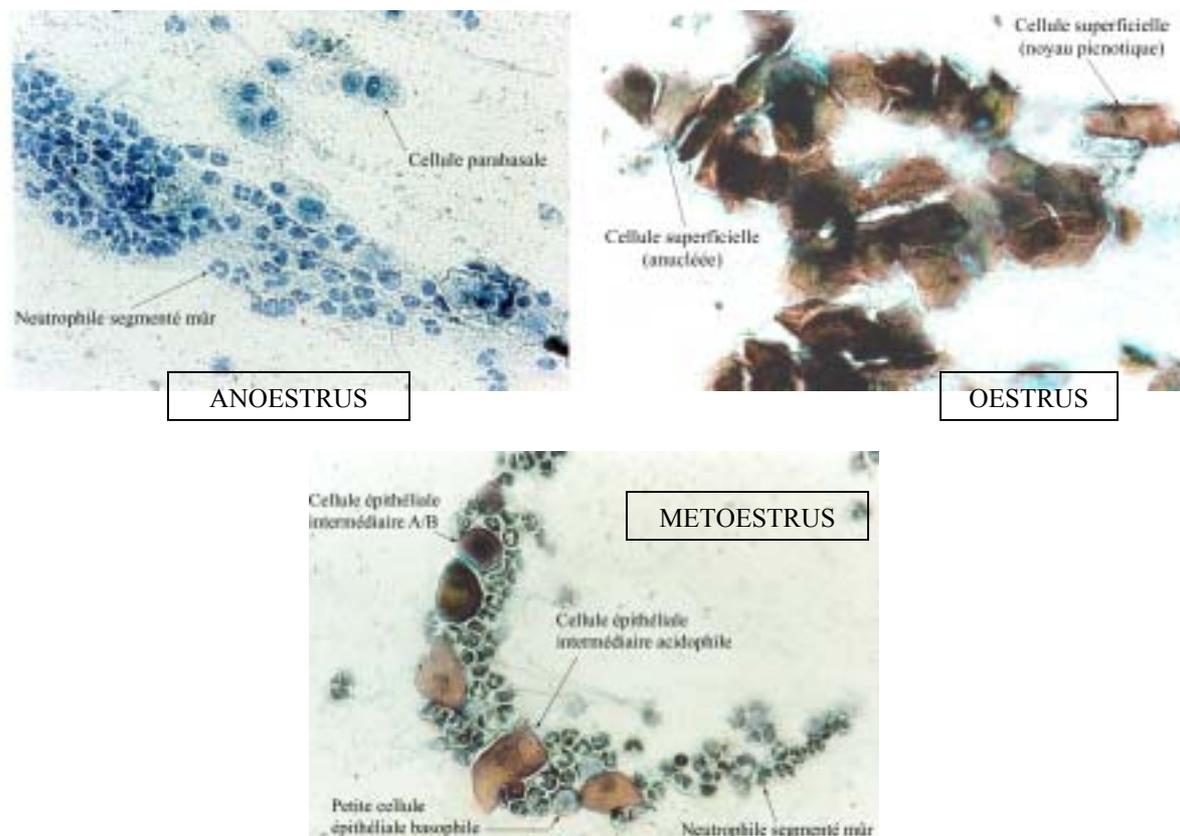


FIGURE 26 : Frottis vaginaux effectués sur différentes femelles *Lemur coronatus* au cours de notre étude (coloration Harris Shorr, x 400 M.O.)

A partir de ces données hebdomadaires (taille des cellules épithéliales, présence de cellules kératinisées anucléées, index éosinophilique, polynucléaires...), on pourra alors approximativement suivre l'évolution du cycle œstral pour chaque femelle.

Notre intérêt sera alors de déterminer si les femelles âgées présentent encore une variation cyclique de la composition de leur frottis vaginal.

## **B) Dosages hormonaux sériques**

Dans le cadre de notre étude, nous avons estimé qu'un prélèvement sanguin mensuel nous suffirait, non seulement pour les mâles (protocole habituel), mais également pour les femelles. En effet, le but étant de mettre en évidence une éventuelle activité sexuelle chez les femelles âgées, nous n'avons besoin que de quelques valeurs augmentées par rapport au taux basal pour conforter une telle hypothèse. De plus, il serait difficile du point de vue éthique de réaliser des prélèvements sanguins plus fréquents.

### **1. Contention**

Le lémurien est immobilisé sur le dos (comme pour le prélèvement vaginal), les membres postérieurs tenus fermement en extension et en abduction, pour bien mettre en évidence la veine fémorale droite, sur la face interne de la cuisse droite.

### **2. Prélèvement**

Ce prélèvement n'est pas anodin, il nécessite de prendre toutes les précautions possibles, pour ne pas compromettre la bonne santé des lémuriens.

L'artère fémorale (sang rouge vif à pression élevée) suivant le même trajet superficiel que celui de la veine fémorale (sang rouge sombre), il est impératif tout d'abord de bien localiser ce dernier pour ne pas ponctionner par erreur l'artère fémorale (risque important d'hématome).

La compression veineuse étant exercée de la main gauche au niveau du creux de l'aîne, on ponctionne alors la veine fémorale droite en amont, de l'autre main, à l'aide d'une seringue (2 ml) et d'une aiguille (25 G) stériles.



FIGURE 27 : Prise de sang effectuée sur un *Lemur coronatus* mâle au cours de notre étude

Dès le prélèvement effectué (2 ml), on exercera ensuite une pression durable sur le site de ponction.

Ainsi une contention ferme, une bonne précision du geste et une compression soutenue et contrôlée, seront à même de réduire le risque d'hématome.

Enfin, pour chaque individu mâle ou femelle, nous remplissons 2 tubes (après avoir ôté l'aiguille de la seringue de prélèvement) :

- Un tube EDTA qui nous permettra de réaliser une numération et formule sanguine
- Un tube sec destiné aux analyses d'hormones sexuelles et aux analyses biochimiques

Ainsi, nous profitons de ce prélèvement à caractère invasif pour recueillir un maximum de données sur le *Lemur coronatus* (données biochimiques et hématologiques).

### **3. Centrifugation et congélation**

Tous les mois, chaque tube de prélèvement est centrifugé, puis le sérum surnageant est transvasé, référencé et congelé (-20°C) en attente de l'envoi groupé au laboratoire d'analyse de l'université de Strasbourg.

### **4. Méthodes d'analyse**

Les prélèvements ont été dosés par méthode radioimmunologique :

- Kit testostérone direct Immunotech
- T free Hoechst-Behring

## 5. Interprétation

Cette méthode d'évaluation de l'activité sexuelle des individus mâles (dosage de la testostérone) et des individus femelles (dosages d'œstradiol et de progestérone) n'ayant encore jamais été utilisée chez le *Lemur coronatus*, nous cherchons donc des références parmi d'autres espèces de lémuriens (*L. catta*, *L. macaco*, *V. variegata*, *Microcebus murinus*).

Ainsi, nous retrouvons chez ces espèces les mêmes fluctuations d'hormones sexuelles :

- une hausse du taux plasmatique de testostérone au cours de la saison de reproduction (de septembre à janvier) [EVANS et GOY, 1968 ; BOGART et al, 1977b ; AUJARD, 1998]
- une hausse du taux plasmatique de progestérone au cours du cycle œstral sur une période de 24 à 28 jours [BOGART et al, 1977b ; DIXSON, 1998]
- une hausse ponctuelle du taux plasmatique d'œstrogène située juste avant ou au début de l'œstrus [BOGART et al, 1977b ; DIXSON, 1998]

### C) Etude histologique

A l'aide de biopsies testiculaires, au cours de la saison de reproduction, on cherche à mettre en évidence une éventuelle activité des gonades mâles chez les individus âgés. Cependant, ne voulant pas compromettre la saison de reproduction, nous avons décidé de ne pas effectuer de biopsie testiculaire comparative chez les mâles « reproducteurs ».

En ce qui concerne les *Lemur coronatus* femelles, la méthode de biopsie ovarienne (laparotomie) nous a semblé bien trop invasive pour être utilisée dans notre étude.

Nous exploiterons en outre des prélèvements *post-mortem*, effectués chez les femelles *Lemur coronatus* décédées au cours de notre année d'étude.

Enfin, nous utiliserons comme référence les résultats d'études effectuées sur le cycle de l'épithélium séminifère chez l'*Eulemur fulvus mayottensis* [RASAMIMANANA et al, 1990] et le *Microcebus murinus* [PETTER-ROUSSEAU, 1974], ainsi que quelques lames histologiques de gonades mâles (*L. albocolaris*, *Hapalemur griseus* âgé) et femelle (*L. albocolaris*), issus de lémuriens décédés au zoo de Mulhouse, fournies gracieusement par Laurence FIETTE du laboratoire d'anatomie-pathologie de l'Institut PASTEUR.

## 1. Méthode de biopsie testiculaire

### a) Contention chimique et préparation chirurgicale

Le *Lemur coronatus* mâle reçoit une injection intramusculaire de médétomidine (DOMITOR<sup>ND</sup>) à la posologie de 80 µg/kg, associée à de la kétamine (IMALGENE<sup>ND</sup>) à la posologie de 2 mg/kg.

Au bout de 5-10 minutes, on pourra alors le préparer en vue du prélèvement testiculaire :

- positionnement sur le dos, les 4 membres en abduction et attachés par des liens à la table d'opération
- préparation de la zone à biopser : épilation, suivie d'une désinfection soignée du testicule à l'aide de povidone iodée (VETEDINE<sup>ND</sup>)
- préparation du matériel stérile de biopsie : paires de ciseaux, lame de scalpel, pinces, porte-aiguille, compresses, fil de suture (Vicryl)
- préparation du chirurgien : désinfection soignée des mains, gants stériles

### b) Prélèvement testiculaire

Après avoir incisé la peau du scrotum, on extrait le testicule de son enveloppe, pour le pincer entre ses doigts. Puis on effectue une petite section conique du testicule à l'aide d'une paire de ciseaux. Le prélèvement testiculaire est enfermé dans un pot de formol. Enfin, le testicule est remis en place, et la paroi cutanée est suturée par des points simples.

Dans le cas de Peter, dont les testicules étaient atrophiés, on a préféré effectuer l'exérèse complète du testicule droit.



FIGURE 28 : Exérèse testiculaire droite du *Lemur coronatus* mâle Peter

### c) Réveil

Après une injection intramusculaire d'atipamézole (ANTISEDAN<sup>ND</sup>), on laisse le *Lemur coronatus* mâle se réveiller tranquillement dans une cage de transport, en surveillant régulièrement l'état de son réveil.

## 2. Méthode de prélèvement post mortem

Il s'agit de pratiquer l'exérèse des organes reproducteurs mâles ou femelles lors de l'autopsie.

## 3. Méthode de préparation des lames histologiques

Les prélèvements ont été fixés dans du Bouin, inclus dans de la paraffine, puis coupés en fines lamelles de 5 µm d'épaisseur. Ces préparations histologiques ont ensuite été colorées à l'hémalun-éosine.

## 4. Interprétation

L'étude des lames histologiques ainsi obtenues nous permettra alors d'observer ou non la présence d'une spermatogenèse chez le mâle âgé, et d'une maturation folliculaire chez la femelle âgée.

### a) Chez le mâle

On observe des coupes histologiques de testicules au microscope optique aux grossissements x 100, x160, x 400 et x 1000.

Sur ces coupes histologiques, il s'agit de définir si les tissus gonadiques des vieux mâles *L. coronatus* montrent encore une activité spermatogénique (production de spermatozoïdes) et d'élaboration de la testostérone (cellules de Leydig).

Chez le *Microcebus murinus* et le *Lemur f. mayottensis*, lors de la saison de repos sexuel, la spermatogenèse est interrompue : L'épithélium séminifère ne contient plus que des spermatogonies, des cellules de Sertoli, et occasionnellement quelques spermatocytes parvenus au stade zygotène ou pachytène, dans des tubules à large lumière. [PETTER-ROUSSEAU, 1974 ; RASAMIMANANA *et al.*, 1990]

Durant la saison de reproduction du *Lemur f. mayottensis*, on observe peu de cellules en dégénérescence (spermatocytes et spermatides), alors que cette dernière prend des proportions beaucoup plus importantes en saison de non-reproduction. Cet arrêt de la spermatogenèse est particulièrement évident chez les jeunes adultes. Au contraire, une activité spermatogénique

semble se prolonger à bas bruit durant la période d'inactivité sexuelle des *Lemur f. mayottensis* âgés. [RASAMIMANANA *et al.*, 1990]

Annexe VIII : Représentation schématique des différentes structures testiculaires vues au microscope optique

b) Chez la femelle

On observe des coupes histologiques d'ovaires (grossissements x 25, x 100 et x 400) et d'utérus (grossissements x 100 et x 400) au microscope optique.

Concernant les coupes histologiques ovariennes, on cherche à mettre en évidence une éventuelle activité des tissus gonadiques, notamment de production du zygote et d'élaboration des hormones sexuelles femelles.

En effet, chez la femme, l'activité fonctionnelle des ovaires cesse quand le nombre de follicules primordiaux est devenu trop faible ou nul : C'est la ménopause. Les ovaires deviennent alors atrophiques, et le cortex s'appauvrit rapidement en follicules évolutifs. Seul persiste le stroma dans lequel s'incorporent les cellules thécales en provenance des follicules atrophiques. [DADOUNE,1990]

Concernant les coupes histologiques utérines, il s'agit de constater l'éventuelle activité fonctionnelle des tissus utérins, et notamment de la muqueuse utérine.

A la ménopause, la femme n'a plus de cycle menstruel. L'endomètre est aminci, il ne présente plus de modifications morphologiques cycliques. Les glandes utérines sont atrophiques. Seule persiste la couche profonde de l'endomètre (couche basale ou résiduelle), du fait de l'absence de stimulation par les hormones sexuelles femelles. [DADOUNE,1990]

Annexe IX : Les différentes étapes de la croissance d'un follicule évolutif [DADOUNE,1990]



## I CHEZ LES MALES LEMUR CORONATUS

### A) Etude générale

Annexe X : Tableaux récapitulatifs des relevés morphologiques, des résultats hormonaux et histologiques chez nos mâles *L. coronatus*

#### 1. Variation de la taille testiculaire

- Chez Félix et Serapis, la taille testiculaire droite connaît un pic en décembre 1999 (3,45 cm<sup>2</sup> pour Serapis, 3,5 cm<sup>2</sup> pour Félix), suivie d'une baisse régulière jusque fin juin (derniers relevés de taille testiculaire), avec 0,78 cm<sup>2</sup> pour Serapis et 1,35 cm<sup>2</sup> pour Félix.

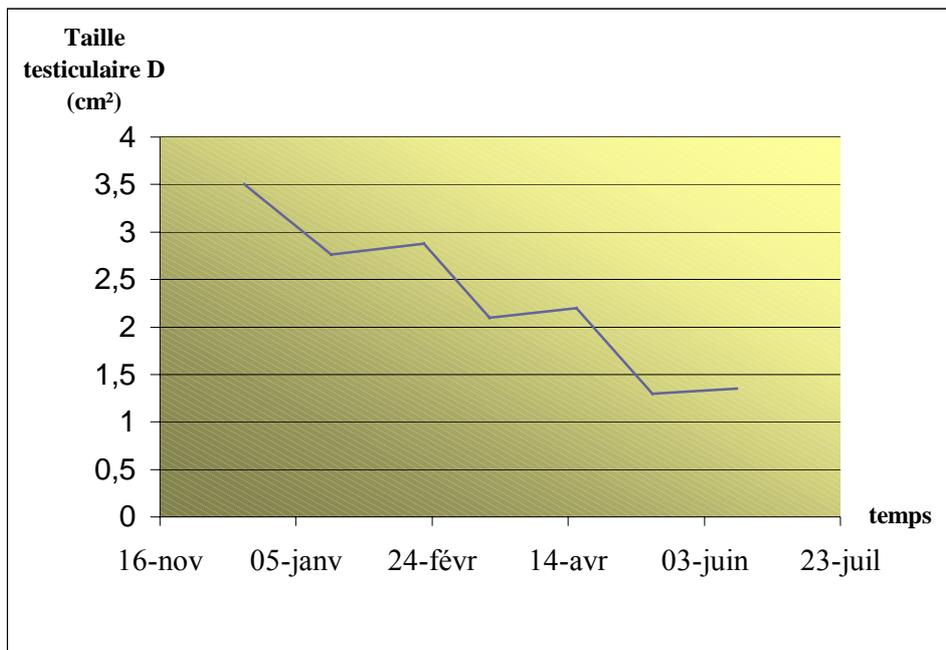


FIGURE 29 : Evolution de la taille testiculaire droite chez Félix, durant la période du 17/12/99 au 15/06/00.

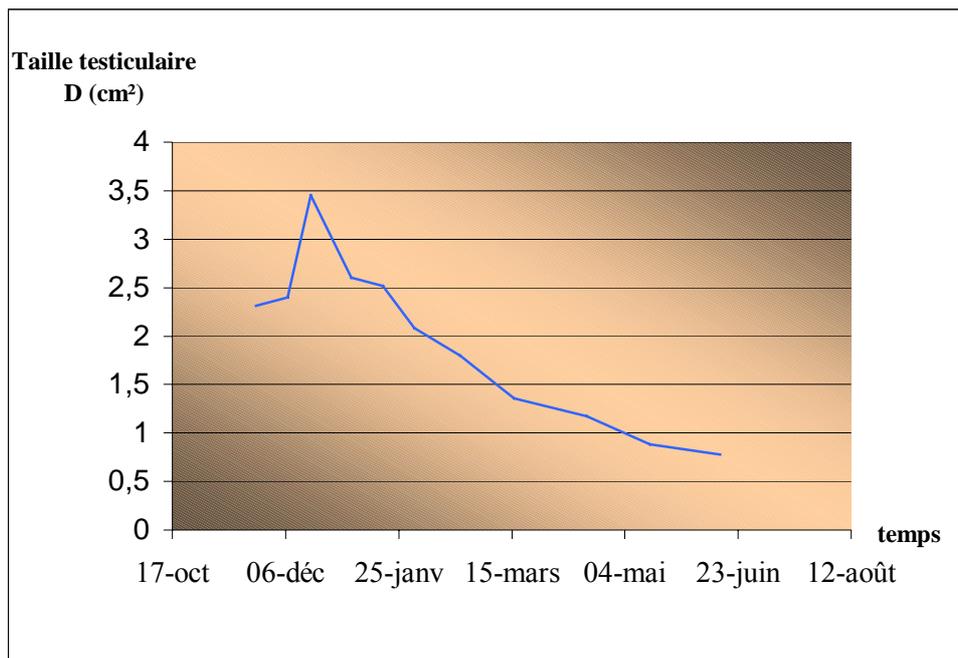


FIGURE 30 : Evolution de la taille testiculaire droite chez Serapis, durant la période du 23/11/99 au 15/06/00.

- Concernant Emeric, on note 2 valeurs maximales en décembre 1999 (3,22 cm<sup>2</sup>) et en février 2000 (3,78 cm<sup>2</sup>), puis sa taille testiculaire droite diminue pour atteindre sa valeur minimale en mai (1,04 cm<sup>2</sup>).

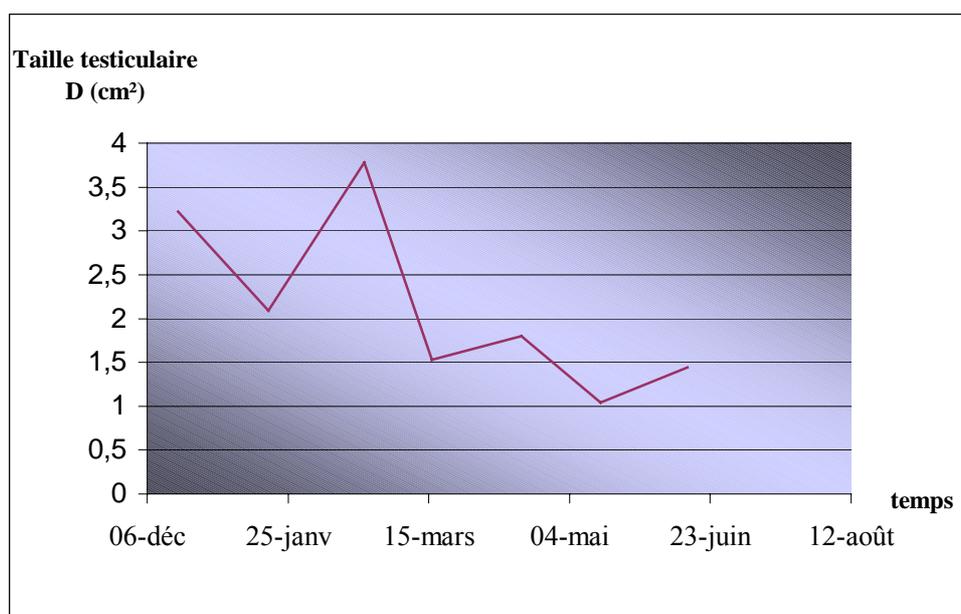


FIGURE 31 : Evolution de la taille testiculaire droite chez Emeric, durant la période du 17/12/99 au 15/06/00.

- Enfin, nous retrouvons chez Eloi une variation de taille testiculaire similaire à celle des autres mâles *L. coronatus*, cependant l'écart entre son maximum (2,09 cm<sup>2</sup> début février) et son minimum (0,88 cm<sup>2</sup> en mai) de taille testiculaire droite est plus faible que chez les autres mâles.

De plus la taille testiculaire maximale mesurée chez Eloi (2,09 cm<sup>2</sup>) est bien inférieure à la moyenne des tailles testiculaires maximales (3,2 cm<sup>2</sup>) des 4 *L. coronatus* mâles concernés par notre étude.

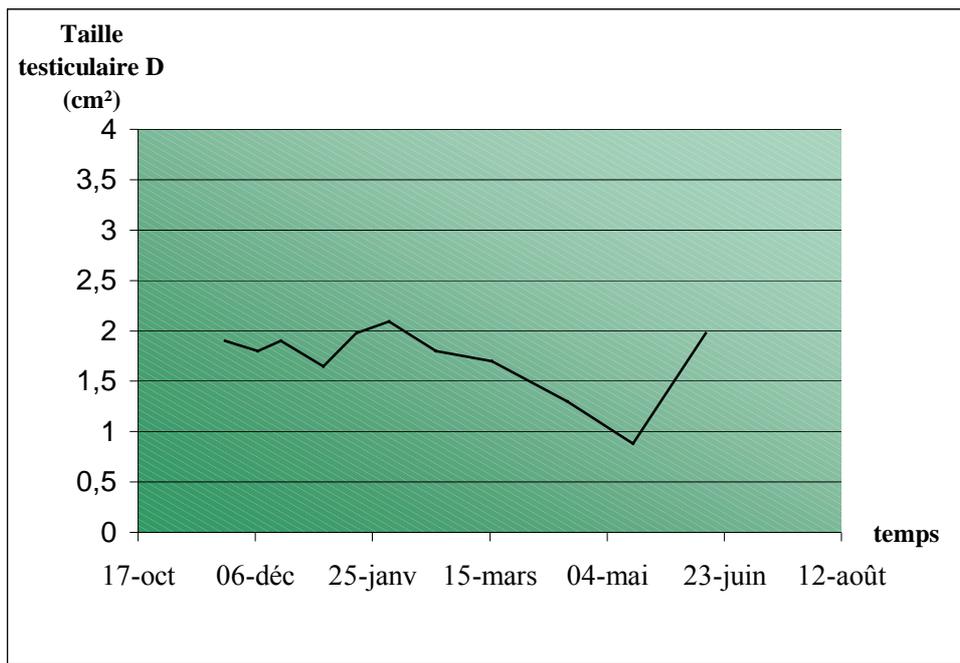


FIGURE 32 : Evolution de la taille testiculaire droite chez Eloi, durant la période du 23/11/99 au 15/06/00.

Ainsi, nous observons nettement un caractère saisonnier de la physiologie reproductrice chez ces mâles *L. coronatus*, avec un maximum de taille testiculaire de décembre à février, et une baisse de cette dernière jusqu'en mai-juin (< 1,5 cm<sup>2</sup>).

## 2. Variation du taux de testostérone sérique

- Chez Eloi et Serapis, le taux de testostérone sérique connaît un pic en novembre 1999 pour Serapis (39 ng/ml), en décembre 1999 (18 ng/ml) et octobre 2000 (19 ng/ml) pour Eloi. Puis, le taux de testostérone baisse pour atteindre des valeurs minimales en avril (0,31 ng/ml) et mai (0,46 ng/ml) pour Serapis, en mai (0,32 ng/ml) pour Eloi <sup>(1)</sup>.

Concernant Eloi, de même que pour la taille testiculaire, nous pouvons constater que la valeur maximale de son taux de testostérone (19 ng/ml) est bien moins élevée que la moyenne (valeur maximale moyenne des 4 mâles *L. coronatus* de Mulhouse : 27,5 ng/ml).

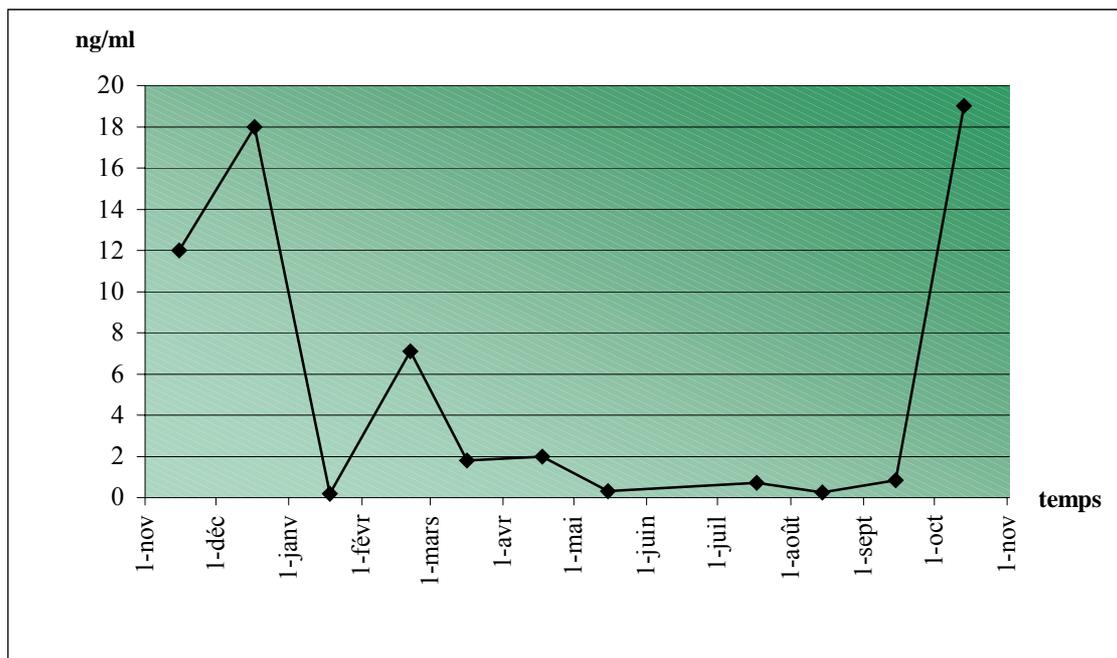


FIGURE 33 : Variation du taux de testostérone sérique mensuel chez Eloi, durant la période du 15/11/99 au 13/10/00.

(1) Absence de valeur pour Eloi au mois de juin

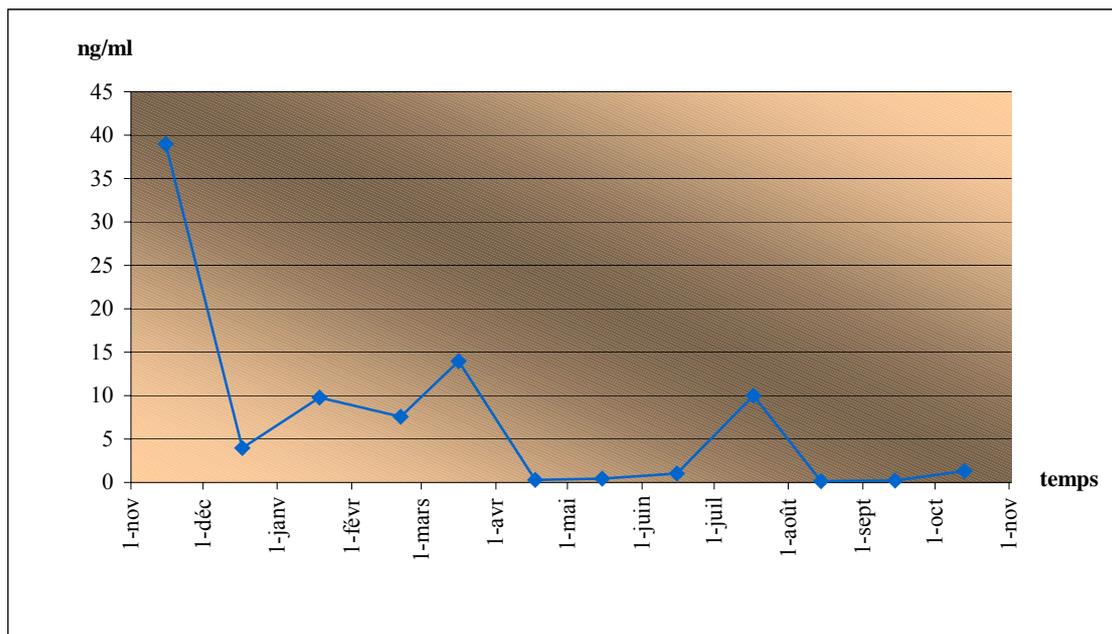


FIGURE 34 : Variation du taux de testostérone sérique mensuel chez Serapis, durant la période du 15/11/99 au 13/10/00.

- Chez Emeric et Félix, les résultats de testostérone sérique sont assez inhabituels au sein de la famille des Lémuridés vivant dans l'hémisphère Nord.

En effet, les valeurs maximales de leurs taux de testostérone se situent en mai 2000 (24 ng/ml pour Emeric et 28 ng/ml pour Félix). Puis, on assiste à une chute brutale de ce taux :

- 0,24 ng/ml en juillet pour Emeric
- 0,1 ng/ml en juin pour Félix

Enfin, une hausse moins spectaculaire du taux de testostérone est observée au mois de novembre 1999 (13 ng/ml pour Félix et 7,2 ng/ml pour Emeric), suivie d'une baisse assez régulière jusqu'en mars pour Félix (1,2 ng/ml) et en avril pour Emeric (0,3 ng/ml).

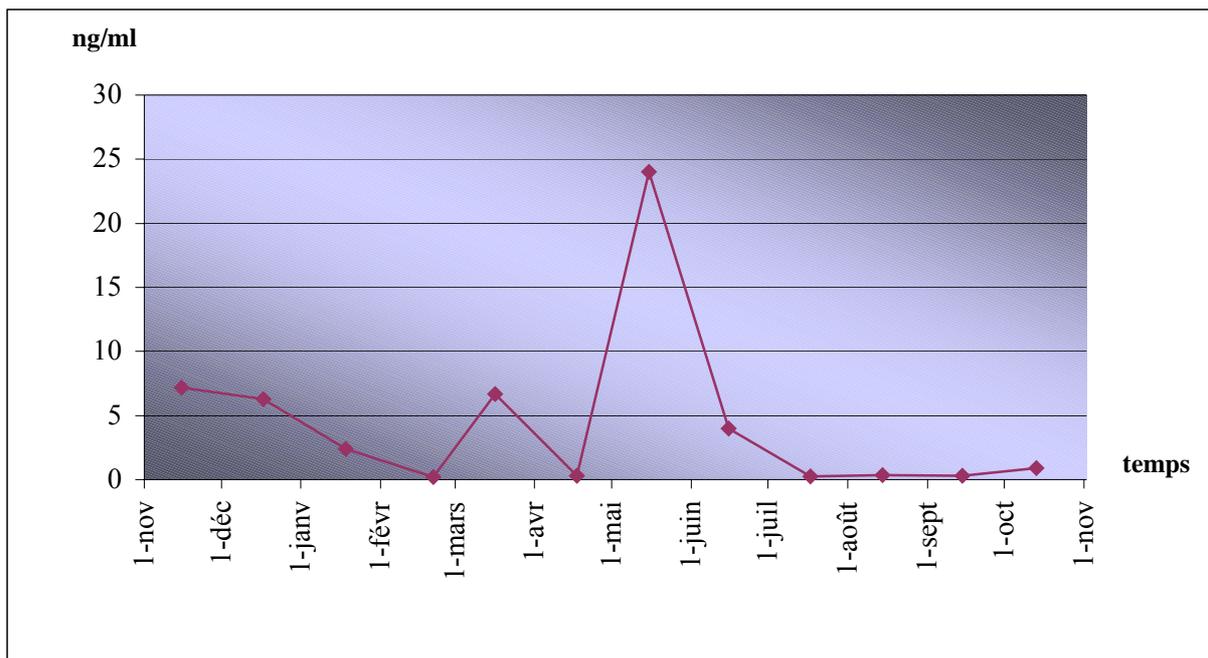


FIGURE 35 : Variation du taux de testostérone sérique mensuel chez Emeric, durant la période du 15/11/99 au 13/10/00.

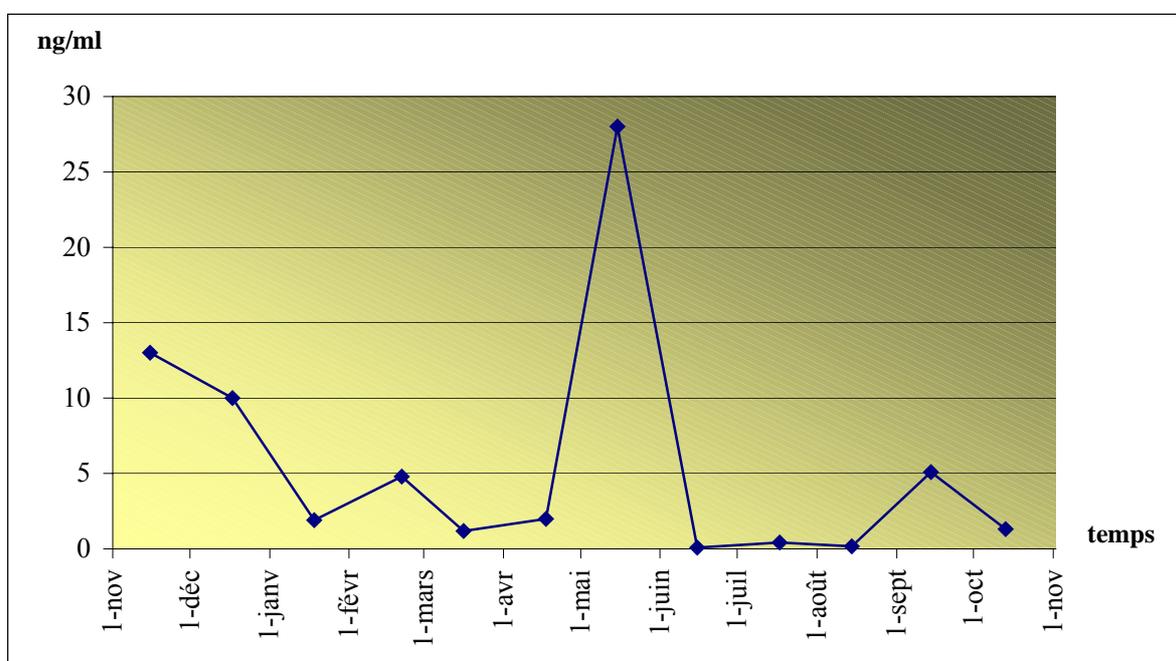


FIGURE 36 : Variation du taux de testostérone sérique mensuel chez Félix, durant la période du 15/11/99 au 13/10/00.

- Concernant Peter, son taux de testostérone sérique n'a jamais excédé 0,67 ng/ml (décembre 1999), tout au long de cette étude, du 17/11/99 au 17/04/01.

Nous assistons ainsi à une très légère hausse du taux de testostérone en décembre 1999, puis ce taux diminue pour atteindre des valeurs à la limite du seuil de détection de 0,04 ng/ml jusqu'à la fin de notre étude.

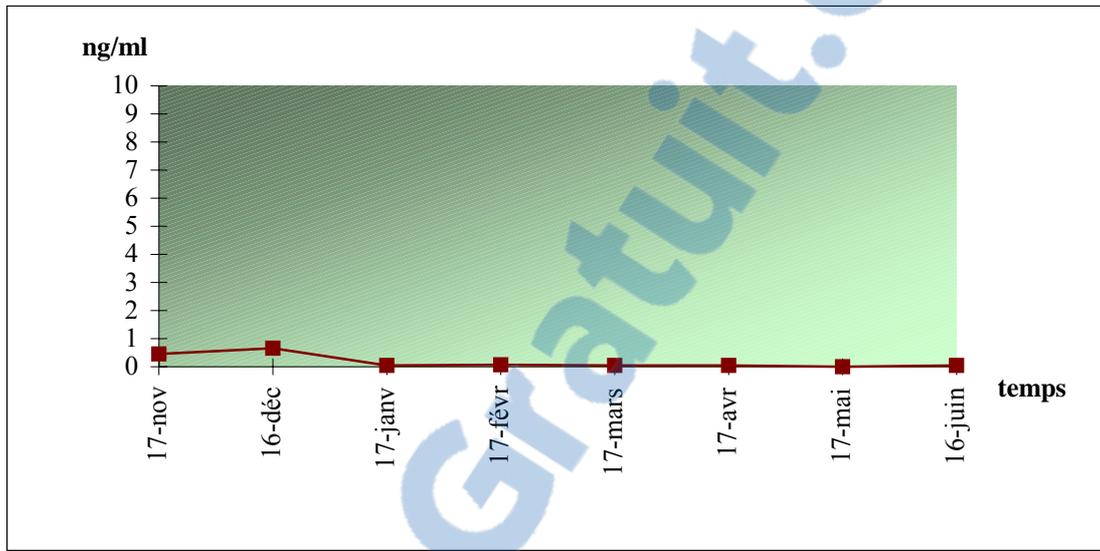


FIGURE 37 : Variation du taux de testostérone sérique mensuel chez Peter, durant la période du 17/11/99 au 17/04/01.

Cependant, on se doit de noter le décès des deux femelles *L. coronatus* de Strasbourg (Kim fin novembre 1999 et Deborah mi-mai 2000), ceci pouvant peut-être expliquer l'absence complète d'activité hormonale sexuelle mâle chez Peter depuis mai 2000.

Pour conclure, bien que certaines valeurs du taux plasmatique mensuel de testostérone nous semblent inexplicables, nous retrouvons quand même un profil commun à tous nos sujets d'étude. En effet, ces derniers présentent tous une hausse plus ou moins importante de leur taux de testostérone de novembre à décembre (de 7,2 à 39 ng/ml), suivie d'une baisse assez régulière jusqu'en mars, avril ou mai.

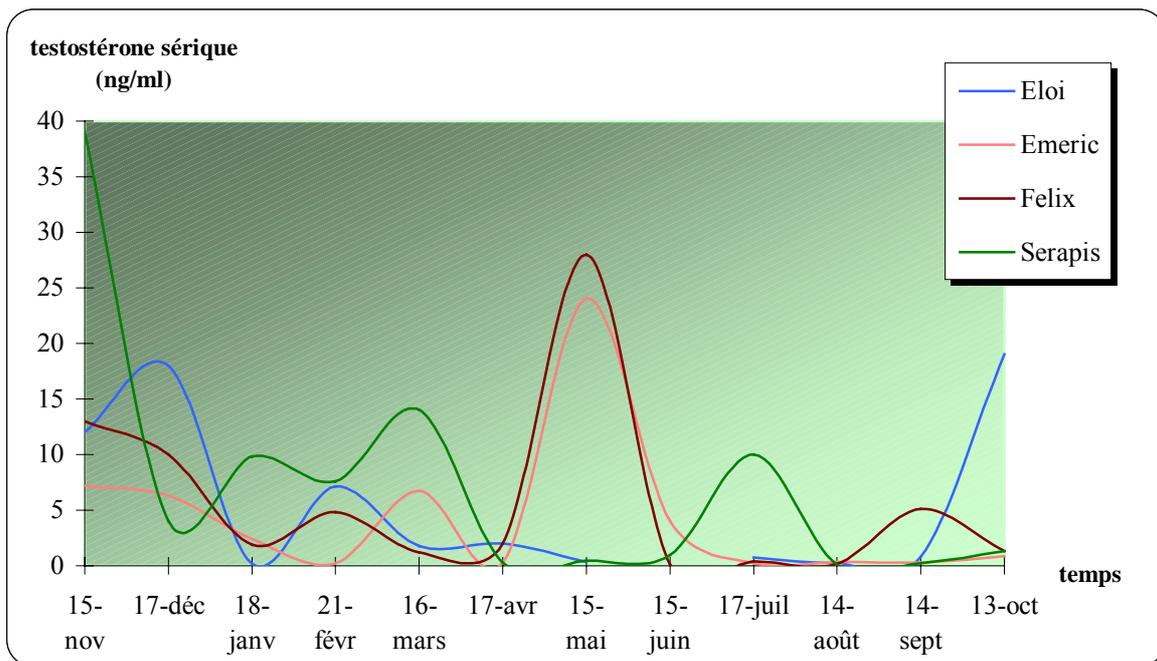


FIGURE 38 : Variation des taux de testostérone sérique mensuels chez les 4 mâles *L. coronatus* de Mulhouse, durant la période du 15/11/99 au 13/10/00.

Ce profil nous rappelle alors celui de la taille testiculaire. Nous en concluons donc que la physiologie reproductrice du *L. coronatus* mâle connaît une variation saisonnière, avec un maximum d'activité sexuelle en période hivernale.

## B) Etude spécifique

Le but de notre étude étant de déterminer le statut reproducteur des individus âgés de plus de 15 ans, nous allons donc comparer les résultats de nos 3 vieux mâles *Lemur coronatus* :

- Serapis 18 ans (Mulhouse)
- Peter ≈18-19 ans (Strasbourg)
- Prospere >15 ans (Vincennes) décédé le 15/11/99

à ceux de nos mâles témoins, considérés comme reproducteurs :

- Emeric >7 ans (Mulhouse)
- Félix 6 ans (Mulhouse)
- Eloi ≈8 ans (Mulhouse)

### 1. Variation de la taille testiculaire

Etant donné qu'aucune mesure suivie de la taille testiculaire n'a été entreprise à l'Université de Strasbourg chez Peter, et que Roy et Prospere sont décédés tous les deux en début d'étude, nous ne disposons que des résultats de Serapis concernant l'évolution de la taille testiculaire des individus âgés, au cours d'une saison de reproduction.

Ainsi, nous observons, chez Serapis, une variation saisonnière de la taille testiculaire droite : Cette dernière atteint son apogée en période hivernale (3,45 cm<sup>2</sup> en décembre), puis décroît régulièrement jusqu'en mai-juin pour rejoindre des valeurs inférieures à 1 cm<sup>2</sup>.

### 2. Variation du taux de testostérone sérique

Nous retrouvons une variation saisonnière plus ou moins évidente du taux de testostérone mensuel :

- bien nette chez Serapis (pic hivernal, valeurs minimales < 0,5 ng/ml en avril-mai)
- beaucoup moins marquée chez Peter, pour qui le taux de testostérone maximal n'atteint que 0,67 ng/ml en décembre 1999. En outre, nous ne décelons aucune activité sexuelle hormonale mâle chez Peter d'avril 2000 à avril 2001 (valeurs mesurées à la limite du seuil de détection de 0,04 ng/ml).

### 3. Coupes histologiques testiculaires

Nous avons effectué ces coupes histologiques testiculaires sur Serapis et Peter au cours de la période de reproduction (décembre 1999). Nous avons également conservé les testicules de Prospere, à la suite de son décès en novembre 1999, en vue d'une étude histologique.

- Concernant Peter, nous retrouvons trois types de tubes séminifères sur les différentes coupes histologiques :
  - des tubes séminifères **au repos** présentant un épithélium mince constitué essentiellement de cellules immatures, telles que des spermatogonies, des spermatocytes I, ainsi que des cellules de Sertoli.

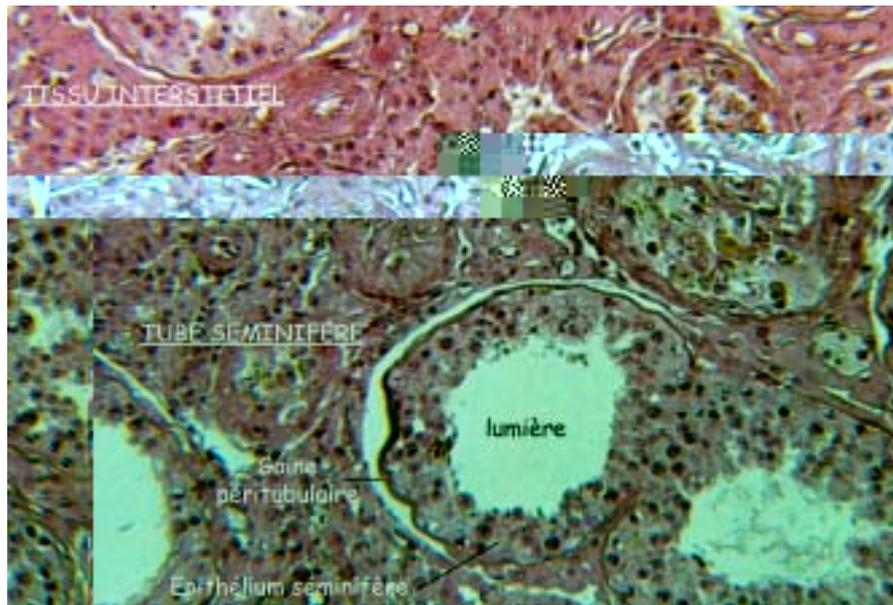


FIGURE 39 : Coupe histologique testiculaire de Peter (x 100)

- des tubes séminifères **atrophiés** de faible diamètre à lumière « hyalinisée », ne présentant plus aucune cellule germinale

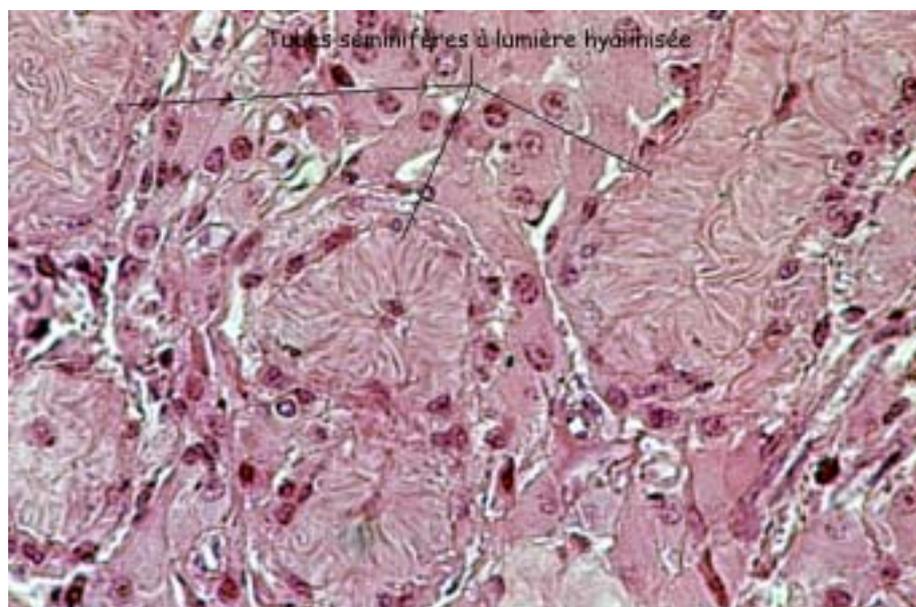


FIGURE 40 : Coupe histologique testiculaire de Peter à fort grossissement optique (x 400)

- des tubes séminifères **en activité** présentant un épithélium épais, une lumière étroite, ainsi qu'une spermatogenèse active (visualisation des différents stades de maturation de la lignée germinale) aboutissant à la libération de spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère

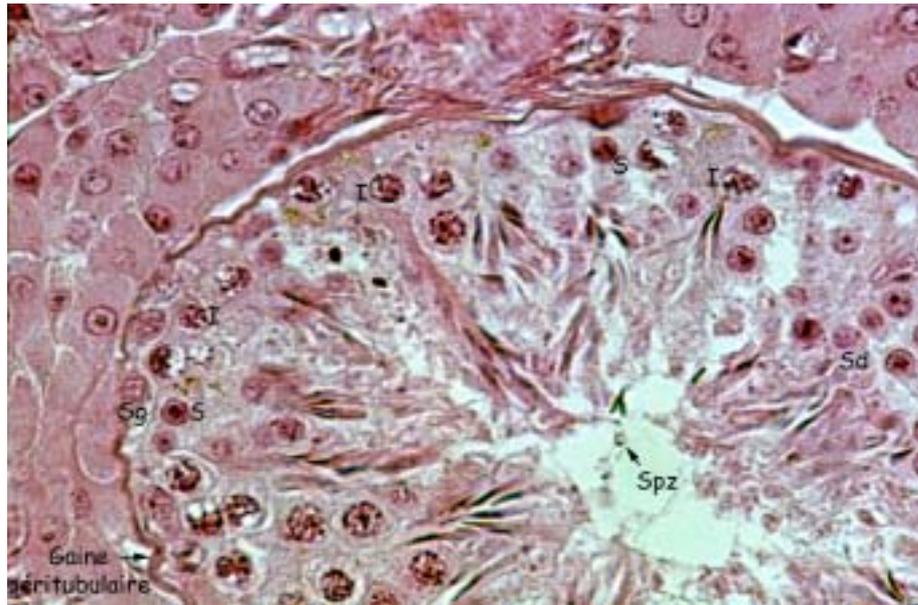


FIGURE 42 : Coupe histologique testiculaire de Peter à fort grossissement optique (x 400)

Nous en déduisons que Peter est en période de repos sexuel, vu qu'il présente à la fois des tubes séminifères actifs et des tubes séminifères inactifs.

- Chez Serapis, nous retrouvons surtout des tubes séminifères en activité et à lumière très étroite. Nous noterons également la différence de diamètre entre les tubes séminifères de Serapis et de Peter. En effet, la plupart des tubes séminifères de Serapis sont deux fois plus larges que ceux de Peter.

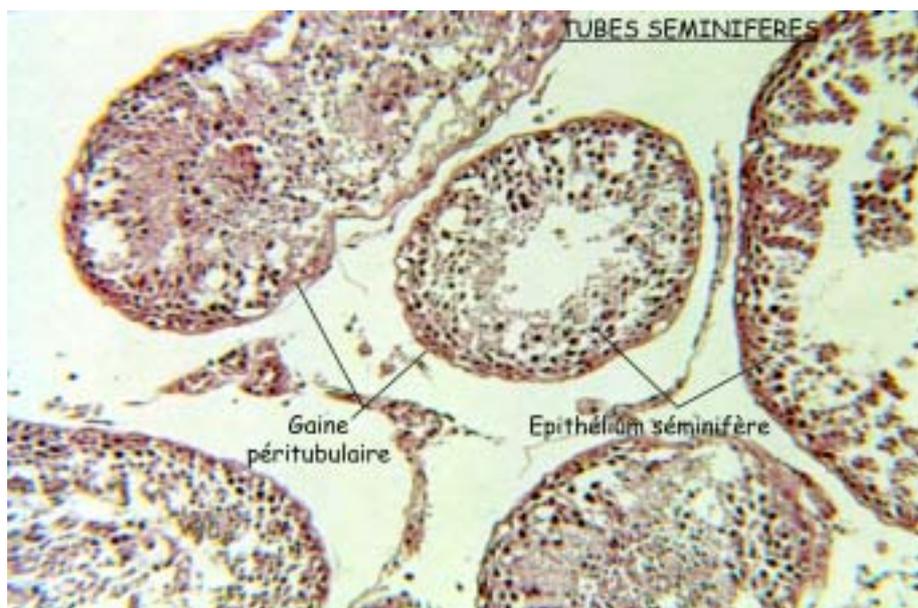


FIGURE 43 : Coupe histologique testiculaire de Serapis (x 100)

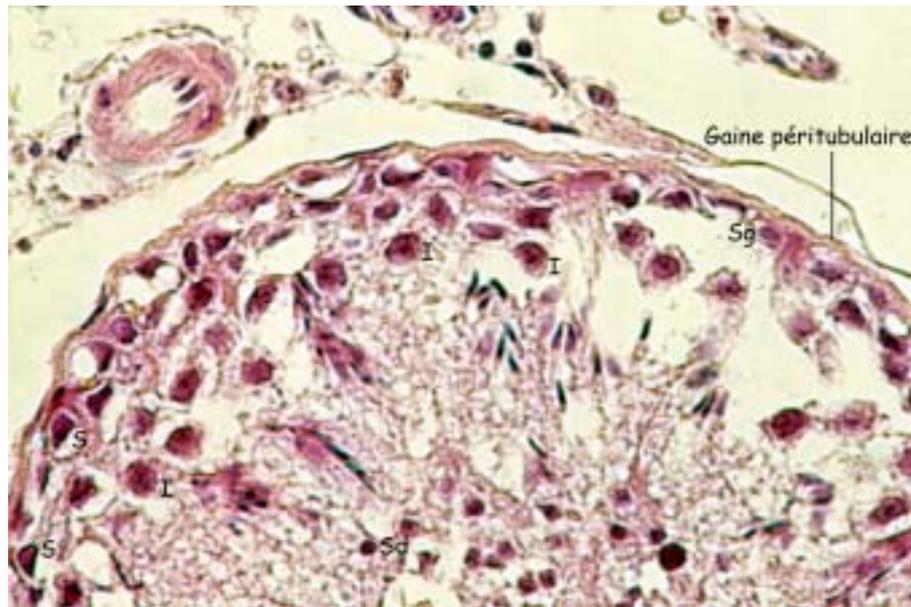


FIGURE 45 : Coupe histologique testiculaire de Serapis à fort grossissement optique (x 400)

Nous en concluons que Serapis est en période d'activité sexuelle.

- Concernant Prospere, nous observons également de nombreux tubes séminifères en activité de spermatogénèse ; mais nous y retrouvons aussi des tubes séminifères au repos (épithélium mince et large lumière).

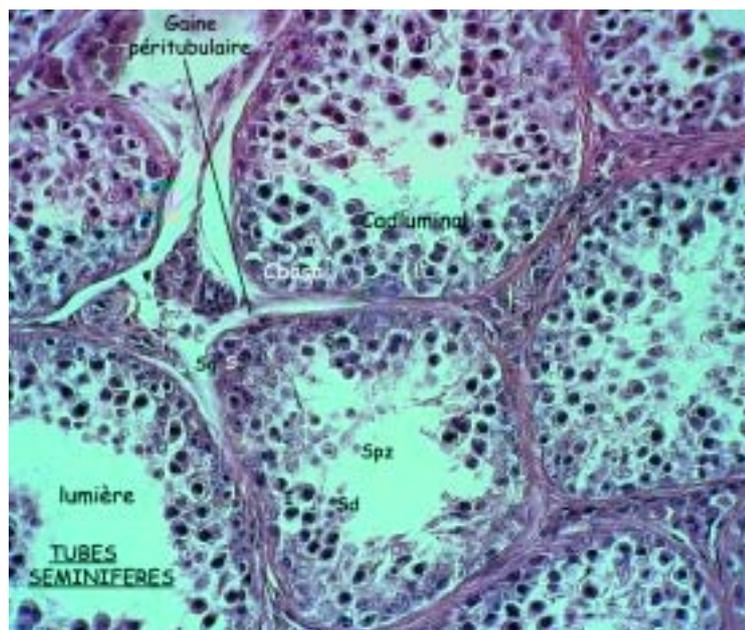


FIGURE 46 : Coupe histologique testiculaire de Prospere à fort grossissement optique (x 400)

De plus, nous noterons la présence de spermatozoïdes dans la lumière du canal épидидymaire. En effet, ce conduit a pour rôle de transporter les spermatozoïdes du testicule (canaux efférents) jusqu'au canal déférent, prolongé par l'urètre, cette dernière aboutissant au niveau du méat urinaire, point d'émission des spermatozoïdes.

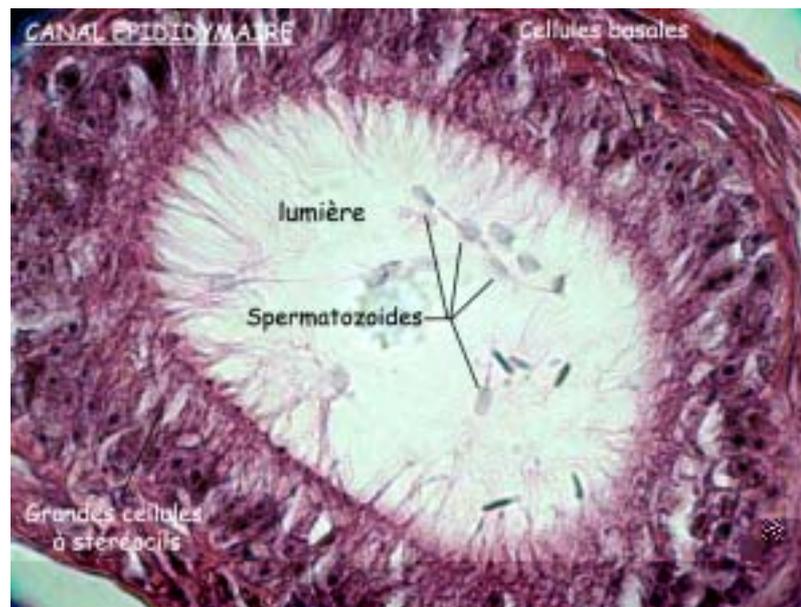


FIGURE 48 : Coupe histologique épидидymaire de Prospère à très fort grossissement (x 1000)

Ainsi, Prospère présente lui aussi des signes évidents d'activité physiologique reproductrice.

En conclusion, étant donnés nos résultats morphologiques, hormonaux et histologiques, nous pouvons affirmer que les mâles *Lemur coronatus* âgés de plus de 15 ans présentent une activité physiologique reproductrice plus ou moins marquée dans notre étude.

Concernant Serapis, présentant quant à lui une pleine activité physiologique reproductrice, nous nous devons de considérer l'importance du contexte comportemental. En effet, depuis son transfert des EU (08/1991), où Serapis eut une nombreuse descendance, ce dernier n'avait obtenu aucun résultat, jusqu'à ce jour, avec les différentes femelles mises en sa présence au zoo de Mulhouse. Ainsi, au cours de l'année 2000, nous enregistrons enfin la naissance de jumeaux engendrés par Serapis. Enfin, Peter nous montre principalement une inactivité reproductrice. Cependant, on retrouve encore chez lui des tubes séminifères en activité, ainsi qu'une très faible variation du taux de testostérone.

## II CHEZ LES FEMELLES LEMUR CORONATUS

### A) Etude générale

Cette étude n'a pas pour but d'étudier le déroulement précis du cycle œstral de la femelle *L. coronatus*, mais de déterminer si les femelles âgées de plus de 15 ans présentent encore une activité physiologique reproductrice. En effet, les relevés d'échantillons cytologiques, sanguins, ainsi que les observations effectuées sur le terrain, ne sont pas assez nombreuses pour nous permettre d'analyser précisément le cycle œstral de la femelle *L. coronatus*.

Annexe XI : Tableaux récapitulatifs des relevés morphologiques, cytologiques et des résultats hormonaux chez nos femelles *L. coronatus*

#### 1. Modifications morphologiques de l'appareil génital externe femelle

Les relevés morphologiques n'ont été effectués que chez les 5 femelles *L. coronatus* de Mulhouse, au cours d'une période allant du 15/11/99 au 15/02/00.

Pour interpréter ces données, on a analysé d'une part l'évolution du degré de tuméfaction vulvaire (le plus représentatif des trois critères), d'autre part celle de la moyenne des trois critères morphologiques confondus.

- Concernant Nicole, Julie, Lulu et Odile, on observe une évolution similaire des deux courbes, dont les valeurs maximales coïncident quasi systématiquement avec les périodes d'œstrus déterminées par frottis vaginal.

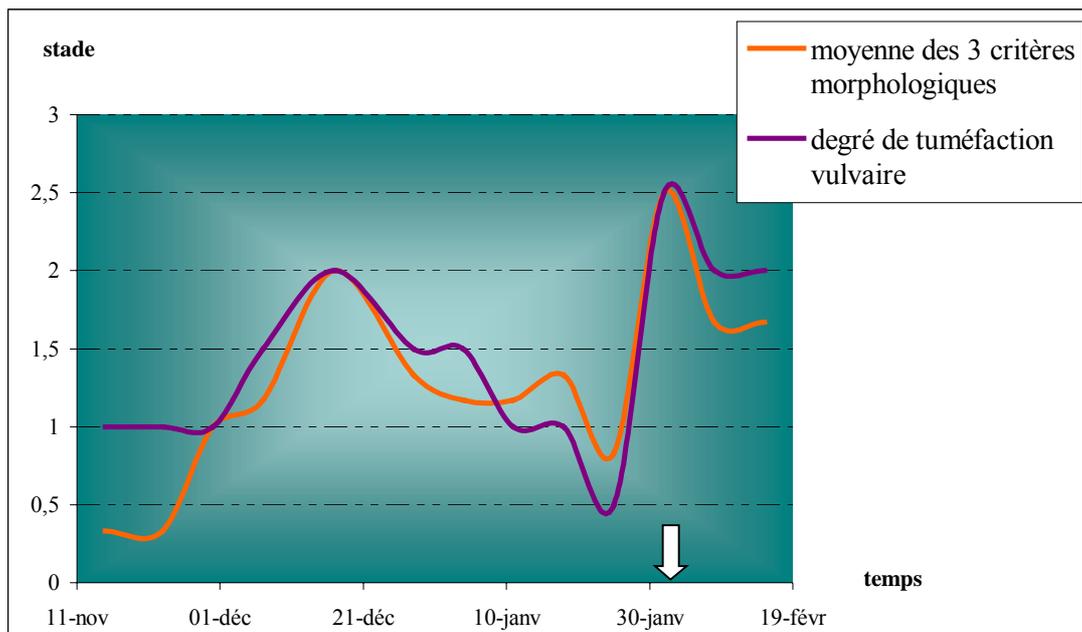


FIGURE 49 : Evolution du degré de tuméfaction vulvaire et de la moyenne des 3 critères morphologiques chez Nicole, durant la période du 15/11/99 au 15/02/00.

[Les flèches représentent l'œstrus déterminé par frottis vaginal.]

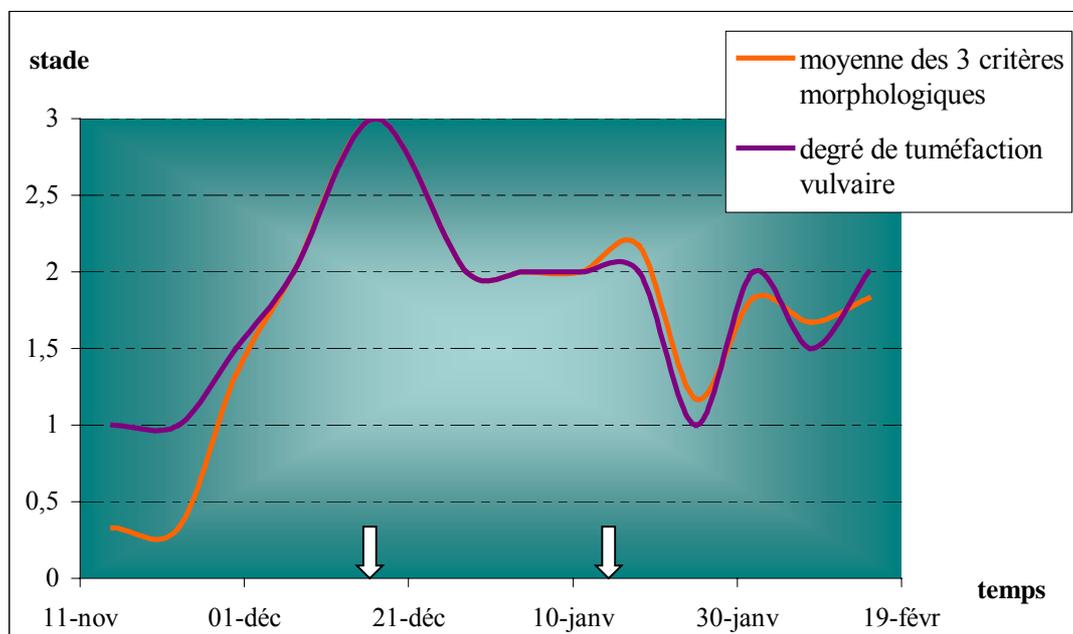


FIGURE 50 : Evolution du degré de tuméfaction vulvaire et de la moyenne des 3 critères morphologiques chez Julie, durant la période du 15/11/99 au 15/02/00.

[Les flèches représentent l'œstrus déterminé par frottis vaginal.]

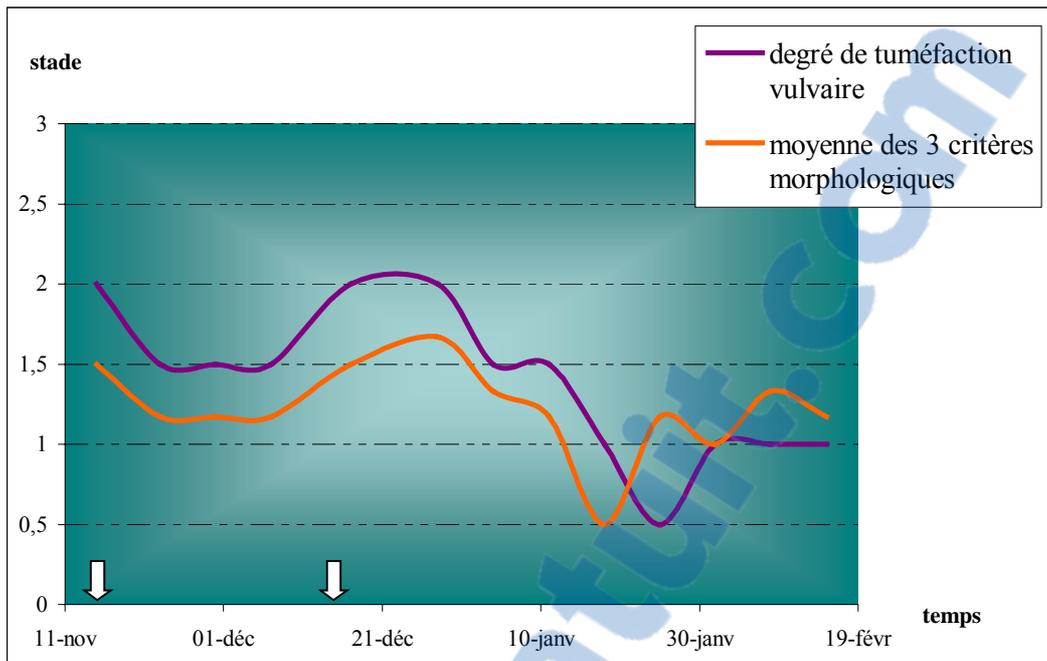


FIGURE 51 : Evolution du degré de tuméfaction vulvaire et de la moyenne des 3 critères morphologiques chez Lulu, durant la période du 15/11/99 au 15/02/00.

[Les flèches représentent l'œstrus déterminé par frottis vaginal.]

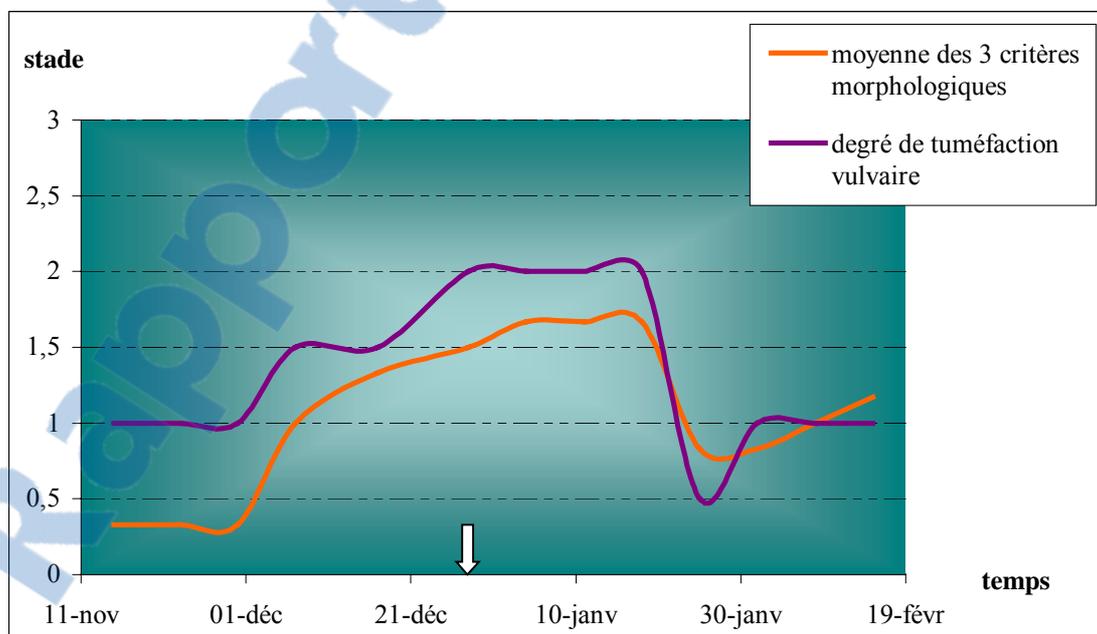


FIGURE 52 : Evolution du degré de tuméfaction vulvaire et de la moyenne des 3 critères morphologiques chez Odile, durant la période du 15/11/99 au 15/02/00.

[Les flèches représentent l'œstrus déterminé par frottis vaginal.]

5

t e

orp

2

o 01-dé a v 30-j v r

e o  
durant la période du 15/11/99 au 15/02/00.

g s déterminé p a

2. Modif r

IE = pourcentage de  $\phi$  épithéliales acidophiles sur l'ensem

=

$\phi$  épithéliales

$\Sigma$



- Pour Nicole, on observe 2 cycles œstraux complets :

- 1<sup>er</sup> cycle : de fin janvier à fin février 2000  
œstrus vers le 01/02 (IE = 100 %)

- 2<sup>ème</sup> cycle : de mi-mars à mi-avril 2000  
œstrus vers le 22/03 (IE = 100 %)

suivis vraisemblablement d'un 3<sup>ème</sup> cycle fécondant débutant mi-avril 2000 (relevés mensuels à partir du 17/04/00), donnant lieu à une gestation ( $\approx$  96j.) et à la naissance de jumeaux le 24 juillet 2000.

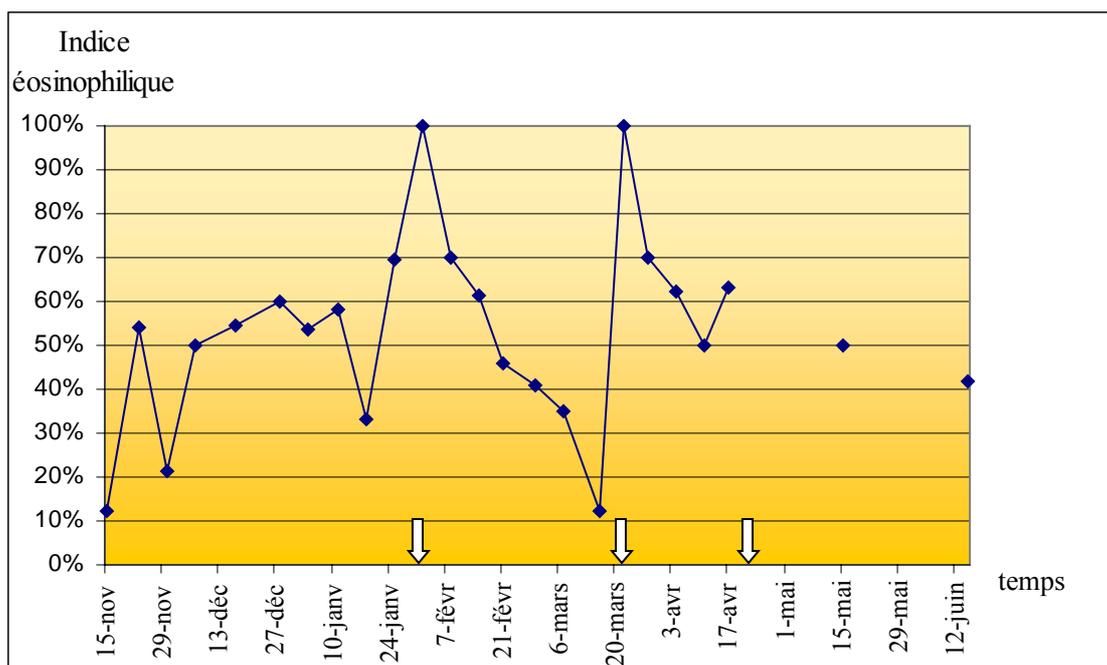


FIGURE 54 : Evolution de l'indice éosinophilique chez Nicole, durant la période du 15/11/99 au 15/06/00.

[Les flèches représentent l'œstrus déterminé par frottis vaginal.]



- Pour Aline, l'entrée en période de reproduction fut tardive. Ainsi, nous n'avons pu visualiser qu'un seul de ses cycles œstraux : de fin février à fin mars 2000

œstrus vers le 29/02 (IE = 100 %)

En effet, nous avons interrompu tout prélèvement chez Aline du 22/03/00 au 15/05/00 inclus, pour ne pas compromettre une éventuelle gestation.

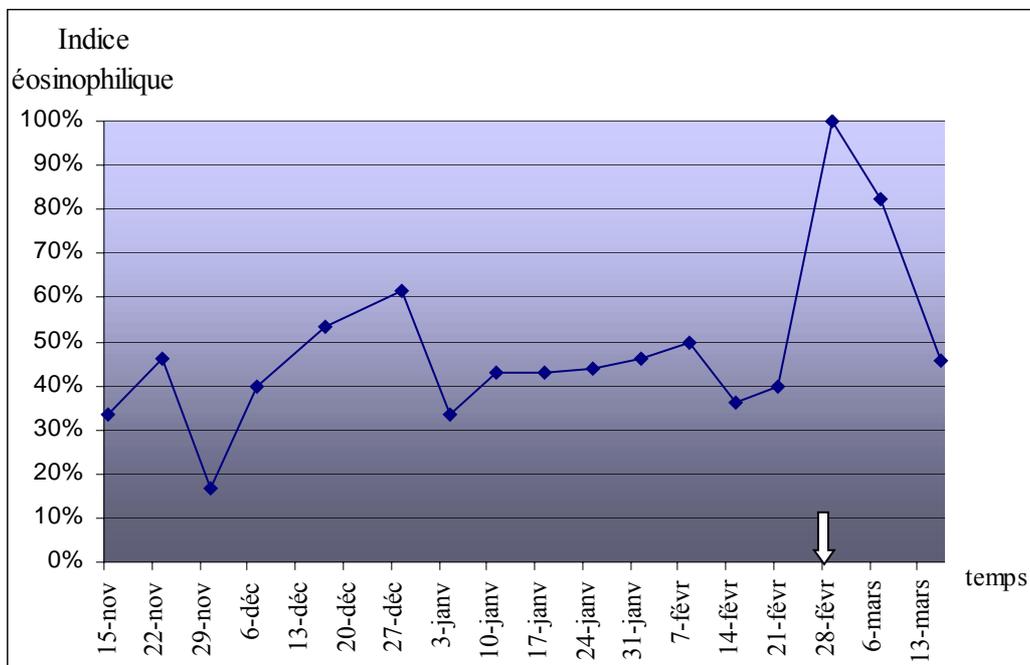


FIGURE 55 : Evolution de l'indice éosinophilique chez Aline, durant la période du 15/11/99 au 16/03/00.

[Les flèches représentent l'œstrus déterminé par frottis vaginal.]

- Concernant Julie, on observe 2 cycles œstraux consécutifs :
    - 1<sup>er</sup> cycle : de fin novembre 1999 à début janvier 2000  
œstrus vers le 15/12
    - 2<sup>ème</sup> cycle fécondant : de début janvier à fin janvier 2000  
œstrus vers le 13/01
- suivis d'une gestation ( $\approx 100j.$ ) et d'une mise bas gémellaire le 22 avril 2000.

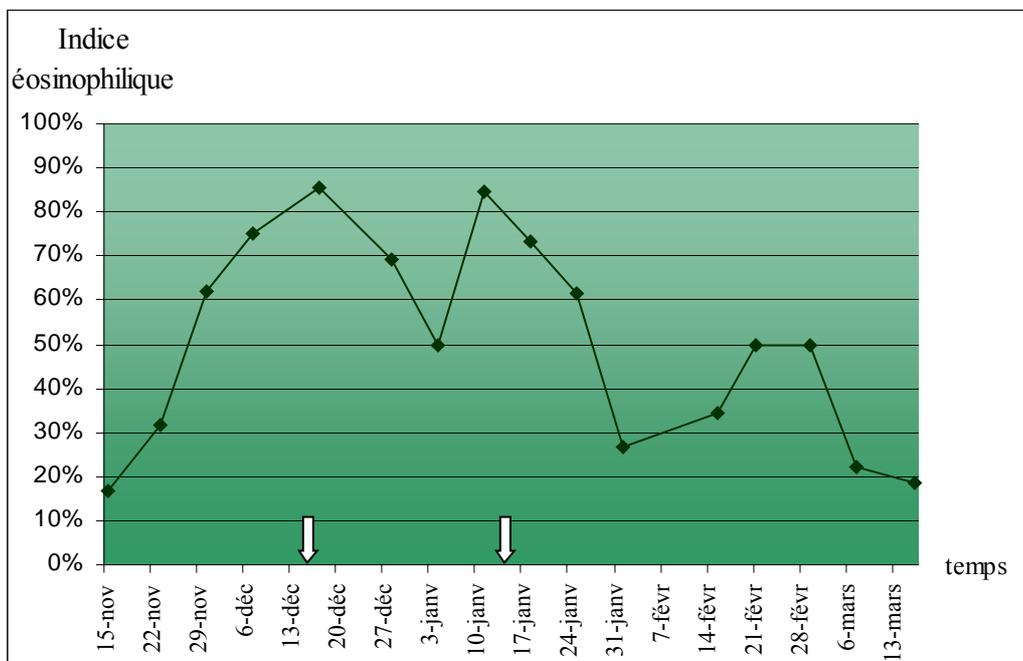


FIGURE 56 : Evolution de l'indice éosinophilique chez Julie, durant la période du 15/11/99 au 16/03/00.  
[Les flèches représentent l'œstrus déterminé par frottis vaginal.]

- Concernant Lulu, l'entrée en période de reproduction fut précoce, en comparaison des autres femelles *L. coronatus*. Ainsi, Lulu avait déjà entamé un cycle œstral lors de nos premiers relevés mi-novembre :

- 1<sup>er</sup> cycle : de début novembre à début décembre 1999

- œstrus vers le 15/11/99 (IE = 86,70 %)

- 2<sup>ème</sup> cycle : de début décembre 1999 à début janvier 2000

- œstrus vers le 15/12/99

Cependant, il semble important de rappeler le fait que Lulu ne vive pas dans le même bâtiment que les autres femelles *L. coronatus*. Ainsi son entrée en saison de reproduction ne peut pas être influencée par ces dernières.

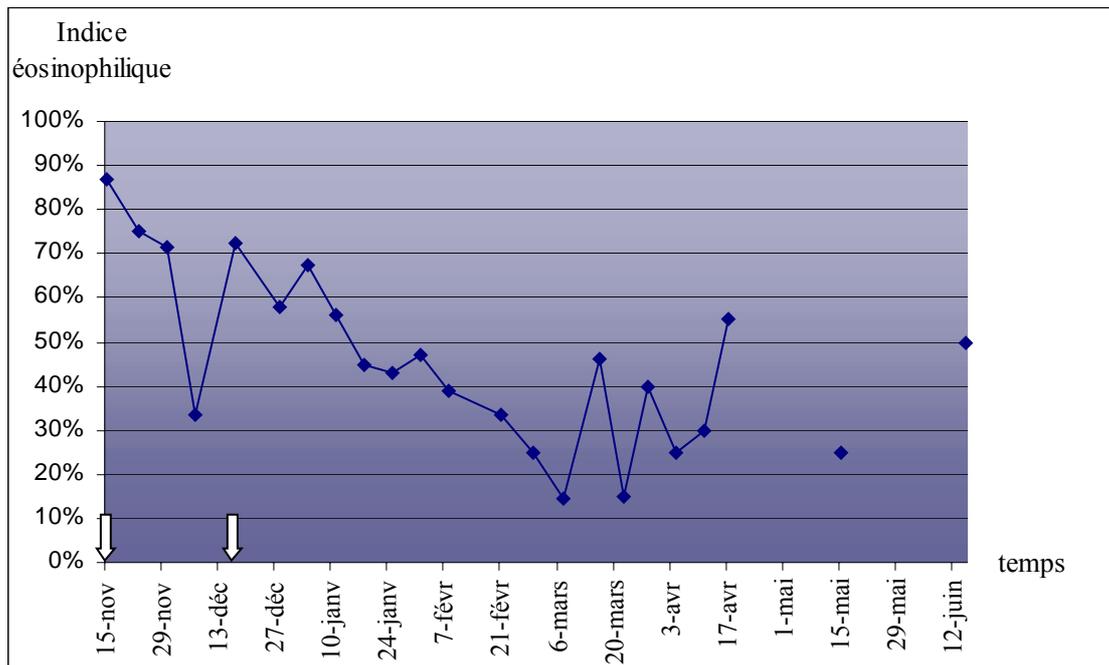


FIGURE 57 : Evolution de l'indice éosinophilique chez Lulu, durant la période du 15/11/99 au 15/06/00.

[Les flèches représentent l'œstrus déterminé par frottis vaginal.]

- Pour Odile, nous observons 3 cycles œstraux assez espacés (d'environ 1 mois chacun) :
    - 1<sup>er</sup> cycle : de mi-décembre 1999 à mi-janvier 2000  
œstrus vers le 25/12
    - 2<sup>ème</sup> cycle : de mi-février à mi-mars 2000  
œstrus vers le 29/02 (IE = 92,9 %)
    - 3<sup>ème</sup> cycle : débutant mi-avril  
œstrus vers le 17/04 (IE = 100 %)
 (relevés mensuels à partir du 17/04/00)
- suivis vraisemblablement d'un 4<sup>ème</sup> cycle plus rapproché au cours du mois de mai.

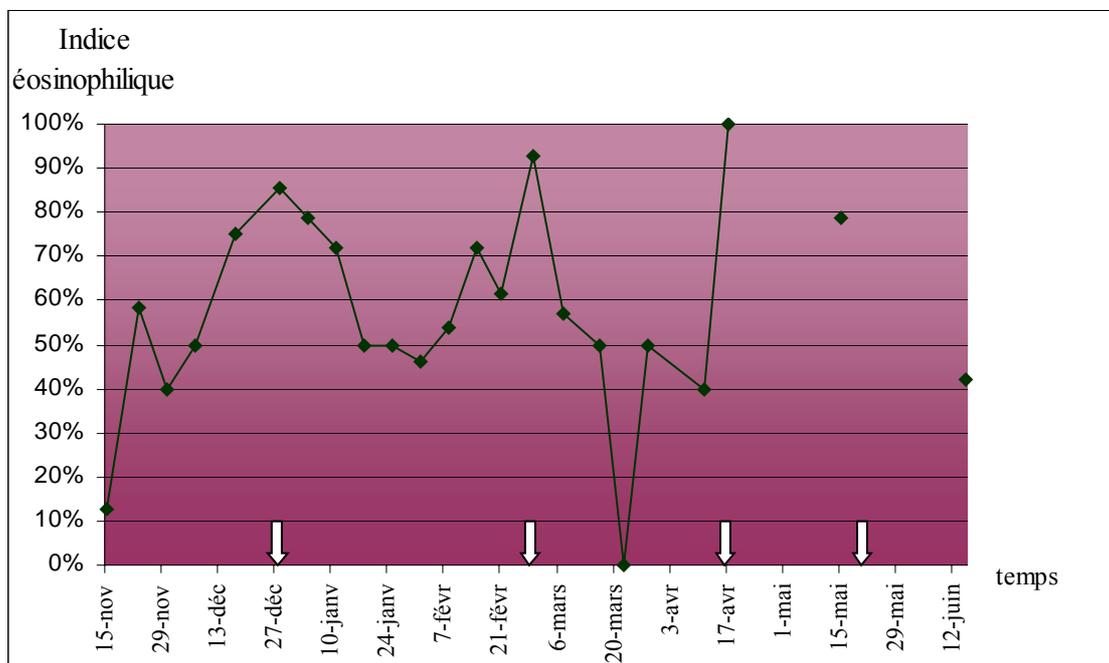


FIGURE 58 : Evolution de l'indice éosinophilique chez Odile, durant la période du 15/11/99 au 15/06/00.

[Les flèches représentent l'œstrus déterminé par frottis vaginal.]

- Enfin, concernant Deborah, les frottis vaginaux n'ont été effectués qu'une seule fois par mois à l'université de Strasbourg. Cependant, trois de ces frottis vaginaux ne sont pas des frottis d'anœstrus, ce qui nous amènerait à supposer que Deborah ait connu 3 cycles œstraux au cours des mois de février (17/02 : IE = 61 %), mars (17/03 : IE = 66,7 %) et avril (17/04 : IE = 80 %).

Pour conclure, nous observons chez ces femelles *L. coronatus* de 2 à 4 cycles œstraux<sup>(1)</sup>, d'une durée moyenne semblant correspondre aux données actuelles de 34 jours [KAPPELER, 1987]. L'entrée en saison de reproduction varie de début novembre (Lulu<sup>(2)</sup>) à fin février (Aline). Les différentes femelles *L. coronatus* ne semblent pas du tout synchronisées entre elles.

Julie et Nicole ont chacune mis bas des jumeaux. Leurs gestations respectives ont duré approximativement 100 et 96 jours, ce qui est inférieur aux données actuelles de 124,6 jours [KAPPELER, 1987]. Cependant, nous ne possédons pas de données concernant la durée moyenne d'une gestation gémellaire chez le *L. coronatus*. En effet, la présence de jumeaux pourrait très bien expliquer une mise-bas prématurée.



FIGURE 56 : Julie portant ses 2 jumeaux sur son dos.

(1) Nous ne tiendrons pas compte ici des résultats d'Aline, vu que nous avons manqué une longue période de sa saison de reproduction.

(2) Ne possédant pas de données antérieures à cette date chez Lulu, il est possible que cette dernière soit entrée en saison de reproduction avant début novembre.

### 3. Variations des hormones sexuelles femelles

#### a) Taux d'œstradiol

Les valeurs d'œstradiol mesurées mensuellement chez toutes les femelles *L. coronatus* participant à cette étude varient de 5,8 à 76 pg/ml. Or les valeurs observées chez d'autres espèces de lémuriens, tel que le *L. catta*, avoisinent les 120 pg/ml lors du pic préovulatoire [DIXSON A.F., 1998].

Vu la courte durée de ce pic d'œstrogènes, nous avons peu de chance de prélever une des femelles à son apogée. Nous noterons alors toute valeur dépassant largement le taux basal d'œstradiol comme éventuel témoin d'une activité œstrogénique.

- Ainsi, nous observons chez Aline 2 valeurs assez élevées du taux d'œstradiol (36 pg/ml le 17/12/99 et 32,5 pg/ml le 14/09/00). Cependant, ces dates correspondent toutes deux à des périodes d'anœstrus. Nous en concluons que la hausse du taux d'œstradiol n'est pas encore assez importante pour être significative.
- Par contre, dans le cas de Kim, une valeur nettement élevée de 76 pg/ml d'œstradiol (17/11/99) peut tout à fait correspondre à un proœstrus.

#### b) Taux de progestérone

Le taux de progestérone mensuel, obtenu chez nos femelles *Lemur coronatus* participant à l'étude, varie de 0,15 à 756 ng/ml.

Chez chacune de ces femelles, les valeurs maximales de progestérone se situent lors des phases lutéales (ou métœstrus), allant de 8,9 à 27 ng/ml.

On retrouve également des valeurs extrêmement élevées de progestérone (de 279 à 756 ng/ml) lors des gestations de Julie et de Nicole. Vu que les prélèvements (prise de sang, frottis vaginal) ont été interrompus chez Aline (avril-mai), Julie (d'avril à juillet) et Nicole (juillet-août) pour éviter de compromettre une éventuelle gestation, nous manquons de données pour évaluer plus précisément la durée de cette hausse spectaculaire de progestérone chez nos deux femelles gestantes. Cependant, il semblerait que cette importante augmentation du taux de progestérone soit durable, débutant dès la fin du métœstrus suivant la saillie fécondante et se prolongeant vraisemblablement jusqu'à terme.

## B) Etude spécifique

Parmi les quatre femelles *Lemur coronatus* âgées de plus de 15 ans :

- Aline ≈15-16 ans (Mulhouse)
- Deborah ≈19-20 ans (Strasbourg) décédée le 17/05/00
- Kim ≈18-19 ans (Strasbourg) décédée le 24/11/99
- Pinky >16 ans (Vincennes) décédée le 15/11/99

Kim et Pinky sont décédées au cours du premier mois d'étude, ce qui a encore diminué notre nombre déjà peu élevé de sujets d'étude.

Nous nous appuyerons donc surtout sur les résultats d'Aline et Deborah, pour déterminer le statut reproducteur des femelles âgées.

### 1. Modifications morphologiques de l'appareil génital externe femelle

Aucun relevé morphologique n'a été fait à l'Université de Strasbourg ; nous ne disposons donc que des résultats d'Aline dans ce domaine.

Or nous ne retrouvons chez Aline aucune modification morphologique de la taille et de la couleur vulvaires, ainsi que de l'ouverture vaginale, durant la période d'observation (du 15/11/99 au 15/02/00), vu que cette dernière n'entre en saison de reproduction que fin février 2000.

### 2. Modifications du frottis vaginal

- Concernant Aline, nous n'avons observé qu'un seul cycle œstral de fin février à fin mars 2000. Or les prélèvements vaginaux et sanguins d'Aline ont été interrompus du 22/03/00 au 15/05/00 inclus, pour ne pas compromettre une éventuelle gestation. Ainsi nous ne pouvons connaître le nombre exact de cycle œstraux exprimé par Aline.

Son entrée en période de reproduction fut donc tardive en comparaison des autres femelles *L. coronatus*.

- Pour Deborah, nous manquons de données (frottis vaginaux mensuels) pour affirmer avec certitude la présence et le nombre de cycles œstraux observés chez cette dernière. Cependant, les frottis vaginaux, ainsi que les résultats de progestérone, de février (IE = 61% ; Pg = 27 ng/ml), mars (IE = 66.7% ; Pg = 15 ng/ml) et avril (IE = 80% ; Pg = 2,5 ng/ml) pourraient laisser penser que Deborah a présenté au moins 3 cycles œstraux, de début février à début mai.

### 3. Variations des hormones sexuelles femelles

#### a) Taux de progestérone

Chez Aline, nous mesurons une valeur assez élevée de progestérone au 16/03/00 (8,9 ng/ml), associée à un frottis vaginal évoquant une fin de métœstrus.

En ce qui concerne Deborah, nous retrouvons deux valeurs maximales du taux de progestérone en février (27 ng/ml) et en mars (15 ng/ml), associées également à des frottis vaginaux de métœstrus.

#### b) Taux d'œstradiol

Aucun des prélèvements mensuels effectués chez Aline ou Deborah ne met en évidence une hausse notable significative du taux d'œstradiol.

Seule Kim, au cours de son unique prélèvement sanguin précédant son décès début décembre 1999, a présenté une valeur élevée du taux d'œstradiol (76 pg/ml). Ceci nous amène donc à penser que Kim connaissait également une activité physiologique reproductrice.

### 4. Coupes histologiques ovariennes et utérines

A la suite des décès de Pinky (novembre 1999) et Deborah (mai 2000), nous avons conservé leurs appareils génitaux (ovaires, utérus) en vue d'une étude histologique.

#### Coupes histologiques ovariennes

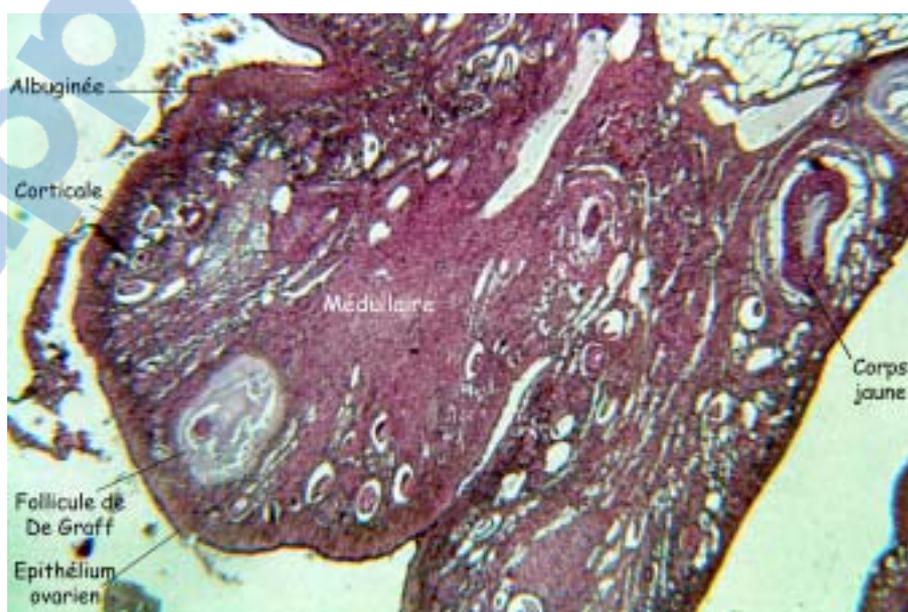


FIGURE 57 : Coupe histologique ovarienne de Deborah à faible grossissement optique (x 25)

Nous observons chez Pinky et Deborah de nombreux follicules ovariens à différents stades d'évolution : follicules primordiaux, primaires, secondaires, antraux et follicules de De Graff, ainsi que des corps jaunes.

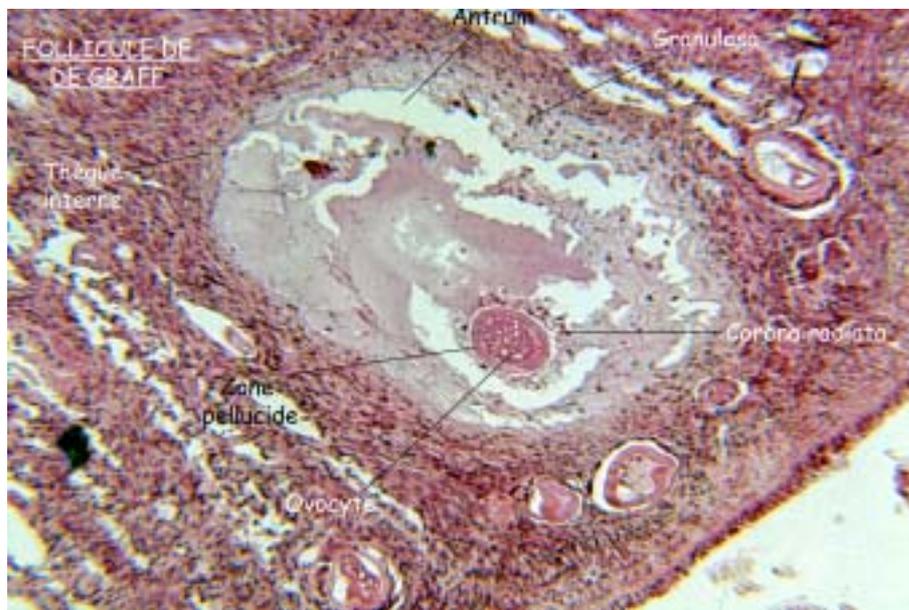


FIGURE 58 : Coupe histologique ovarienne de Deborah (x 100)

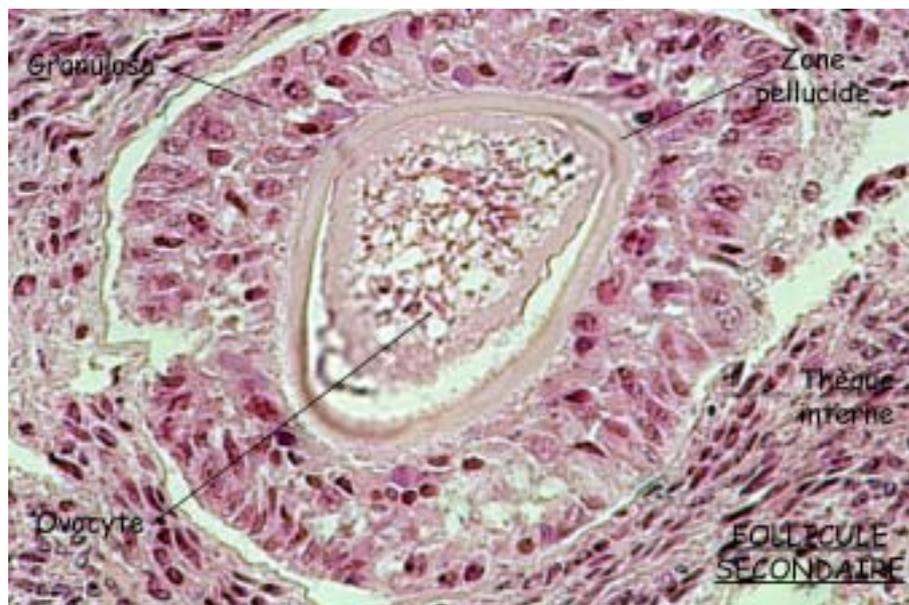


FIGURE 59 : Coupe histologique ovarienne de Deborah à fort grossissement optique (x 400)



FIGURE 60 : Coupe histologique ovarienne de Pinky à fort grossissement optique (x 400)

### Coupes histologiques utérines

Les coupes histologiques ont été effectuées au niveau de trois portions différentes de l'utérus :

- la corne utérine
  - l'endomètre
  - le col utérin
- L'aspect plissé de la muqueuse tubaire de la corne utérine confère à la lumière utérine une forme irrégulière et découpée. La muqueuse tubaire est constituée d'un épithélium cylindrique simple et d'un chorion conjonctif.
- Puis la tunique musculaire est composée de deux couches de cellules musculaires lisses, l'une interne à orientation circulaire, l'autre externe à orientation longitudinale.



FIGURE 61 : Coupe histologique transversale d'une corne utérine de Deborah (x 100)

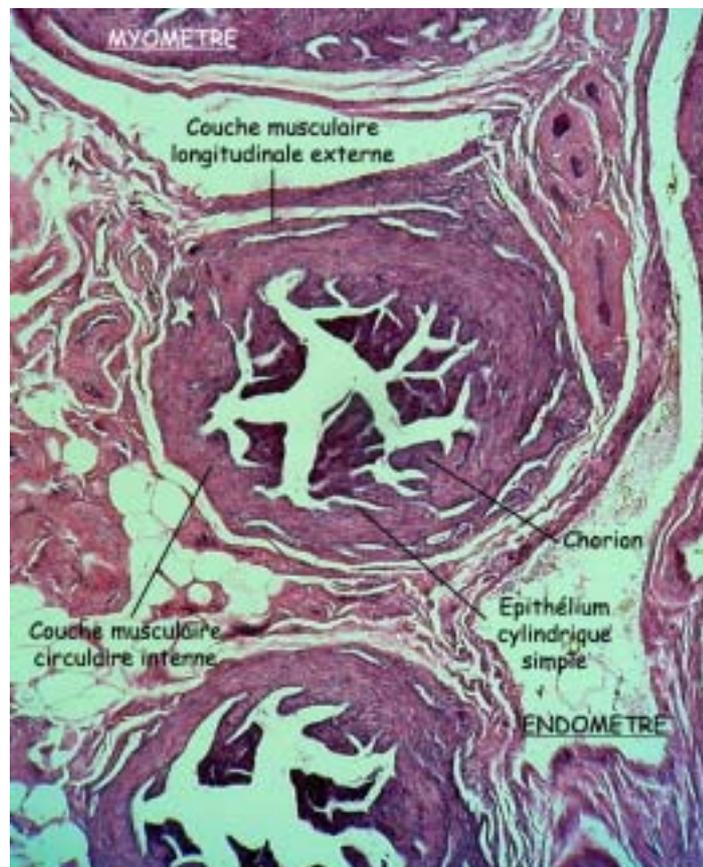


FIGURE 62 : Coupe histologique transversale d'une corne utérine de Pinky (x 100)

- Sur les coupes histologiques de l'endomètre, on observe une muqueuse utérine épaisse, non atrophiée, présentant de nombreuses glandes tubuleuses à lumière étroite. Cette muqueuse utérine est revêtue d'un épithélium cylindrique simple composé de cellules sécrétrices et de cellules ciliées, dont les invaginations dans le chorion sous-jacent forment les glandes endométriales. Cette couche glandulaire bien développée est donc fonctionnelle.

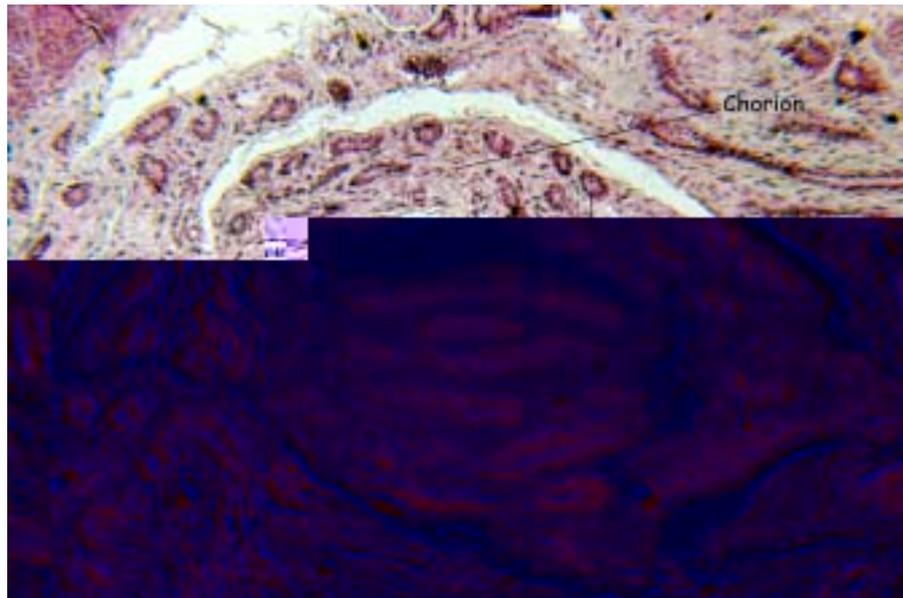


FIGURE 63 : Coupe histologique de l'endomètre de Deborah (x 100)

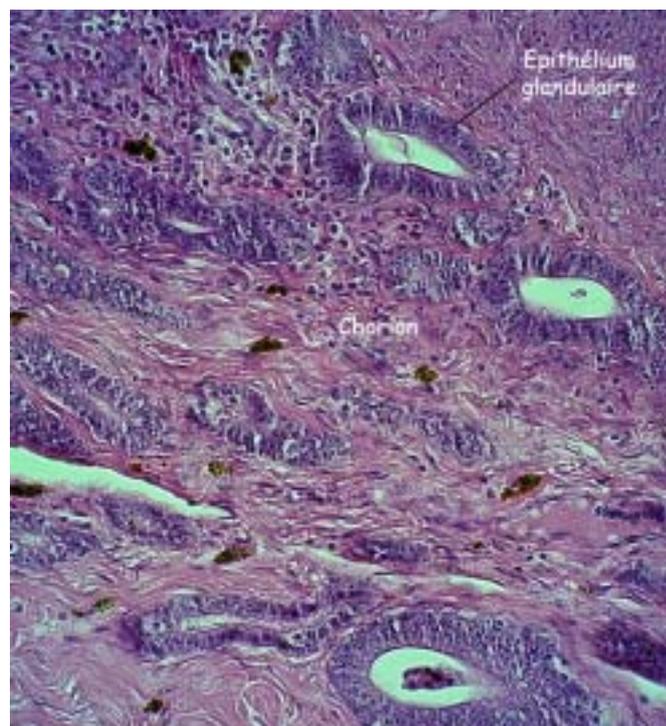


FIGURE 64 : Coupe histologique de l'endomètre de Pinky à fort grossissement optique(x 400)

- Concernant le col utérin, nous retrouvons un épithélium cylindrique simple, à l'origine de glandes tubulo-alvéolaires à sécrétion muqueuse, groupées dans le chorion sous-jacent. Dans la lumière du col utérin, nous visualisons également une quantité importante de glaire cervicale, constituée de produits de sécrétion des glandes du col utérin, ainsi que de sécrétions et éléments cellulaires d'origine diverse.

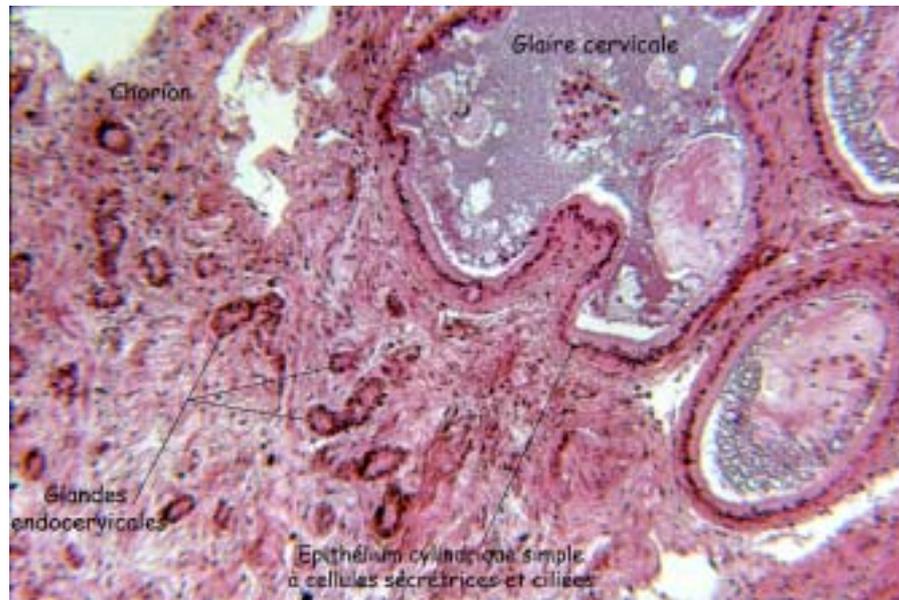


FIGURE 65 : Coupe histologique de l'endomètre de Deborah au niveau du col utérin (x 100)

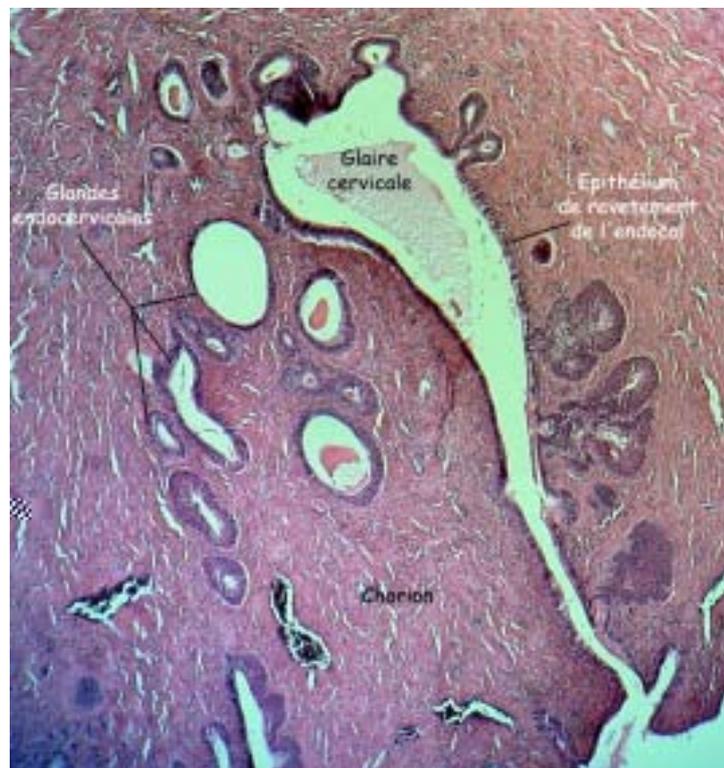


FIGURE 66 : Coupe histologique de l'endomètre de Pinky au niveau du col utérin (x 100)

Ainsi, nous observons une activité fonctionnelle nette de l'endomètre sur ces coupes histologiques utérines.

Les appareils génitaux internes (ovaires, utérus) de Deborah et Pinky présentent donc des signes évidents d'activité physiologique sexuelle.

Pour conclure, quels que soient leurs résultats morphologiques, cytologiques, hormonaux ou histologiques, toutes nos femelles *Lemur coronatus* âgées de plus de 15 ans ont présenté des signes d'activité physiologique reproductrice similaires à ceux trouvés chez nos autres femelles *L. coronatus*.

Concernant Lulu, cette dernière présente une déformation de la colonne vertébrale, ce qui lui occasionne des douleurs lombaires. Ce handicap physique pourrait alors expliquer ses réactions de défense à la manipulation, et surtout, un refus de l'accouplement.

## CHAPITRE III : DISCUSSION

Dans le monde de la faune sauvage, les études portant sur la physiologie d'animaux en voie de disparition peuvent poser de grandes difficultés. En effet, le nombre de sujets d'étude souvent très limité, le stress occasionné lors de la récolte des échantillons, ainsi que les limites imposées concernant leur volume et leur fréquence, sont autant de restrictions à considérer dans cette étude.

Nous avons donc du, nous aussi, nous arranger de données peu nombreuses, ne permettant bien entendu aucune étude statistique, mais apportant des notions préliminaires dans le domaine de la reproduction des lémuriens âgés.

### I CONTRAINTES DU CHOIX DES SUJETS D'ETUDE

#### A) Faible nombre de sujets d'étude

Tout d'abord, l'espèce *Lemur coronatus* est peu représentée en captivité, comparée au *Lemur catta* par exemple, dont la popularité n'est plus à démontrer.

Ensuite, nous avons prévu d'étendre cette étude au zoo de Cologne. En effet, en plus de sa relative proximité, ce dernier avait l'avantage de posséder à l'heure actuelle le plus grand effectif de *L. coronatus* âgés de plus de 15 ans nés en captivité :

- 6 femelles de 15 à 23 ans
- 6 mâles de 15 à 24 ans

Vu qu'aucun transfert de *L. coronatus* n'y a été effectué depuis l'arrivée des 4 premiers individus, capturés en milieu sauvage en 1962 et 1966, la population des *L. coronatus* du zoo de Cologne se maintenait jusqu'alors grâce à leurs propres naissances. Cependant, aucune naissance de *Lemur coronatus* n'y a été recensée depuis le 26 avril 1985 (Gangolf, 14 ans). Nous sommes donc face à une population vieillissante de *L. coronatus* en captivité, amenée à s'éteindre prochainement si aucun effort n'est entrepris concernant leur gestion de reproduction.

Le nouveau responsable des Primates du zoo de Cologne, nous avait donné son accord pour faire participer à notre étude ses 13 *L. coronatus*, à partir du mois de janvier 2000 (date d'entrée dans ses nouvelles fonctions). Cependant, pour des raisons éthiques, les prélèvements sanguins, les frottis vaginaux et les prélèvements testiculaires sont considérés au zoo de Cologne comme des méthodes trop invasives. Ainsi, le responsable des Primates a rompu notre accord concernant leur participation à cette étude.

En outre, il a été question de demander aux Etats-Unis, notamment au centre de primatologie de la « Duke University », de nous fournir également des échantillons sanguins prélevés chez leurs *L. coronatus*. Cependant, en plus des contraintes financières, ces échantillons n'étant cédés qu'à titre onéreux, nous nous sommes confrontés à une barrière administrative intercontinentale quasiment infranchissable.

Enfin, notre population d'étude a connu quatre décès au cours des mois de novembre (Roy et Kim, Strasbourg) et décembre 1999 (Pinky et Prospere, Vincennes). Il est bien évident que de travailler sur des individus âgés augmente le risque de perte au cours d'une étude expérimentale.

Pour conclure, de choisir cette population d'étude, nous a confrontés à de nombreux problèmes, ce qui a restreint conséquemment le nombre de nos sujets d'étude.

## **B) Faible nombre de prélèvements**

En premier lieu, du fait des difficultés de reproduction chez le *L. coronatus* en captivité, nous nous devons de prendre toutes les précautions possibles pour ne pas compromettre la saison de reproduction des individus reproducteurs. Ainsi, aucun prélèvement de tissus gonadiques n'a été effectué chez les sujets *L. coronatus* de moins de 15 ans. Pour éviter de provoquer un avortement du fait du stress des manipulations chez les femelles en gestation, nous avons interrompu tous les prélèvements (frottis vaginal, prise de sang) chez toute femelle pouvant être gestante.

En second lieu, ces méthodes de prélèvements, dites invasives, s'accompagnent d'une certaine part de risque relatif au bon état de santé de nos sujets d'étude. Ainsi, le stress des manipulations lors de la capture et de la contention forcée peuvent affaiblir certains individus, déclencher des pathologies sous-jacentes et occasionner des blessures. Lors de prélèvements sanguins à répétition, nous pouvons observer des

modifications de la formule sanguine, telle qu'une anémie. Enfin, le risque anesthésique lors des prélèvements testiculaires est d'autant plus important, que l'on effectue ces prélèvements chez des individus mâles âgés.

Par conséquent, nous nous devons de prendre toutes les précautions nécessaires pour minimiser ces risques : numération-formule sanguine à chaque prise de sang, techniques de capture et de contention, protocole d'anesthésie. Ainsi, nous avons également établi le rythme de nos prélèvements en nous limitant strictement aux objectifs de notre étude. Le but n'est pas de multiplier les échantillons, et donc de multiplier les risques chez un même individu, mais d'obtenir les réponses aux questions posées.

En conclusion, nous nous devons de tirer le meilleur avantage des résultats obtenus dans le cadre de cette étude, en gardant à l'esprit le but de nos recherches. En effet, il s'agissait de comparer l'éventuelle activité reproductrice des individus âgés *L. coronatus* avec celle des individus reproducteurs. Ainsi, cette étude nous a bel et bien démontré l'existence d'une activité physiologique sexuelle chez les individus, mâles et femelles, âgés de plus de 15 ans. Cependant, le faible nombre de sujets d'étude ne nous permet pas de tirer de conclusions définitives, mais plutôt d'apporter de nouvelles notions concernant la gestion de reproduction des *L. coronatus* en captivité.

## **B) Intérêt de l'analyse de selles**

Une étude est en cours actuellement portant sur la présence de métabolites des hormones stéroïdes, soit des hormones sexuelles, dans les selles de lémuriens.

Une analyse de selles nous permettrait alors d'obtenir quotidiennement les différentes valeurs des hormones sexuelles, tout en supprimant le stress de la contention et de la manipulation, ainsi que le risque de modification de la formule sanguine.

Cette perspective de dosage hormonal non invasif nous permettrait alors peut-être d'inclure dans ce type d'étude des parcs zoologiques tels que celui de Cologne, ainsi que d'augmenter sans risque la fréquence des prélèvements, et donc des données, chez nos sujets d'étude. Nous pourrions également continuer les dosages hormonaux lors de périodes critiques telle qu'une gestation.

Pour mettre en place notre protocole d'étude, nous nous sommes basés sur différentes observations déjà effectuées chez les lémuriens dans le domaine de la physiologie reproductrice. Concernant les méthodes utilisées dans notre étude, nous avons donc réalisé un comparatif de nos résultats avec ceux obtenus dans la littérature. Pour l'analyse de sperme, considérée comme une méthode inappropriée dans notre cas, nous expliquons pourquoi nous avons préféré l'exclure de notre protocole.

## II LIMITES ET COMPARAISON DES RESULTATS DES MALES *L. CORONATUS*

### A) Intérêt de l'analyse de sperme

Il aurait été très intéressant d'inclure l'analyse de sperme dans le protocole expérimental des mâles. Nous avons donc effectué des recherches préalables concernant le prélèvement et l'analyse de sperme chez les lémuriens. [BRUN et al., 1987a et 1987b ; BRUN et RUMPLER, 1989]

Deux méthodes de recueil de sperme ont déjà été utilisées chez les lémuriens :

- L'électrostimulation a été pratiquée notamment chez des *L. fulvus mayottensis* vésiculectomisés, sous anesthésie générale, selon la méthode de GOULD et co. (1978). En effet, cette méthode présente des effets secondaires non négligeables de rétention urinaire par obstruction urétrale, due aux sécrétions vésiculaires coagulées sous l'influx électrique.

Il est bien évident que nous ne pouvons nous permettre de pratiquer une intervention, telle que l'exérèse de la vésicule séminale, chez des individus reproducteurs, dans le seul but de pallier aux effets secondaires de l'électrostimulation.

- Le prélèvement de sperme par massage rectal, pratiqué sous anesthésie générale, semble être d'une efficacité relative. Ne souhaitant pas prendre le risque d'une anesthésie générale chez les individus reproducteurs, ceci ne nous assurant même pas la réussite du prélèvement de sperme, nous avons dû abandonner l'idée d'utiliser l'analyse de sperme au sein de cette étude.

## B) Etude comparative

### 1. Taille testiculaire

Nous obtenons des résultats similaires à ceux trouvés par KAPPELER en 1987 chez le *Lemur coronatus* :

- une taille testiculaire maximale fin décembre entre 3,5 et 4 cm<sup>2</sup>
- puis une chute de la taille testiculaire pour atteindre un minimum entre 1 et 1,5 cm<sup>2</sup> en février

En effet, nous notons chez nos sujets d'étude une taille testiculaire maximale de 2,09 à 3,78 cm<sup>2</sup> de décembre à février. En outre, notre étude ayant porté sur une période plus longue que celle de KAPPELER, nous avons pu observer la diminution de la taille testiculaire se prolongeant jusqu'en mai-juin (entre 0,78 et 1,35 cm<sup>2</sup>).

### 2. Variation du taux de testostérone sérique

Nous retrouvons également des résultats voisins de ceux obtenus par EVANS et GOY chez le *L. catta* en 1968, ainsi que par BOGART chez les *L. macaco*, *L. catta* et *V. variegata* en 1977 :

- des valeurs maximales de testostérone sérique
  - de septembre à janvier (de 10,1 à 28,9 ng/ml) [EVANS et GOY, 1968]
  - de novembre à janvier (de 1,74 à 12,32 ng/ml) [BOGART et al., 1977b]
- des valeurs minimales de testostérone sérique
  - en avril (<1,8 ng/ml) [EVANS et GOY, 1968]
  - en mars-avril (de 0,28 à 2,04 ng/ml) [BOGART et al., 1977b]

En effet, nous avons relevé des valeurs maximales de novembre à décembre (de 7,2 à 39 ng/ml), puis une baisse assez régulière du taux de testostérone sérique pour atteindre des valeurs minimales en mars, avril ou mai (de 0,3 à 1,2 ng/ml).

Cependant, chez deux de nos mâles *L. coronatus*, nous avons également assisté en mai à une hausse spectaculaire et isolée de leur taux de testostérone (24 et 28 ng/ml). Dans l'incapacité d'expliquer ces résultats inattendus, nous ne pouvons qu'attendre la réalisation d'études ultérieures dans ce domaine, pour conclure ou non à un cas isolé.

Enfin, seul un de nos vieux mâles *L. coronatus* nous a montré des taux d'hormone sexuelle mâle bien en dessous de la normale. Cependant, nous manquons de sujets

d'étude pour effectuer une comparaison significative des valeurs moyennes de testostérone entre jeunes mâles et mâles âgés.

### 3. Etudes histologiques

Seules les coupes histologiques d'un de nos mâles *L. coronatus* âgé de plus de 15 ans présentent un arrêt partiel de la spermatogenèse. Or les testicules de ce dernier sont tout les deux atrophiés. De plus, il ne possède aucune descendance. Comment savoir si ce mâle a eu un jour une réelle activité reproductrice sexuelle ?

En février 1988, les soigneurs du zoo de Mulhouse l'ont observé en train de s'accoupler avec une femelle *L. coronatus*. En outre, et surtout, il a participé cette même année à une étude de la méiose sur coupes histologiques, ces dernières ayant révélé chez lui une spermatogenèse active.

Nous pouvons donc en conclure que ce mâle *L. coronatus* a subi une perte de ses aptitudes physiologiques sexuelles, cependant nous ne pouvons affirmer avec certitude que cette baisse d'activité reproductrice est due uniquement à la vieillesse.

## III LIMITES ET COMPARAISON DES RESULTATS DES FEMELLES LEMUR CORONATUS

### A) Le cycle œstral

#### 1. Nombre de cycles oestriques

Nous retrouvons dans notre étude un nombre de cycles oestriques correspondant à la moyenne calculée par KAPPELER (1987) chez le *Lemur coronatus* de 3 cycles oestriques entre novembre et mars. En effet, nos femelles *L. coronatus* ont toutes présenté de 2 à 4 cycles oestriques, débutant de novembre à février. Ainsi les deux femelles gestantes n'ont été fécondées respectivement qu'à leurs 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> cycles.

#### 2. Synchronisation des cycles

De même que pour l'étude de KAPPELER (1987), nos femelles *Lemur coronatus* ne montrent aucune synchronisation entre leurs cycles oestriques. Nous noterons cependant qu'aucune de ces femelles ne peut avoir d'interaction sociale avec une autre femelle *L. coronatus*, car elles sont complètement séparées les unes des autres.

## **B) Durée de gestation**

Les durées approximatives des deux gestations survenues au cours de notre étude sont respectivement de 100 et 95 jours, ce qui est bien inférieur à la moyenne de 125 jours calculée par KAPPELER (1987).

Cependant, ces deux gestations furent gémellaires, et nous ne possédons pas de moyenne concernant la durée d'une gestation gémellaire chez la femelle *L. coronatus*. En effet, il paraît fort probable que cette moyenne est inférieure à celle de la durée d'une gestation unique.

## **C) Variations des hormones sexuelles femelles**

### 1. Variation du taux de progestérone

Nous observons au cours de cette étude des résultats similaires à ceux obtenus chez les femelles *L. macaco*, *L. catta* et *V. variegata* par BOGART en 1977 : Les valeurs maximales du taux de progestérone sérique y sont relevées lors des phases lutéales, variant de 10,3 à 47 ng/ml.

En effet, nous retrouvons également des valeurs maximales de progestérone lors des phases lutéales de nos femelles *L. coronatus* (de 8,9 à 27ng/ml).

En outre, nous avons pu mettre en évidence une hausse spectaculaire du taux de progestérone (de 279 à 756 ng/ml) lors des deux gestations survenues au cours de notre étude.

### 2. Variation du taux d'œstradiol

Nous manquons de données chez nos femelles *L. coronatus* (prélèvement sanguin mensuel) pour mettre en évidence un éventuel pic d'œstradiol préovulatoire.

Pour conclure, notre étude a donné des résultats comparables à ceux des études déjà effectuées sur la physiologie reproductrice des lémuriens. Concernant le sujet précis de nos recherches, soit la physiologie reproductrice des *Lemur coronatus* âgés de plus de 15 ans en captivité, nous avons atteint notre objectif principal. En effet, nous avons pu mettre en évidence une activité reproductrice plus ou moins marquée chez tous nos individus, mâles ou femelles, âgés de plus de 15 ans.

D'un point de vue plus pratique, nous pouvons donc utiliser les résultats obtenus pour améliorer le programme d'élevage du Zoo de Mulhouse et de l'Université de Strasbourg.

## **IV GESTION DE REPRODUCTION : APPLICATION SUR LE TERRAIN DES RESULTATS DE NOTRE ETUDE**

Annexe XII: Historique reproducteur des sujets d'étude durant leur captivité

[MOISSON et DE MICHELIS, 1999]

### **A) Au Zoo de Mulhouse**

#### 1. Cas de Lulu

Cette femelle *Lemur coronatus* adulte a été récupérée aux Seychelles en 1994 à l'âge de moins d'un an, puis transférée au parc zoologique de Mulhouse.

Depuis son arrivée, Lulu a vécu en couple avec Serapis (accouplement observé le 23/02/96), puis Eloi (accouplement observé le 17/02/98), sans pour autant leur donner de descendance. Or notre étude a mis en évidence une activité physiologique reproductrice normale chez Lulu. Nous en déduisons donc que d'autres facteurs rentrent en compte dans le bon déroulement d'une saison de reproduction.

En effet, Lulu présentant une scoliose, cette dernière refusera le plus souvent un coït douloureux. Cette diminution du nombre d'accouplements minimisera d'autant les chances d'une fécondation, et donc d'une gestation.

Ainsi, vraisemblablement Lulu ne pourra jamais être une bonne génitrice du fait de son handicap physique, ce qui nous encourage à l'exclure d'un programme d'élevage.

#### 2. Cas d'Aline

Depuis sa capture en 1986, à l'âge de 2-3 ans, Aline a été mise en couple avec Serapis (accouplement observé le 17/12/91), puis avec Emeric (4 naissances de 1994 à 1999).

Aline n'a pas eu de gestation au cours de l'année 2000, mais sa saison de reproduction a débuté tardivement (fin février 2000), réduisant ses chances de fécondation. De même, Aline ne se révéla pas féconde durant l'année 2001.

Nous manquons de recul pour conclure sur les effets de l'âge concernant Aline. En effet, elle avait 15-16 ans lors de sa dernière mise-bas le 18/07/99. Qu'en sera-t-il ces prochaines années ?

En attendant, le couple formé par Aline et Emeric nous semble donner d'assez bons résultats jusqu'à maintenant.

### 3. Cas de Serapis

Serapis est né en avril 1981 à la « Duke University ».

Aux Etats-Unis, Serapis a donné une nombreuse descendance à ses deux femelles Nefertiti et Meritaten (10 naissances de 1984 à 1990). Mais depuis son transfert des Etats-Unis au zoo de Mulhouse en août 1991, Serapis n'a donné aucun résultat avec les différentes femelles mises en sa présence, jusqu'à cette année : Kim (accouplement observé le 09/12/91), Aline (accouplement observé le 17/12/91), et Lulu (accouplement observé le 23/02/96).

C'est ainsi qu'à l'âge de 18 ans, Serapis a été mis en couple avec la jeune Nicole âgée de 2 ans. Cette dernière a alors mis bas des jumeaux le 24/07/2000, ainsi qu'un petit en 2001. Ces naissances confirment nos observations concernant Serapis, qui semble présenter une activité physiologique reproductrice tout à fait normale, malgré son âge avancé.

Nous en concluons que son absence de progéniture de 1991 à 1999 n'est pas due à un arrêt, ou un ralentissement, de son activité sexuelle. On pourra alors plus vraisemblablement chercher des explications du côté des femelles, notamment chez Kim et Lulu. On évoquera également l'impact psychologique éventuel du changement de partenaire, d'habitat, vécu par Serapis lors de son transfert des Etats-Unis.

Ainsi, le couple formé par Nicole et Serapis nous paraît prometteur à court terme, vu l'âge de Serapis, au sein d'un programme d'élevage.

### 4. Cas d'Eloi

Eloi a été capturé en 1992 à l'âge d'un an, puis transféré au zoo de Mulhouse. Eloi a d'abord vécu une union fructueuse avec Elise (5 naissances en 5 ans). Puis, au décès de cette dernière en octobre 1997, Eloi est mis en couple avec Lulu, avec qui il n'a pas eu de nouvelle descendance (accouplement observé le 17/02/98).

En conclusion, le potentiel géniteur d'Eloi n'est pas utilisé. Il semblerait donc plus judicieux d'accoupler Eloi avec une femelle potentiellement reproductrice, telle que la jeune Odile, dont nous avons mis en évidence la maturité sexuelle.

Mais cette dernière a été transférée récemment au zoo de Cologne pour tenter d'y relancer la reproduction avec un de leurs vieux mâles *Lemur coronatus*.

Quant à Eloi, il a été mis en couple avec Pia, une des deux jeunes femelles *Lemur coronatus* nées en 1999 au zoo de Mulhouse.

#### 5. Cas de Julie et Félix

Le couple reproducteur formé par Julie et Félix donne des résultats très encourageants (5 mise bas en 4 ans), que nous nous devons de poursuivre.

## **B) A l'Université de Strasbourg**

Aucune naissance de *L. coronatus* n'a jamais été enregistrée à l'Université de Strasbourg. En effet, l'Université de Strasbourg a pour but principal de mener des études scientifiques, et non d'instaurer un programme d'élevage du *L. coronatus*.

Concernant Peter, Deborah, Roy et Kim, transférés régulièrement entre le zoo de Mulhouse et l'Université de Strasbourg depuis l'âge de 2-3 ans, âge de leur capture à Madagascar (1982 pour Roy et Deborah, 1983 pour Peter et Kim), aucune descendance n'est à leur actif. Cependant, les soigneurs du zoo de Mulhouse ont déjà observé des accouplements entre Peter et Deborah en février 1988, et entre Kim et Serapis en décembre 1991.

#### 1. Cas de Peter et Deborah

Tout au long de notre étude, Peter a révélé posséder des aptitudes reproductrices très amoindries, et même inexistantes sur la fin.

Deborah a présenté quant à elle une activité physiologique reproductrice tout à fait normale.

Nous en concluons que Deborah aurait pu vraisemblablement être utilisée comme génitrice avec un autre mâle, si elle n'était pas décédée le 17 mai 2000 à l'université de Strasbourg.

## 2. Cas de Roy et Kim

Enfin, Roy et Kim sont décédés tous les deux en début d'étude (Roy en juin 1999, Kim en novembre 1999). Ainsi, nous ne possédons pas de données suffisantes pour conclure sur leur cas.

Le zoo de Mulhouse a donc visiblement déjà effectué de bons choix concernant la gestion de reproduction de ses *Lemur coronatus*. De plus, depuis cette étude, Eloi, dont le potentiel géniteur n'était pas exploité avec Lulu, a été mis en couple avec une des deux jeunes femelles Lemur coronatus nées en 1999 au zoo de Mulhouse.

Pour conclure, on se doit de souligner, dans le contexte de cette étude, le rôle primordial joué par la science dans les parcs zoologiques. En effet, il est essentiel de procéder à des études expérimentales, pour faire évoluer d'une part les connaissances acquises concernant les espèces en danger d'extinction, et pour instituer d'autre part des programmes d'élevage efficaces nous permettant la survie de ces espèces en captivité. Dans ce but, il a fallu constituer un effectif mondial d'individus vivant en captivité, ce qui a nécessité dans un premier temps d'effectuer des importations, dites à but scientifiques, d'animaux capturés en milieu sauvage, selon les lois régies par l'annexe I de la CITES.

## CONCLUSION

Etant donné les résultats de notre étude, nous pouvons conclure que les mâles et les femelles *Lemur coronatus* âgés de plus de 15 ans ne connaissent pas d'arrêt complet de leur activité physiologique reproductrice. Il n'existerait donc ni ménopause, ni andropause dans cette espèce de Primates.

Cependant, comme nous pouvons le constater au zoo de Cologne, dont la population captive de *L. coronatus* constituée uniquement d'individus âgés ne reproduit plus, l'activité génitrice du *L. coronatus* semble être altérée par la vieillesse. Néanmoins nous avons assisté au cours de cette étude à la naissance de jumeaux, suite à l'accouplement d'un mâle de 18 ans avec une femelle fertile de 2 ans. Nous avons également le cas d'une femelle *L. coronatus* qui a mis bas en juillet 1999 à l'âge de 15-16 ans.

Nous en concluons que d'autres facteurs rentrent en compte dans la gestion de reproduction du *Lemur coronatus* en captivité. Ainsi, nous ne pouvons négliger les facteurs environnementaux (interruption de la reproduction pendant 10 ans chez un mâle *L. coronatus* transféré des Etats-Unis) et comportementaux (agressivité et refus à l'accouplement chez une femelle « fertile » atteinte de scoliose).

Enfin, nous ne pouvons omettre le fait que les gestations à problèmes risquent d'être plus fréquentes chez les femelles âgées que chez les jeunes femelles, ce qui pourrait augmenter la mortalité infantile, ainsi que celle des femelles âgées, si ces dernières étaient mises à la reproduction.

Il serait alors très intéressant de pouvoir compléter cette étude par des analyses de sperme, ainsi que par des dosages hormonaux plus fréquents obtenus grâce à l'analyse des selles, cette méthode très prometteuse étant actuellement en cours de publication. En effet, nous ne possédons pas de données concernant l'éventuelle baisse de fertilité du sperme chez le mâle *Lemur coronatus* âgé, ainsi que pour comparer les taux moyens d'hormones sexuelles entre individus âgés et individus dits reproducteurs.

## BIBLIOGRAPHIE

ARBELOT-TRAQUI V. (1983). Etude éthoécologique de deux primates prosimiens *L. coronatus* et *L. fulvus sanfordi* : contribution à l'étude des mécanismes d'isolement reproductif intervenant dans la spéciation. Thèse doctorat 3<sup>ème</sup> cycle, Université de Rennes.

AUJARD F. (1998). Effect of aging on sexual behaviour and reproductive function in male Lesser Mouse Lemurs (*Microcebus murinus*). *Folia Primatol.*, **69**, 47.

BEARDER S.K. (1987). Lorises, bushbabies and tarsiers : diverse societies in solitary foragers. In : SMUTS B.B. Primate Societies. Chicago, Univ. of Chicago Pr., 11-24.

BEARDER S.K., HONESS P.E. et AMBROSE L. (1995). Species diversity among galagos with special reference to mate recognition. In : ALTERMAN L., DOYLE G.A. et IZARD M.K. Creatures of the dark : the nocturnal prosimians. New York, Plenum Press, 331-352.

BOGART M.H., COOPER R.W. et BENIRSCHKE K. (1977a). Reproductive studies of Black and Ruffed Lemurs. *Int. Zoo Yearb.*, **17**, 177-182.

BOGART M.H., KUMAMOTO A.T. et LASLEY B.L. (1977b). A comparison of the reproductive cycle of three species of Lemur. *Folia Primatol.*, **28**, 134-143.

BOSKOFF K.J. (1978a). Reproductive seasonality and synchrony in *Lemur fulvus*. Ph. D. thesis, Duke University, Durham, N.C.

BOSKOFF K.J. (1978b). The oestrous cycle of the Brown Lemur, *Lemur fulvus*. *J. Reprod. Fertil.*, **54**, 313-318.

BOURLIERE F. (1985). Primate communities : their structure and role in the tropical ecosystem. *Int. J. Primatol.*, **6**, 1-26.

BRUN B., CRANZ C., ISHAK B., CLAVERT A., HUGUES F., LECLERC M. et RUMPLER Y. (1987a). Successful artificial insemination in *L. f. mayottensis*. *Folia Primatol.*, **48**, 195-198.

BRUN B. et RUMPLER Y. (1989). Cryobanking of lemur spermatozoa. *Human Evol.*, **4**, 231-232.

BRUN B., CRANZ C., CLAVERT A. et RUMPLER Y. (1987b). A safe technique for collecting semen from *L. f. mayottensis*. *Folia Primatol.*, **49**, 48-51.

BUDNITZ N. et DAINIS K. (1975). *Lemur catta* ecology and behaviour. In : TATTERSALL I. et SUSSMAN R.W. Lemur biology. New York, Plenum Press, 219-235.

CARTMILL M. (1974). Rethinking primate origins. *Science*, **184**, 436-443.

- CHARLES-DOMINIQUE P. (1977). Ecology and behavior of nocturnal primates. London, Duckworth, 277p.
- CRANZ C., ISHAK B., BRUN B. et RUMPLER Y. (1986). Study of morphological and cytological parameters indicating œstrus in *Lemur fulvus mayottensis*. *Zoo Biol.*, **5**, 379-386.
- DADOUNE J.P (1990). Histologie. 2<sup>ème</sup> éd., Paris, Médecine-Sciences Flammarion, 229-241, 247-257.
- DEFLER T.R et PINTOR D. (1985). Censusing primates by transect in a forest of known primate density. *Int. J. Primatol.*, **6**, 243-259.
- DIXSON A.F. (1998). Primate sexuality : comparative studies of the Prosimians, Monkeys, Apes, and Human Beings. New York, Oxford University Press, 7-10, 316-321, 358-359, 406-409 et 459.
- DUMON C. (1991). Frottis vaginaux. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, **26** [suppl.], 49-52.
- EVANS C.S. et GOY R.W. (1968). Social behaviour and reproductive cycles in captive Ring-tailed Lemurs (*Lemur catta*). *J. Zool.*, **156**, 181-197.
- EWING L.L. (1982). Seasonal variation in primate fertility with an emphasis on the male. *Am. J. Primatol.*, **1** [suppl.], 145-160.
- FOERG R. (1982). Reproductive behavior in *Varecia variegata*. *Folia Primatol.*, **38**, 108-121.
- FOWLER S.V., CHAPMAN P., CHECKLEY D., HURD S., McHALE M., RAMANGASON G.S. et al. (1989). Survey and management proposals for a tropical deciduous forest reserve at Ankarana in northern Madagascar. *Biol. Conserv.*, **47**, 297-313.
- HARRINGTON J.E. (1975). Field observation of social behaviour of *Lemur fulvus fulvus*. In : TATTERSALL I. et SUSSMAN R.W. Lemur biology. New York, Plenum Press, 259.
- HAWKINS A.F.A., CHAPMAN P., GANZHORN J.U., BLOXAM Q.M.C., BARLOW S.C. et TONGE S.J. (1990). Vertebrate Conservation in Ankarana Special Reserve, Northern Madagascar. *Biol. Conserv.*, **54**, 83-110.
- HICK U. (1976a). The first year at the new lemur house at Cologne Zoo. *Int. Zoo Yearb.*, **16**, 141-145.
- HICK U. (1976b). Hand rearing a Ringtailed Lemur and a Crowned Lemur at the Cologne Zoo. *Int. Zoo Yearb.*, **16**, 187-189.
- HOWARTH C.J., WILSON J.M., ADAMSON A.P. et al. (1986). Population ecology of the Ring-tailed Lemur, *Lemur catta*, and the White Sifaka, *Propithecus verreauxi*, at Berenty, Madagascar 1981. *Folia Primatol.*, **47**, 39-48.
- JOLLY A. (1966). Lemur behavior ; a Madagascar field study. Chicago, Univ. of Chicago Pr., 187 p.

- JOLLY A (1967). Breeding synchrony in wild *Lemur catta*. In : ALTMAN S.A. Social communication among Primates. Chicago, Univ. of Chicago Pr., 3-14.
- KAPPELER P.M. (1987). Reproduction in the Crowned Lemur in captivity. *Am. J. Primatol.*, **11-12**, 497-503.
- KOYAMA N. (1988). Mating behavior of ring-tailed lemurs (*Lemur catta*) at Berenty, Madagascar. *Primates*, **29**, 163-175.
- MITTERMEIER R.A., TATTERSALL I., KONSTANT W.R., MEYERS D.M. et MAST R.B. (1994). Lemurs of Madagascar. Washington, Conservation International, 199-201.
- MOISSON P. et DE MICHELIS S. (1999). European studbook for the Crowned Lemur (*Eulemur coronatus*), n°1. Mulhouse, 39 p.
- MOISSON P. (2000). Communication personnelle.
- NAPIER J.R. et WALKER A.C. (1967). Vertical clinging and leaping – a newly recognised category of locomotor behaviour of primates. *Folia Primatol.*, **6**, 204-219.
- NEVEUX M. (1999). Les frottis vaginaux chez la chienne. *Point Vét.*, **30** (202), 37-44.
- PEREIRA M.E. (1991). Asynchrony within estrous synchrony among ringtailed lemurs (Primate : *Lemuridae*). *Phys. & Behav.*, **49**, 47-52.
- PETTER J.J. (1962). Recherches sur l'écologie et l'éthologie des Lémuriens malgaches. Thèse de Sciences naturelles, Faculté des Sciences de Paris.
- PETTER J.J., ALBIGNAC R. et RUMPLER Y (1977). Faune de Madagascar : 44 mammifères lémurien (Primates prosimiens). Paris, ORSTOM, CNRS, 155-202.
- PETTER-ROUSSEAU A. (1962). Recherches sur la biologie de la reproduction des Primates inférieurs. Thèse de Sciences naturelles, Faculté des Sciences de Paris.
- PETTER-ROUSSEAU A. (1974). Le cycle de l'épithélium séminifère chez *Microcebus murinus*. *Mammalia*, **38**, 75-87.
- POLLOCK J.I. (1986). Primates and primate conservation priorities in Madagascar. *Oryx*, **20**, 209-216.
- RAND A.L. (1935). On the habits of the Madagascar mammals. *J. Mammal.*, **16**, 89-104.
- RASAMIMANANA P., BRUN B., MEYER J.M., ROOS M. et RUMPLER Y. (1990). Seasonal variation of the seminiferous epithelium cycle in Mayotte's Brown Lemur (*Eulemur f. mayottensis*). *Folia Primatol.*, **55**, 193-199.
- RASMUSSEN D.T. (1985). A comparative study of breeding seasonality and litter size in eleven taxa of captive Lemurs (*Lemur* and *Varecia*). *Int. J. Primatol.*, **6**, 501-517.

REYNOLDS R.L. et VAN HORN R.N. (1977). Induction of oestrus in intact *Lemur catta* under photoinhibition of ovarian cycles. *Phys. and Behav.*, **18**, 693-700.

RICHARD A.F., CLUTTON-BROCK T.H., MARTIN R.D., POLLOCK J.I., CHARLES-DOMINIQUE P. et NIEMITZ C. (1995). Les 22 espèces de Lémuriens. In : Encyclopédie des animaux du monde. 2<sup>nde</sup> éd., Oxford, Solar, 150-181.

ROBINSON J.G. et REDFORD K.H. (1986). Body size, diet and population density of Neotropical forest mammals. *Am. Nat.*, **128**, 665-680.

SAUTHER M.L. (1991). Reproductive behavior of free-ranging *Lemur catta* at Beza Mahafaly special reserve, Madagascar. *Am. J. Phys. Anthrop.*, **84**, 463-477.

SCHAFF C.D. et STUART M.D. (1983). Reproduction of the Mongoose Lemur (*Lemur mongoz*) in captivity. *Zoo Biol.*, **2**, 23-38.

SIMPSON G.G. (1945). The principles of classification and a classification of mammals. *Bull. Am. Museum Nat. Hist.*, **85**, 1-350.

SUSSMAN R.W. (1975). A preliminary study of the behaviour and ecology of *Lemur fulvus rufus*. In : TATTERSALL I. et SUSSMAN R.W. Lemur biology. New York, Plenum Press, 237-258.

TATTERSALL I. (1982). The Primates of Madagascar. New York, Columbia University Press, 64-66, 264-321.

VAN HORN R.N. (1975). Primate breeding season : Photoperiodic regulation in captive *Lemur catta*. *Folia Primatol.*, **24**, 203-220.

VAN HORN R.N. et RESKO J.A. (1977). The reproductive cycle of the Ring-tailed Lemur (*L. catta*) : Sex steroid levels and sexual receptivity under controlled photoperiods. *Endocrinology*, **101**, 1579-1586.

VAN HORN R.N. et EATON G.G. (1979). Reproductive physiology and behavior in Prosimians. In : DOYLE G.A. The study of prosimian behavior, New York, Academic Press, 70-122.

WILSON J.M., STEWART P.D., RAMANGASON G.S., DENNING A.M. et HUTCHINGS M.S. (1989). Ecology and conservation of the Crowned Lemur, *Lemur coronatus*, at Ankarana, N. Madagascar. *Folia Primatol.*, **52**, 1-26.

**ANNEXE I**

[RICHARD, 1995]

**ORDRE DES PRIMATES**

*SOUS-ORDRE*

**PROSIMIENS**

**SIMIENS**

*SUPERFAMILLE*

**LEMURIFORMES**

**LORISIFORMES**  
(Galago)

**TARSIFORMES**  
(Tarsiers)

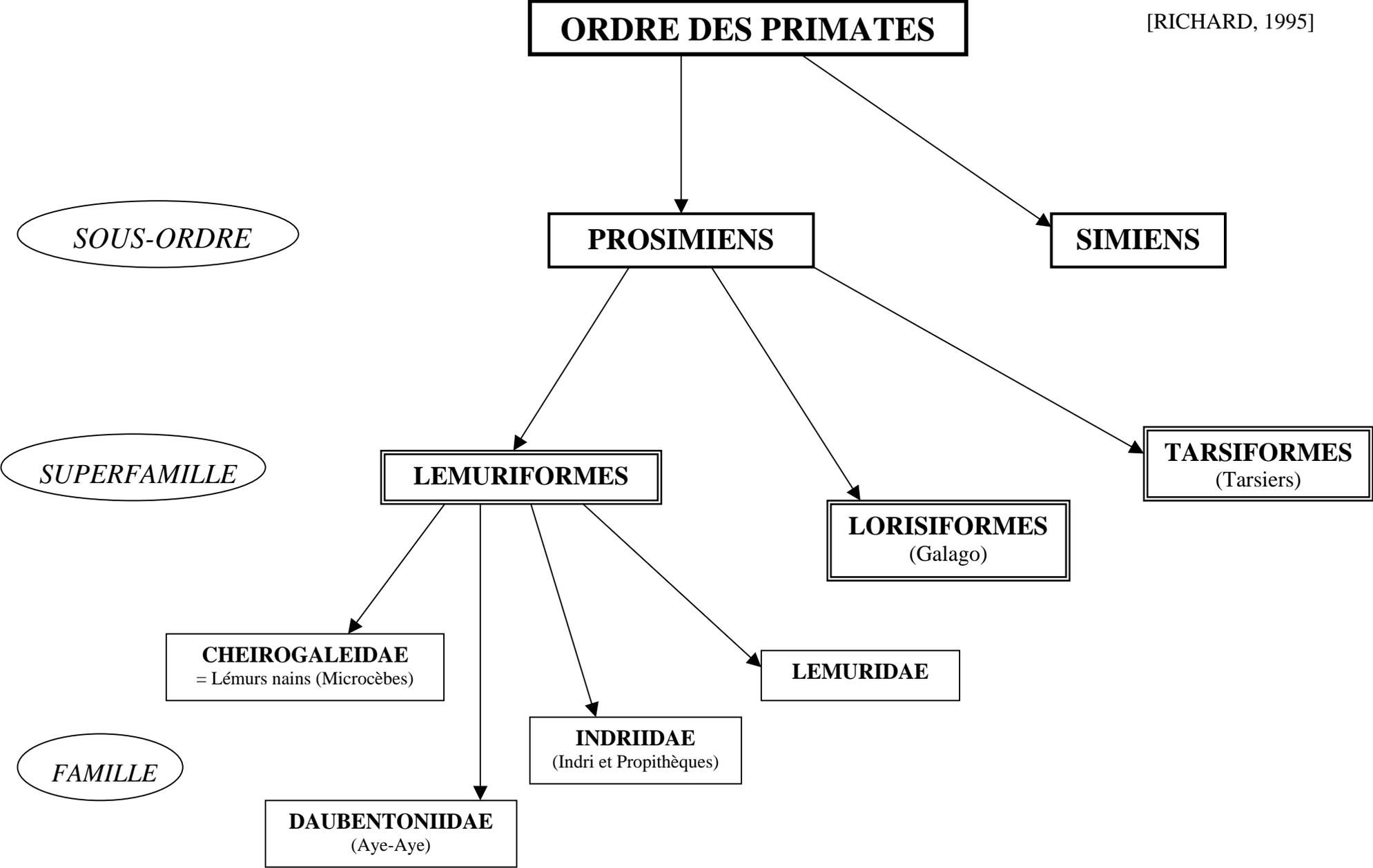
*FAMILLE*

**CHEIROGALEIDAE**  
= Lémurs nains (Microcèbes)

**LEMURIDAE**

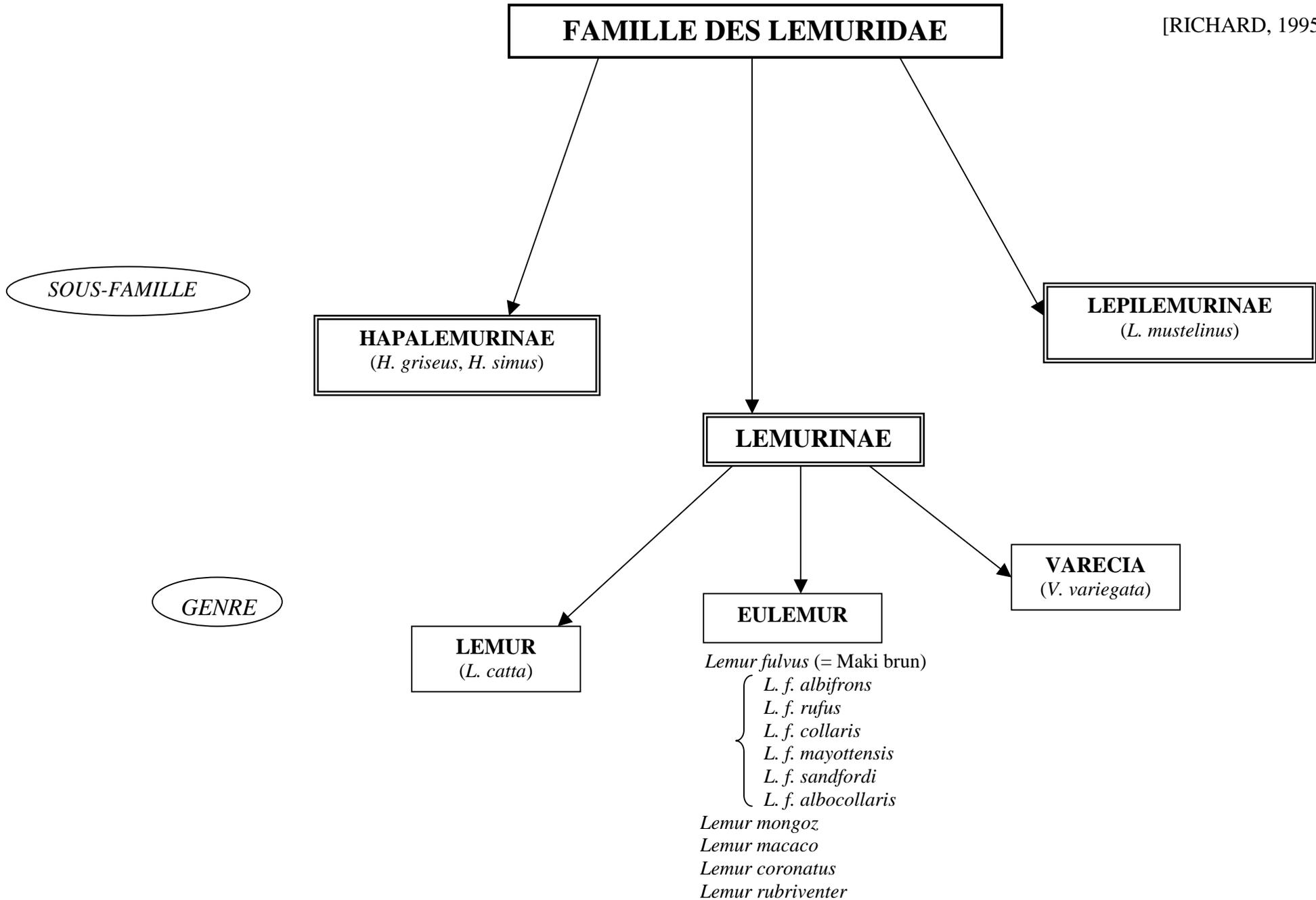
**INDRIIDAE**  
(Indri et Propitèques)

**DAUBENTONIIDAE**  
(Aye-Aye)



**ANNEXE II**

[RICHARD, 1995]



**ANNEXE III : Localisation des sites agréés hébergeant  
des *Lemur coronatus* dans le monde**

**BANHAM Banham Zoo Ltd.**

The Grove, Banham, Norfolk, ENGLAND (U.K.), NR16 2HE, 44 1953 887771

**BERLINZOO Zoologischer Garten Berlin**

Hardenbergplatz 8, 10787 Berlin, GERMANY, 49 30 25 40 10

**CINCINNAT Cincinnati Zoo & Botanical Garden**

3400 Vine St., Cincinnati, OH, USA, 45220-1399, (513)559-7712

**DARMSTADTVivarium Darmstadt**

Schnampelweg 4, 64287 Darmstadt, GERMANY, 49 6151 13 33 91

**DUKE PRIM Duke University Primate Center**

3705 Erwin Rd., Durham, NC, USA, 27705, (919)489-3364

**IVOLOINA Parc Zoologique d'Ivoloina**

Serv. Prov. Des Eaux et Forêts, Toamasina (501), MADAGASCAR

**JOHANSBRG Johannesburg Zoological Gardens**

Jan Smuts Ave., Parkview 2193, SOUTH AFRICA, 27 11 646 2000

**KOLN Koln Zoo**

Riehler Strasse 173, 50735 Koln, GERMANY, 49 221 778 5101

**LOSANGELE Los Angeles Zoo**

5333 Zoo Dr., Los Angeles, CA, USA, 90027, (213)666-4650

**MALAGASY Malagasy Republic**

EAST AFRICA, African Region

**MULHOUSE Parc Zoologique et Botanique**

51, rue du Jardin Zoologique, 68100 Mulhouse, FRANCE

**PARIS ZOO Parc Zoologique de Paris – M.N.H.N.**

53, Avenue de Saint Maurice, 75012 Paris, France, 33 1 44 75 2032

**SANDIEGOZ San Diego Zoological Garden**

P.O. Box 551, San Diego, CA, USA, 92112-0551, (619)231-1515

**STCATHERN St. Catherines Island / WSC**

Route 1, Midway, GA, USA, 31320, (912)884-5005

**STRAS UNI Université Louis Pasteur**

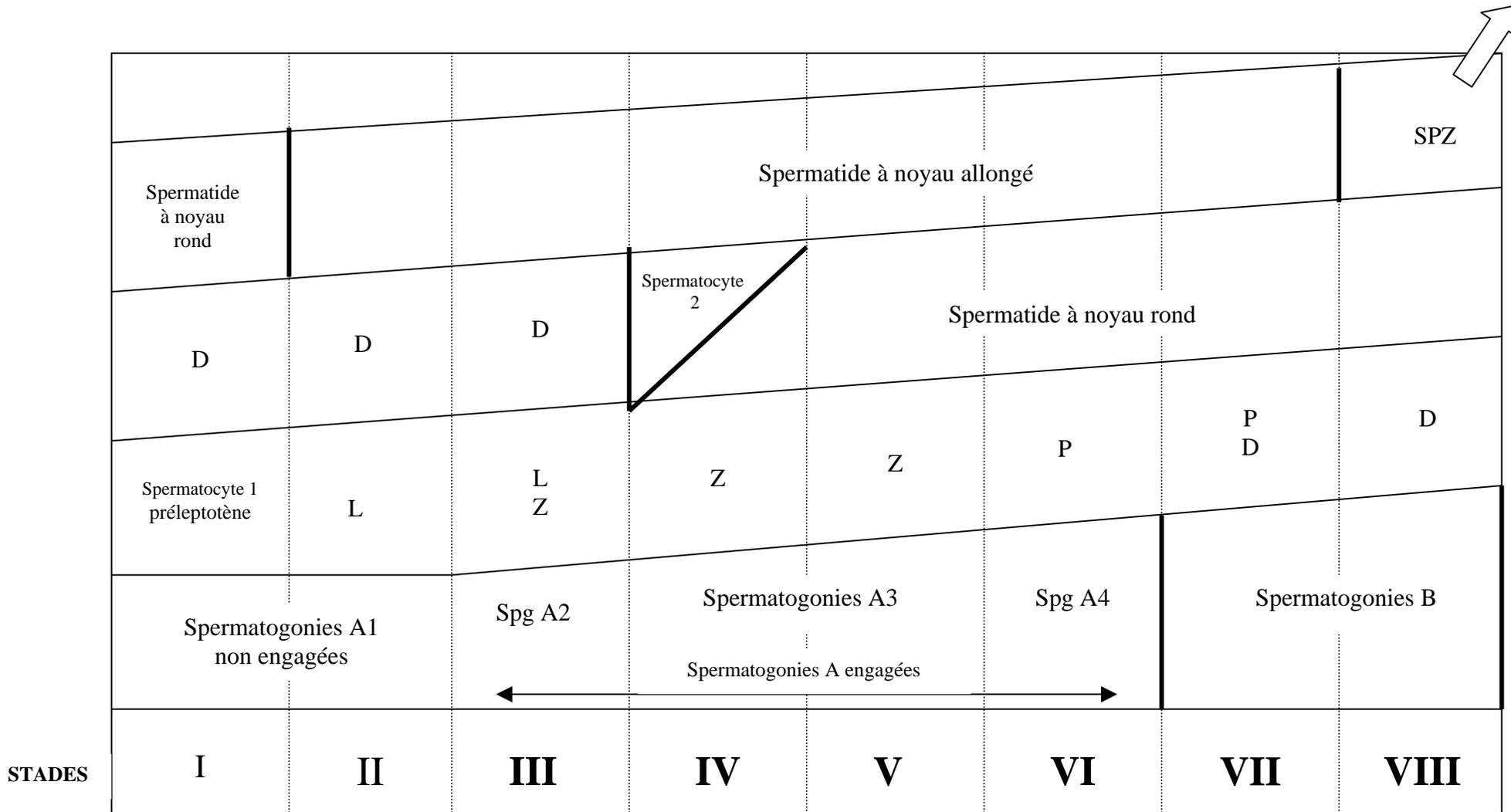
11, rue Human, 67085 Strasbourg cedex, European Region, FRANCE,  
33.3.88.35.87.76

**TANANARIV Parc Tsimbazaza**

Madagascar Fauna Group, Antananarivo 101, MADAGASCAR

# ANNEXE IV : Cycle de l'épithélium séminifère chez *Microcebus murinus*

[PETTER-ROUSSEAU, 1974]



L : Spermatocyte 1 leptotène  
Z : Spermatocyte 1 zygotène

P : Spermatocyte 1 pachytène  
D : Spermatocyte 1 diplotène

**ANNEXE V : Liste des sujets d'étude *Lemur coronatus***

<b>NOM</b>	<b>SEXE</b>	<b>DATE DE NAISSANCE OU DE CAPTURE</b>	<b>LOCALISATION TRANSFERT</b>	<b>PARENTE</b>	<b>DATE DE DECES</b>
ODILE	femelle	22/04/98	Mulhouse	Julie x Félix	
NICOLE	femelle	22/05/97	Mulhouse	Elise x Eloi	
LUCAS	mâle	08/04/95	Transféré aux RU Strasbourg	Elise x Eloi	
JULIE	femelle	07/06/94	Mulhouse	Aline x Emeric	
JULES	mâle	29/04/94	Transféré aux RU Strasbourg	Elise x Eloi	
LULU	femelle	<i>Capturée aux Seychelles en 1994 (&lt;1 an)</i>	Mulhouse		
FELIX	mâle	30/04/93	Mulhouse	Elise x Eloi	
ELOI	mâle	<i>Capturé en 1992 (! 1 an)</i>	Mulhouse		
EMERIC	mâle	<i>Capturé en 1992</i>	Mulhouse		
ALINE	femelle	<i>Capturée en 1986 (! 2-3 ans)</i>	Mulhouse		
SERAPIS	mâle	14/04/81	Mulhouse <i>Transféré des EU (Duke P.) en 1991</i>		
PROSPERE	mâle	<i>Capturé en 1988</i>	Zoo de Vincennes		15/11/99
PINKY	femelle	<i>Capturée en 1983</i>	Zoo de Vincennes		15/11/99
PETER	mâle	<i>Capturé en 1983 (! 2-3 ans)</i>	Strasbourg		
DEBORAH	femelle	<i>Capturée en 1982 (! 2-3 ans)</i>	Strasbourg		17/05/00
KIM	femelle	<i>Capturée en 1983 (! 2-3 ans)</i>	Strasbourg		24/11/99
ROY	mâle	<i>Capturé en 1982 (! 2-3 ans)</i>	Strasbourg		12/06/99

[MOISSON et DE MICHELIS, 1999]

## ANNEXE VI : La coloration de Harris-Shorr

Ordre de passage	Produits à utiliser	temps
1	Alcool à 70°	Plonger 10 fois
2	Alcool à 50°	Plonger 10 fois
3	Eau distillée	Plonger 10 fois
4	<b>Hématoxyline de Harris</b>	2 minutes
5	Eau distillée	1 passage
6	Eau distillée	1 passage
7	Alcool ammoniacal	1 minute
8	Eau distillée	1 passage
9	Alcool à 70°	1 passage
10	Alcool à 95°	1 passage
11	<b>Colorant de Shorr</b>	2 minutes
12	Alcool à 95°	1 passage
13	Alcool absolu	1 passage

## ANNEXE VII : Les cellules du frottis vaginal

[M. NEVEUX, 1999]

Cellules de la fosse clitoridienne



**Cellules superficielles**  
(grandes cellules épithéliales à bords plats ou pliés)

Cellule superficielle sans noyau



Cellule superficielle à noyau picnotique



Cellule superficielle avec silhouette nucléaire



**Grande cellule intermédiaire**  
(contours anguleux, noyau rond, cytoplasme acidophile ou basophile selon le stade œstral)



**Petite cellule intermédiaire**  
(noyau rond, taille variable, forme ronde, ovale ou angulaire)



**Polynucléaires**  
(neutrophiles segmentés)

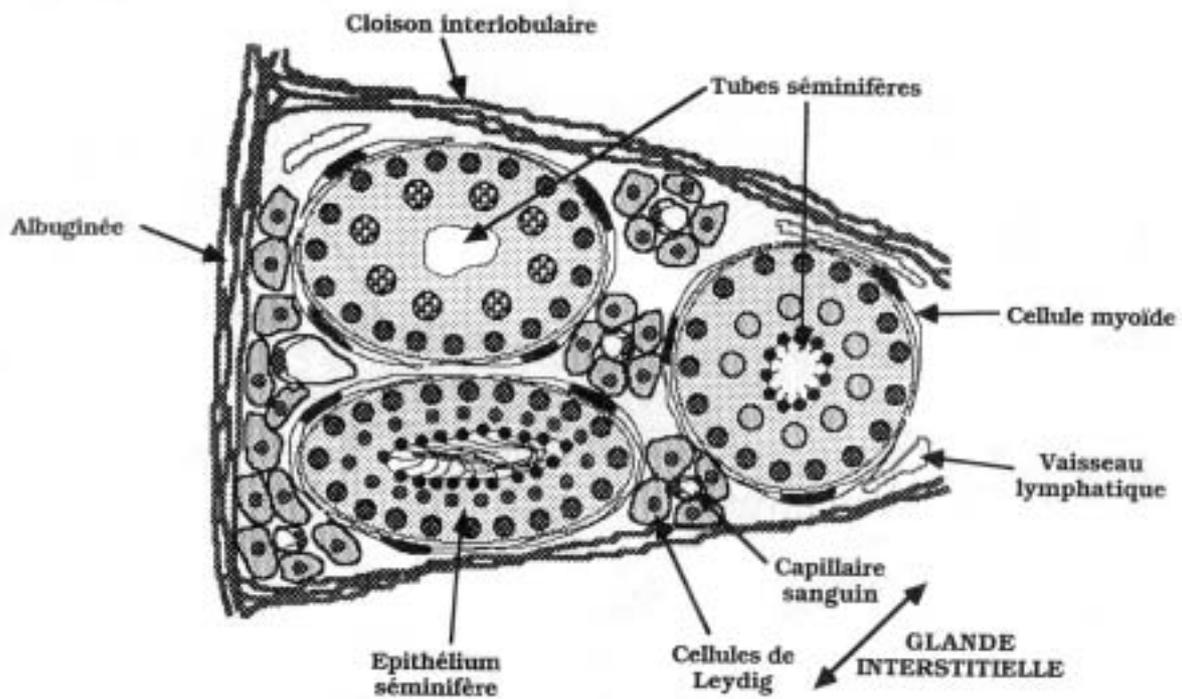


**Cellule parabasale**  
(petites cellules à noyau large et de forme ronde, ratio noyau/cytoplasme élevé, cytoplasme basophile)

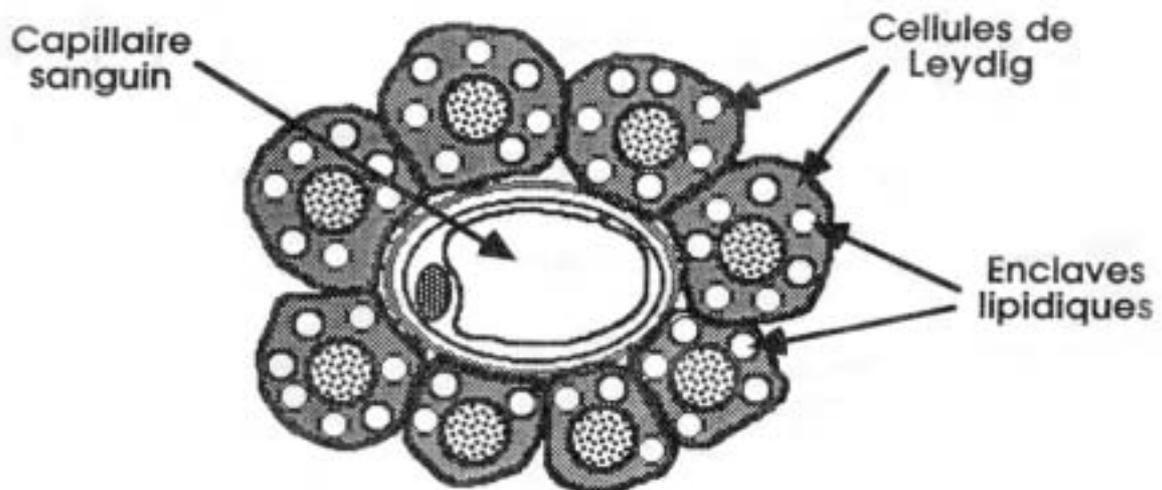


**ANNEXE VIII : Représentation schématique des différentes structures testiculaires vues au microscope optique**

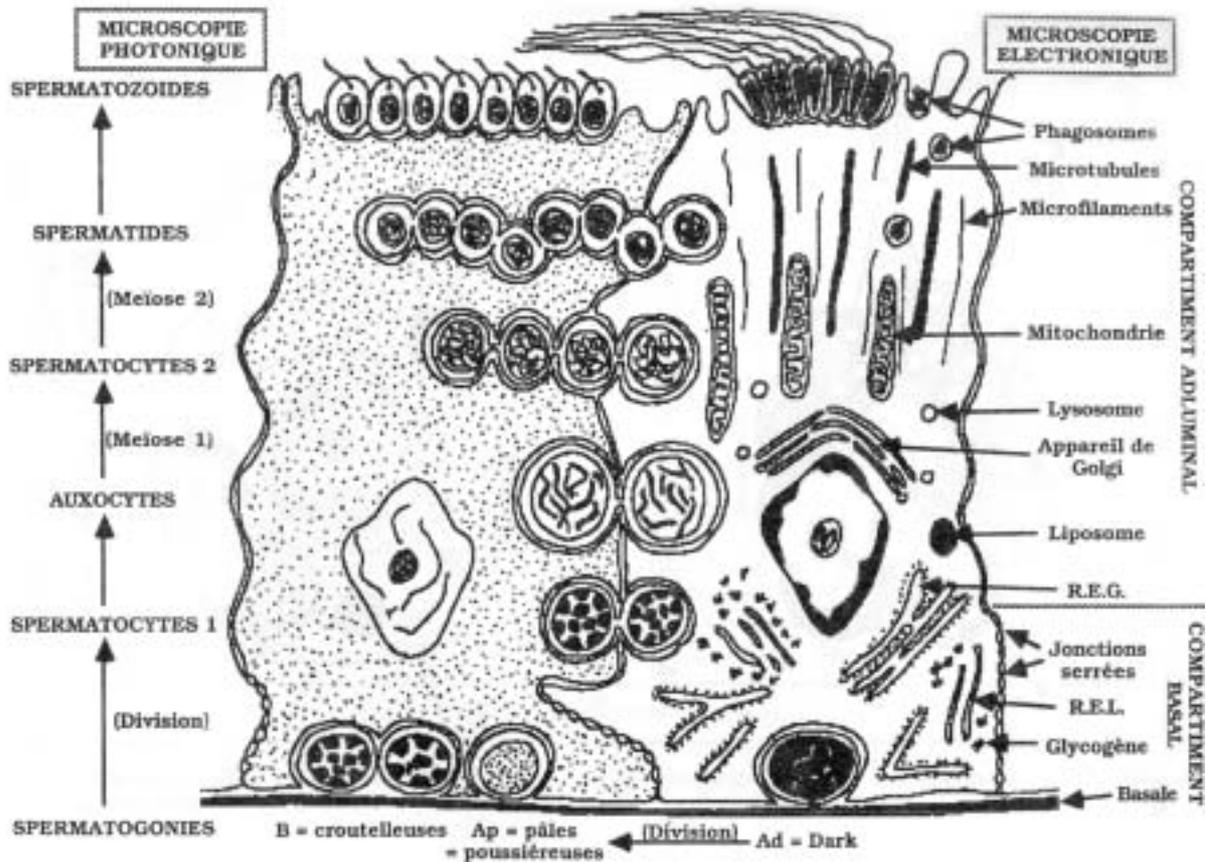
**LE LOBULE SPERMATIQUE**



**LA GLANDE INTERSTITIELLE DU TESTICULE**



## STRUCTURE HISTOLOGIQUE DU TUBE SEMINIFERE



### SPERMATOGONIES

Elles sont localisées à la périphérie des tubes séminifères, près de la membrane basale, entre les cellules de Sertoli. Elles sont peu nombreuses, d'un diamètre de 9 à 15 µm.

Au microscope photonique, on en retrouve de 3 types différents :

- **de type Ad** (« dark ») : noyau arrondi avec une chromatine finement granuleuse, chromophile, occupée par une vacuole centrale
- **de type Ap** (« pale ») : noyau ovalaire, clair, avec une chromatine fine et dispersée, renfermant un ou plusieurs nucléoles
- **de type B** : noyau arrondi, foncé, avec une chromatine en amas (spermatogonies croutelleuses)

## **SPERMATOCYTES**

- # **Spermatocytes I** : Grandes cellules ovalaires, au noyau arrondi, situées à distance de la gaine péricubulaire
- # **Spermatocytes II** : Noyau chromophile avec un petit nucléole, difficiles à observer sur les coupes testiculaires vu la courte durée de vie de ce stade.

## **SPERMATIDES**

Tout en se rapprochant de la lumière du tube séminifère, les spermatides traversent 3 stades évolutifs :

- **Jeunes spermatides** : cellules de petite taille, ovoïdes, avec un noyau rond et clair contenant un ou deux nucléoles
- **Spermatides intermédiaires** : noyau en élongation selon le grand axe de la cellule
- **Spermatides matures** : noyau condensé

## **SPERMATOZOÏDES**

Ils sont disposés en bouquet à l'apex des cellules de Sertoli, pour être ensuite relargués dans la lumière du tube séminifère.

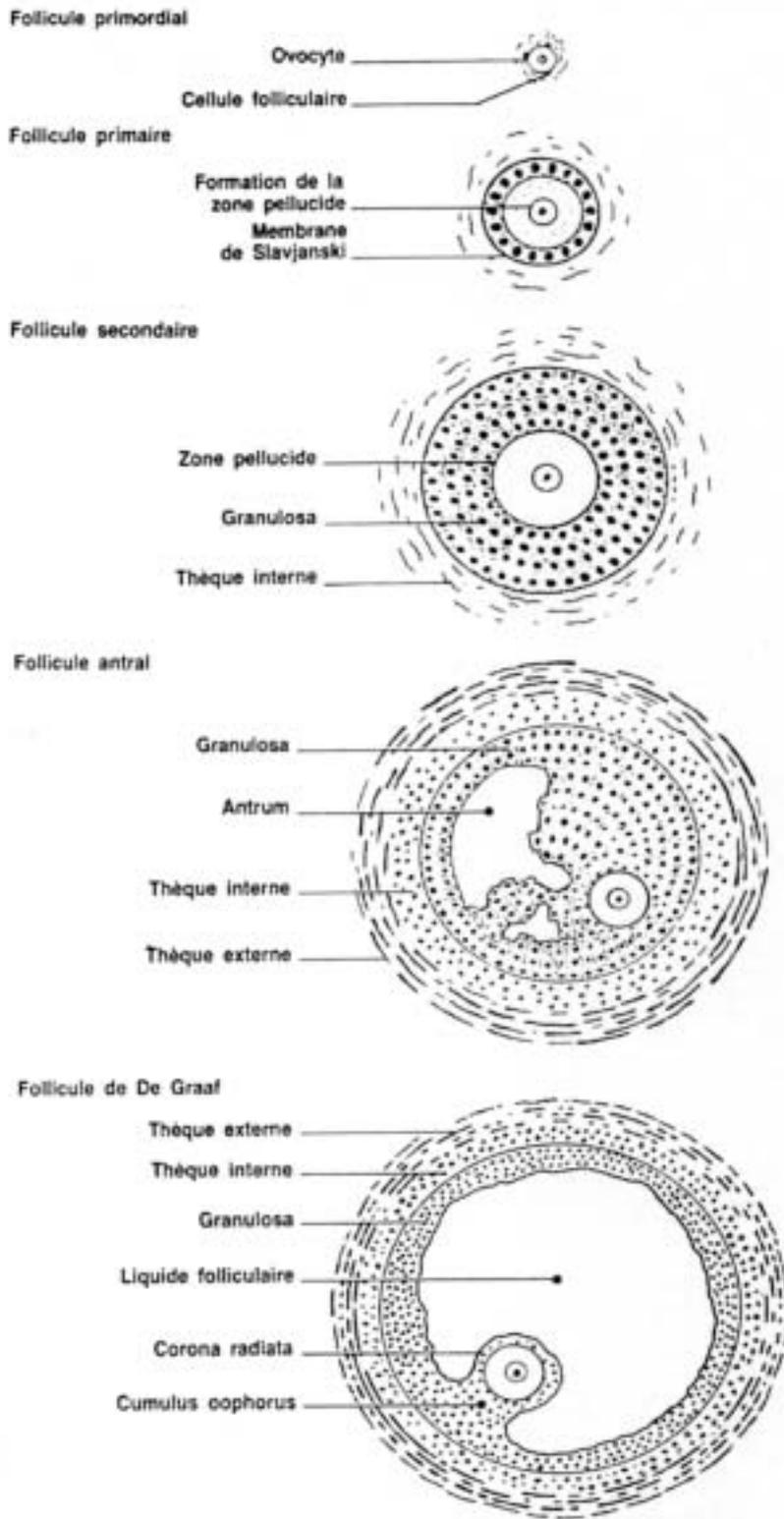
## **CELLULES DE LEYDIG**

Ce sont des cellules polyédriques, au noyau arrondi, avec un cytoplasme dense ou spongiocytaire, contenant diverses enclaves lipidiques, pigmentaires et protidiques.

## **CELLULES DE SERTOLI**

Pyramidales et allongées, elles s'intercalent avec les cellules de la lignée germinale. Leur base repose sur la membrane basale de la gaine péricubulaire, alors que l'apex atteint fréquemment la lumière du tube séminifère. Son noyau est allongé ou polygonal, perpendiculaire à la paroi du tube séminifère ; il contient une chromatine fine et des nucléoles polymorphes.

## ANNEXE IX : Les différentes étapes de la croissance d'un follicule évolutif



[DADOUNE, 1990]





**EMERIC** (capturé en 1992)

Mulhouse

DATE			NOV	DEC	JANV 00	FEVRIER	MARS	AVRIL	MAI	JUIN	JUILLET	AOUT	SEPT	OCT
			11	17	18	21	16	17	15	15	17	14	14	13
<b>MORPHOLOGIE</b>	Testicule D	dimensions* (mm)		230x140	190x110	210x180	170x90	200x90	130x80	160x90				
		taille (cm <sup>2</sup> )		3,22	2,09	3,78	1,53	1,80	1,04	1,44				
	Testicule G	dimensions* (mm)		250x140	200x120					140x80				
		taille (cm <sup>2</sup> )		3,50	2,40					1,12				
<b>DOSAGES SERIQUES</b>														
% Testostérone (ng/ml)			7,2	6,3	2,4	0,21	6,7	0,3	24	4	0,24	0,34	0,29	0,89

\* Longueur maximale x largeur maximale

**FELIX** (né le 30/04/93)

Mulhouse

DATE			NOV	DEC	JANV 00	FEVRIER	MARS	AVRIL	MAI	JUIN	JUILLET	AOUT	SEPT	OCT
			15	17	18	21	16	17	15	15	17	14	14	13
<b>MORPHOLOGIE</b>	Testicule D	dimensions* (mm)		250x140	230x120	240x120	210x100	200x110	130x100	150x90				
		taille (cm <sup>2</sup> )		3,50	2,76	2,88	2,10	2,20	1,30	1,35				
	Testicule G	dimensions* (mm)		260x150	230x120					160x90				
		taille (cm <sup>2</sup> )		3,90	2,76					1,44				
<b>DOSAGES SERIQUES</b>														
% Testostérone (ng/ml)			13	10	1,9	4,8	1,2	2	28	0,1	0,41	0,19	5,1	1,3

**LUCAS** (né le 08/04/95)

Transféré aux RU fin DEC

DATE			DECEMBRE
			16
MORPHOLOGIE	Testicule D	dimensions* (mm)	200x120
		taille (cm <sup>2</sup> )	2,40
	Testicule G	dimensions* (mm)	190x120
		taille (cm <sup>2</sup> )	2,28
DOSAGES SERIQUES			
% Testostérone (ng/ml)			2,6

\* Longueur maximale x largeur maximale

**JULES** (né le 29/04/94)

Transféré aux RU fin DEC

DATE			DECEMBRE
			16
MORPHOLOGIE	Testicule D	dimensions* (mm)	240x130
		taille (cm <sup>2</sup> )	3,12
	Testicule G	dimensions* (mm)	200x110
		taille (cm <sup>2</sup> )	2,20
DOSAGES SERIQUES			
% Testostérone (ng/ml)			0,36

\* Longueur maximale x largeur maximale

**ANNEXE XI : Tableaux récapitulatifs des relevés morphologiques, cytologiques  
et des résultats hormonaux chez nos femelles L. coronatus**

**DEBORAH ( capturée en 1982)**  
Strasbourg

DATE		FROTIS VAGINAL							DOSAGES SÉRIQUES		
		Gdes Cell Epithéliales kérat A (anucléées)	Gdes Cell Epith A* (petits Nx)	Cell Epith Rondes A (gros Nx)	Cell Epith A/B*	Cell Epith B*	Neutrophiles mûrs	IE (%)	STADE OESTRAL	Œstrogène E2 (pg/ml)	Progestérone (ng/ml)
NOV	17									18	3,2
DEC	16			+/-		+/>+	+/-	25	ANOESTRUS	21	3,2
JANV 00	17		+	++		+++	++++	50	OESTRUS	25	2,9
FEVRIER	17		++	+++	+	+++	++++	61	METOESTRUS	22	27
MARS	17		++	++		++	++++	66,7	METOESTRUS	24	15
AVRIL	17		+	+++		+	+/-	80	PREOESTRUS	25	2,5
MAI	17								OESTRUS	24	2,1

\*A : acidophile / \*B : basophile

**KIM (capturée en 1983)**  
Strasbourg

DATE		FROTIS VAGINAL							DOSAGES SÉRIQUES		
		Gdes Cell Epithéliales kérat A	Gdes Cell Epith A* (petits Nx)	Cell Epith Rondes A (gros Nx)	Cell Epith A/B*	Cell Epith B*	Neutrophiles mûrs	IE (%)	STADE OESTRAL	Œstrogène E2 (pg/ml)	Progestérone (ng/ml)
NOV	17									76	1,9

**ALINE ( capturée en 1986)**  
Mulhouse

DATE	MORPHOLOGIE			FROTTIS VAGINAL								DOSAGES SERIQUES		
	tuméfaction vulvaire	coloration vulvaire	ouverture vaginale	Gdes Cell Epithéliales kérat A (anucléées)	Gdes Cell Epith A* (petits Nx)	Cell Epith Rondes A (gros Nx)	Cell Epith A/B*	Cell Epith B*	Neutrophiles mûrs	IE (%)	STADE OESTRAL	Œstrogène E2 (pg/ml)	Progestérone (ng/ml)	
NOV	15	1	rose pâle	0		+	++	+++	++++	33,3	ANOESTRUS	9	1,3	
	23	1	rose pâle	0		+/-	++	+	+++	46,2				
	30	1	rose pâle	1-2				+	++	+++		16,7		
DEC	7	1	rose pâle	1-2		+	+	+++	+++	40				
	17	1	rose	2		+	+/++	+	+++	53,3		36	0,46	
	28	1	rose	1		++	+	++	+/++	+		61,5		
JANV 2000	4	1	rose pâle	0-1			+/++	+++	++	33,3				
	11	1	rose pâle	0-1		+	+	++	+++	42,9				
	18	1	rose pâle	0-1		+/-	+/++	++	+++	42,9		20,2	1,6	
	25	0-1	rose pâle	2		++	+	+/++	++++	+/+++		44,1		
FEVRIER	1	0-1	rose pâle	1		+	+/++	+	+++	46,2				
	8	0-1	rose pâle	0-1			++	+	++	50				
	15	1	rose	1			+/++	+	+++	36,4				
	21						++		+++	40		0,39		
	29				+++	++			0	100	OESTRUS			
MARS	7				+	+++	++	++	+/-	++	82,4	METOESTRUS		
	16					+	+	+/++	+/+++	++++	45,8	METOESTRUS	22,8	<b>8,9</b>
	22													
	28													
AVRIL	4													
	11													
	17													
MAI	15													
JUIN	15					+/-	++	++	++	+++ /++++	53,8	ANOESTRUS	14,8	0,41
JUIL	17											13	0,3	
AOUT	14											11,5	0,34	
SEPT	14											32,5	0,17	
OCT	13											7,2	0,27	

# LULU ( capturée en 1994)

Mulhouse

DATE	MORPHOLOGIE			FROTTIS VAGINAL								DOSAGES SERIQUES		
	tuméfaction vulvaire	coloration vulvaire	ouverture vaginale	Gdes Cell Epithéliales kérat A (anucléées)	Gdes Cell Epith A* (petits Nx)	Cell Epith Rondes A (gros Nx)	Cell Epith A/B*	Cell Epith B*	Neutrophiles mûrs	IE (%)	STADE OESTRAL	Œstrogène E2 (pg/ml)	Progestérone (ng/ml)	
NOV	15	2	rose	1-2	++	++++	+/-		+	0	86,7	OESTRUS		
	23	1-2	rose	1	+	++	+++	+++	+	+	75			
	30	1-2	rose	1		+	+++	++	+	+	71,4	METOESTRUS		
DEC	7	1-2	rose	1			+		++	+++	33,3	OESTRUS		
	17	2	rose	1-2	+/-	+++	++	++	+/+	+++	72,2		23,2	23,9
	28	2	rose	2		+	++	+/+	++	+++	57,7	METOESTRUS		
JANV 2000	4	1-2	rose	1-2	+	++	++	+/+	++	++++	67,6			
	11	1-2	rose	1	+/-	+	++	++	+/+	+++	56,2			
	18	1	rose pâle	0-1		+	++	+++	+++	++++	45,		21,2	3,1
FEVRIER	25	0-1	rose pâle	3		+	+	++	+++	+++	42,9			
	1	1	rose pâle	2			+/+	+	+++	+++	47,1			
	8	1	rose	2			+	+/+	++	++++	38,9			
	15	1	rose	1-2										
	21						+/+	0	+++	+/+	33,3		12,9	0,61
MARS	29						+	0	+++	+++	25			
	7						+/-	0	+++	+++	14,3	ANOESTRUS		
	16						+/+	+++	++	+++	46,2		10,2	0,32
	22						+/-	+/-	++++	++++	15			
AVRIL	28						+	++	++	+++	40			
	4						+	0	+++	++	25			
	11						+/+	0	+/+	+++	30			
MAI	17						+/+	+	+/-	++	55		13,8	0,28
	15						+	0	+++	+/+	25			
JUN	15						+/-	+/+	0	++	50		16,7	0,67
JUIL	17												15,9	0,65
AOUT	14												20,2	0,34
SEPT	14												21,6	0,17
OCT	13												16,5	0,4

**JULIE** (née le 07/06/94)

Mulhouse

DATE	MORPHOLOGIE			FROTTIS VAGINAL								DOSAGES SERIQUES	
	tuméfaction vulvaire	coloration vulvaire	ouverture vaginale	Gdes Cell Epithéliales kérat A (anucléées)	Gdes Cell Epith A* (petits Nx)	Cell Epith Rondes A (gros Nx)	Cell Epith A/B*	Cell Epith B*	Neutrophiles mûrs	IE (%)	STADE OESTRAL	Œstrogène E2 (pg/ml)	Progestérone (ng/ml)
NOV	15	1	rose pâle	0			+	++	++++	16,7	ANOESTRUS	19,3	1
	23	1	rose pâle	0		+	+++	+++	++/+++	31,8			
	30	1-2	rose	1-2	+	+/++	+	+++/++++	+/++	++++	61,8	PREOESTRUS	
DEC	7	2	rose foncé	2	+	++	+++		+++	100	<b>OESTRUS</b>	25	0,6
	17	3	rouge	3	+++	+++	+		+	92,9	METOESTRUS		
	28	2	rose foncé	2		++	++	+	+/++	+			
JANV 2000	4	2	rose foncé	2		+/++	+/++	++	+++	+++/++++	50		
	11	2	rose foncé	2	+/-	++	+++	+	++		84,6	PREOESTRUS	
	18	2	rose foncé	2-3	+	+	++/+++	++	+	++	73,3	<b>OESTRUS</b>	14,9
FEVRIER	25	1	rose pâle	2-3		+	++	++	+/++	++++	61,5	METOESTRUS	
	1	2	rose	2-3			+	+/++	++++	+	26,9	<b>GESTATION</b>	
	8	1-2	rose	2-3									
	15	2	rose	2-3		+/-	+	+++/+++	++++	++++	34,4		
	21					+/-	+/++	+	++	+++	50		
29					+/-	+/++		++	+++	50			
MARS	7					+/-	+	+++	++++		22,2		
	16					+/-	+/+	+++	++++		18,7	27,1	<b>490</b>
	22												
AVRIL	28												
	4												
MAI	11												
	17										<b>MISE BAS</b> 22/04/00		
MAI	15												
JUIN	15												
JUIL	17												
AOUT	14											19,1	0,63
SEPT	14											14,5	0,26
OCT	13											11,7	0,5

NICOLE ( née le 22/05/97)

Mulhouse

DATE	MORPHOLOGIE			FROTTIS VAGINAL							DOSAGES SERIQUES				
	tuméfaction vulvaire	coloration vulvaire	ouverture vaginale	Gdes Cell Epithéliales kérat A (anucléées)	Gdes Cell Epith A* (petits Nx)	Cell Epith Rondes A (gros Nx)	Cell Epith A/B*	Cell Epith B*	Neutrophiles mûrs	IE (%)	STADE OESTRAL	Œstrogène E2 (pg/ml)	Progestérone (ng/ml)		
NOV	15	1	rose pâle	0			+	+++	++++	12,5	ANOESTRUS				
	23	1	rose pâle	0			+	++	+/-	++/+++		++++	54,2		
	30	1	rose	1					+/++	++		+++	21,4		
DEC	7	1-2	rose	1			+	+/++	+/++	++/+++		++++	50		
	17	2	rose foncé	2			+	+/++	+	++		+++	54,5	8,7	0,8
	28	1-2	rose	1-2			+	++	++	++		++++	60		
JANV 2000	4	1-2	rose	1			+	++	+/++	++/+++		+++	53,6		
	11	1	rose	1-2	+/-	+/-	++	+	++	+/+++		++/+++	58,3		
	18	1	rose	2		+	++	++	+++	++		++	33,3	12,6	0,45
	25	0-1	rose pâle	2		++	+++	+/+++	+/++	+/++		+/++	69,4	PREOESTRUS	
FEVRIER	1	2-3	rose foncé	3	+++	++++				0	100	OESTRUS			
	8	2	rose	2	+/+++	++		+/++	+/++	++++	70	METOESTRUS			
	15	2	rose	2		+/-	+++	+	++	++++	61,5	ANOESTRUS			
	21					+	+	+/++	++/+++	+++	45,8		6,7	0,4	
	29						+	+/+++	++	+++/++++	40,9				
MARS	7						+	+/++	++/+++	++++	35				
	16						+	+++	++++	++++	12,5	9,6	8,4		
	22				+++	++				0	100	OESTRUS			
	28				+	+++	0	+/+++	+	+/++	70				
AVRIL	4					+/+	++		+/++	++	62,5	METOESTRUS			
	11					+/+	+/++		++	++	50				
	17					++	++	+/++	++	++	63,3	PREOESTRUS	14,6	2,13	
MAI	15				+	+/++	+/-	++/+++	+++/++++	50	OESTRUS	13,3	279		
JUIN	15				+	+/+	++	++/+++	+++/++++	41,7	GESTATION	27	756		
JUIL	17										MISE BAS				
AOUT	14										24/07/00				
SEPT	14											10,4	0,15		
OCT	13											8,5	0,16		

**ODILE** ( née le 22/04/98)

Mulhouse

DATE	MORPHOLOGIE			FROTTIS VAGINAL							DOSAGES SERIQUES			
	tuméfaction vulvaire	coloration vulvaire	ouverture vaginale	Gdes Cell Epithéliales kérat A (anucléées)	Gdes Cell Epith A* (petits Nx)	Cell Epith Rondes A (gros Nx)	Cell Epith A/B*	Cell Epith B*	Neutrophiles mûrs	IE (%)	STADE OESTRAL	Œstrogène E2 (pg/ml)	Progestérone (ng/ml)	
NOV	15	1	rose pâle	0			+	+++	++++	12,5	ANOESTRUS	6,9	1,4	
	23	1	rose pâle	0			+	++	+++	58,3				
	30	1	rose pâle	0			+	++	++	40				
DEC	7	1-2	rose	0-1			+	+	++	50				
	17	1-2	rose	1-2	+	+	+	++	++	100	PREOESTRUS	14,7	1,7	
	28	1-2	rose	1-2		++++	+	++		0	<b>OESTRUS</b>			
JANV 2000	4	2	rose	2		++	+++	+	+	++++	78,6	METOESTRUS		
	11	2	rose	2	+	++	++	+/++	+/++	++	71,9			
	18	2	rose	2			++	+++	++	++++	50		7,2	0,55
	25	0-1	rose pâle	2			++	+++	++	++++	50	ANOESTRUS		
FEVRIER	1	1	rose pâle	1-2		+	+/++	+	+++	++++	46,2			
	8	1	rose	1		+	+/++	++	++	++++	53,8			
	15	1	rose	1-2		++	+++	+/++	+/++	++	71,9	PREOESTRUS		
	21				+/++	+	+	++	+++	54,5		16,3	0,94	
MARS	7				++	+++	+	+	0	92,9	<b>OESTRUS</b>			
	16						++	++	+/+++	+++	46,2	METOESTRUS		
	22					+/-	+/++	+++	++	+++ /++++	50		10,7	<b>11,5</b>
	28						++	+/++	++	+++	50	ANOESTRUS		
AVRIL	4													
	11													
	17				++	+++	+		+/+	100	<b>OESTRUS</b>			
MAI	15				+/+++	+/+++	+	+	+	78,6	PREOEST	OEST	15,4	0,51
JUIN	15					+	+	+/++	+++	42,3	ANOEST			
JUIL	17											10,4	0,36	
AOUT	14											15,9	0,17	
SEPT	14											9,8	0,27	
OCT	13											5,8	0,32	

**ANNEXE XII: Historique reproducteur des sujets d'étude  
durant leur captivité**

**LULU**

Pas de descendance lors de sa captivité (depuis 1994)

**SERAPIS**

Lieu de naissance	Date de naissance	Sexe	Nom	Génitrice	Date de décès
Duke P	29/05/1984	femelle	<b>MERITATEN</b>	<i>NEFERTITI</i>	
Duke P	30/05/1985	inconnu		<i>NEFERTITI</i>	30/05/1985
Duke P	18/04/1986	mâle	<b>IMHOTEP</b>	<i>NEFERTITI</i>	09/01/1998
Duke P	12/06/1986	mâle		MERITATEN	17/06/1986
Duke P	29/04/1987	femelle	<b>MIN</b>	MERITATEN	11/01/1988
Duke P	01/05/1987	femelle	<b>BASTET</b>	<i>NEFERTITI</i>	
Duke P	17/04/1989	mâle	<b>RAMSES II</b>	MERITATEN	12/01/1998
Duke P	26/05/1989	mâle	<b>NEPHTYS</b>	<i>NEFERTITI</i>	
Duke P	05/04/1990	femelle		MERITATEN	21/04/1990
Duke P	11/04/1990	femelle	<b>NEFERTARI</b>	<i>NEFERTITI</i>	
Mulhouse	24/07/2000			NICOLE	
Mulhouse	24/07/2000			NICOLE	

**ALINE & EMERIC**

Lieu de naissance	Date de naissance	Sexe	Nom	Date de décès
Mulhouse	07/06/1994	femelle	<b>JULIE</b>	
Mulhouse	29/05/1995	femelle		29/05/1995
Mulhouse	06/05/1996	mâle	<b>MANU</b>	
Mulhouse	18/07/1999	femelle	<b>PIA</b>	

**ELOI & ELISE (décédée le 09/10/1997)**

Lieu de naissance	Date de naissance	Sexe	Nom	Date de décès
Mulhouse	30/04/1993	mâle	<b>FELIX</b>	
Mulhouse	29/04/1994	mâle	<b>JULES</b>	
Mulhouse	08/04/1995	mâle	<b>LUCAS</b>	
Mulhouse	06/04/1996	femelle	<b>MARIE</b>	
Mulhouse	22/05/1997	femelle	<b>NICOLE</b>	

## JULIE & FELIX

Lieu de naissance	Date de naissance	Sexe	Nom	Date de décès
Mulhouse	18/04/1997	femelle		20/04/1997
Mulhouse	22/04/1998	femelle	<b>ODILE</b>	
Mulhouse	20/04/1999	femelle	<b>PAULINE</b>	
Mulhouse	22/04/2000			
Mulhouse	22/04/2000			

**ROY** (décédé le 12/06/1999) & **DEBORAH** (décédée le 17/05/2000)

Pas de descendance au cours de leur captivité (depuis 1982)

**PETER, KIM** (décédée le 24/11/1999) & **PINKY** (décédée le 15/11/1999)

Pas de descendance au cours de leur captivité (depuis 1983)

**PROSPERE** (décédé le 15/11/1999)

Pas de descendance lors de sa captivité (depuis 1988)

### Accouplements non féconds observés (par les soigneurs du Zoo de Mulhouse)

Date d'accouplement	Couple de <i>lemur coronatus</i>
04/02/1988	DEBORAH & PETER
09/12/1991	KIM & SERAPIS
17/12/1991	ALINE & SERAPIS
23/02/1996	LULU & SERAPIS
17/02/1998	LULU & ELOI

NB : Ne sont pas indiqués dans cette liste les séries d'accouplements observés par les soigneurs conduisant à une mise bas





