

Sommaire

INTRODUCTION	1
I. MILIEU D'ETUDE ET ESPECE ETUDIEE.....	5
I.1. Milieu d'étude	5
I.1.1. Localisation géographique	5
I.1.2. Climat.....	6
I.1.3. Faune.....	7
I.1.4. Flore	8
I.2. Espèce étudiée	8
I.2.1. Description.....	8
I.2.2. Biologie et écologie	9
II. MATERIELS ET METHODES.....	11
II.1. Capture et manipulation des animaux	11
II.1.1. Capture.....	11
II.1.2. Manipulation.....	11
II.2. Dosage hormonal	16
II.2.1. Echantillons fécaux : extraction de l'hormone	16
II.2.2. Analyse des stéroïdes fécaux au Laboratoire d'Endocrinologie en Allemagne : Enzymeimmunoassay (EIA)	17
II.3. Réponse comportementale	18
II.3.1. Echelle de stress pendant la manipulation	18
II.3.2. Choix du milieu de l'enregistrement	19
II.3.3. Enregistrement du comportement.....	21
II.3.4. Visionnage de la vidéo et mesure du délai de sortie du piège	21
II.4. Tests statistiques.....	22
III. RESULTATS.....	23
III.1. Niveau de stress physiologique mesuré à partir d'échantillons fécaux	23
III.1.1. Nombre d'échantillons fécaux	23
III.1.2. Niveau basal de GC.....	24
III.1.3. Magnitude de la réponse au facteur de stress	26
III.2. Réponse comportementale de <i>M. murinus</i>	29
III.2.1. Effectifs des individus testés pour l'expérience	29

III.2.2. Comportements globaux observés des individus au cours de l'expérience de relâche	31
III.2.3. Temps mis pour faire apparaître la tête à la trappe t_a , temps mis pour sortir du piège t_s	31
III.2.4. Nombre de retraites dans le piège n	32
III.2.5. Influence de l'éclairement solaire	33
III.2.6. Temps mis pour sauter sur l'arbre cible t_c	34
III.2.7. Temps mis pour rester dans la surface d'enregistrement après sortie du piège t_r .34	34
III.2.8. Corrélation entre le temps t_s mis par les individus pour sortir du piège et leur concentration fécale de GC	35
III.2.9. Temps t_s mis par tous les individus pour sortir du piège et niveau de stress estimé durant la manipulation.....	35
IV. DISCUSSION	36
CONCLUSION	42
RECOMMANDATIONS	43
Bibliographie	44
Webographie.....	49

Liste des Tableaux

Tableau I : Ordre croissant du degré d'intensité des types de manipulation subie par les individus.....	15
Tableau II : Ordre croissant du degré d'intensité des nouvelles catégories des types de manipulation subie par les individus.....	15
Tableau III : Répartition des paires d'échantillons issus des individus de <i>Microcebus murinus</i> de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai et juin.....	23
Tableau IVa : Répartition des paires d'échantillons par catégorie de manipulation issus d'individus de <i>Microcebus murinus</i> de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai et juin selon la catégorie de manipulation subie.....	24
Tableau IVb : Répartition des paires d'échantillons par degré d'intensité de manipulation après regroupement.....	24
Tableau V : Répartition des paires d'échantillons issus d'individus de <i>Microcebus murinus</i> de la forêt de Kirindy selon les saisons.....	24
Tableau VI : Concentration basale fécale exprimée en valeur moyenne de 3a,11 β -dihydroxy-CM, métabolite de glucocorticoïde (ng/g de fèces sèches) chez différents groupes de microcèbes de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai et juin.....	25
Tableau VII : Magnitude de la concentration fécale exprimée en valeur moyenne (différence entre post et pré-capture), réponse au facteur de stress en 3a,11 β -dihydroxy-CM, métabolite de glucocorticoïde (ng/g de fèces sèches) chez différents groupes de microcèbes de la forêt de Kirindy.....	28
Tableau VIII : Répartition des enregistrements comportementaux des individus de <i>Microcebus murinus</i> de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai, juin et juillet de l'étude...30	30
Tableau IXa : Répartition des enregistrements par catégorie de manipulation sur les individus de <i>Microcebus murinus</i> de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai, juin et juillet.....30	30
Tableau IXb : Répartition des enregistrements par degré d'intensité de manipulation après regroupement.....	30
Tableau X : Répartition des enregistrements sur les individus de <i>Microcebus murinus</i> de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai, juin et juillet de l'étude.....30	30
Tableau XI : Temps moyen (en seconde) mis par les individus apparus pour faire apparaître la tête à la trappe t_a et temps moyen (en seconde) mis par les individus sortis pour sortir du piège t_s	32

Liste des Figures

Figure 1 : Carte de Madagascar montrant la localisation de la forêt de Kirindy/CNFEREF...5
Figure 2 : Localisation du site d'étude N5 dans la forêt de Kirindy.....6
Figure 3 : Diagramme ombrothermique de Morondava entre 2006 et 2008.....7
Figure 4 : Photo d'un individu femelle de <i>Microcebus murinus</i>9
Figure 5 : Photos de la prise des mesures morphométriques externes d'un individu anesthésié de <i>Microcebus murinus</i> de la forêt de Kirindy.....13
Figure 6 : Schéma des étapes de la compétitive EIA avec une forte concentration de GC...18
Figure 7 : Schéma de l'installation de l'expérience.....20
Figure 8 : Concentration basale fécale sous forme logarithme décimale de 3a,11 β -dihydroxy-CM, métabolite de glucocorticoïde (en ng/g de fèces sèches) en fonction de la classe d'âge des individus et en fonction des saisons de <i>Microcebus murinus</i> dans la forêt de Kirindy....26
Figure 9 : Concentration fécale sous forme logarithme décimale de 3a,11 β -dihydroxy-CM, métabolite de glucocorticoïde (en ng/g de fèces sèches) avant (pré) et après (post) l'effet de la capture de <i>Microcebus murinus</i> dans la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai et juin.....27
Figure 10 : Magnitude de la concentration fécale de la réponse en 3a,11 β -dihydroxy-CM, métabolite de glucocorticoïde (en ng/g de fèces sèches) en fonction du degré d'intensité de la manipulation de <i>Microcebus murinus</i> dans la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai et juin.....29
Figure 11 : Courbe de corrélation entre délai d'hésitation et nombre de retraites dans le piège des individus de <i>Microcebus murinus</i> uniquement sortis du piège pendant leur relâche.....33
Figure 12 : Courbe de corrélation entre l'éclairement solaire (exprimé en portion d'heure) et le délai d'hésitation avant de sortir du piège pendant la relâche des individus de <i>Microcebus murinus</i> dans la forêt de Kirindy pendant les quatre mois de l'étude.....34

Liste des Annexes

Annexe I : Fonctionnement simplifié de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HPA)...	I
Annexe II : Prélèvement des fèces.....	II
Annexe III : Extraction hormonale à partir des fèces.....	III
Annexe IV : Liste des individus donnant les paires d'échantillons hormonaux.....	V
Annexe V : Liste des individus enregistrés dans l'expérience de relâche.....	VII
Annexe VI : Résultats statistiques du temps d'apparition t_a des individus apparus lors de leur relâche.....	X
Annexe VII : Résultats de la magnitude de la réponse au stress ainsi que du temps mis pour sortir de tous les individus échantillonnés y compris les répétitions.....	X

Glossaire et abréviations

ACTH : Adrenocorticotropin hormone

ADN : Acide désoxyribonucléique

CFPF : Centre de Formation Professionnelle Forestière

CITES : Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction (Convention on International Trade of Endangered Species)

CNFEREF : Centre National de Formation, d'Etude et de Recherche en Environnement et Foresterie

CNRS : Centre National de la Recherche Scientifique

CRH : Corticotrophin releasing hormone

d : délai d'hésitation avant de sortir du piège

DPZ : Centre de Primatologie Allemande (Deutsches Primatenzentrum)

EIA : Enzymeimmunoassay

FGCM : Métabolite de glucocorticoïde dans les fèces (glucocorticoïd metabolite in feces)

GC : glucocorticoïde

HPA : axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis)

n : nombre de retraites dans le piège pendant le délai d'hésitation

SE : Erreur standard (Standard error)

t_a : temps mis par l'animal pour faire apparaître la tête pour la première fois à la trappe depuis son ouverture

t_c : temps mis par l'animal pour sauter sur l'arbre cible

TMB : 3,3',5,5'-tetraméthylbenzidine

t_r : temps mis par l'animal pour rester dans la surface d'enregistrement après sortie du piège

t_s : temps mis par l'animal pour sortir du piège depuis son ouverture

UICN : Union Internationale pour la Conservation de la Nature et de ses ressources

INTRODUCTION

La capture des animaux sauvages surtout des Vertébrés est nécessaire pour certains types d'étude. Les microcèbes, petits primates nocturnes solitaires sont souvent capturés pour le suivi de la dynamique de leur population en vue d'une obtention des données à long-terme (Kraus et *al.*, 2008 ; Lutermann et *al.*, 2006 ; Dammhahn et Kappeler, 2009). Cependant, la capture et la manipulation sont potentiellement stressantes pour les animaux concernés (Millspaugh et *al.*, 2000 ; McLaren et *al.*, 2004 ; Fletcher et Boonstra, 2006 ; Prout et King, 2006). Le stress qui n'a pas de définition stricte peut être défini comme un état de perte de l'homéostasie causé par un facteur de stress (stimulus) qui peut être physique, psychologique, ou les deux à la fois (Reeder et Kramer, 2005).

Du point de vue physiologie, la réponse au stimulus se manifeste par l'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) et provoque une augmentation du niveau de glucocorticoïde (GC), une classe d'hormones stéroïdes, dans le sang. Le GC sécrété fait augmenter la disponibilité de glucose dans la circulation sanguine (Genuth, 1993 ; Sapolsky, 1982, 1983, 1992 ; Muller et Wrangham, 2004) pour mobiliser de l'énergie nécessaire aux tissus pour neutraliser l'effet du stimulus. Les GC se retrouvent sous forme métabolites dans les fèces de l'individu après un délai de passage dans l'organisme (Möstl et Palme, 2002) (voir **Annexe I**). La répétition du même facteur de stress en une durée plus ou moins longue peut entraîner la diminution de la sécrétion de GC. Plusieurs études ont rapporté que les enfants exposés à une adversité précoce montrent une basse sécrétion de cortisol, qui est la principale forme de GC chez les Primates (Cicchetti et Rogosh, 2001 ; Fisher et *al.*, 2006 ; Dozier et *al.*, 2006 ; Bruce et *al.*, 2009). Ces expériences peuvent conduire à des basses réponses de cortisol à l'âge adulte (Tyrka et *al.*, 2008 ; Elzinga et *al.*, 2008 ; Carpenter et *al.*, 2007). La réponse en GC varie en fonction de l'intensité du facteur de stress. En effet, les rats, utilisés pour des recherches au laboratoire, qui ont changé de cage et sont transférés dans une salle bruyante ont montré la plus grande élévation hormonale (corticostérone), puis moins pour ceux qui ont changé de cage et sont transférés dans une salle tranquille, et enfin ceux qui ont changé de cage sans transfert ont montré la plus faible élévation hormonale (Armario et *al.*, 1986b).

La réponse physiologique pourrait être en relation avec le niveau basal de GC. Dans le cas de l'action d'un facteur de stress à court-terme, la réponse aiguë ou adaptive des animaux qui se traduit par l'augmentation rapide de GC puis retour progressive à son niveau basal

normal (Ouellet-Morin et al., 2011) prend place pour résoudre la situation stressante (Sapolsky, 1992). Si le GC est sécrété en permanence (par exemple à cause de la non élimination du facteur de stress ou encore le malfonctionnement du rétrocontrôle négatif de l'individu), le niveau basal de GC reste élevé et ne retourne plus à son niveau normal. L'individu peut être considéré dans ce cas comme atteint d'un stress chronique. Sa réponse à des facteurs de stress pourrait diminuer due à la diminution de la réactivité de l'axe HPA. En effet, il a été rapporté que les oiseaux ayant un niveau élevé de GC ne montrent plus une réponse additionnelle au protocole de capture et manipulation (Smith et al., 1994).

Du point de vue comportemental, la réponse des individus à la suite de la libération de GC varie suivant la nature et l'origine du facteur de stress, comme les facteurs de stress physique, visuel, tactile, etc. Une des réponses comportementales des individus est les comportements de fuite (Reeder et Kramer, 2005). Lors de la perception d'un prédateur par exemple, le GC sécrété par l'animal proie agit sur les tissus tels que les muscles, le foie et active des systèmes pour l'aider à échapper au prédateur (Anestis, 2010). La répétition d'un même facteur de stress peut entraîner aussi un changement de comportement des animaux. Chez les jars placés dans une cage, par exemple, et surveillés pour une implantation chirurgicale de cathéter pendant deux semaines, au début de l'expérience, ces oiseaux sont effrayés, battent des ailes ou essaient de s'échapper. Mais plus tard, ils ont l'air calme (Le Maho et al., 1992). Le comportement peut varier aussi en fonction de l'intensité du facteur de stress.

Les individus de *Microcebus murinus* dans la forêt de Kirindy (44°39'E, 20°03'S), forêt sèche caducifoliée à l'Ouest de Madagascar, sont soumis à différents facteurs de stress naturels tels que le stress alimentaire, la prédatation, le stress de la reproduction, etc. Le stress alimentaire peut se voir par la compétition entre les individus ou par la compétition interspécifique avec l'espèce sympatrique *Microcebus berthae* pour avoir un accès aux ressources. Le stress dû à la peur des prédateurs qui peuvent les chasser pendant leur repos diurne et pendant leur activité nocturne. Le stress lié à la reproduction qui peut être vu par la compétition entre les mâles pour s'accoupler avec les femelles réceptives, par les soins des femelles pour leurs progénitures jusqu'à leur indépendance. Le GC des individus de *Microcebus murinus* est sécrété chaque fois en réponse aux facteurs de stress naturels qui font partie de leur « vie quotidienne ». La capture-marquage-recapture routine pour le suivi à long-terme d'une population de *Microcebus murinus* ne provoque l'augmentation de GC que mensuellement. Pendant cette capture-marquage-recapture, la présence de plusieurs individus est remarquée à chaque capture, d'autres ne sont capturés que rarement. Ainsi, les études

rapportées par Dammhahn et Kappeler en 2008 et 2009 à Kirindy ont indiqué que beaucoup d'individus ont été recapturés et ont été identifiés seulement durant les sessions de capture mensuelle. Les protocoles de capture peuvent être considérés comme familiers pour les individus souvent capturés. Parmi les individus capturés, il y a des individus marqués auparavant et d'autres sont nouveaux. De ce fait, la manipulation qu'ils subissent diffère. La réponse aux stimuli chez de nombreuses espèces de Vertébrés a été beaucoup étudiée mais peu d'informations ont été fournies sur la réponse des individus de *Microcebus murinus* à la capture.

Dans la présente étude, la réponse des individus de *Microcebus murinus* à la capture et la manipulation a été étudiée. Les objectifs spécifiques visent à étudier la variabilité de la réponse à la capture selon l'expérience des individus à la capture et aussi d'étudier cette variabilité de réponse en fonction de l'intensité de la manipulation qu'ils subissent. On s'attendait à ce que les individus montreraient une réponse physiologique à la capture par une augmentation de la concentration fécale du métabolite de glucocorticoïde par rapport à son niveau basal. La magnitude de GC différerait selon la fréquence de capture des individus : les individus fréquemment capturés montreraient une faible magnitude de GC due à l'habitude aux protocoles de capture. La magnitude de cette augmentation dépendrait de l'intensité de la manipulation subie par les individus : les individus manipulés d'une manière plus invasive montreraient la magnitude de GC la plus élevée. La fréquence de capture, le type de manipulation, et la magnitude de la réponse physiologique de GC pourraient entraîner à une différence comportementale des individus. Supposons que les individus inexpérimentés à la capture et ceux manipulés d'une manière plus invasive sont plus stressés à la capture, ils mettent beaucoup plus de temps pour quitter le piège à la relâche car l'immobilité et le choix des milieux cachés sont des mécanismes de protection typiques observés chez cette espèce. La réponse physiologique pourrait avoir une corrélation avec la réponse comportementale.

Pour vérifier ces hypothèses, la magnitude de la réponse physiologique à la capture a été évaluée par la mesure du changement de la concentration fécale du métabolite de glucocorticoïde (FGCM) par rapport à sa concentration basale, ainsi que la détermination s'il y a une différence sur la réponse physiologique entre individus de différente fréquence de capture et entre individus recevant différent type de manipulation. Le niveau basal du FGCM des populations en liberté peut être déterminé avant la réponse à la capture puisque le pic de l'élévation du niveau de FGCM chez les microcèbes par exemple se trouve entre 50 à 60 h après la manipulation des individus (Hämäläinen et al., données non publiées). De ce fait, le niveau de la réponse maximale à la capture peut être obtenu par la mesure du niveau des

hormones après deux jours de la première capture. En outre, l'influence de la fréquence de capture, du type de manipulation reçue par les individus et de la réponse hormonale sur le comportement pendant leur relâche a été étudiée par la mesure du temps qu'ils mettent pour sortir du piège. La relâche des individus peut fonctionner comme une mesure directe de leur réponse comportementale après qu'ils ont été retenus en captivité pendant une journée. C'est une occasion pour les individus de se comporter naturellement et de se libérer de la capture. L'âge, le sexe des individus et les saisons climatiques ont été aussi considérés dans la réponse aux facteurs de stress.

Dans cette étude, la méthode comprenant une capture-relâche a été utilisée suivie de dosage d'hormone fécale et d'études comportementales au moment de la relâche. Les résultats correspondant à ces méthodes et expériences sont présentés, ensuite une discussion y afférente est proposée. Les conclusions et recommandations terminent ce manuscrit.

I. MILIEU D'ETUDE ET ESPECE ETUDIEE

I.1. Milieu d'étude

I.1.1. Localisation géographique

La forêt de Kirindy/CNFEREF (Centre National de Formation, d'Etude et de Recherche en Environnement et Foresterie), appelée auparavant Kirindy/CFPP (Centre de Formation Professionnelle Forestière) est localisée dans la partie Ouest de Madagascar et fait partie de la région du Menabe Central (Figure 1). Cette forêt dense sèche caducifoliée se trouve approximativement à 60 km au nord-est de la ville Morondava, sur la RN8A vers Belo-sur-Tsiribihina et se situe à environ 44°39'E et 20°03'S. Son altitude varie de 18 à 40 m par rapport au niveau de la mer et s'étend sur 12500 ha.

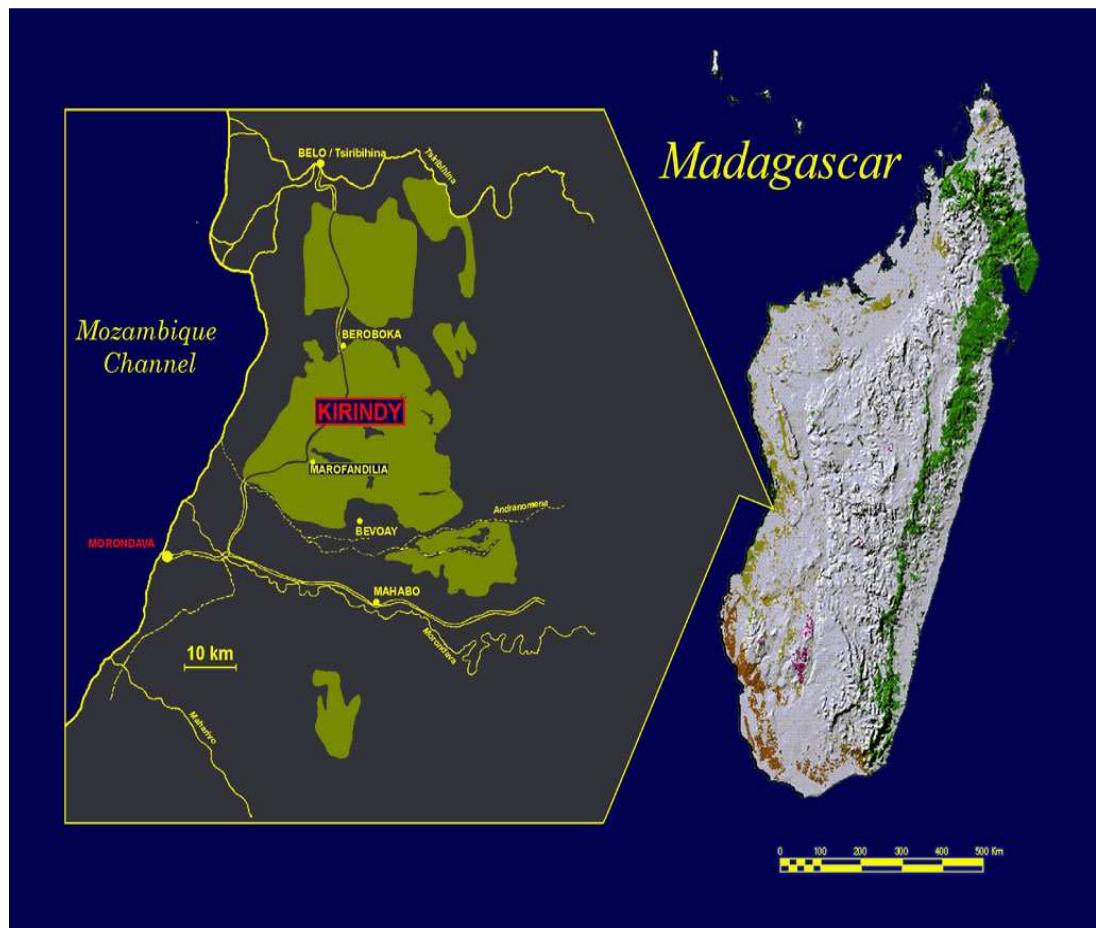


Figure 1 : Carte de Madagascar montrant la localisation de la forêt de Kirindy/CNFEREF.
(Source : DPZ)

Cette étude a été effectuée dans le site localement nommé N5, un des trois principaux sites établis par le Centre de Primatologie Allemande (DPZ) dans la forêt. Ce site se situe au nord de la piste CONOCO (Figure 2). Le site est un système de quadrillages avec des pistes traversées à pied tous les 25 m. Chaque quadrillage est indiqué par une combinaison de lettre et de chiffre. L'étude a été réalisée dans la partie centrale de A à U dans la direction ouest-est et 1 à 21 du sud au nord, et aussi dans la périphérie ouest de WA à WE dans la direction est-ouest et -8 à 29 du sud au nord.

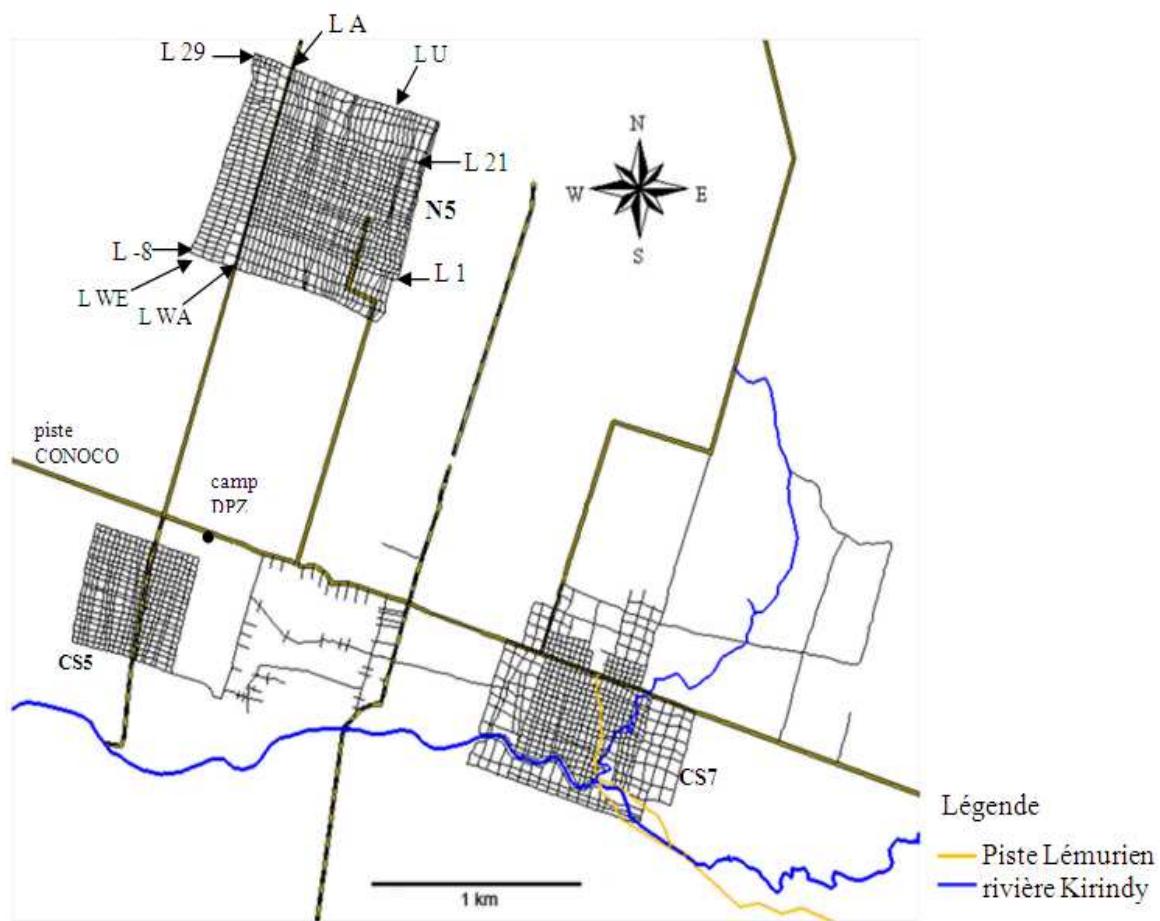


Figure 2 : Localisation du site d'étude N5 dans la forêt de Kirindy. L = Ligne (Source : DPZ)

I.1.2. Climat

Le climat de la région est caractérisé par une saisonnalité prononcée avec une saison chaude et humide entre décembre et avril, une saison fraîche et sèche entre mai et septembre et une transition chaude et sèche d'octobre à novembre (Sorg et Rohner, 1996). Les données obtenues à Morondava entre 2006 et 2008 ont montré une température moyenne annuelle de 20,2°C variant de 14,1°C à 31,8°C et une pluviométrie moyenne annuelle de 66,6 mm variant

de 0,4 à 810,9 mm. Pendant la saison sèche, la température peut descendre jusqu'à 4°C la nuit et remonte pendant la journée. Selon le diagramme ombrothermique de Morondava de la Figure 3, la pluie est très abondante aux mois de janvier et février, et la saison la plus sèche se trouve entre mai et novembre.

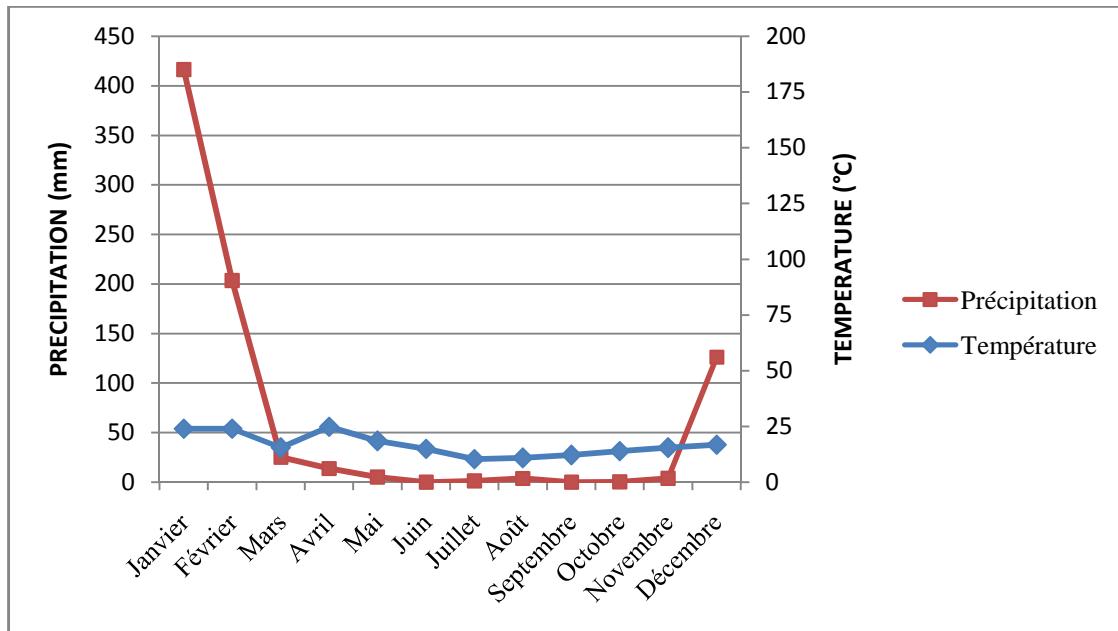


Figure 3 : Diagramme ombrothermique de Morondava entre 2006 et 2008, données provenant de la Direction Générale de la Météorologie à Ampandrianomby

I.1.3. Faune

La forêt de Kirindy contient six espèces de Primates nocturnes à savoir *Microcebus berthae*, *Microcebus murinus*, *Cheirogaleus medius*, *Mirza coquereli*, *Phaner furcifer* et *Lepilemur ruficaudatus*; une espèce diurne qui est *Propithecus verreauxi* et une espèce cathémérale qui est *Eulemur rufifrons*. En plus de ces espèces de Lémuriens, plus d'une vingtaine d'espèces de Mammifères sont rencontrées dans cette forêt, avec sept espèces d'Insectivores, cinq de Rongeurs, trois de Carnivores et sept de chauves-souris (Ganzhorn et al., 1996). La forêt héberge également de nombreuses espèces d'Oiseaux au nombre de 40 dont 13 sont endémiques de la région (Raherilalao et Wilmé, 2008), et plusieurs espèces herpétologiques avec 14 espèces d'Amphibiens et 42 espèces de Reptiles (Raselimanana, 2008).

I.1.4. Flore

La flore de la région est diverse. La forêt ayant les caractéristiques des forêts sèches caducifoliées est très dense avec de faible canopée. Plusieurs arbres ont une hauteur inférieure ou égale à 20 m (Sorg et al., 2003) mais la présence de grands arbres et des baobabs est aussi remarquée. La production foliaire débute généralement à la fin de la saison sèche. Les périodes de production de feuilles, fleurs et fruits varient suivant les espèces (Sorg et Rohner, 1996). Certains arbres ont fleuri avant l'apparition des feuilles.

I.2. Espèce étudiée

I.2.1. Description

La classification de *Microcebus murinus*, espèce décrite pour la première fois par J. F. Miller en 1777, est la suivante :

Règne :	ANIMAL
Embranchement :	VERTEBRES
Classe :	MAMMIFERES
Ordre :	PRIMATES
Infra-ordre :	LEMURIFORMES
Famille :	CHEIROGALEIDAE
Genre :	<i>Microcebus</i>
Espèce :	<i>murinus</i>

Microcebus murinus, une espèce de Primates de petite taille (Figure 4), mesure d'une longueur tête-corps d'environ 12 cm avec une queue d'environ 13 cm, pèse en moyenne entre 60 à 90 g. L'animal possède un pelage gris-brun, des yeux volumineux en position frontale qui leur permettent un champ visuel très étendu de 230° (Pariente, 1979) soit 50° de plus que l'homme, des pavillons auriculaires développés et mobiles qui peuvent se diriger vers une source de son indépendamment l'un de l'autre (Schilling, 2000). Ses pieds possèdent un pouce très développé et ses doigts sont munis de larges coussinets très souples lui permettant de s'agripper sur des supports. L'absence de dimorphisme sexuel est notée (Petter et al., 1977).



Figure 4 : Photo d'un individu femelle de *Microcebus murinus* (Source : © CNRS)

I.2.2. Biologie et écologie

L'espèce *Microcebus murinus* est limitée en grande partie aux forêts sèches de la partie Ouest de Madagascar. Elle se trouve dans les forêts primaires, secondaires et les habitats fortement perturbés. La densité de la population atteint souvent 360 à 400 individus par km² (Hladik et al., 1998). C'est une espèce classée dans le statut de conservation « Préoccupation mineure » (Least concern) de la liste rouge de l'IUCN en 2008 et se trouve dans l'annexe I de la CITES. L'espèce est considérée comme une espèce nocturne plutôt solitaire. Pendant l'activité nocturne, les individus se déplacent de manière isolée, tandis que pendant la période de repos diurne, ils se regroupent dans des trous d'arbres ou bien dans des nids composés de feuilles qu'ils construisent. Généralement, les mâles dorment seuls et les femelles apparentées partagent le même trou d'arbre (Radespiel, 2000 ; Eberle et Kappeler, 2006). La reconnaissance par flairage uro-génital est le moyen utilisé par les animaux pour s'identifier. C'est une espèce arboricole capable de se mouvoir à quatre pattes au sol et dans les arbres en sautant sur plusieurs mètres, d'une branche à l'autre grâce à des membres postérieurs puissants munis de pouces opposables et de dermatoglyphes, qui lui permettent une meilleure adhérence et stabilité sur les supports. Son régime alimentaire est omnivore composé essentiellement de fruits, auxquels s'ajoutent de fleurs, des gommes, des insectes. Une fluctuation saisonnière de poids a été remarquée chez les deux sexes, les mâles prennent du poids avant la période d'accouplement et les femelles avant l'hibernation (Kraus et al., 2008). Les individus de *Microcebus murinus* de la forêt de Kirindy sont les proies de nombreux

prédateurs incluant les Carnivores comme le fosa (*Cryptoprocta ferox*), la mangouste (*Mungotictis decemlineata*) ; les serpents de la famille des Colubridés (*Ithycyphys miniatus*) et Boidae (*Sanzinia madagascariensis*, *Acrantrophis madagascariensis*) ; les Oiseaux rapaces nocturnes (*Asio madagascariensis*, *Tyto alba*) et diurnes (*Accipiter henstii*) (Rasoloarison et al., 1995 ; Goodman, 2003).

A la forêt de Kirindy, la majorité des mâles restent actifs avec une torpeur journalière courte pendant tout l'hiver, alors que la majorité des femelles adultes restent inactives pendant plusieurs mois (Schmid, 1999 ; Rasoazanabary, 2006). La torpeur est caractérisée par une diminution de la température corporelle de l'animal, leur température interne peut varier de 26 à 40°C au cours de 24 h (Kappeler, 2000). La reproduction de *Microcebus murinus* a lieu pendant la saison humide, elle commence après que les femelles sortent de l'hibernation. La période d'accouplement est limitée à quatre semaines à partir de mi-octobre jusqu'à mi-novembre (Eberle et Kappeler, 2004). La femelle présente la particularité d'avoir plusieurs œstrus (maximum 3 œstrus) par saison. La gestation dure 60 à 63 jours, et les femelles mettent bas deux à trois petits par portée (Perret, 1990). Le sevrage intervient aux alentours de 40 jours et les animaux sont mûrs sexuellement vers l'âge de 8 à 9 mois. En dehors de cette période de reproduction, il y a une régression des organes génitaux mâles et femelles. La durée de vie moyenne du microcèbe est de 8 à 10 ans et l'espérance de vie maximale observée est de 13 ans en captivité (Perret, 1997).

II. MATERIELS ET METHODES

II.1. Capture et manipulation des animaux

II.1.1. Capture

La population de *Microcebus murinus* de la forêt de Kirindy a été déjà capturée régulièrement depuis 1994, mais seules les données collectées pendant la présente étude ont été utilisées. Les individus de *M. murinus* ont été capturés mensuellement dans le principal site d'étude nommé N5. Ils ont été piégés à l'aide des pièges Sherman appâtés de petits morceaux de banane pendant trois nuits consécutives (Dammhahn et Kappeler, 2008 ; Kraus et al., 2008) entre avril et juillet 2012 dans chacune des trois parties du site (au centre-est, au centre-ouest et à la périphérie ouest) l'une après l'autre. L'ensemble des trois nuits consécutives constituent une session de capture. Les pièges au nombre de 200 au centre-est et au centre-ouest, et 95 à la périphérie ouest ont été installés à 15 h 30 min de l'après-midi sur des arbres à l'intersection des pistes à une hauteur de 0,5-2 m au-dessus du sol. Lors de la visite des pièges à 6 h 15 min du matin, les pièges qui ont capturé des individus ont été collectés et les lieux ont été notés. Ceux qui ont échoué à la capture ont été fermés.

II.1.2. Manipulation

Les individus capturés dans les pièges ont été gardés à la station de recherche pendant la journée. La manipulation appliquée aux individus variait suivant que les individus soient marqués ou pas et suivant le type d'étude concerné. Tous les individus capturés ont été pesés avec un Pesola une fois par mois lors de la première occasion où ils ont été capturés durant ce mois. Ils ont été transférés dans un sac ayant un poids connu, puis pesés avec le sac.

♦ *Anesthésie des animaux nouvellement capturés*

Les individus nouvellement capturés ont été anesthésiés par injection cutanée de 0,15-0,2 ml de Ketamine.

♦ *Marquage des animaux nouvellement capturés*

Les individus anesthésiés ont été marqués de façon permanente en implantant sous le derme un microtranspondeur avec un code unique qui peut être lu avec un récepteur (Trovan, Usling, Germany) et en effectuant une entaille avec des ciseaux sur les deux oreilles dans le but des échantillonnages tissulaires pour ADN (analyses génétiques).

◆ *Mesures morphométriques*

Les mesures morphométriques externes standards (Figure 5) des individus nouvellement capturés telles que longueur et largeur de la tête, longueur du corps, longueur de la queue (Schmid et Kappeler, 1994) ont été prises. Pour les individus nouvellement capturés sous anesthésie et ceux déjà marqués, la hauteur de la canine ainsi que la circonférence de la queue ont été mesurées. La distance bizygomatique des individus déjà marqués a été effectuée. La mesure des individus déjà marqués à Kirindy a été effectuée une fois par saison c'est-à-dire deux fois par an.

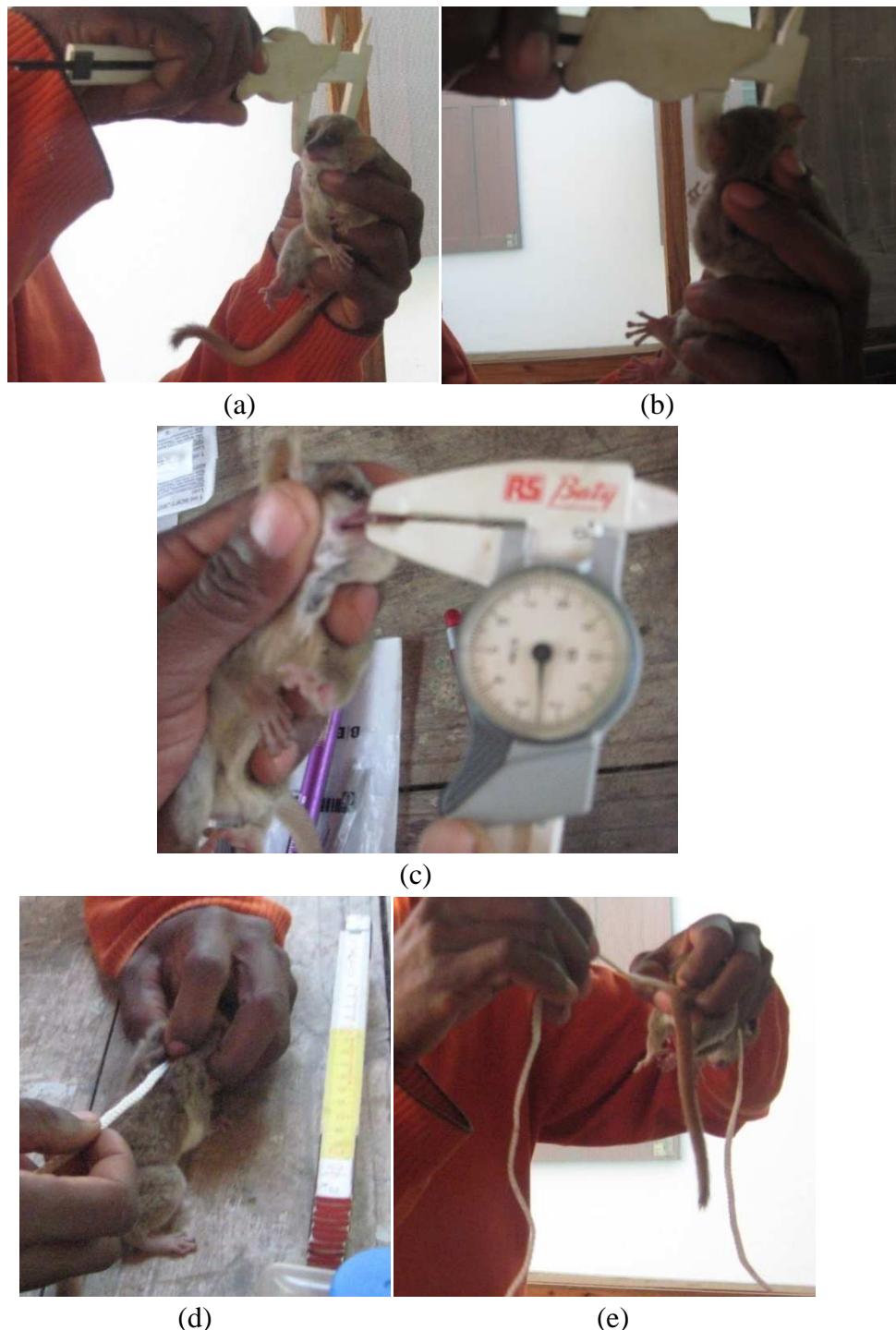


Figure 5 : Photos de la prise des mesures morphométriques externes d'un individu anesthésié de *Microcebus murinus* de la forêt de Kirindy. (a) mesure de la longueur de la tête. (b) mesure de la largeur de la tête. (c) mesure de la longueur de la canine. (d) mesure de la longueur du corps à l'aide d'une corde puis report de la mesure obtenue sur une règle graduée. (e) mesure de la longueur de la queue. (Photo : modifiée par FENOSOA Z.)

◆ *Prélèvements*

-Des échantillons de poils des animaux nouvellement capturés et déjà marqués ont été prélevés une fois par saison. Leur cuisse a été rasée avec une tondeuse pour animaux. Le prélèvement de poils des animaux déjà marqués a été réalisé sans anesthésie.

-Des échantillons de sang des animaux nouvellement capturés et recapturés ont été prélevés une fois par saison. Une goutte de sang a été cueillie sur une lame de microscope par piqûre de la veine de la cuisse de l'animal après avoir été rasée. Ce prélèvement a été fait sans anesthésie pour les animaux déjà marqués.

Le prélèvement d'échantillons de poils et de sang des individus a été fait au mois d'avril dans le cadre d'un autre projet rattaché à la présente étude.

◆ *Test de la force de préhension*

Durant les mois d'avril et de mai de l'autre projet, quelques animaux capturés pendant le contrôle de piège la nuit ont été testés pour leur force de préhension : l'animal pouvant s'agripper à la poignée d'un appareil a été tiré doucement, permettant ainsi à l'appareil de mesurer la force de préhension maximum de l'animal au moment où il a lâché la poignée. Ces animaux manipulés pendant la nuit ont été apportés à la station de recherche et ont subi la même procédure de manipulation réalisée pendant la matinée suivant qu'ils sont nouvellement capturés ou déjà marqués.

Les individus nécessaires à l'autre projet rattaché à cette étude ont été employés aussi dans cette étude.

◆ *Regroupement des animaux en catégorie*

Les types de manipulation ont été utilisés pour évaluer l'influence du degré de la manipulation subie par les individus. Un individu peut subir plus d'un type de manipulation suivant la description précédente. L'ordre croissant du degré d'intensité des types de manipulation est montré dans le tableau I du haut vers le bas :

Tableau I : Ordre croissant (haut vers le bas) du degré d'intensité des types de manipulation subie par les individus

Catégorie	Types de manipulation
Pesée	Individus pesés uniquement
Préhension	Ceux testés pour la force de préhension et pesés
Poils	Ceux avec prélèvement d'échantillons de poils, prise de mesures morphométriques, pesés, additionnés ou non de test de force de préhension
Sang	Ceux avec prélèvement d'échantillons de sang, de poils, prise de mesures morphométriques, pesés, additionnés ou non de test de force de préhension
Anesthésie	Individus anesthésiés, marqués d'une façon permanente, prise de mesures morphométriques, avec prélèvement d'échantillons de poils, pesés, additionnés ou non de prise d'échantillons de sang ou de test de force de préhension

♦ *Regroupement des animaux des catégories « préhension », « poils » et « sang » selon leur comportement et taux hormonal*

Les individus dans les catégories « préhension », « poils » et « sang » sont moins nombreux car la période de l'autre projet utilisant ces individus est courte, et aussi peu d'individus capturés le premier jour de session de capture ont subi ces types de manipulation. De ce fait, ces trois catégories de manipulation pourraient être groupées en une seule. Mais avant de les grouper, il faudrait vérifier statistiquement s'il n'y a pas de différence hormonale et comportementale entre ces individus. Si le résultat statistique est non significatif, ils peuvent être groupés. Dans ce cas, trois catégories de degré d'intensité de manipulation vont être obtenues, qui sont montrées dans le tableau II.

Tableau II : Ordre croissant (haut vers le bas) du degré d'intensité des types de manipulation subie par les individus après regroupement

Catégorie	Degré
Pesée	Faible
Préhension, poils et sang	Moyen
Anesthésie	Haut

◆ *Fréquence de capture, classe d'âges et de sexes*

La fréquence de capture des individus a été déduite à partir des données obtenues au cours des quatre mois de cette étude pour évaluer l'expérience des individus à la capture. Les individus fréquemment capturés devraient être capturés plus de deux fois par session de capture et/ou devraient être présents à chaque session de capture. Lorsque les individus sont capturés moins de deux fois par session de capture et présents ou non à chaque session de capture, ils sont considérés comme rarement capturés. La classe d'âges des individus (juvénile, adulte), leur sexe ont été connus à partir des données à long-terme et durant la manipulation pour les individus nouvellement capturés. Les animaux ont été libérés le soir de la même journée dans les lieux où ils ont été capturés.

II.2. Dosage hormonal

II.2.1. Echantillons fécaux : extraction de l'hormone

Les fèces ont été collectées à partir de tous les animaux capturés le premier jour et des individus recapturés le troisième jour dans chacune des parties du site d'étude. Les fèces collectées à partir d'un individu aux premier et troisième jours de capture représentent une paire d'échantillons. La concentration de l'hormone GC dans les fèces collectées le premier jour est considérée pour représenter son niveau basal pré-capture ; et celle du troisième jour représente la réponse de l'individu post-capture. Par conséquent, la magnitude de la réponse au facteur de stress a été obtenue par la différence entre la concentration post-capture et pré-capture. Les fèces des individus capturés pour la première fois aux deuxième et troisième jours de chaque capture ont été aussi collectées et elles donnent le niveau basal de l'hormone.

◆ *Prélèvement de fèces (voir Annexe II)*

Pendant que les individus étaient dans le sac, les pièges propres (qui n'ont pas servi pour capturer d'autres individus auparavant pour éviter le mélange de fèces des différents individus), ont été démontés afin de recueillir les fèces avec une pince dans une boîte de Pétri. Les pièges ont été ensuite rétablis dans l'ordre et les animaux y ont été remis. Si les animaux ont déféqué dans le sac, ces fèces ont été prises. Sinon, celles les plus fraîches dans la boîte de Pétri ont été choisies et mises dans un tube polypropylène encapsulé de 15 ml déjà numéroté et pesé. Les échantillons fécaux de chaque animal ont été identifiés en écrivant au marker permanent sur les tubes la date et l'heure de collecte, l'identité de l'animal, le site et le lieu de capture.

◆ *Extraction hormonale à partir des fèces (voir Annexe III)*

Au laboratoire local à Kirindy, les fèces ont été homogénéisées à l'aide d'une baguette pour y répartir les stéroïdes et les matières visiblement non digérées telles que les graines, les noyaux des fruits. Les fèces homogénéisées ont été ensuite pesées avec une balance électronique jusqu'à obtenir un poids d'environ 0,2 g (variation du poids moyen des fèces : entre 0,15 à 0,3 g) (Strier et al., 1999). Les échantillons ont été immersés dans 2 ml d'éthanol 80% pris avec une pipette graduée. L'éthanol joue un rôle de conservation des stéroïdes fécaux contre le métabolisme bactérien (Khan et al., 2002). Après avoir laissés incuber pendant 6 h environ à température ambiante, les échantillons fécaux ont été homogénéisés avec un vortex électrique pendant 2 min, puis passés au centrifugeur manuel pendant 2 min pour qu'il y ait décantation. Le surnageant d'environ 2 ml a été versé dans un petit tube Eppendorf de 2 ml comportant un numéro correspondant au tube polypropylène de 15 ml. Une étiquette en papier portant la date, l'identité de l'animal, le site de capture écrite avec un crayon a été collée avec un ruban adhésif (scotch) sur le petit tube. Sa capsule a été fermée avec un parafilm pour réduire tout risque d'évaporation. Les petits tubes contenant l'extraction de l'hormone ont été conservés dans une boîte et placés dans un endroit sombre, sec et à température ambiante jusqu'à exportation pour le traitement au laboratoire du Centre de Primatologie Allemande (DPZ) en Allemagne.

La phase solide dans le tube polypropylène a été séchée au soleil pendant un mois environ dans le but d'évaporer l'eau et l'éthanol restants. Les tubes ont été pesés trois fois pendant ce temps et le poids sec final des matériels fécaux résiduels a été noté. Le poids sec final servira pour calculer la concentration hormonale.

II.2.2. Analyse des stéroïdes fécaux au Laboratoire d'Endocrinologie en Allemagne : Enzymeimmunoassay (EIA)

Les échantillons extraits à l'éthanol ont été analysés avec la méthode validée antérieurement, la compétitive EIA utilisant le test 3a,11β-dihydroxy-CM (Hämäläinen et al., données non publiées). Les étapes de base pour la réalisation de cette méthode sont les suivantes : la première étape c'est l'entrée en compétition pour un site d'anticorps disponible entre le GC à mesurer et l'antigène couplé avec un enzyme (appelé conjugué). La deuxième c'est le lavage des plaques afin d'éliminer tous les stéroïdes et les conjugués non captés par l'anticorps. La troisième c'est l'ajout d'un substrat colorimétrique ; la réaction de l'enzyme couplé avec l'antigène sur ce substrat produisant ainsi une couleur. La dernière étape c'est la

mesure de la couleur après l'arrêt de la réaction⁽¹⁾ (Figure 6). La concentration du métabolite de GC a été exprimée en ng/g de fèces sèches. Les détails de la technique au laboratoire sont décrits dans l'article écrit par Heistermann *et al.*, 2006 ; Heistermann, 2010 ; Goymann *et al.*, 1999 ; Möhle *et al.*, 2002.

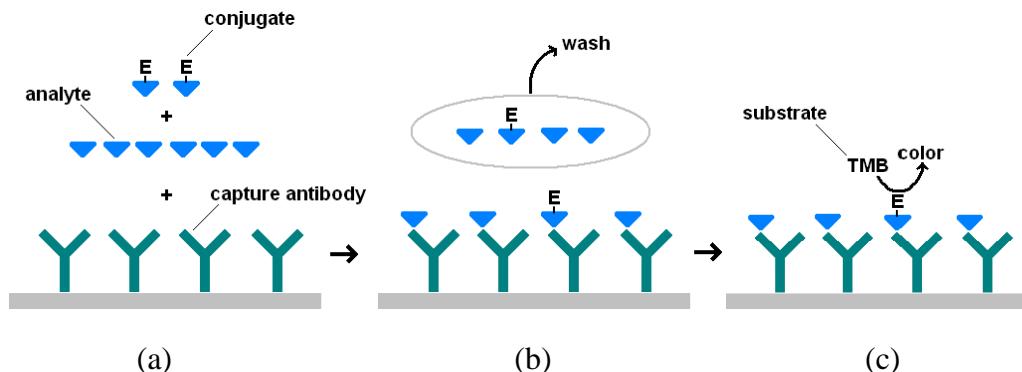


Figure 6 : Schéma des étapes de la compétitive EIA avec une forte concentration de GC. (a) Les anticorps (capture antibody) sont préalablement fixés à la plaque. Le GC à mesurer (analyte) et l'antigène couplé avec un enzyme (conjugate) sont ajoutés pour fixer aux sites d'anticorps. (b) Les GC et les conjugués non captés par l'anticorps sont éliminés par le lavage (wash) de la plaque. (c) Le substrat (substrate) appelé 3,3',5,5'-tetraméthylbenzidine ou TMB est ajouté. Le conjugué fixé à l'anticorps réagit avec le TMB pour produire une couleur (color). (Source : www.salimetrics.com)

II.3. Réponse comportementale

Pour appuyer les données provenant de la collecte des échantillons fécaux, le comportement des animaux durant leur libération a été enregistré sur vidéo. L'enregistrement comportemental a été effectué sur quelques individus environ au nombre de cinq par jour, provenant de tout type de manipulation, capturés pour la première fois pendant une session de capture avec prise d'échantillons fécaux.

II.3.1. Echelle de stress pendant la manipulation

Pendant la manipulation des animaux, leur niveau de stress sur une échelle variant de 1 à 3 a été estimé par une seule personne selon la façon qu'ils réagissaient. L'échelle de stress 1 a été donnée aux individus qui ne bougeaient pas beaucoup durant leur manipulation. L'échelle 2 aux individus qui bougeaient moyennement. L'échelle 3 aux individus qui bougeaient trop et mordaient même le manipulateur. L'échelle de stress donnée durant la

⁽¹⁾ Webographie

manipulation des individus a été corrélée avec le temps qu'ils mettent pour sortir du piège durant la relâche.

II.3.2. Choix du milieu de l'enregistrement

Pour l'expérience, les animaux ont été libérés à partir des pièges Sherman dans leur lieu de capture dans la dernière heure de l'éclairement solaire entre 16:45 et 17:45 en avril-mai, et entre 16:30 et 17:30 en juin-juillet. L'heure de l'expérience a été avancée de 15 min aux mois de juin et juillet, correspondant à la période de l'hiver, car la photopériode locale dure 11 h en hiver et 13 h par jour en été (Giroud, 2008). A l'endroit de capture avec une canopée plus ou moins fermée de faible niveau de lumière, un arbre d'environ 4 cm de diamètre a été choisi pour que l'animal puisse sauter. L'ouverture du piège a été localisée à environ 50 cm devant (au sud) cet arbre et la direction de la relâche était donc dirigée vers le nord pour contrôler l'effet de la lumière. Il ne devrait pas exister d'autres arbres, branches ni buissons dans les 50cm autour de l'ouverture du piège. La caméra fixée à un trépied a été installée perpendiculairement à l'ouest du piège à une distance de 1,5 m minimum pour que l'animal ne la perçoive comme un danger (Figure 7). L'enregistrement vidéo couvrait la surface à partir du piège jusqu'à l'arbre cible, à partir du sol jusqu'à environ 50 cm de hauteur. Toutes ces conditions du lieu de relâche ont été standardisées afin d'éliminer toute variation de comportement causée par des différences de l'environnement et aussi pour standardiser les protocoles d'observation le mieux possible.

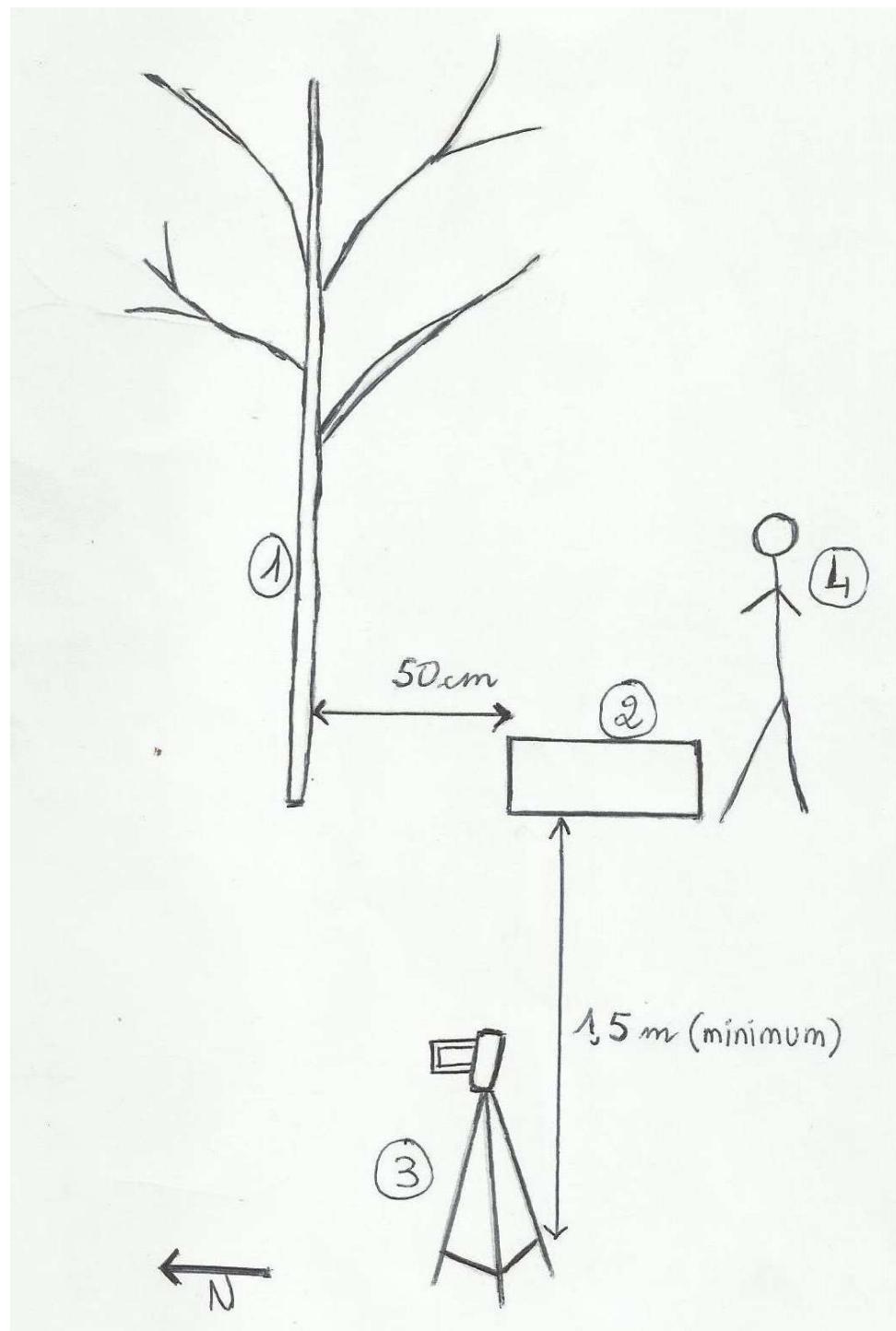


Figure 7 : Schéma de l'installation de l'expérience. 1 = arbre cible d'environ 4 cm de diamètre, 2= piège contenant l'animal à ouverture face à l'arbre cible, 3 = caméra fixée à un trépied installé au sud du piège, 4 = expérimentateur debout derrière le piège

II.3.3. Enregistrement du comportement

Avant l'enregistrement vidéo du comportement des individus, le piège a été vérifié pour que la face portant la trappe soit tournée vers le haut et que les deux portes ont été ouvertes brièvement pour vérifier l'entrée. Le piège a été ensuite posé doucement par terre. Puis, l'enregistrement commençait par la présentation à la caméra d'un bout de papier montrant le site et le lieu de capture, la date et l'heure de l'enregistrement, l'identité de l'animal. Après ceci, le chercheur se déplaçait derrière le piège, ouvrait sa trappe et évitait de bouger ou faire du bruit durant l'expérience. L'enregistrement comportemental a continué jusqu'à ce que l'animal soit complètement sorti du piège et saute sur l'arbre cible (ou disparaisse de la surface d'enregistrement). Si l'animal ne se montrait pas du tout dans les sept minutes après l'ouverture du piège ou s'il se montrait mais ne le quittait pas dans dix minutes d'enregistrement après l'ouverture du piège, l'expérience a été stoppée. L'animal n'a pas été testé s'il y avait des perturbations telles que passage des personnes ou prédateurs autour de la surface de l'enregistrement.

II.3.4. Visionnage de la vidéo et mesure du délai de sortie du piège

Les individus exhibaient différents comportements avant et après leur sortie du piège lors de l'enregistrement comportemental dans la forêt. La mesure de chaque comportement pourrait indiquer des différences interindividuelles. Les paramètres suivants ont été relevés durant l'analyse des vidéos sur un lecteur à l'ordinateur après l'obtention des enregistrements comportementaux.

- t_a : temps (en seconde) mis par l'animal pour faire apparaître la tête pour la première fois à la trappe depuis son ouverture ;

- t_s : temps (en seconde) mis par l'animal pour sortir du piège depuis son ouverture ;

- t_c : temps (en seconde) mis par l'animal pour sauter sur l'arbre cible (ou sa disparition de la surface d'enregistrement lorsque l'animal ne saute pas sur un arbre) depuis l'ouverture du piège ;

- n : nombre de retraites de l'animal dans le piège entre son apparition et sa sortie du piège ;

- t_r : temps (en seconde) mis par l'animal pour rester dans la surface d'enregistrement après qu'il ait quitté le piège.

Le délai d d'hésitation (en seconde) de l'animal avant de sortir du piège a été aussi calculé suivant la formule suivante : $d = t_s - t_a$.

Le nombre de retraites a été calculé en fonction du nombre d'apparitions des individus. Si l'animal quittait le piège, le nombre de retraites est obtenu en soustrayant par 1 le nombre d'apparitions. S'il apparaissait mais ne quittait pas le piège, le nombre de retraites est égal au nombre d'apparitions. S'il n'apparaissait pas du tout, le nombre de retraites est laissé vide pour ne pas confondre avec les retraites égales à zéro.

II.4. Tests statistiques

Les données sans répétition des mêmes individus ont été prises en compte dans les analyses statistiques. Les données répétées deux fois ont été comparées entre elles utilisant le test t apparié. Celles répétées plus de deux fois ont été exclues de l'analyse vue leur nombre minoritaire.

Toutes les données ont été testées pour leur normalité avant d'entamer toutes analyses statistiques en utilisant le test Kolmogorov-Smirnov. La transformation en logarithme a été nécessaire pour obtenir la normalité des données ne suivant pas la loi normale. La différence de la concentration du métabolite de GC avant (niveau basal) et après l'action du facteur de stress a été analysée avec le test t apparié. La comparaison de l'effet de la fréquence de capture sur la magnitude de la réponse en GC et sur le temps mis par les individus pour sortir du piège a été analysée avec le test t indépendant. Celle de l'effet du type de manipulation sur la magnitude de la réponse en GC et sur le temps mis par les individus pour sortir du piège a été analysée avec l'ANOVA, suivie du post-test de Tukey s'il y a différence significative. La corrélation de la magnitude de la réponse en GC avec le temps mis par les individus pour sortir du piège a été effectuée avec la corrélation de Pearson.

La corrélation entre deux variables est considérée comme forte si le coefficient de corrélation est compris entre 0,6 à 0,8. Toutes les valeurs de la probabilité « p » sont bilatérales et les valeurs de probabilité strictement inférieures à 0,05 sont considérées comme significatives. Toutes les analyses statistiques ont été accomplies avec le logiciel SPSS 11.5.

III. RESULTATS

Dans le texte et dans les tableaux, les valeurs moyennes brutes non transformées de chaque variable ont été présentées. Dans les figures, les valeurs transformées en logarithme ou non ont été prises lorsque les variables ont été transformées ou non respectivement. Les moyennes ont été écrites avec l'erreur standard, sous forme $\mu \pm SE$.

III.1. Niveau de stress physiologique mesuré à partir d'échantillons fécaux

III.1.1. Nombre d'échantillons fécaux

Cent soixante-deux échantillons ont été obtenus pour la mesure de la concentration du niveau basal de 3a,11 β -dihydroxy-CM, métabolite de cortisol pendant les sessions de capture d'avril, de mai et de juin, les échantillons fécaux du mois de juillet ne sont pas pris en compte. Le nombre de paires d'échantillons, représentant la concentration de 3a,11 β -dihydroxy-CM avant et après l'action du facteur de stress, est de 80 paires provenant de 62 individus car il y avait des individus échantillonnés plus d'une fois pendant la période de l'étude (**Annexe IV**). Le tableau III donne la répartition des paires d'échantillons issus des individus. Parmi les 62 paires d'échantillons provenant de 62 individus sans compter des répétitions, le nombre de paires provenant d'individus juvéniles est de 19, 36 des adultes, 7 provenant d'individus d'âge indéterminé ; 22 mâles, 35 femelles, le sexe de 5 individus est indéterminé ; 14 des individus rarement capturés, 39 fréquemment capturés, la fréquence de capture de 9 individus est indéterminée. Les tableaux IVa,b et V donnent le nombre de paires d'échantillons selon la catégorie de manipulation subie par les individus et les saisons.

Tableau III : Répartition des paires d'échantillons issus des individus de *Microcebus murinus* de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai et juin

Paires d'échantillons	1 paire	2 paires	3 paires
Nombre d'individus (n = 62)	48	10	4

Tableau IVa : Répartition des paires d'échantillons par catégorie de manipulation issus d'individus de *Microcebus murinus* de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai et juin selon la catégorie de manipulation subie

Catégorie de manipulation	Nombre de paires d'échantillons* (n = 61)
Pesée	22
Préhension	21
Poils	5
Sang	2
Anesthésie	11

*la catégorie de manipulation subie par l'individu n° 2 dans l'Annexe IV n'a pas été prise en compte.

Tableau IVb : Répartition des paires d'échantillons par degré d'intensité de manipulation après regroupement

Degré d'intensité de manipulation	Nombre de paires d'échantillons* (n = 61)
Faible	22
Moyen	28
Haut	11

*la catégorie de manipulation subie par l'individu n° 2 dans l'Annexe IV n'a pas été prise en compte.

Tableau V : Répartition des paires d'échantillons issus d'individus de *Microcebus murinus* de la forêt de Kirindy selon les saisons

Saisons	Humide (avril)	Sèche (mai)	Sèche (juin)
Nombre de paires d'échantillons (n = 62)	29	23	10

III.1.2. Niveau basal de GC

Le niveau basal de GC dans la totalité d'échantillons des différents groupes de microcèbes est montré par le tableau VI.

Tableau VI : Concentration basale fécale exprimée en valeur moyenne de 3a,11 β -dihydroxy-CM, métabolite de glucocorticoïde (ng/g de fèces sèches) chez différents groupes de microcèbes de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai et juin

Critère	Catégorie	Concentration basale fécale de GC (ng/g de fèces sèches)
Age*	Juvénile	559,1 \pm 86,1
	Adulte	942,4 \pm 96,5
Sexe	Mâle	818,8 \pm 103,9
	Femelle	779,9 \pm 91,1
Fréquence de capture	Rare	671,8 \pm 95,3
	Fréquent	855,5 \pm 92,5
Saisons**	Saison humide (avril)	1058,5 \pm 147,0
	Saison sèche (mai)	754,5 \pm 106,1
	Saison sèche (juin)	580,9 \pm 91,4

*p = 0,002, **p = 0,001, différence significative

Le sexe et la fréquence de capture des individus n'ont aucune influence sur le niveau basal fécal de glucocorticoïde (**sexe** : test *t* indépendant, *t* = 0,605, ddl = 1, p = 0,546 ; **fréquence de capture** : test *t* indépendant, *t* = -1,506, ddl = 1, p = 0,134). Par contre, le niveau basal de GC est différent selon l'âge des individus et les saisons (**âge** : test *t* indépendant, *t* = -3,190, ddl = 1, p = 0,002 ; **saisons** : ANOVA, *F* = 6,980, ddl = 2, p = 0,001). Les adultes ont un niveau basal élevé en GC par rapport aux juvéniles. Le niveau basal de GC des individus capturés au mois d'avril est plus élevé par rapport à celui des individus aux mois de mai et de juin, mais leur niveau basal de GC en mai n'est pas différent de juin, selon le test de Tukey (comparaison entre **avril-mai** : p = 0,016 ; entre **avril-juin** : p = 0,001 ; entre **mai-juin** : p = 0,658). Les valeurs transformées en logarithme du niveau basal de GC selon la classe d'âge des individus et selon les saisons sont présentées dans la Figure 8.

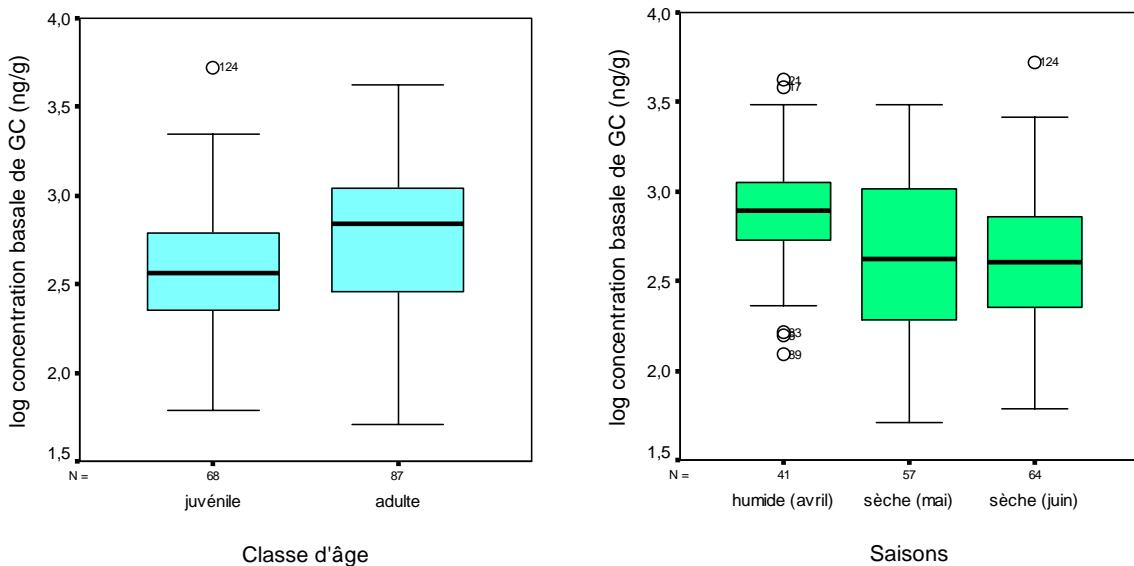


Figure 8 : Concentration basale fécale sous forme logarithme décimal de 3a,11 β -dihydroxy-CM, métabolite de glucocorticoïde (en ng/g de fèces sèches) en fonction de la classe d'âge des individus (à gauche), p = 0,002 et en fonction des saisons (à droite), p = 0,001 de *Microcebus murinus* dans la forêt de Kirindy

III.1.3. Magnitude de la réponse au facteur de stress

En comparant le niveau de 3a,11 β -dihydroxy-CM dans les paires d'échantillons, sa concentration a augmenté, variant d'une valeur moyenne représentant le niveau basal $769,3 \pm 94,7$ ng/ g de fèces sèches à $1317,5 \pm 146,1$ ng/ g de fèces sèches, soit une magnitude de $548,2 \pm 145,6$ ng/ g de fèces sèches (test *t* apparié, *t* = -4,187, *ddl* = 61, *n* = 62, *p* < 0,001). Cette augmentation de concentration de 3a,11 β -dihydroxy-CM est environ 41,6% de son niveau basal. Les valeurs de la concentration de 3a,11 β -dihydroxy-CM transformées en logarithme avant et après l'effet de la capture sont présentées dans la Figure 9.

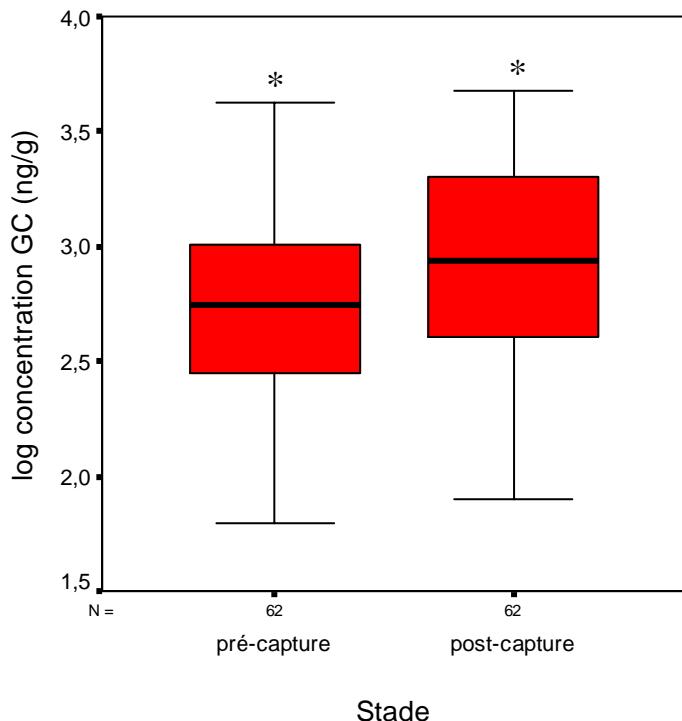


Figure 9 : Concentration fécale sous forme logarithme décimal de 3a,11 β -dihydroxy-CM, métabolite de glucocorticoïde (en ng/g de fèces sèches) avant (pré) et après (post) l'effet de la capture de *Microcebus murinus* dans la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai et juin. *p < 0,001, différence significative

La concentration de 3a,11 β -dihydroxy-CM de tous les individus n'a pas augmenté après leur capture, 66,1% (41 individus sur 62) ont montré une augmentation hormonale. De plus, il y a une corrélation positive entre la magnitude de la réponse au facteur de stress avec le niveau basal de GC (corrélation de Pearson, $r = 0,445$, $n = 62$, $p < 0,001$). Plus le niveau basal de GC des individus est élevé, plus la magnitude de leur réponse à la capture est élevée.

La variation de la magnitude de la réponse en GC selon l'âge, le sexe, la fréquence de capture, la manipulation qu'il subissait et les saisons est montrée par le tableau VII.

Tableau VII : Magnitude de la concentration fécale exprimée en valeur moyenne (différence entre post- et pré-capture), réponse au facteur de stress en 3a,11 β -dihydroxy-CM, métabolite de glucocorticoïde (ng/g de fèces sèches) chez différents groupes de microcèbes de la forêt de Kirindy

Critère	Catégorie	Magnitude de la concentration fécale de la réponse au stress en GC (ng/g de fèces sèches)
Age	Juvénile	595,3 \pm 268,8
	Adulte	535,3 \pm 189,5
Sexe	Mâle	498,4 \pm 267,9
	Femelle	594,6 \pm 196,7
Fréquence de capture	Rare	587,5 \pm 280,8
	Fréquent	637,8 \pm 202,9
Degré de manipulation*	Faible	150,3 \pm 125,8
	Moyen	1090,8 \pm 255,3
	Haut	-56,1 \pm 266,2
Saisons	Saison humide (avril)	772,5 \pm 259,3
	Saison sèche (mai)	441,2 \pm 200,8
	Saison sèche (juin)	144,2 \pm 141,0

*p = 0,002, différence significative

L'âge, le sexe, la fréquence de capture des individus ainsi que les saisons n'ont aucune influence sur la magnitude fécale de la réponse au facteur de stress en 3a,11 β -dihydroxy-CM (**âge** : test *t* indépendant, *t* = 0,184, *ddl* = 1, *p* = 0,855 ; **sex** : test *t* indépendant, *t* = -0,295, *ddl* = 1, *p* = 0,769 ; **fréquence de capture** : test *t* indépendant, *t* = -0,133, *ddl* = 1, *p* = 0,895 ; **saisons** : ANOVA, *F* = 1,288, *ddl* = 2, *p* = 0,283). Concernant le degré d'intensité de la manipulation subie par les individus, trois catégories de degré d'intensité de manipulation (« faible », « moyen », « haut ») ont été retenues car la magnitude de la réponse au facteur de stress des individus groupés dans les types de manipulation « préhension », « poils » et « sang » n'a aucune différence (test Kruskal-Wallis *H*, χ^2 = 2,530, *ddl* = 2, *p* = 0,282). Ils ont été donc combinés dans une même catégorie notée « moyen ». De ce fait, le degré d'intensité de la manipulation subie par les individus affecte la magnitude hormonale de la réponse au facteur de stress (ANOVA, *F* = 7,093, *ddl* = 2, *p* = 0,002). La manipulation de degré moyen cause la magnitude de la réponse au facteur de stress la plus élevée de tous, l'effet des deux autres types sur la magnitude de réponse est à peu près le même, selon le test de Tukey (comparaison entre **moyen-faible** : *p* = 0,008 ; entre **moyen-haut** : *p* = 0,009 ; entre **faible-haut** : *p* = 0,857) (Figure 10).

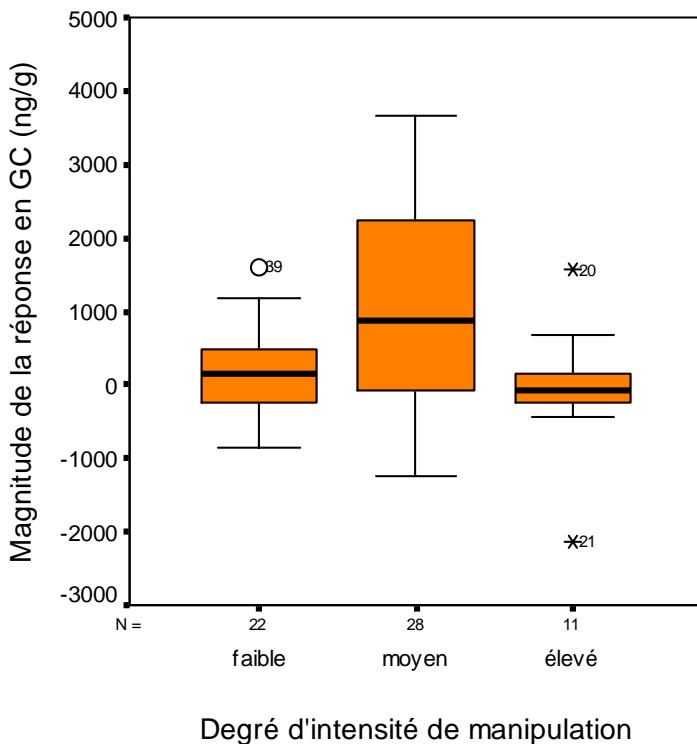


Figure 10 : Magnitude de la concentration fécale de la réponse en 3a,11 β -dihydroxy-CM, métabolite de glucocorticoïde (en ng/g de fèces sèches) en fonction du degré d'intensité de la manipulation de *Microcebus murinus* à la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai et juin. $p = 0,002$, différence significative

Pour la magnitude de la réponse au stress des individus testés deux fois, la magnitude de la première mesure comparée à celle de la deuxième n'a pas changé (test t apparié, $t = 1,196$, $ddl = 12$, $n = 13$, $p = 0,255$).

III.2. Réponse comportementale de *M. murinus*

III.2.1. Effectifs des individus testés pour l'expérience

Au total, 133 vidéos sur 105 individus ont été enregistrées durant les quatre mois de cette étude. Quelques individus ont été enregistrés plus d'une fois (Annexe V). Le tableau VIII donne la répartition des enregistrements comportementaux des individus. Parmi les 105 enregistrements provenant de 105 individus sans tenir compte des répétitions, le nombre d'enregistrements provenant d'individus juvéniles est de 52, 46 des adultes, 7 provenant d'individus d'âge indéterminé ; 43 mâles, 51 femelles, le sexe de 11 individus est indéterminé; 39 des individus rarement capturés, 53 fréquemment capturés, la fréquence de capture de 13 individus est indéterminée. Les tableaux IXa,b et X donnent le nombre d'enregistrements selon la catégorie de manipulation subie par les individus et les saisons.

Parmi les 105 enregistrements, 70 seulement ont été échantillonnés d'individus analysés pour leur niveau basal du métabolite de GC car les résultats hormonaux du mois de juillet ne sont pas inclus ; 19 enregistrements proviennent d'individus échantillonnés qui ont été recapturés pour la réponse fécale au facteur de stress en GC.

Tableau VIII : Répartition des enregistrements comportementaux des individus de *Microcebus murinus* de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai, juin et juillet de l'étude

Enregistrements	1 fois	2 fois	3 fois	4 fois
Nombre d'individus (n = 105)	81	21	2	1

Tableau IXa : Répartition des enregistrements par catégorie de manipulation sur les individus de *Microcebus murinus* de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai, juin et juillet

Catégorie de manipulation	Nombre d'enregistrements (n = 105)
Pesée	68
Préhension	12
Poils	2
Sang	3
Anesthésie	20

Tableau IXb : Répartition des enregistrements par degré d'intensité de manipulation après regroupement

Degré d'intensité de manipulation	Nombre d'enregistrements (n = 105)
Faible	68
Moyen	17
Elevé	20

Tableau X : Répartition des enregistrements sur les individus de *Microcebus murinus* de la forêt de Kirindy aux mois d'avril, mai, juin et juillet de l'étude

Saisons	Humide (avril)	Sèche (mai)	Sèche (juin)	Sèche (juillet)
Nombre d'enregistrements (n = 105)	16	50	23	16

III.2.2. Comportements globaux observés des individus au cours de l'expérience de relâche

Lors de l'expérience, les individus relâchés sortent ou non du piège lorsque ce dernier a été ouvert. Pour les individus sortis, 61,9% (65 sur 105 enregistrements) montrent des individus qui prennent d'abord leur temps avant de faire apparaître la tête à la trappe, puis explorent le milieu environnant. Pendant cette exploration, il y a alternance de retraites à l'intérieur du piège et d'apparitions jusqu'à leur sortie complète. Puis, ils sautent directement sur l'arbre cible après sortie ou vont à l'extérieur de la surface d'enregistrement et ne restent pas longtemps dans cette surface.

Pour les individus non sortis, 8,6% (9 sur 105 enregistrements) montrent les mêmes comportements que chez les individus sortis mais s'arrêtent sur l'exploration du milieu environnant et ne décident pas de sortir dans les 10 min données. Certains, 29,5% (31 sur 105 enregistrements) montrent des individus qui restent à l'intérieur du piège, ne se montrent pas du tout jusqu'à la fin de l'expérience c'est-à-dire jusqu'à 7 min.

Ces individus non apparus ont été représentés en surnombre en termes de temps d'apparition et de sortie du piège. De plus, leurs temps d'apparition et de sortie sont toujours égaux à 420 secondes. Pour ne pas biaiser le calcul de la moyenne de ces variables, ils ont été exclus de l'analyse.

III.2.3. Temps mis pour faire apparaître la tête à la trappe t_a , temps mis pour sortir du piège t_s

Le temps moyen pour faire apparaître la tête pour la première fois à la trappe, parmi les individus microcèbes apparus, est de 75 ± 11 secondes. Le temps moyen pour sortir du piège et celui du délai d'hésitation avant de sortir, parmi les individus sortis, sont respectivement 162 ± 19 secondes et 90 ± 14 secondes. Les moyennes de t_a et de t_s en tenant compte de l'âge, du sexe, de la fréquence de capture des individus, de la manipulation qu'ils subissent et des saisons sont données par le tableau XI.

Tableau XI : Temps moyen (en seconde) mis par les individus apparus pour faire apparaître la tête à la trappe t_a et temps moyen (en seconde) mis par les individus sortis pour sortir du piège t_s

Critère	Catégorie	Moyenne (\pm SE) de t_a des individus apparus (seconde)	Moyenne (\pm SE) de t_s des individus sortis (seconde)
Age	Juvénile	68 ± 17	161 ± 29
	Adulte	71 ± 15	163 ± 29
Sexe	Mâle	73 ± 20	139 ± 29
	Femelle	77 ± 15	184 ± 28
Fréquence de capture	Rare	66 ± 18	140 ± 28
	Fréquent	76 ± 16	176 ± 29
Degré de manipulation	Faible	70 ± 13	169 ± 25
	Moyen	80 ± 25	148 ± 38
	Haut	90 ± 43	142 ± 50
Saisons	Saison humide (avril)	43 ± 19	116 ± 32
	Saison sèche (mai)	87 ± 16	173 ± 28
	Saison sèche (juin)	104 ± 36	248 ± 58
	Saison sèche (juillet)	33 ± 13	76 ± 29

Comme dans le cas de la réponse hormonale, les trois types de manipulation (« préhension », « poils » et « sang ») ont été groupés dans une même catégorie (test Kruskal-Wallis H , $\chi^2 = 2,579$, $ddl = 2$, $p = 0,275$).

L'âge, le sexe, la fréquence de capture des individus, le degré d'intensité de manipulation qu'ils subissaient ainsi que les saisons n'ont aucune influence sur le temps mis pour sortir du piège (**âge** : test t indépendant, $t = -0,163$, $ddl = 1$, $p = 0,871$; **sexe** : test t indépendant, $t = -1,242$, $ddl = 1$, $p = 0,220$; **fréquence de capture** : test t indépendant, $t = -0,556$, $ddl = 1$, $p = 0,574$; **degré de manipulation** : ANOVA, $F = 0,003$, $ddl = 2$, $p = 0,997$; **saisons** : ANOVA, $F = 1,727$, $ddl = 3$, $p = 0,171$). Il en est de même pour le temps mis pour faire apparaître la tête à la trappe (Annexe VI pour les résultats statistiques).

Pour le temps mis par les individus testés deux fois pour sortir du piège, le temps de la première mesure comparée à celle de la deuxième n'a pas changé (test t apparié, $t = -1,692$, $ddl = 23$, $n = 24$, $p = 0,104$).

III.2.4. Nombre de retraites dans le piège n

Pendant le délai d'hésitation des individus, ils effectuaient en moyenne deux retraites dans le piège. Une forte corrélation positive existe entre le délai d'hésitation des individus ayant quitté le piège et leur nombre de retraites (corrélation de Spearman, $r = 0,634$, $n = 59$,

$p < 0,001$). Plus le délai d'hésitation avant de sortir est long, plus le nombre de retraites est élevé. Les valeurs transformées de la corrélation entre les deux variables ont été représentées dans la Figure 11.

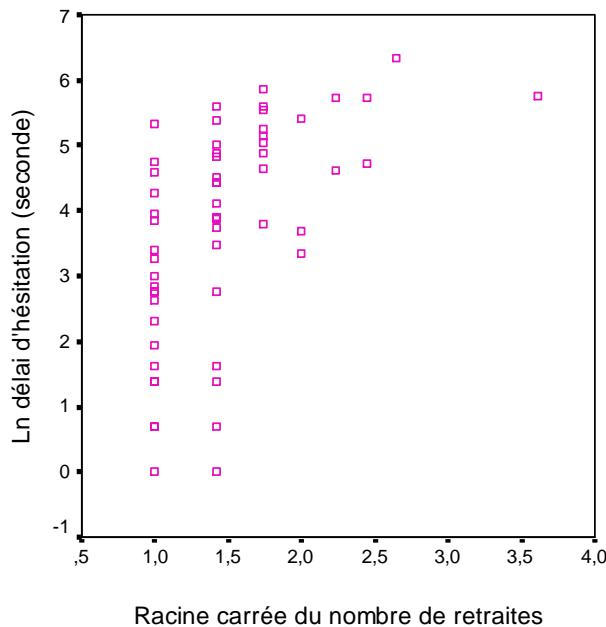


Figure 11 : Courbe de corrélation entre délai d'hésitation et nombre de retraites dans le piège des individus de *Microcebus murinus* uniquement sortis du piège pendant leur relâche. $p < 0,001$, corrélation positive

III.2.5. Influence de l'éclairement solaire

La sortie des individus a été influencée par l'heure de relâche qui est en relation avec l'éclairement solaire au cours du délai d'hésitation d avant de sortir du piège (ANOVA, $F = 5,562$, $ddl = 4$, $p = 0,021$). Le délai d'hésitation a diminué au fur et à mesure que l'heure du coucher de soleil approchait (Figure 12). Par contre, le temps d'apparition t_a des individus sortis n'est pas influencée par l'éclairement solaire.

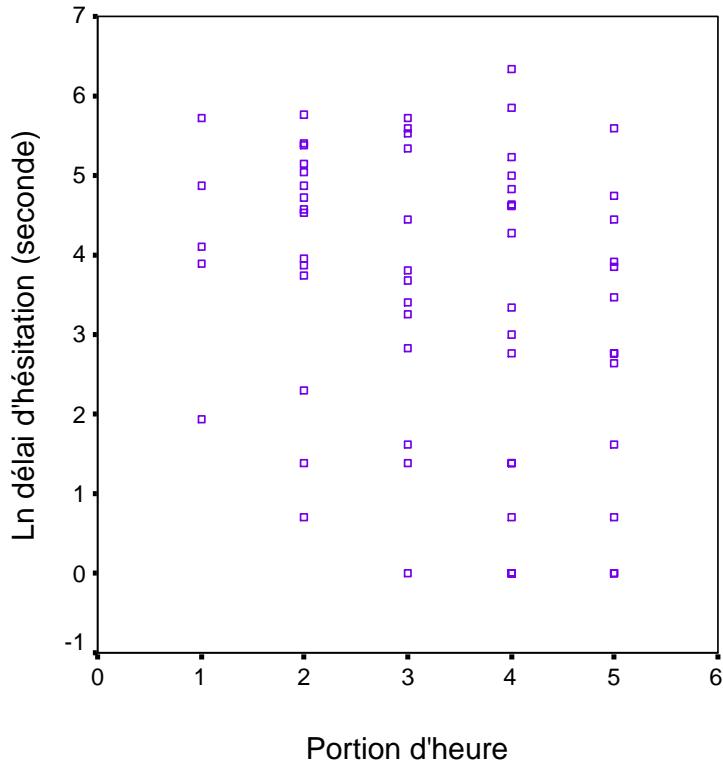


Figure 12 : Courbe de corrélation entre l'éclairement solaire (exprimé en portion d'heure) et le délai d'hésitation avant de sortir du piège pendant la relâche des individus de *Microcebus murinus* dans la forêt de Kirindy pendant les quatre mois de l'étude. 1 = heure de l'après-midi ensoleillée, 2 = heure de l'après-midi 45 min avant le coucher du soleil, 3 = heure de l'après-midi 30 min avant le coucher du soleil, 4 = heure de l'après-midi 15 min avant le coucher du soleil, 5 = heure du coucher de soleil

III.2.6. Temps mis pour sauter sur l'arbre cible t_c

La plupart des enregistrements (63,1%) montrent des individus ayant quitté le piège, qui sautaient directement sur l'arbre cible, 30,8% qui couraient à l'extérieur de la surface d'enregistrement et 6,1% seulement qui sautaient sur l'arbre voisin de l'arbre cible. En prenant ces enregistrements qui montrent des individus sortis et qui sautaient sur l'arbre cible, le temps qu'ils ont mis pour sauter est en moyenne de 193 ± 27 secondes.

III.2.7. Temps mis pour rester dans la surface d'enregistrement après sortie du piège t_r

Les individus sortis du piège ne restaient que 6 ± 2 secondes en moyenne dans la surface d'enregistrement.

III.2.8. Corrélation entre le temps t_s mis par les individus pour sortir du piège et leur concentration fécale de GC

Aucune corrélation significative n'est évidente entre le temps mis par individus sortis pour sortir du piège t_s et leur niveau basal de GC (corrélation de Pearson, $r = -0,106$, $n = 43$, $p = 0,498$), ni entre t_s et leur magnitude de la réponse au facteur de stress (corrélation de Pearson, $r = -0,272$, $n = 14$, $p = 0,347$).

III.2.9. Temps t_s mis par tous les individus pour sortir du piège et niveau de stress estimé durant la manipulation

Durant la manipulation des individus, le niveau de stress estimé des 56 sur les 105 individus de l'expérience a été connu, à savoir 19 individus ont été estimés comme moins stressés, 19 moyennement stressés et 18 très stressés. Pourtant, le niveau de stress donné aux individus durant la manipulation ne prédisait pas le temps qu'ils mettront pour sortir à la relâche (test Kruskal-Wallis H , $\chi^2 = 0,462$, $ddl = 2$, $p = 0,794$).

IV. DISCUSSION

Niveau de stress mesuré à partir d'échantillons fécaux

Le niveau basal fécal de GC qui est en relation avec la vie antérieure des individus varie suivant les individus. Il est employé comme un indice physiologique de la condition de vie et de santé des individus (Walker et al., 2005 ; Wikelski et Cooke, 2006). Un individu ayant un niveau basal élevé de GC est considéré comme un individu en mauvaise condition de vie comparé à un autre ayant un bas niveau basal de GC (Arlettaz et al., 2007 ; Sands et Creel, 2004 ; Thiel et al., 2008). Les résultats de cette étude ont montré que les adultes ont un haut niveau basal de GC par rapport aux juvéniles. Ceci peut être expliqué par le fait que les adultes ont vécu une succession d'événements souvent stressants en une année. Par exemple, les adultes mâles et femelles font face à toutes les situations stressantes liées à la reproduction. En dehors de la période de reproduction, les individus consacrent toute leur énergie dans la recherche alimentaire pour la survie. L'effet cumulé de ces événements stressants pourrait remonter le niveau basal de GC des adultes. Il est aussi possible que le système cortico-surrénalien des juvéniles n'est pas encore complètement mature (Gunnar et Quevedo, 2007). Chez les jeunes rats âgés de 4 à 14 j par exemple, ils ont du mal à produire une élévation de ACTH et de GC en réponse au facteur de stress par rapport aux vieux individus (Rosenfeld et al., 1992). Ceci peut supposer que l'organisme des Mammifères protège le développement du cerveau contre les effets délétères dus à l'élévation des GC en réponse au facteur de stress (de Kloet et al., 1988).

Quant à la période de l'étude, les individus ont un niveau basal de GC le plus élevé au mois d'avril. La différence du niveau basal des individus selon les mois peut être due à la différence de l'effort dépensé pour les stratégies de survie selon les saisons climatiques de Madagascar, surtout la partie Ouest de Madagascar. En effet, le mois d'avril correspond à la saison chaude et humide où la nourriture est abondante, notamment les fruits qui constituent leur principal régime alimentaire. Les individus sont motivés par l'abondance de la nourriture alors qu'ils sont victimes d'une forte pression de préation durant leur activité nocturne. De ce fait, les individus pourraient montrer plus de vigilance vis-à-vis des prédateurs pour rester en vie comme c'est le cas observé dans d'autres espèces de Mammifères diurnes, chez une espèce d'élan (*Cervus elaphus*) par exemple qui double le temps de vigilance (Creel et al., 2008 ; Liley et Creel, 2008) et diminue le temps de forage alimentaire (Winnie et Creel, 2007). De l'autre côté, la saison froide et sèche de Madagascar se situe aux mois de mai et juin de l'étude où la nourriture est rare. La diminution annuelle à l'accès des ressources

alimentaires peut être prévisible pour les individus de *Microcebus murinus*, ils peuvent donc se préparer à cette diminution (Cavigelli, 1999). Une des stratégies effectuées par les individus de *Microcebus murinus* pour faire face à la restriction alimentaire est l'accumulation des graisses avant la saison sèche. Cette constatation a été remarquée durant cette étude car certains individus ont pris du poids. Durant la phase diurne de la saison sèche, les individus pratiquent la torpeur journalière au cours de laquelle leur métabolisme est très bas et cette torpeur est devenue profonde lorsque la température extérieure est très basse (Giroud, 2008). L'activité locomotrice aussi diminue durant leur activité nocturne, ceci pourrait diminuer le risque d'exposition aux prédateurs. Tous ces mécanismes de conservation d'énergie pourraient être des adaptations au stress alimentaire et diminuent par conséquent le niveau basal de GC en mai et juin.

La magnitude de la réponse au facteur de stress en GC sous forme métabolite 3a,11 β -dihydroxy-CM dans les fèces des individus est corrélée positivement avec le niveau basal de GC. Autrement dit les individus ayant un haut niveau basal ont une haute réponse hormonale, ceux ayant un bas niveau basal ont une basse réponse hormonale. La corrélation pourrait être due à la différence du degré de manipulation subie par les individus de la population d'une part. Les individus ayant un haut niveau basal pourraient recevoir une manipulation plus invasive que ceux ayant un bas niveau basal. D'autre part, les individus ayant un haut niveau basal de GC sont capables de répondre à toute intensité de facteurs de stress à court-terme. Ceci traduit que leur axe HPA n'est pas encore altéré.

Comme prévu, la capture suivie de la manipulation des individus de *Microcebus murinus* a fait augmenter la concentration de l'hormone glucocorticoïde sous forme métabolite 3a,11 β -dihydroxy-CM de l'ordre de 41,6% par rapport à son niveau basal, en général. Par comparaison à la réponse aux procédures appliquées au laboratoire des individus de différentes espèces, ils ont une réponse comprise entre 20% et 100% ou plus, cette réponse ne se limite pas seulement sur le niveau de GC mais aussi dans d'autres paramètres physiologiques comme le rythme cardiaque, pression artérielle...(Balcombe et al., 2004). Pour *Microcebus murinus*, avec ce taux d'augmentation de 41,6%, les résultats de cette présente étude semblent être inclus dans la gamme d'augmentation rapportée par Balcombe et al., la moitié de la concentration de GC après la capture ne donne pas sa concentration basale. Ainsi, la capture de *Microcebus murinus* ne provoque pas une forte augmentation du niveau de GC comparée aux résultats obtenus par d'autres études antérieures.

Selon l'hypothèse le type de manipulation a causé une différence sur la magnitude de la réponse au facteur de stress. Les procédures de manipulation sont connus pour provoquer un stress additionnel sur les individus (Boonstra et *al.*, 1998). La magnitude de la réponse au facteur de stress diffère selon l'intensité de la manipulation, ce qui est observé chez les rats en captivité (Armario et *al.*, 1986b). En comparant les trois types de manipulation dans cette présente étude, les individus dans la manipulation de faible degré (pesées uniquement) ne sont pas manipulés physiquement. Ils sont transférés dans un sac puis remis dans le piège après avoir été pesés avec le sac. Par contre, les manipulations de moyen et haut degré incluent le contact direct avec les animaux, par exemple lors la prise d'échantillons tissulaires. La prise d'échantillons elle-même induit une sécrétion de GC (Le Maho et *al.*, 1992 ; Boonstra et Singleton, 1993) puisque le contact direct par le toucher à la main stimule les animaux. Ce toucher est évident au cours de la saisie du membre postérieur de l'animal à raser et piquer par la suite pour l'obtention d'échantillons de poils et de sang, et aussi lors de la piqûre des individus à anesthésier. Même si les individus de la manipulation de moyen et haut degré sont touchés directement, ceux subissant la manipulation de moyen degré, d'un côté, ont montré la magnitude de GC la plus élevée car ils restaient conscient, ils sentaient toute la manipulation qu'ils subissent. Les individus subissant la manipulation de haut degré, de l'autre côté, sont un peu désorientés et endormis sous l'effet de l'anesthésie. La magnitude de leur réponse en GC peut être influencée par l'anesthésie due au ralentissement temporaire du métabolisme de l'individu. Ce qui pourrait être intéressant de voir dans une étude supplémentaire si la réponse a été simplement retardée. Les différences entre les groupes d'individus peuvent être aussi dues à l'inégalité de la taille des échantillons. Les animaux dans la catégorie de manipulation de faible degré sont les plus nombreux et présentent une large variation de réponse que ceux des autres catégories. La différence de réponse entre les groupes d'individus pourrait ne pas être due uniquement à la manipulation mais aussi due au piégeage (Millspaugh et *al.*, 2000 ; McLaren et *al.*, 2004 ; Fletcher et Boonstra, 2006 ; Prout et King, 2006). Le fait que les individus étaient enfermés dans le piège pendant toute la nuit et qui continuait pendant la journée peut entraîner la sécrétion de l'hormone des individus déjà la veille de leur manipulation.

Concernant la fréquence de capture des individus, contrairement aux prédictions posées aucune différence significative n'a été détectée sur la magnitude de la réponse en GC entre individus fréquemment et rarement capturés. Les sessions de capture ont été conduites mensuellement, chaque individu pourrait percevoir les protocoles de capture comme des nouveaux stimuli. De plus, le premier jour de capture est le plus important de la réponse des

individus à tous les stimuli qu'ils subissent, les deuxième et troisième jours servent pour assimiler leur fréquence de capture pendant lesquels les individus ne sont plus manipulés. Cet intervalle de temps entre deux sessions de capture ajouté de la différence de manipulation dans les trois jours de la session de capture avec relâche pourraient ne pas suffire aux individus fréquemment capturés de s'adapter aux protocoles de capture. Par comparaison aux autres espèces de différents taxons, par exemple les moineaux sauvages placés en captivité, il a fallu 35 j à ces oiseaux pour s'acclimater à la vie en captivité (Marra et al., 1995 ; Romero et Wingfield, 1999). Ces oiseaux ont donc un niveau de GC (corticostérone) élevé dans le plasma en réponse à des protocoles de la captivité.

Aucune différence significative n'a été observée sur la magnitude de la réponse en GC des individus pour les trois premiers mois de l'étude. La saison semble ne pas affecter la réponse à un stimulus comme c'est le cas des étourneaux en captivité qui répondent à la manipulation par une augmentation du niveau sanguin de GC (corticostérone) à toutes les saisons (Romero et Remage-Healey, 2000). Cette augmentation de GC chez ces oiseaux entraîne probablement une augmentation du niveau fécal de GC. Dans cette présente étude, bien que le niveau basal des individus au mois d'avril soit élevé, ce n'est pas un stade critique, les individus sont capables de répondre aux stimuli de la capture avec de grande magnitude. Et aussi la torpeur des individus qui a été constatée durant leur manipulation aux mois de la saison sèche et froide ne semble pas affecter leur réponse aux protocoles de la capture.

Réponse comportementale de M. murinus

En ce qui concerne l'expérience de relâche des individus l'après-midi, la plupart des individus relâchés ont décidé eux-mêmes de sortir du piège. Les animaux ne sortaient pas immédiatement après l'ouverture du piège, ils exploraient le milieu environnant à l'intérieur ou partiellement à l'extérieur du piège pour vérifier l'existence d'éventuels dangers. Lorsque l'animal ne voyait ou n'entendait des menaces, il quittait le piège, sautait directement sur l'arbre cible et ne restait pas longtemps dans la surface d'enregistrement car il connaissait l'endroit il irait (sûrement dans son nid) et ne préférait pas rester dans un milieu très découvert.

Contrairement aux prédictions, la manipulation subie par les individus ayant été sortis du piège n'a pas entraîné une différence comportementale à la relâche. Il est possible qu'ils ne soient plus affectés par la manipulation effectuée le matin. Il a été rapporté, chez le rat par

exemple, que l'individu répond rapidement au stimulus de la manipulation et l'effet dure en moyenne 30 min, et le retour de GC à son niveau basal est atteint après 60 min depuis l'action du stimulus (Vachon et Moreau, 2001). Par comparaison aux individus de *Microcebus murinus* manipulés le matin, le temps après la manipulation jusqu'à la relâche a dépassé même les 60 min. D'ailleurs, les individus anesthésiés ont été complètement réveillés lors de leur relâche. Cette raison explique probablement l'absence de toute influence de manipulation sur le comportement des individus relâchés.

Pour la fréquence de capture des individus, bien qu'aucune différence statistique sur le temps de sortie des individus ne soit trouvée, certaines différences à propos du trait de caractère des individus fréquemment et rarement capturés pourraient exister (Dammhahn, 2012). Les individus fréquemment capturés ont tendance à être plus actifs, prennent plus de risques (Sneddon, 2003) et montrent une exploration superficielle de l'environnement (Koolhaas et al., 1999) comparés aux individus rarement capturés. La prise de risque pour sortir pourrait être masquée par la large impulsion d'éviter l'attaque imprévisible des prédateurs dans l'endroit de la relâche que les individus connaissent.

L'heure de relâche des individus a influencé leur délai d'hésitation pour sortir. Le délai d'hésitation des individus relâchés à l'approche du coucher de soleil avait tendance à diminuer par rapport à celui des individus relâchés très tôt. En tant que prosimiens, les individus de *Microcebus murinus* voient mieux dans l'obscurité grâce à des adaptations anatomiques pour une vision nocturne (Pariente, 1979 ; Schilling, 2000). De ce fait, l'animal relâché tardivement quitte le piège en peu de temps après une brève exploration du milieu obscur.

La décision de sortie de l'animal peut être évaluée par le nombre de retraites dans le piège qu'il effectuait pendant le délai d'hésitation. Autrement dit, il y a des moments où l'animal explorait le milieu extérieur et des moments où il restait à l'intérieur du piège. Certains individus restaient plus longtemps dans le piège avant d'apparaître à nouveau. Dans le cas des neuf individus, ils apparaissaient, effectuaient quelques retraites et ne sortaient plus dans le délai donné. Les comportements des individus, par exemple, sortie partielle de la tête, retraites dans le piège, suggèrent qu'ils trouvent le piège comme un lieu sécurisant plutôt que de sortir tout de suite.

Les résultats de cette étude ont également révélé que la réponse physiologique représentée par la magnitude de la réponse au facteur de stress en GC n'est pas corrélée avec la réponse comportementale représentée par le temps mis par les individus pour sortir du

piège à la relâche. Vraisemblablement, le niveau de la réponse hormonale à la capture durant la manipulation des individus n'est pas suffisamment élevé pour induire à un changement comportemental. Ainsi, chez différentes espèces, une grande magnitude ou un seuil élevé en hormone devrait être requis pour produire un changement comportemental (Honess et Marin, 2006). Et aussi le décalage de temps (capture et manipulation le matin versus relâche l'après-midi) ne permet pas aux individus de *Microcebus murinus* d'exprimer correctement leur comportement à la capture suivie de leur manipulation.

Le niveau de stress estimé durant la manipulation des individus le matin ne permet pas de prévoir leur comportement à la relâche. Les individus estimés comme moins stressés à la manipulation peuvent ne pas l'être car l'immobilité ne veut pas dire que l'individu n'est pas stressé. La plupart des individus manipulés tôt dans la matinée aux mois de juin et juillet, par exemple, sont figés, ne bougent pas trop à cause de la basse température du milieu ambiant. Pourtant, ils ne montrent pas le même comportement à la relâche, ils sont beaucoup plus actifs.

CONCLUSION

En conclusion, cette étude a montré que la capture routine suivie de la manipulation des individus de *Microcebus murinus* produit une réponse physiologique par une augmentation du niveau de glucocorticoïde de l'ordre de 41,6%. Cette augmentation par rapport au niveau basal de GC est un peu faible et comparable à celle obtenue chez d'autres espèces de différents taxons. Aucune évidence de l'influence de la fréquence de capture des individus n'a été trouvée sur l'augmentation de leur réponse physiologique, ce qui témoigne un manque d'adaptation aux protocoles de la capture routine pour les individus fréquemment capturés. Mais, la réponse physiologique dépend de l'intensité de la manipulation. La manipulation de degré moyen provoque la réponse physiologique la plus élevée, la basse réponse induite par la manipulation de haut degré serait affectée par l'anesthésie due au ralentissement temporaire du métabolisme de l'individu.

L'absence de l'influence de la fréquence de capture sur le changement de comportement des individus de *Microcebus murinus* à la relâche suggère que les individus quelle que soit leur fréquence de capture connaissent leur territoire mais ils ne sortaient pas immédiatement par peur des prédateurs. L'inexistence de différence de comportement engendrée par le degré d'intensité de la manipulation, et l'inexistence de la corrélation significative entre la magnitude de la réponse physiologique en GC et la réponse comportementale peuvent amener à l'idée que l'effet des stimuli de la manipulation sur le comportement ne peut pas être visible après un décalage de temps. Le fait que la manipulation soit effectuée le matin et la relâche en fin d'après-midi ne change rien à ces deux paramètres.

RECOMMANDATIONS

Les résultats de cette étude ont montré que la capture routine mensuelle des individus de *Microcebus murinus* a causé une augmentation prévisible du niveau de l'hormone de stress (GC). La capture routine permet d'obtenir des données régulières utiles pour des suivis à long-terme et ne semble pas avoir des influences durables sur le statut hormonal et comportemental des animaux.

Concernant l'effet de la manipulation sur la réponse physiologique des individus, la manipulation de degré moyen qui a provoqué la plus grande magnitude de réponse mais encore modérée d'entre les trois. Elle devrait être appliquée sur les individus une fois par saison lors des études ponctuelles pour des besoins d'études spécifiques. Elle n'est pas nécessaire à la capture routine et suivi réalisés sur les microcèbes. Une étude supplémentaire serait souhaitable pour voir si la réponse des individus anesthésiés a été retardée. La collecte de leurs fèces après trois jours de la première capture est indispensable.

Lors de la relâche des individus, ceux qui sont libérés à la dernière heure de l'après-midi ont été vite sortis du piège. Ce qui suggère qu'il est préférable de relâcher les individus au coucher du soleil car ils sont moins craintifs à l'obscurité.

Bibliographie

- Anestis, S. F. 2010. Hormones and Social Behavior in Primates. *Evolutionary Anthropology*, 19 : 66-78.
- Arlettaz, R. et al. 2007. Spreading free-riding snow sports represent a novel serious threat for wildlife. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 274 : 1219-1224.
- Armario, A., Lopez-Calderon, A., Jolin, T., Castellanos, J. M. et al. 1986b. Sensitivity of anterior pituitary hormones to graded levels of psychological stress. *Life Sciences*, 39 : 471-475.
- Balcombe, J. P., Barnard, N. D. et Sandusky, C. 2004. Laboratory routines cause animal stress. *Contemporary Topics*, 43 (6) : 42-51.
- Boonstra, R., Hik, D., Singleton, G. R. et Tinnikov, A. 1998. The impact of predator-induced stress on the snowshoe hare cycle. *Ecological Monographs*, 68 : 371-394.
- Boonstra, R. et Singleton, G. R. 1993. Population declines in the snowshoe hare and the role of stress. *General and Comparative Endocrinology* 91 : 126-143.
- Bruce, J., Fisher, P. A., Pears, K. C. et Levine, S. 2009. Morning cortisol levels in preschool-aged foster children: Differential effects of maltreatment type. *Developmental Psychobiology*, 51 : 14-23.
- Carpenter, L. L., Carvalho, J. P., Tyrka, A. R., Wier, L. M., Mello, A. F., Mello, M. F. et al. 2007. Decreased adrenocortotropic hormone and cortisol responses to stress in healthy adults reporting significant childhood maltreatment. *Biological Psychiatry*, 62 : 1080-1087.
- Cavigelli, S. A. 1999. Behavioural patterns associated with faecal cortisol levels in free-ranging female ring-tailed lemurs, *Lemur catta*. *Animal Behaviour*, 57 : 935-944.
- Cicchetti, D. et Rogosch, F. A. 2001. Diverse patterns of neuroendocrine activity in maltreated children. *Development and Psychopathology*, 13 : 677-693.
- Creel, S., Winnie, J. Jr., Christianson, D. et Liley, S. 2008. Time and space in general models of antipredator response: Tests with wolves and elk. *Animal Behaviour*, 76 : 1139-1146.
- Dammhahn, M. 2012. Are personality differences in a small iteroparous mammal maintained by a life-history trade-off? *Proceedings of the Royal Society B*, 279 : 2645-2651.
- Dammhahn, M. et Kappeler, P. M. 2008. Comparative Feeding Ecology of Sympatric *Microcebus berthae* and *M. murinus*. *International Journal of Primatology*, 29 : 1567-1589.
- Dammhahn, M. et Kappeler, P. M. 2009. Females go where the food is: does the socio-ecological model explain variation in social organisation of solitary foragers? *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 63 : 939-952.

- de Kloet, E. R., Rosenfeld, P., van Eekelen, J. A., Sutanto, W. et Levine, S. 1988. Stress, glucocorticoids and development. *Progress in Brain Research*, 73 : 101-20.
- Dozier, M., Manni, M., Gordon, M. K., Peloso, E., Gunnar, M. R., Stovall-McClough, K. C. et al. 2006. Foster children's diurnal production of cortisol: An exploratory study. *Child Maltreat*, 11 : 189-197.
- Eberle, M. et Kappeler, P. M. 2004. Sex in the dark: determinants and consequences of mixed male mating tactics in *Microcebus murinus*, a small solitary nocturnal primate. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 57 : 77-90.
- Eberle, M. et Kappeler, P. M. 2006. Family insurance: kin selection and cooperative breeding in a solitary primate (*Microcebus murinus*). *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 60 : 582-588.
- Elzinga, B. M., Roelofs, K., Tollenaar, M. S., Bakvis, P., van Pelt, J. et Spinhoven, P. 2008. Diminished cortisol responses to psychosocial stress associated with lifetime adverse events: A study among healthy young subjects. *Psychoneuroendocrinology*, 33 : 227-237.
- Fisher, P. A., Gunnar, M. R., Dozier, M., Bruce, J. et Pears, K. C. 2006. Effects of therapeutic interventions for foster children on behavioral problems, caregiver attachment, and stress regulatory neural systems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1094 : 215-225.
- Fletcher, Q. E. et Boonstra, R. 2006. Impact of live trapping on the stress response of the meadow vole (*Microtus pennsylvanicus*). *Journal of Zoology*, 270 : 473-378.
- Ganzhorn, J. U. et Kappeler, P. M. 1996. Lemurs of the Kirindy forest. *Primate Report*, 46 (1): 257-275.
- Genuth, S. M. 1993. The endocrine system. In R. M. Berne et M. N. Levy (eds.) *Physiology*. St. Louis: Mosby Yearbook, pp. 813-1024.
- Giroud, S. 2008. Différences saisonnières des mécanismes d'économie d'énergie d'un primate malgache hétérotherme : le microcèbe. Thèse de Doctorat : Sciences du vivant. Université Louis Pasteur Strasbourg 1, France.
- Goodman, S. M. 2003. Predation on lemurs. In S. M. Goodman et J. P. Benstead (eds.) *The Natural History of Madagascar*. Chicago: University of Chicago Press, pp. 1221-1228.
- Goymann, W., Möstl, E., Van't Hof, T., East, M. L. et Hofer, H. 1999. Noninvasive Fecal Monitoring of Glucocorticoids in Spotted Hyenas, *Crocuta crocuta*. *General and Comparative Endocrinology*, 114 : 340-348.
- Gunnar, M. et Quevedo, K. 2007. The Neurobiology of Stress and Development. *Annual Review of Psychology*, 58 : 145-73.

- Hämäläinen, A., Heistermann, M., Fenosa, Z. S. E. et Kraus, C. 2013. Evaluating capture stress in wild gray mouse lemurs via repeated fecal sampling: method validation and the influence of prior experience and handling protocols on stress responses. Soumis à *General and Comparative Endocrinology*.
- Heistermann, M. 2010. Non-invasive monitoring of endocrine status in laboratory primates: methods, guidelines and applications. *Advances in Science and Research*, 5 : 1-9.
- Heistermann, M., Palme, R. et Ganswindt, A. 2006. Comparison of different enzymeimmunoassays for assessment of adrenocortical activity in primates based on fecal analysis. *American Journal of Primatology*, 68 : 257-273.
- Hladik, C. M., Pinte, M. et Simmen, B. 1998. Les densités de population des prosimiens nocturnes du Sud de Madagascar varient-elles à long-terme dans les réserves forestières accessibles au public ? *Revue d'Ecologie (Terre Vie)*, 53 : 181-185.
- Honess, P. E. et Marin, C. M. 2006. Behavioural and physiological aspects of stress and aggression in nonhuman primates. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 30 : 390-412
- Kappeler, P. M. 2000. Causes and consequences of unusual sex ratios among lemurs. In *Primate males* (ed. P. M. Kappeler). Cambridge, UK: Cambridge University Press, pp. 55-63.
- Khan, M. Z., Altmann, J., Isani, S. S. et Yu, J. 2002. A matter of time: evaluating the storage of fecal samples for steroid analysis. *General and Comparative Endocrinology*, 128 : 57-64.
- Koolhaas, J. M., Korte, S. M., De Boer, S. F., Van Der Vegt, B. J., Van Reenen, C. G., Hopster, H., De Jong, I. C., Ruis, M. A. W. et Blokhuis, H. J. 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23 : 925-935.
- Kraus, C., Eberle, M. et Kappeler, P. M. 2008. The costs of risky male behaviour: sex differences in seasonal survival in a small sexually monomorphic primate. *Proceedings of the Royal Society B*, 275 : 1635-1644.
- Le Maho, Y., Karmann, H., Briot, D., Handrich, Y., Robin, J. P., Mioskowski, E., Cherel, Y. et Farni, J. 1992. Stress in birds due to routine handling and a technique to avoid it. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 32 : 775-781.
- Liley, S. et Creel, S. 2008. What best explains vigilance in elk: Characteristics of prey, predators, or the environment? *Behavioural Ecology*, 19 : 245-254.
- Lutermann, H., Schmelting, B., Radespiel, U., Ehresmann, P. et Zimmermann, E. 2006. The role of survival for the evolution of female philopatry in a solitary forager, the grey mouse lemur (*Microcebus murinus*). *Proceedings of the Royal Society B*, 273 : 2527-2533.

- Marra, P. P., Lampe, K. T. et Tedford, B. L. 1995. Plasma corticosterone levels in two species of *Zonotrichia* sparrows under captive and free-living conditions. *Wilson Bulletin*, 107 : 296-305.
- McLaren, G. W., Mathews, F., Fell, R., Gelling, M. et Macdonald, D. W. 2004. Body weight change as a measure of stress: a practical test. *Animal Welfare*, 13 : 337-341.
- Millspaugh, J. J., Coleman, M. A., Bauman, B. J., Raedeke, K. J. et Brundige, G. C. 2000. Serum profiles of American elk at the time of handling for three capture methods. *Canadian Field Naturalist*, 114 : 196-200.
- Möhle, U., Heistermann, M., Palme, R. et Hodges, J. K. 2002. Characterization of urinary and fecal metabolites of testosterone and their measurement for assessing gonadal endocrine function in male nonhuman primates. *General and Comparative Endocrinology*, 129 : 135-145.
- Möstl, E. et Palme, R. 2002. Hormones as indicators of stress. *Domestic Animal Endocrinology*, 23 : 67-74.
- Muller, M. N. et Wrangham, R. W. 2004. Dominance, fecal glucocorticoids, and stress in wild chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*). *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 55 : 332-340.
- Ouellet-Morin, I., Odgers, C. L., Danese, A., Bowes, L., Shakoor, S., Papadopoulos, A. S., Caspi, A., Moffitt, T. E. et Arseneault, L. 2011. Blunted cortisol responses to stress signal social and behavioral problems among maltreated/bullied 12-year-old children. *Biological Psychiatry*, pp. 1-8.
- Pariente, G. 1979. The role of vision in prosimian behavior. In G. A. Doyle, R. D. Martin, coordonnateurs. *The study of prosimian behavior*. Londres: Academic Press, pp. 411-459.
- Perret, M. 1990. Influence of social factors on sex ratio at birth, maternal investment and young survival in a prosimian primate. *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 27 : 447-454.
- Perret, M. 1997. Change in photoperiodic cycle affects life span in a prosimian primate (*Microcebus murinus*). *Journal of Biological Rhythms*, 12 (2) : 136-45.
- Petter, J. J., Albignac, R. et Rumpler, Y. 1977. Etude des lémuriens malgaches actuels. In *Faune de Madagascar*. Paris : ORSTOM/CNRS, 5^{ème} édition, 44 : 29-79.
- Prout, D. M. et King, C. M. 2006. The effect of handling under anaesthetic on the recapture rate of wild ship rats (*Rattus rattus*). *Animal Welfare*, 15 : 63-66.
- Radespiel, U. 2000. Sociality in the gray mouse lemur (*Microcebus murinus*) in northwestern Madagascar. *American Journal of Primatology*, 51 : 21-40.
- Raherilalao, M. J. et Wilmé, L. 2008. L'avifaune des forêts sèches malgaches. In Les forêts sèches de Madagascar, S. M. Goodman et L. Wilmé (eds.) *Malagasy Nature*, 1 : 76-105.

- Raselimanana, A. P. 2008. Herpétofaune des forêts sèches malgaches. In *Les forêts sèches de Madagascar*, S. M. Goodman et L. Wilmé (eds.) *Malagasy Nature*, 1 : 46-75.
- Rasoazanabary, E. 2006. Male and female activity patterns in *Microcebus murinus* during the dry season at Kirindy Forest, western Madagascar. *International Journal of Primatology*, 27 : 437-464.
- Rasoloarison, R., Rasolonandrasana, B. P. N., Ganzhorn, J. U. et Goodman, S. M. 1995. Predation on vertebrates in the Kirindy forest, Western Madagascar. *Ecotropica*, 1 : 59-65.
- Reeder, D. M. et Kramer, K. M. 2005. Stress in free-ranging mammals: integrating physiology, ecology, and natural history. *Journal of Mammalogy*, 86 (2) : 225-235.
- Romero, L. M. et Remage-Healey, L. 2000. Daily and seasonal variation in response to stress in captive starlings (*Sturnus vulgaris*): corticosterone. *General and Comparative Endocrinology*, 119 : 52-59.
- Romero, L. M. et Wingfield, J. C. 1999. Alterations in hypothalamic-pituitary-adrenal function associated with captivity in Gambel's white-crowned sparrows (*Zonotrichia leucophrys gambelii*). *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 122 : 13-20.
- Rosenfeld, P., Sacheck, D. et Levine, S. 1992. Multifactorial regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis during development. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 16 : 553-68.
- Sands, J. et Creel, S. 2004. Social dominance, aggression and faecal glucocorticoid levels in a wild population of wolves, *Canis lupus*. *Animal Behaviour*, 67 : 387-396.
- Sapolsky, R. M. 1982. The endocrine stress-response and social status in the wild baboon. *Hormones and Behavior*, 16 : 279-292.
- Sapolsky RM. 1983. Endocrine aspects of social instability in the olive baboon (*Papio anubis*). *American Journal of Primatology*, 5 : 365-379.
- Sapolsky, R. M. 1992. Neuroendocrinology of the stress response. In J. B. Becker et al. (eds.) *Behavioral Endocrinology*. Massachusetts: Institute of Technology Press, pp. 287-324.
- Schilling, A. 2000. Organisation des sens et communication chez le Microcèbe. *Primateologie*, 3 : 85-143.
- Schmid, J. 1999. Sex-specific differences in activity patterns and fattening in the gray mouse lemur (*Microcebus murinus*) in Madagascar. *Journal of Mammalogy*, 80 : 749-757.
- Schmid, J. et Kappeler, P. M. 1994. Sympatric mouse lemurs (*Microcebus* spp.) in western Madagascar. *Folia Primatologica*, 63 : 162-170.
- Smith, G. T., Wingfield, J. C. et Veit, R. R. 1994. Adrenocortical response to stress in the common diving petrel, *Pelecanoides urinatrix*. *Physiological Zoology*, 67 : 526-537.

- Sneddon, L. U. 2003. The bold and the shy: individual differences in rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 62 : 971-975.
- Sorg, J. P., Ganzhorn, J. U. et Kappeler, P. M. 2003. Forestry and research in the Kirindy Forest/Centre de Formation Professionnelle Forestière. In S. M. Goodman et J. P. Benstead (eds.) *The Natural History of Madagascar*. Chicago: University of Chicago Press, pp. 1512-1519.
- Sorg, J. P. et Rohner, U. 1996. Climate and tree phenology of the dry deciduous forest of the Kirindy forest. *Primate Report*, 46 (1) : 57-80.
- Strier, K. B., Ziegler, T. E. et Wittwer, D. J. 1999. Seasonal and social correlates of fecal testosterone and cortisol levels in wild male muriquis (*Brachyteles arachnoides*). *Hormones and Behavior*, 35 : 125-134.
- Thiel, D. et al. 2008. Ski tourism affects habitat use and evokes a physiological stress response in capercaillie *Tetrao urogallus*: a new methodological approach. *Journal of Applied Ecology*, 45 : 845-853.
- Tyrka, A. R., Wier, L., Price, L. H., Ross, N., Anderson, G. M., Wilkinson, C. W. et Carpenter, L. L. 2008. Childhood parental loss and adult hypothalamic-pituitary-adrenal function. *Biological Psychiatry*, 63 : 1147-1154.
- Vachon, P. et Moreau, J. P. 2001. Serum corticosterone and blood glucose in rats after two jugular vein sampling methods: comparison of the stress response. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*, 40 : 22-24.
- Walker, B. G. et al. 2005. Field endocrinology and conservation biology. *Integrative and Comparative Biology*, 45 : 12-18.
- Wikelski, M. et Cooke, S. J. 2006. Conservation physiology. *Trends in Ecology and Evolution*, 21 : 38-46.
- Winnie, J. et Creel, S. 2007. Sex-specific behavioural responses of elk to spatial and temporal variation in the threat of wolf predation. *Animal Behaviour*, 73 : 215-225.

Webographie

www.salimetrics.com, consulté en août 2012.

ANNEXES

Annexe I : Fonctionnement simplifié de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA)

L'hypothalamus stimule la glande pituitaire à l'aide du corticotrophin releasing hormone (CRH). La glande pituitaire envoie l'adrenocorticotropin hormone (ACTH) dans la circulation générale vers la surrénale. Cette dernière libère les glucocorticoïdes (GC) à travers la circulation générale pour agir sur les tissus cibles où se passe une série de réactions en réponse au stimulus (Anestis, 2010). La concentration des GC, principalement le cortisol pour les primates, augmente donc dans le sang au bout de quelques secondes qui suivent la stimulation de l'HPA. Plusieurs mécanismes de rétrocontrôle ramènent la concentration des GC à la normale. Par exemple, la hausse du niveau de cortisol circulant fait un rétrocontrôle négatif à des points multiples de l'axe HPA pour diminuer la production de cortisol. Pour cela, les GC vont s'attacher à leurs récepteurs situés dans la glande pituitaire antérieure ainsi que dans plusieurs sites du cerveau. Cette liaison GC-récepteurs sert à diminuer le taux du CRH et de l'ACTH, réduisant ainsi la production des GC (Reeder et Kramer, 2005). La concentration des GC dans le sang revient par la suite à la normale par ce phénomène de feedback négatif. Puis, il y a métabolismes hépatique et bactérien au niveau intestinal des GC et les métabolites du cortisol sont enchaînés vers l'urine et les fèces (Möstl et Palme, 2002). L'excrétion urinaire des métabolites de GC est plus rapide que celle fécale.

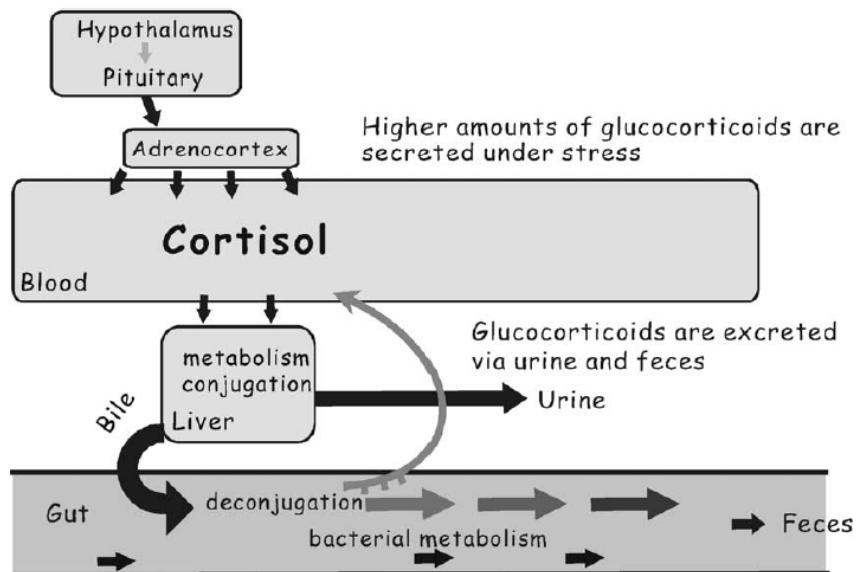


Schéma de la sécrétion, métabolisme et excrétion de glucocorticoïde (cortisol) (Source : Möstl et Palme, 2002)

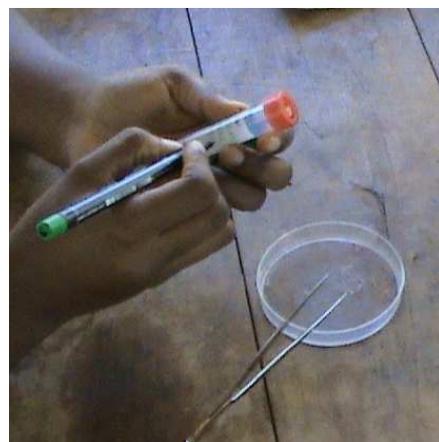
Annexe II : Prélèvement des fèces



(a) Collecte des fèces dans un piège démonté pendant que l'animal était dans un sac



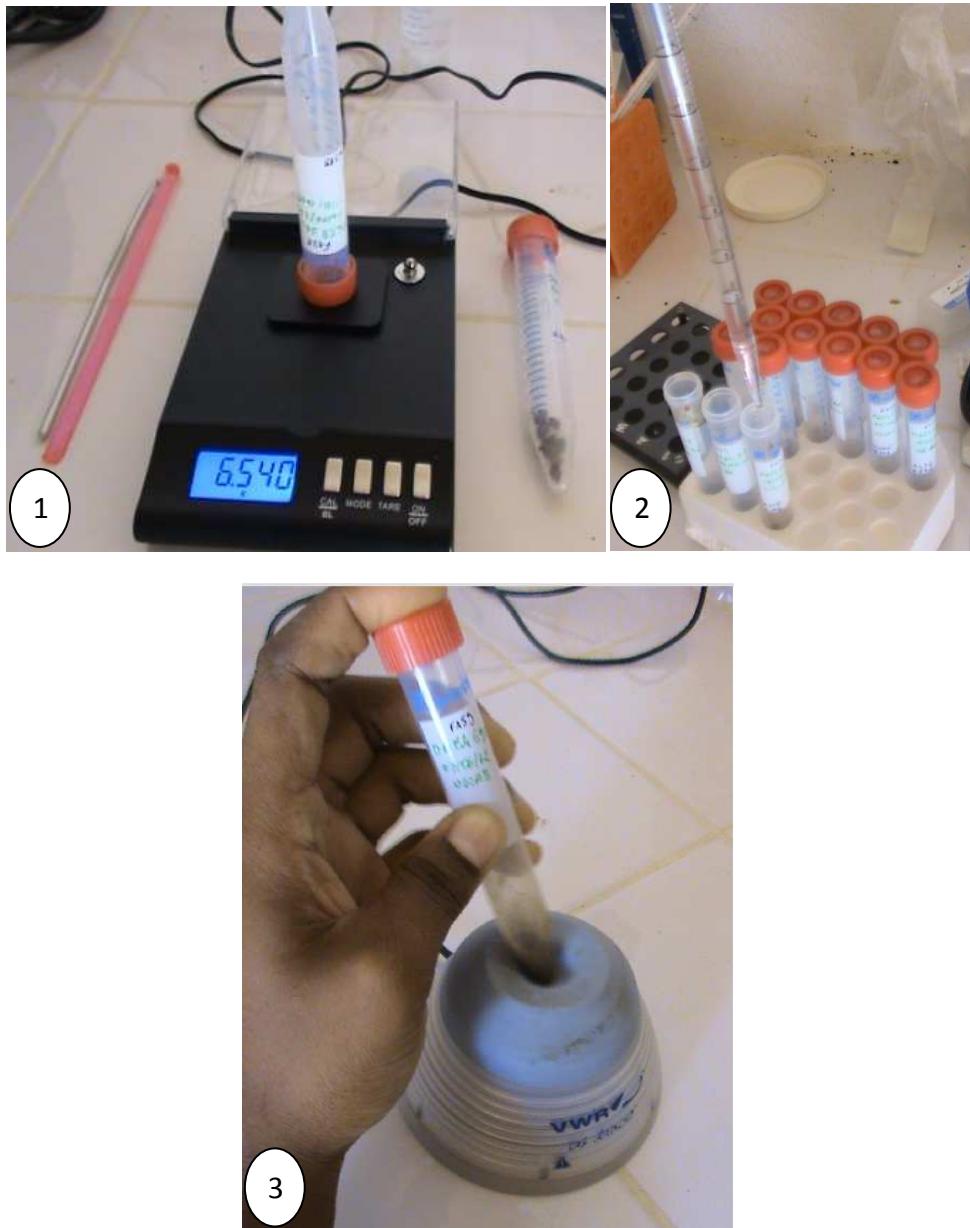
(b) Recueil des échantillons fécaux dans une boîte de Pétri après avoir remis l'animal dans le piège



(c) Ecriture des informations à propos des échantillons fécaux sur le tube polypropylène de 15 ml

(FENOSOA Z., 2012)

Annexe III : Extraction hormonale à partir des fèces

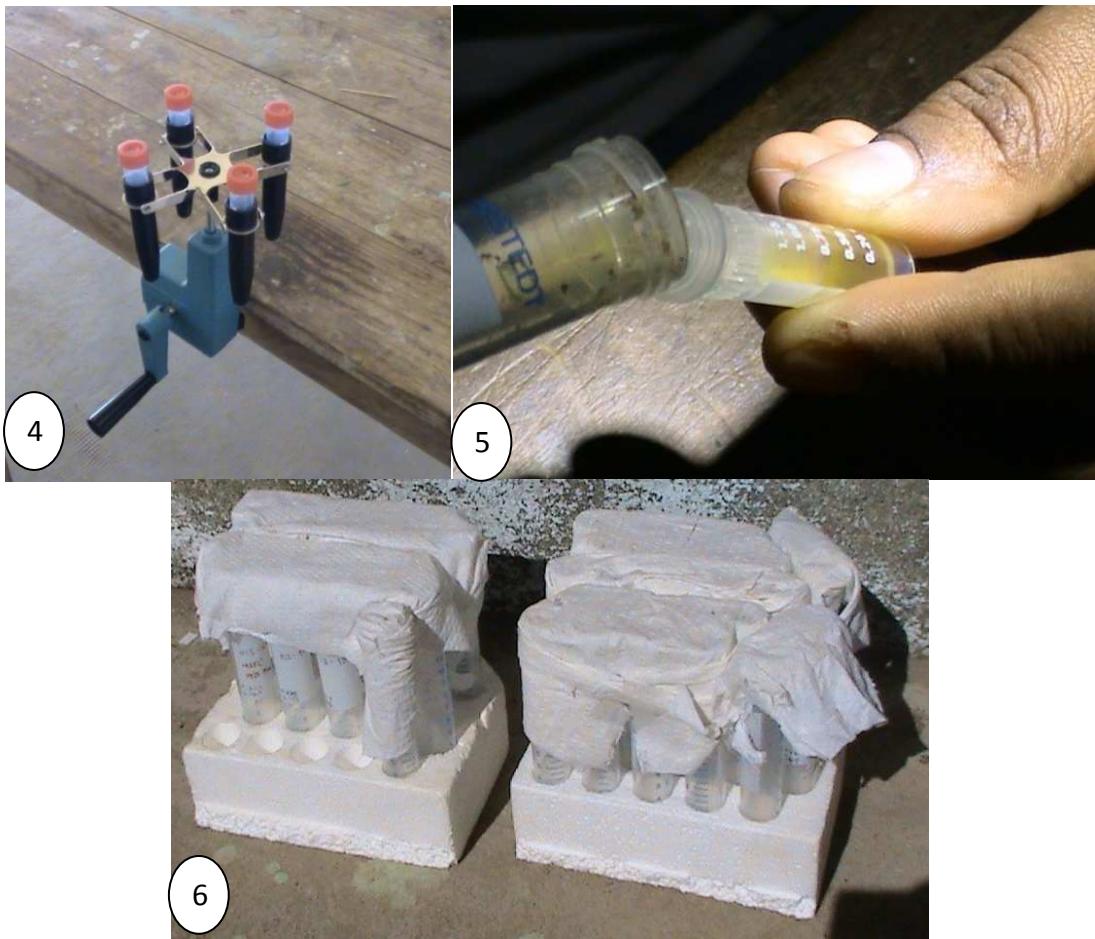


1 Pesage des échantillons fécaux après homogénéisation avec une baguette

2 Addition d'éthanol 80% avec une pipette graduée

3 Mélange des échantillons au vortex après une incubation

(FENOSOA Z., 2012)



4 Centrifugation des échantillons

5 Versement du surnageant dans un petit tube Eppendorf de 2 ml

6 Séchage au soleil de la phase solide restant dans le tube polypropylène de 15 ml

(FENOSOA Z., 2012)

Annexe IV : Liste des individus donnant les paires d'échantillons hormonaux

N°	ID (Trovan)	Classe d'âge	Sexe	Mois		
				Avril	Mai	Juin
1	068E 0965	adulte	F	1 (2)	1	0
2	066C AC9A	adulte	F	1 (2)	0	0
3	0671 01AD	adulte	F	1	0	0
4	06E4 4CB3	juvénile	M	1	0	0
5	06D1 3E1A		M	1	0	0
6	0696 4030	adulte	F	1	0	0
7	06D1 5481	adulte	F	1	0	0
8	0696 6863	adulte	M	1	0	0
9	06E4 E484	adulte	M	1	1	0
10	06E4 B324	adulte	M	1 (2)	1	0
11	069B 4E09	adulte	F	1	0	0
12	069B 3A23	adulte	M	1 (2)	0	0
13	06E4 EED9	juvénile	F	1	1	0
14	06E9 C1A5	adulte	F	1	1	0
15	06E4 7BAD	adulte	M	1	1	1
16	06D1 683D	adulte	F	1	0	0
17	06E4 DE09	adulte	F	1	1	0
18	06DD 32A2	juvénile	F	1	0	0
19	06D1 65E1	adulte	F	1	0	0
20	0683 42FC	adulte	F	1	0	0
21	06E4 D1B6	adulte	F	1	0	0
22	0696 3226	adulte	F	1	0	0
23	0683 3019	adulte	F	1	0	0
24	06E4 8B7D	juvénile	F	1	0	0
25	06E9 B007	juvénile	M	1	0	1
26	0696 4D12	adulte	F	1	0	0
27	06E4 A2E4	adulte	M	1	1	1
28	06E4 CF37	adulte	F	1	0	0
29	06E9 F8E6	adulte	F	1	0	0
30	06E4 8281		M	0	1	0
31	06D1 45D6	juvénile	F	0	1	0
32	06E4 DB14	adulte	F	0	1	0
33	06D1 5308	juvénile	M	0	1	1
34	06D1 42E4	juvénile	M	0	1	1
35	06D1 49EF	adulte	F	0	1	0
36	06E4 C1D6	adulte	F	0	1	0
37	06D1 3A16	juvénile	F	0	1	0
38	06DD 2F3B	adulte	F	0	1	0
39	06E4 7928	adulte	M	0	1	0

Annexe IV : Liste des individus donnant les paires d'échantillons hormonaux (suite)

N°	ID (Trovant)	Classe d'âge	Sexe	Mois		
				Avril	Mai	Juin
40	06B8 C1E7	adulte	F	0	1	0
41	06E4 86C1	juvénile	F	0	1	0
42	06E4 4B28	adulte	M	0	1	0
43	06E8 697B	juvénile	F	0	1	1
44	06D1 3F7E	adulte	F	0	1	0
45	069B 3D97	adulte		0	1	0
46	06E4 CA48	adulte		0	1	0
47	06E9 C453			0	1	0
48	06E4 CA44			0	1	0
49	06E4 903F		M	0	1	0
50	0695 42CE	adulte	F	0	1	0
51	06E4 A906			0	1	0
52	06E4 C602		M	0	1	0
53	06E4 D23B	juvénile	M	0	0	1
54	06E4 E955	adulte	F	0	0	1
55	06E4 A2FC	adulte	F	0	0	1
56	06D1 5CCD	juvénile	M	0	0	1
57	06E9 DA9A	juvénile	M	0	0	1
58	06D1 47ED	juvénile	F	0	0	1
59	06D1 3596	juvénile	F	0	0	1
60	06E4 C2A9	juvénile	M	0	0	1
61	06D1 6AFB	juvénile	M	0	0	1
62	06E9 E3D9	juvénile	M	0	0	1

F : femelle, M : mâle

0 : non obtention de paire d'échantillons fécaux, 1 : obtention d'une paire d'échantillons fécaux, 1 (2) : obtention de deux paires d'échantillons en 1 mois

Case vide : information incomplète

Annexe V : Liste des individus enregistrés dans l'expérience de relâche

N°	ID (Trovan)	Classe d'âge	Sexe	Mois			
				Avril	Mai	Juin	Juillet
1	06E9 C1A5	adulte	F	1	1	1	0
2	06E4 68E6	juvénile	M	1	1	0	0
3	06E4 7BAD	adulte	M	1	1	0	0
4	06E4 E484	adulte	M	1	1	1	1
5	06E4 7AC1	adulte	F	1	0	0	0
6	0696 663B	adulte	F	1	0	0	0
7	06B8 B863	adulte	F	1	0	0	0
8	06E4 E720	adulte	F	1	0	0	0
9	06DD 2F3B	adulte	F	1	0	0	0
10	06E9 B007	juvénile	M	1	0	1	1
11	0696 2E36	adulte	F	1	0	0	0
12	0695 4D12	adulte	F	1	0	0	0
13	06E4 EED9	juvénile	F	1	0	0	0
14	06D1 49EF	adulte	F	1	1	0	0
15	0617 E043	adulte	F	1	0	0	0
16	069B 33C0	adulte	F	1	0	0	0
17	06E9 C456	juvénile	M	0	1	0	0
18	06E4 4B28	adulte	M	0	1	0	0
19	06D1 5D31	adulte	M	0	1	0	0
20	06E4 8281		M	0	1	0	0
21	06E4 854E	adulte	M	0	1	0	0
22	06E9 D5DE	juvénile	M	0	1	0	1
23	06E4 DB14	adulte	F	0	1	0	0
24	06E4 4CB3	juvénile	M	0	1	0	0
25	06E9 C643	juvénile	F	0	1	0	0
26	06D1 5481	adulte	F	0	1	0	0
27	068E 0965	adulte	F	0	1	0	0
28	06E4 DE09	adulte	F	0	1	0	0
29	06E4 8B7D	juvénile	F	0	1	0	0
30	06E4 B324	adulte	M	0	1	0	0
31	06E4 E955	adulte	F	0	1	0	0
32	0696 4030	adulte	F	0	1	0	0
33	06D1 68E3	adulte	M	0	1	1	0
34	06E4 7CBC	adulte	M	0	1	0	1
35	06D1 65E1	adulte	F	0	1	0	0
36	06D1 6C1F	juvénile	M	0	1	0	0
37	06D1 65E3	adulte	M	0	1	0	0
38	06E4 A2FC	adulte	F	0	1	0	1
39	0683 42FC	adulte	F	0	1	0	0

Annexe V : Liste des individus enregistrés dans l'expérience de relâche (suite 1)

N°	ID (Trovan)	Classe d'âge	Sexe	Mois			
				Avril	Mai	Juin	Juillet
40	06E9 B95E	adulte	M	0	1	1	0
41	06D1 6945	adulte	F	0	1	0	0
42	0695 F904	adulte	F	0	1	0	0
43	06DD 57B7	juvénile	M	0	1	0	1
44	06E4 C1D6	adulte	F	0	1	0	0
45	06E4 A2E4	adulte	M	0	1	0	0
46	06D1 4B3D	juvénile	F	0	1	1	0
47	06E4 D454	adulte	M	0	1	1	0
48	06DD 409E	juvénile	M	0	1	0	0
49	06D1 5308	juvénile	M	0	1	0	1
50	06E4 C0F9	adulte	F	0	1	0	0
51	06D1 51E2	adulte	M	0	1	0	0
52	06D1 580D	adulte	F	0	1	0	0
53	06E4 BC32	adulte	F	0	1	0	0
54	06E9 E3D9	juvénile	M	0	0	1	1
55	06D1 5CCD	juvénile	M	0	0	1	0
56	06E8 72AE	juvénile	F	0	0	1	1
57	06D1 6C7C	juvénile	F	0	0	1	1
58	06E4 8357	juvénile	M	0	0	1	0
59	06E8 5631	juvénile	M	0	0	1	1
60	06E9 DA9A	juvénile	M	0	0	1	0
61	06E4 C605	juvénile	F	0	0	1	0
62	06D1 47ED	juvénile	F	0	0	1	1
63	06E4 C2A9	juvénile	M	0	0	1	0
64	06E8 697B	juvénile	F	0	0	1	0
65	06D1 648D	juvénile	M	0	0	1	0
66	06E9 CE9C	juvénile	F	0	0	1	1
67	06D1 549F	juvénile	F	0	0	1	1
68	06E4 EC26	juvénile	F	0	0	1	1
69	06E8 57CC	juvénile	F	0	0	1	1
70	06DD 47DA	juvénile	F	0	0	1	0
71	06E4 7FE4	juvénile	F	0	0	1	0
72	06E9 C49E	juvénile	M	0	0	1	0
73	06D1 444D	juvénile	M	0	0	1	0
74	06E9 BEDD	juvénile	F	0	0	1	0
75	06E8 5287	juvénile	F	0	0	1	0
76	06E9 C910	adulte	F	0	0	1	0
77	06E9 C851	juvénile	M	0	0	0	1
78	06D1 50D0	juvénile	M	0	0	0	1
79	06D1 4235	juvénile	F	0	0	0	1
80	06D1 43C8	adulte	F	0	0	0	1

Annexe V : Liste des individus enregistrés dans l'expérience de relâche (suite et fin)

N°	ID (Trovan)	Classe d'âge	Sexe	Mois			
				Avril	Mai	Juin	Juillet
81	06E9 B393	juvénile	F	0	0	0	1
82	06DF 67FC	juvénile	M	0	0	0	1
83	06D1 6AFB	juvénile	M	0	0	0	1
84	06D1 3596	juvénile	F	0	0	0	1
85	06E4 EE7C	juvénile	M	0	0	0	1
86	06E9 B704	juvénile	M	0	0	0	1
87	06E4 D37A	juvénile	M	0	0	0	1
88	06E9 E82F	juvénile	M	0	0	0	1
89	06E8 47DE	juvénile	F	0	0	0	1
90	06E9 B0D7	juvénile	F	0	0	0	1
91	06E8 5D0D	juvénile	M	0	0	0	1
92	06E9 6CB6	juvénile	M	0	0	0	1
93	068E 0F6B	adulte	F	0	1	0	0
94	06E9 E5A1	adulte		0	1	0	0
95	06D1 3577	adulte		0	1	0	0
96	069B 39FC	adulte		0	1	0	0
97	06E4 A472	juvénile		0	1	0	0
98	06E9 DFEA	juvénile		0	1	0	0
99	06E9 AF08	adulte		0	1	0	0
100	06E4 A906			0	1	0	0
101	06E4 903F		M	0	1	0	0
102	06E4 CA44			0	1	0	0
103	06E4 9C03			0	1	0	0
104	06D1 5974			0	1	0	0
105	06E4 D376			0	1	0	0

F : femelle, M : mâle

0 : non obtention d'enregistrement comportemental, 1 : obtention d'un enregistrement comportemental

Case vide : information incomplète

Annexe VI : Résultats statistiques du temps d'apparition t_a des individus apparus lors de leur relâche

âge : test t indépendant, $t = -0,076$, ddl = 1, p = 0,940 ; **sex** : test t indépendant, $t = -0,789$, ddl = 1, p = 0,433 ; **fréquence de capture** : test t indépendant, $t = -0,676$, ddl = 1, p = 0,502 ; **degré de manipulation** : ANOVA, $F = 0,260$, ddl = 2, p = 0,772 ; **mois** : ANOVA, $F = 2,183$, ddl = 3, p = 0,098.

Annexe VII : Résultats de la magnitude de la réponse au stress ainsi que du temps mis pour sortir de tous les individus échantillonnés y compris les répétitions

- La concentration de 3a,11 β -dihydroxy-CM a augmenté, variant d'une valeur moyenne représentant le niveau basal $828,5 \pm 92,9$ ng/ g de fèces sèches à $1381,4 \pm 133,2$ ng/ g de fèces sèches, soit une magnitude de $552,9 \pm 129$ ng/ g de fèces sèches (test t apparié, $t = -4,214$, ddl = 78, n = 79, p < 0,001). Cette augmentation de concentration de 3a,11 β -dihydroxy-CM est environ 40% de son niveau basal.
- Le temps mis par les individus sortis pour sortir du piège est de 171 ± 18 secondes.

TITRE : Evaluation hormonale et comportementale en réponse au stress dû à la capture-relâche d'une population sauvage de *Microcebus murinus* (J. F. Miller, 1777) dans la forêt de Kirindy/CNFEREF Morondava

RESUME

La capture et manipulation des animaux sauvages sont souvent nécessaires pour des études telles que les études physiologiques et le suivi régulier d'une population. Cependant, la procédure est connue pour causer une réponse au stress pour l'animal capturé. La magnitude de la réponse au stress peut dépendre du type de manipulation subie par les individus et peut changer à travers des captures consécutives via l'habitude de l'animal à l'évènement. Dans cette étude menée dans la forêt de Kirindy, à l'Ouest de Madagascar entre les mois d'avril et juillet 2012, la réponse au stress d'une population sauvage de microcèbes (*Microcebus murinus*) marqués individuellement, capturés d'une manière routinière, a été quantifiée par la mesure du métabolite de glucocorticoïde dans les fèces (FGCM) à son niveau basal et deux jours après capture et manipulation. Trois types de manipulation d'intensité différente ont été comparés et l'expérience des individus à la capture sur la réponse au stress a été évaluée. En outre, l'influence du type de manipulation, de l'expérience à la capture et de la réponse hormonale sur le comportement à la relâche (temps mis pour sortir du piège) a été étudiée. La capture et la manipulation des individus ont provoqué une augmentation d'environ 41,6% du niveau de FGCM. La réponse hormonale n'est pas affectée par l'expérience des individus à la capture mais est élevée chez les animaux soumis à une manipulation invasive comparée à celle des animaux de la manipulation minimum. Le temps mis par les individus pour sortir du piège n'est pas influencé par le type de manipulation subie, ni par leur expérience à la capture ni par leur réponse hormonale. Aucune évidence à l'habitude au stress répété n'a été trouvée, mais les constatations suggèrent que la magnitude de la réponse physiologique dépend de l'intensité des procédures de manipulation. Les résultats de cette étude peuvent être utiles dans l'amélioration du bien-être des animaux pour des futures recherches.

Mots clés : capture, manipulation, *Microcebus murinus*, réponse au stress, glucocorticoïdes, comportement, facteur de stress répété, Kirindy/CNFEREF

ABSTRACT

Capturing and handling of animals are often necessary in wild animal research to address questions of physiology and regular population monitoring. However, the procedure is known to elicit a hormonal stress response in the captured animal. The magnitude of the stress response can depend on the type of handling the individual is subjected to and may change over consecutive captures via the habituation of the animal to the event. In this study conducted in Kirindy forest, Western Madagascar between April and July 2012 we quantified the stress response in routinely captured, individually marked, wild gray mouse lemurs (*Microcebus murinus*) by measuring glucocorticoid metabolites in feces (FGCM) at baseline and at a biologically relevant delay after the capture and handling. We compared three handling regimes of different degrees of invasiveness and assessed the influence of individual capturing experience on the stress response. Furthermore, the influence of the handling regime, capturing experience and hormonal response on anxiety-related behavior after the trapping (latency to exit trap) is studied. Capturing and handling of individuals elicited on average a 41.6% increase in FGCM levels. The hormonal response was not affected by individual capturing experience but was higher in animals subjected to more invasive handling compared to the minimum handling group. The latency of individuals to exit the trap was not influenced by the handling regime, capturing experience or hormonal response. We found no evidence of habituation or sensitization to the repeated stressor, but our findings suggest that the magnitude of the physiological stress response depends on the invasiveness of the handling procedures. Our results may be useful in improving animal welfare in future studies.

Key words: capture, handling, *Microcebus murinus*, stress response, glucocorticoids, behavior, repeated stressor, Kirindy/CNFEREF

Encadreur :

Dr Hanta RAZAFINDRAIBE

Impétrante :

Nom et Prénom : Zo Samuel Ella FENOSOA

Adresse: Lot H 110 Idaho Miadana Alasora, Antananarivo, Madagascar

Tel : (+261)33 25 164 54

E-mail : zoellafenosoa@gmail.com