



THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Variations d'une hormone stéroïde, le cortisol, dans la salive de phocidés en captivité : mise en parallèle de profils endocrinien et comportemental chez le phoque commun *Phoca vitulina*

Rossi, Séraphine

Award date:
2005

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix
FACULTE DES SCIENCES
Secrétariat du département de psychologie
Rue de Bruxelles 61 – 5000 NAMUR
Téléphone: + 32(0)81.724430 – Téléfax: + 32(0)81.724431
E-mail: kla@psy.fundp.ac.be – <http://www.fundp.ac.be/fundp.html>

Variations d'une hormone stéroïde, le cortisol, dans la salive de phocidés en captivité. Mise en parallèle de profils endocrinien et comportemental chez le phoque commun *Phoca vitulina*

ROSSI Séraphine

Résumé

Le but de ce mémoire était l'étude des variations d'une hormone stéroïde, le cortisol, dans la salive de phoques communs (*Phoca vitulina*) en captivité et la mise en parallèle du profil endocrinien du cortisol et du profil comportemental. Le groupe de phoques étudiés comportait huit mâles maintenus en captivité au parc zoologique de Cologne (Allemagne) et appartenant à l'université de Bochum (Allemagne).

Le premier volet de cette étude concerne le cortisol. Celui-ci est une hormone dont la sécrétion suit un rythme circadien chez les mammifères et est augmentée lors de situations de stress. L'utilisation de prélèvements de salive comme outil de dosage du cortisol, plutôt que celle de prise de sang, constitue une méthode plus valide car moins traumatisante. Des échantillons de salive ont été prélevés à l'aide d'un rouleau de coton compact inséré dans un tube en plastique et frotté dans la gueule de l'animal. Les prélèvements ont permis d'étudier l'évolution des taux cortisoliques au cours de la journée et de comparer les taux selon la saison, l'âge et la taille du bassin où les animaux étaient confinés lors du prélèvement.

Le deuxième volet intéresse l'observation des comportements. Elle a permis d'établir les budgets d'activité et l'occupation spatiale de chaque animal, et de contraster les budgets d'activité en fonction de l'heure de la journée et en fonction de la taille du bassin où étaient confinés les phoques.

Les relations entre les niveaux de cortisol et le comportement ont été analysées à partir des interactions observées lors du nourrissage.

Les résultats suggèrent une évolution circadienne de la sécrétion de cortisol chez les phoques communs. Cette sécrétion n'est pas influencée par l'âge mais bien par la saison et par le bassin où sont confinés les animaux et qui semble donc être une source éventuelle de stress. L'observation comportementale révèle peu d'interactions hors de la présence des soigneurs. Les interactions observées lorsque les phoques sont nourris ne semblent pas être corrélées aux niveaux cortisoliques.

Mémoire de licence en sciences biologiques

Août 2005

Promoteur: M. Mercier; **Co-promotrice:** M.-C. Huynen; **Directrice de mémoire:** A. Caudron



**FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX
NAMUR**

Faculté des Sciences

Variations d'une hormone stéroïde, le cortisol, dans la salive de phocidés en captivité. Mise en parallèle de profils endocrinien et comportemental chez le phoque commun *Phoca vitulina*

**Mémoire présenté pour l'obtention du grade de
licencié en Sciences biologiques**

Séraphine ROSSI
Août 2005

Je tiens à remercier mon promoteur Michel Mercier, ma co-promotrice Marie-Claude Huynen et ma directrice de mémoire Abigail Caudron pour leurs conseils précieux tout au long du mémoire.

J'adresse également mes remerciements à Guido Dehnhardt et son équipe qui m'ont accueilli au parc zoologique de Cologne, et plus particulièrement à Anaïs Bodson pour m'avoir apporté son aide sur le terrain.

Je remercie José Sulon qui m'a supervisée lors des dosages salivaires et Olivier Brock qui a évalué les avantages de la méthode de prélèvements salivaires lors de son mémoire.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui m'ont soutenue de diverses manières pour que je parvienne à l'aboutissement de mon mémoire.

TABLE DES MATIÈRES

1. INTRODUCTION.....	4
1.1. Introduction générale : les objectifs	5
1.2. Les pinnipèdes	6
1. 2. 1. Caractéristiques générales	6
1. 2. 2. Evolution.....	6
1. 3. L'espèce étudiée : le phoque commun (<i>Phoca vitulina</i>).....	7
1. 3. 1. Description générale	7
1. 3. 2. Distribution	8
1. 3. 3. La vie amphibia.....	9
1. 3. 4. La sociabilité.....	10
1. 3. 5. La reproduction.....	10
1. 3. 6. La captivité	10
1. 4. Endocrinologie	11
1. 4. 1. Définition	11
1. 4. 2. L'hypophyse	11
1. 4. 3. Les glandes surrénales	12
1. 4. 4. Le cortisol	12
1. 4. 4. 1. La synthèse du cortisol.....	12
1. 4. 4. 2. Le cortisol plasmatique	13
1. 4. 4. 3. Les effets du cortisol	13
1. 4. 4. 4. Le catabolisme du cortisol	13
1. 4. 5. Le contrôle de la sécrétion des hormones CRH, ACTH et cortisol.....	14
1. 4. 6. Le rythme de sécrétion du cortisol.....	14
1. 4. 6. 1. Le rythme de base	14
1. 4. 6. 2. Les variations du rythme de sécrétion.....	15
1. 4. 7. Le stress	15
1. 4. 7. 1. La réponse au stress	16
1. 4. 7. 2. Le stress chronique.....	16
1. 5. La salive comme outil de dosage du cortisol.....	17
1. 5. 1. Un échantillonnage moins traumatisant	17
1. 5. 2. La salive comme outil de dosage du cortisol	18
1. 6. Les hypothèses.....	18
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES	20
2. 1. Les sujets de l'étude	21
2. 2. Les bassins	21
2. 3. Calendrier d'échantillonnage.....	22
2. 4. Les manipulations des animaux.....	22

2. 5. L'échantillonnage hormonal	23
2. 5. 1. Test préliminaire du protocole de récolte salivaire	23
2. 5. 2. Le support d'échantillonnage	23
2. 5. 3. Le protocole d'échantillonnage	24
2. 5. 4. La conservation des échantillons	25
2. 5. 5. Dosage du cortisol libre salivaire	25
2. 6. L'échantillonnage comportemental	26
2. 6. 1. Définition	26
2. 6. 2. Procédure	27
2. 6. 2. 1. L'échantillonnage continu	27
2. 6. 2. 2. L'échantillonnage focal	27
2. 6. 2. 3. L'échantillonnage par balayage	27
2. 6. 2. 4. L'échantillonnage au hasard	27
2. 7. Analyses statistiques	28
3. RÉSULTATS ET DISCUSSION	31
3. 1. Résultats	32
3. 1. 1. Ethogramme	32
3. 1. 2. Les budgets d'activité	33
3. 1. 2. 1. Budgets d'activité individuels et total	33
3. 1. 2. 2. Budgets d'activité selon l'heure et le bassin	38
3. 1. 3. Occupation spatiale	39
3. 1. 4. Les interactions	42
3. 1. 4. 1. Interactions hors de la présence des soigneurs	42
3. 1. 4. 2. Interactions en présence des soigneurs dans un contexte alimentaire	42
3. 1. 5. Dosages salivaires	44
3. 1. 5. 1. Validité et reproductibilité des dosages	44
3. 1. 5. 2. Evolution circadienne des taux de cortisol	44
3. 1. 5. 3. Influence de l'âge sur les concentrations cortisoliques	46
3. 1. 5. 4. Influence du bassin sur les concentrations cortisoliques	47
3. 1. 5. 5. Influence de la saison sur les concentrations cortisoliques	48
3. 1. 5. 6. Influence de la personne échantillonnant sur les concentrations cortisoliques	49
3. 1. 6. Relation entre la concentration cortisolique et un élément du comportement alimentaire	49
3. 2 Discussion	51
3. 2. 1. Le comportement	51
3. 2. 1. 1. Le budget d'activité individuel	51
3. 2. 1. 2. Le budget d'activité en fonction du bassin	51
3. 2. 1. 3. Les interactions	52
3. 2. 2. Dosages salivaires :	52
évolution circadienne et divers facteurs potentiels influençant les taux de cortisol	52
3. 2. 2. 1. Evolution circadienne des taux de cortisol	52
3. 2. 2. 2. Influence de l'âge	52
3. 2. 2. 3. Influence du bassin	53
3. 2. 2. 4. Influence de la saison	53
3. 2. 3. Relation entre le comportement et les taux de cortisol	53
3. 2. 3. 1. La nage stéréotypée	53
3. 2. 3. 2. Le comportement lors des prélèvements de salive	54
3. 2. 3. 3. Relation entre la concentration cortisolique et un élément du comportement alimentaire	54
4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	55
4. 1. Conclusion	56
4. 2. Perspectives	57
4. 2. 1. Influence de la session d'entraînement	57

4. 2. 2. Etude d'un groupe mixte.....57
4. 2. 3. Influence des visites.....58
4. 2. 4. Observations supplémentaires.....58
4. 2. 5. Etude de l'aspect territorial58
4. 2. 6. l'amylase comme indicateur du stress.....59

5. BIBLIOGRAPHIE..... 60

1. INTRODUCTION

1.1. INTRODUCTION GÉNÉRALE : LES OBJECTIFS

Ce mémoire comporte trois objectifs :

- 1. L'étude des variations des niveaux d'une hormone, le cortisol, dans un groupe de phoques communs captifs.**
- 2. L'établissement du budget d'activité de chaque individu.**
- 3. La mise en parallèle des données comportementales avec les taux de cortisol.**

Le groupe de phoques étudiés est hébergé au parc zoologique de Cologne (Allemagne) et appartient à l'université de Bochum (Allemagne).

*Pourquoi est-ce intéressant d'aborder le problème des conditions de bien-être en captivité chez des phoques communs (*Phoca vitulina*, Linné 1758) ?*

Le maintien d'animaux en captivité soulève la question des conditions à mettre en œuvre pour assurer leur bien-être. Peu de données sur cette question sont disponibles à propos des phoques. Analyser les conditions (notamment sanitaires) dans lesquelles les phoques sont maintenus en captivité, avec comme but de mettre en évidence celles qui causent le moins de stress et leur seraient donc plus favorables, se révèle donc utile.

De quelle manière est-il possible d'obtenir des renseignements valides sur le stress chez des phoques communs ?

L'étude des niveaux du cortisol ainsi que celle d'observations comportementales permet d'obtenir des informations sur le stress subi par ces animaux. Le cortisol est une hormone impliquée dans les processus physiologiques du stress. Cette hormone constitue, chez les mammifères notamment, un indicateur du stress. Son étude est utile dans le cas d'animaux hébergés en captivité puisqu'elle pourrait apporter des indications sur leur bien-être. Afin de mesurer les taux de cortisol, une méthode d'échantillonnage dite «moins traumatisante» a été utilisée, il s'agit de prélèvements salivaires. Cette méthode est compatible avec une étude du stress, contrairement aux prises de sang traditionnellement utilisées pour doser les hormones. En effet, chez des animaux tels que les mammifères supérieurs, la prise de sang provoque elle-même un stress susceptible de biaiser les concentrations en cortisol.

L'étude du comportement apporte des informations sur les événements potentiellement stressants subis par les animaux car le concept de comportement contient la notion d'interaction avec l'environnement, c'est-à-dire que le comportement serait lié (au moins en partie) avec les caractéristiques des stimulations de l'environnement (Castel, 2005).

1.2. LES PINNIPÈDES

1. 2. 1. CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES

Avec les *Otariidae* ou otaries (14 espèces) et les *Odobenidae* ou morses (1 espèce), les *Phocidae* ou phoques (19 espèces) font partie de l'ordre des pinnipèdes, du latin *pinna* = plume et *pedis* = pieds, « pieds en forme d'aile ».

Les pinnipèdes sont des mammifères de taille moyenne (de 1.4 m pour le phoque du Baïkal, *Phoca sibirica*) à grande (5.8 m pour l'éléphant de mer austral, *Mirounga leonina*), leur longévité est d'environ 30 ans.

Ce sont des espèces à stratégie K, cela se traduit notamment par un faible nombre de descendants, un fort investissement parental dans la survie de chaque descendant et une mortalité infantile moindre (les espèces à stratégie r présentent les caractéristiques opposées) (Campbell, 1995).

1. 2. 2. EVOLUTION

Les pinnipèdes sont apparus durant la transition de l'Oligocène au Miocène, il y a 24 millions d'années. Les pinnipèdes n'ont pas toujours vécu dans l'eau. Leur ancêtre, *Enaliarctos*, est un pinnipède qui possède de nombreuses caractéristiques anatomiques indiquant des ancêtres terrestres canidés. La preuve de ce premier pinnipède connu désigne clairement une origine monophylétique de ces carnivores (Colbert and Morales, 1991).

En passant d'une vie terrestre à une vie marine, les pinnipèdes ont adopté un profil aérodynamique utile pour la nage. Toutefois, leurs adaptations sur ce point n'ont jamais été aussi complètes que celles de certains tétrapodes marins complets tels que les baleines.

Ainsi, les pinnipèdes ont conservé un cou flexible et n'ont pas de nageoire dorsale ni de queue propulsive. Pour la propulsion dans l'eau, ils ont dû joindre les mouvements des membres au mouvements du corps.

Les quatre pattes ont été transformées en nageoires palmées, les nageoires antérieures étant utilisées comme balancier et gouvernail, ainsi que pour les poussées propulsives tandis que les nageoires postérieures fonctionnent comme une sorte de nageoire caudale quand l'animal est dans l'eau.

Chez les otaries et les morses, les nageoires postérieures peuvent être repliées vers l'avant ou l'arrière et sont utilisées à terre comme aide à la locomotion.

Chez les phoques, les nageoires postérieures sont dirigées vers l'arrière de façon permanente, à terre, ils se meuvent donc avec le ventre. Les dents sont fortement modifiées chez tous les pinnipèdes. Les incisives sont généralement réduites, voire absentes, et les prémolaires et molaires simplifiées en cônes. Une telle dentition est utile pour attraper des poissons. Les otaries ont de petites oreilles externes, les autres pinnipèdes n'ont pas de lobe auriculaire externe (Colbert and Morales, 1991).

Les phoques sont plus fortement adaptés à la vie aquatique que les otaries et les morses, des adaptations pulmonaires, cardiaques et du système circulatoire leur permettent notamment des plongées à grande profondeur (jusqu'à 600 mètres) (Colbert and Morales, 1991).

1. 3. L'ESPÈCE ÉTUDIÉE : LE PHOQUE COMMUN (PHOCA VITULINA)

Sur base de critères anatomiques et géographiques notamment, la famille des Phocidés se divise en deux sous-familles :

- ↳ Celle des Monachinés qui regroupe les espèces méridionales et les espèces antarctiques.
- ↳ Celle des Phocinés à laquelle appartiennent toutes les espèces septentrionales dont celle concernée dans cette étude.

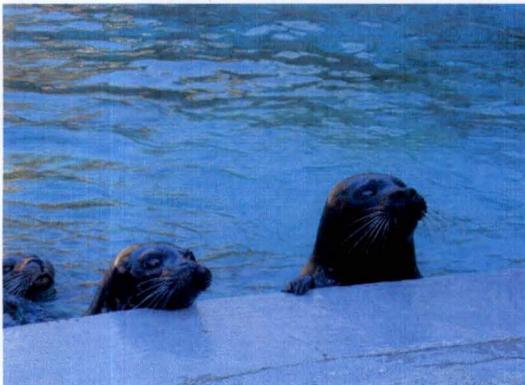
Les phoques étudiés appartiennent à la sous-famille des Phocinés et à l'espèce du phoque commun (*Phoca vitulina*).

Le phoque commun, espèce vivant dans l'hémisphère nord, rassemble cinq sous-espèces, *Phoca vitulina concolor*, *Phoca vitulina richardsi*, *Phoca vitulina mellonae*, *Phoca vitulina vitulina* et *Phoca vitulina largha* (cette dernière étant de plus en plus considérée comme une espèce à part entière).

1. 3. 1. DESCRIPTION GÉNÉRALE

Le phoque commun est une espèce que l'on trouve principalement en eaux salées, cependant certaines populations vivent en eau douce.

Le mâle est d'une longueur comprise entre 1.50 et 2 m pour un poids de 120 à 150 kg, la femelle mesure de 1.40 à 1.60 m pour un poids de 100 à 120 kg.



La maturité diverge suivant le sexe : la femelle l'atteint vers 3-4 ans et le mâle vers 5-6 ans.

La longévité du phoque commun est d'environ 20 ans dans la nature et 29 ans en captivité.

La tête est de forme arrondie. Les narines se rejoignent presque à leur base, formant un V bien ouvert. Les narines en forme de fentes sont normalement fermées et leur ouverture ne se fait que par un effort musculaire. On retrouve, de chaque côté de son nez, une quarantaine de vibrisses (moustaches). Les vibrisses du phoque commun ont un rôle important à jouer pour repérer et capturer les proies au cours de la recherche alimentaire (Dehnhardt *et al.*, 2001).

Les trous auditifs sont dépourvus d'oreilles externes. En effet, lorsqu'on supprime les vibrisses du phoque commun, le taux de capture de leur proie chute. La perception tactile joue probablement un grand rôle dans la reconnaissance individuelle ; à la surface, le contact entre museaux est fréquent entre individus, les vibrisses se touchant (Martin, 1977).

Chez les phoques, les membres postérieurs sont profondément transformés en large éventails natatoires permettant la propulsion en se déployant sous l'eau. Par contre, les membres antérieurs ne servent sous l'eau qu'aux changements de direction. La queue, très courte, ne semble pas avoir de fonction dans la nage ou l'orientation. Le cou est flexible, permettant à l'animal couché ou dans l'eau de tourner la tête sur le côté et même en arrière. Les organes génitaux ne dépassent pas la surface du corps.

Adapté à des habitats relativement froids, le phoque présente une série d'adaptations lui permettant de maintenir sa température corporelle de 37°C. Outre une épaisse fourrure, une couche de graisse tapisse tout le corps sous la peau, sauf au niveau des membres et de la face (Duguy et Robineau, 1982 ; Etienne, 2000).

Comme la majorité des espèces de pinnipèdes, le phoque commun a un régime alimentaire opportuniste. Le type de nourriture ingéré varie avec la saison et reflète probablement la disponibilité des proies aussi bien qu'une préférence alimentaire. À partir d'un an, les phoques sont principalement piscivores (capelans, lançons, harengs, éperlans arc-en-ciel, plies rouge sont entre autres consommés), bien qu'il y ait une certaine proportion de crustacés et d'autres invertébrés (céphalopodes, gastropodes) dans leur alimentation (Davies *et al*, 2001 ; Réseau d'observation de mammifères marins, 2004).

Contrairement aux cétacés dépourvus de poils, les pinnipèdes sont recouverts d'une fourrure épaisse, courte et dense. Cet isolant efficace se compresse contre l'épiderme une fois mouillé. La teinte du pelage du phoque commun varie du gris pâle-jaunâtre au marron sombre, généralement plus foncée sur la partie dorsale et très souvent marquée d'abondantes mouchetures irrégulières brunes, parfois presque noires. On ne peut différencier le mâle et femelle par la couleur mais la variabilité est si grande chez cette espèce qu'il est toutefois possible de reconnaître individuellement certains animaux par la robe. Le jeune phoque commun perd le lunago, pelage laineux blanc, in utero. Il naît avec un pelage tacheté semblable à celui de l'adulte. La mue intervient en juin-juillet chez les jeunes animaux et en juillet-août chez les adultes. C'est un processus qui dure environ trois semaines et nécessite un apport supplémentaire à l'ordinaire de sang au derme, ce qui signifie également une perte de calories plus importante (Ridgway and Harrison, 1981).

Hors de l'eau, le phoque commun est myope. La rétine, comportant beaucoup de cellules en bâtonnets, est adaptée au milieu aquatique profond, peu lumineux, où les phoques chassent leurs proies avec une grande efficacité. Cependant, la vue sous l'eau ne suffit pas pour expliquer la détection des proies dans des eaux troubles. Des animaux aveugles trouvent d'ailleurs également leur nourriture. L'observation d'individus aveugles dans la nature prouve que la vision n'est pas essentielle à la survie. Par contre l'absence de cellules en cônes signifie que le phoque ne voit pas les couleurs. L'ouïe du phoque commun est bien développée (Etienne, 2000).

1. 3. 2. DISTRIBUTION

L'aire de distribution de cette espèce est très étendue, notamment le long des côtes des océans Pacifique Nord et Atlantique Nord. Néanmoins, le phoque commun est loin d'être aussi commun en Europe que son nom l'indique (moins nombreux que le phoque gris *Halichoerus grypus* par exemple). Lors des fameuses épidémies virales qui ont décimé de nombreux phoques communs (la plus forte en 1988), le nombre de phoque communs trouvés morts sur les côtes de certaines régions d'Europe dépassait les recensements connus en ces endroits. Une forte concentration de phoques communs s'observe notamment dans la baie du Wash sur la côte sud-est de l'Angleterre. Les colonies de reproduction de phoques communs en Europe se localisent notamment sur les côtes d'Angleterre, Ecosse, Pays-Bas, Allemagne, Danemark, Norvège, Islande et îles Féroés ainsi qu'en France (baie de Somme, Bretagne).

La population mondiale de cette espèce est estimée entre 300 000 et 400 000 individus (Etienne, 2000).

1. 3. 3. LA VIE AMPHIBIE

Animaux amphibies mais d'origine terrestre, les pinnipèdes se sont adaptés au milieu marin essentiellement pour se nourrir.

Les propriétés physiques de l'air et de l'eau étant très différentes, on conçoit que vie terrestre et vie aquatique soient difficilement conciliables. Les pinnipèdes ont dû adapter leur morphologie, leur locomotion, leur régulation thermique et leurs moyens de communication. Les stratégies adaptatives des pinnipèdes sont orientées dans le sens d'une diminution des dépenses énergétiques d'autant plus cruciale que ces animaux à sang chaud passent une importante partie de leur temps dans des eaux froides, voire glacées. Chez les pinnipèdes notamment, deux structures principales permettent cette isolation : la fourrure et le pannicule adipeux ou couche de graisse sous-cutanée. Les déperditions de chaleur étant plus élevées et rapides sous l'eau que dans l'air, les phoques offrent un rapport surface/volume le plus faible possible par rapport aux mammifères ne fréquentant pas l'eau. Ainsi, moins la surface est grande par rapport à la masse musculaire, moins l'animal perd de chaleur (Ridgway et Harrison, 1981 ; Etienne, 2000).

Avant la plongée, le pinnipède expire, ce qui a pour effet d'abaisser la pression à laquelle seraient soumis des poumons pleins et de réduire de 80 à 90 % la quantité d'azote susceptible de se dissoudre dans les tissus au cours de la plongée. Pendant la plongée, le rythme cardiaque se ralentit. Lors de la plongée, pour restreindre la consommation d'oxygène aux organes essentiels, le flux sanguin périphérique diminue par constriction des artères mais il demeure pratiquement constant dans le cerveau. Le flux est réduit de presque 90 % dans les viscères, les muscles squelettiques, la peau et les membres.

Lors de la chasse, le temps de plongée du phoque commun est en moyenne de trois minutes tandis que la profondeur moyenne est de 1.5 m à 2.5 m.

Les phoques progressent plus lentement à terre que dans l'eau. Les membres postérieurs sont déportés vers l'arrière et ne participent pas à la locomotion terrestre. Hors de l'eau, l'animal progresse en rampant sur son estomac à la manière d'une chenille, avec une agilité et une rapidité qui peut être étonnante pour ce type de position, il pousse sur ses pattes antérieures, prend appui sur son bassin et élance son corps qui se pose, après une ondulation, sur la gorge (Duguy et Robineau, 1982).

Par contre, dans l'eau, l'agilité des phoques est étonnante. La propulsion n'est due qu'aux membres postérieurs qui battent latéralement. Les battements sont accompagnés de vigoureuses flexions du corps dans le plan horizontal. Les palmures interdigitales ne sont déployées que lors des mouvements propulsifs, entre lesquels les doigts sont resserrés. Les membres antérieurs sont plaqués au corps et ne servent qu'à la stabilisation et aux changements de direction.

La nage lente se fait à une vitesse d'environ 5-6 km/h mais peut atteindre 35 km/h lors de la poursuite de proies. Sous l'eau, le phoque commun se déplace aussi bien sur le ventre que sur le dos. Le plus souvent, s'il ne nage pas, le phoque commun se repose sur un banc de sable ou sommeille dans l'eau (Marion and Sylvestre, 1993 ; Hainard, 1998 ; Etienne, 2000).

1. 3. 4. LA SOCIABILITÉ

En milieu naturel, les phoques communs sont habituellement sédentaires, ils ne s'avancent guère au large et ont un terrain de chasse limité (Hainard, 1988).

Dans l'eau, les phoques communs tendent à être solitaires mais hors de l'eau, notamment lors de la reproduction et de la mue, les phoques communs forment des groupes dont l'âge, le sexe et la taille sont variables (de quelques individus à plus de cent) (Ridgway and Harrison, 1981).

La composition des groupes ne semble pas présenter d'organisation hiérarchisée et les individus font respecter des distances interindividuelles (Marion and Sylvestre, 1993). En effet, les phoques communs maintiennent généralement une distance entre eux. Ils peuvent utiliser des postures d'agression tels que donner des coups de tête, grogner ou gronder, mordre et battre l'eau avec les membres antérieurs.

Les groupes comportent généralement des individus d'âges variés, mâles et femelles confondus. Cependant, on peut constater une séparation entre les jeunes sevrés et leurs mères. Les liens les plus proches sont ceux créés entre la mère et le jeune pendant la lactation. Après le sevrage, les jeunes sont repoussés par la mère.

Les groupements sociaux se caractérisent par le fait que l'individu, pris isolément, exerce sur ses semblables une stimulation significative et spécifique, tandis que le ou les partenaires exercent en retour une stimulation non moins significative, non moins spécifique. L'interattraction sociale se caractérise par le fait que tout membre d'un groupe social est à la fois stimulus et réacteur (anonyme, 1967).

1. 3. 5. LA REPRODUCTION

Les pinnipèdes en général présentent une saison de reproduction annuelle au cours de laquelle les femelles mettent un unique petit au monde hors de l'eau et l'allaitent durant une période très variable suivant les espèces. Après la période de lactation, au cours de laquelle la femelle s'occupe seule de son unique progéniture, le sevrage est abrupt et le jeune doit apprendre à se nourrir seul. Sa croissance marque temporairement une pause, en raison du temps d'apprentissage.

Chez le phoque commun, les femelles présentent un bref oestrus après le sevrage du jeune, soit deux à six semaines après la mise-bas (entre février et septembre). Comme chez tous les autres pinnipèdes, ainsi que plusieurs autres mammifères, les phoques présentent une implantation retardée. Ce retard d'implantation de un mois et demi à trois mois chez le phoque commun permet une grande régularité annuelle dans la saison de reproduction, malgré une gestation réelle de 9 mois seulement (Ridgway and Harrison, 1981).

1. 3. 6. LA CAPTIVITÉ

Les points positifs du maintien en captivité d'animaux dans des parcs zoologiques sont, entre autres :

- ↳ Un rôle éducatif auprès du public.
- ↳ La conservation d'espèces en voie de disparition avec souvent comme but de réintroduire des individus de ces espèces dans leur milieu naturel.

↳ La recherche scientifique.

Evidemment, maintenir des animaux en captivité présente aussi des **inconvenients** :

- ↳ La restriction de la liberté de mouvement résulte parfois en troubles dits de la captivité tels que les stéréotypies (Eibl-eibesfeldt, 1972). Les stéréotypies peuvent être définies comme des comportements invariants, répétitifs, qui n'ont ni but ni fonction évidents (Gruber *et al.*, 2000). Elles sont observés dans une large gamme de populations, incluant les animaux des parcs zoologiques, les animaux de laboratoires, les animaux de fermes, les êtres humains avec ou sans déficits mentaux. L'origine et le maintien des comportements stéréotypés peuvent être étudiés sous diverses perspectives telles que des perspectives physiologiques, comportementales, environnementales entre autres. Par exemple, un des facteurs environnementaux étudiés est la taille de l'enclos (Lukas, 1999).
- ↳ D'autres troubles importants de la captivité sont les comportements décrits comme anormaux car ne faisant pas partie du répertoire connus des comportements de l'espèce observée, ou car apparaissant inappropriés en temps et fréquence d'exécution (Dantzer, 1986).

En outre, quand un animal sauvage est mis en captivité, son environnement subit des modifications. Le climat et l'ensoleillement peuvent par exemple être différents, cela requiert des ajustements physiologiques. Les changements dans le régime alimentaire et la disponibilité de la nourriture modifient le comportement alimentaire. Des connaissances approfondies du comportement et des besoins de chaque espèce sont indispensables pour assurer des conditions de captivité qui conviennent à l'animal concerné (Mc Farland, 1987).

1. 4. ENDOCRINOLOGIE

1. 4. 1. DEFINITION

Les systèmes endocriniens et nerveux sont les moyens principaux par lesquels le corps des mammifères transmet des informations entre différents tissus et cellules. Cette information résulte en la régulation des fonctions corporelles. Le terme « endocrine » indique des sécrétions internes (libérées par des cellules productrices vers la circulation sanguine) tandis que le terme « exocrine » est utilisé pour des sécrétions vers l'extérieur du corps (libérées par des cellules productrices vers l'extérieur de la peau) (Baulieu, 1978).

Le système endocrinien est basé sur le transfert d'information via des hormones. Une hormone est une substance produite par un tissu glandulaire spécialisé, déversée directement dans la circulation sanguine, et exerçant ses effets sur les tissus cibles (Baulieu *et al.*, 1972 ; Baulieu, 1978).

1. 4. 2. L'HYPHYPHYSE

L'hypophyse est une glande endocrine située sous l'encéphale (ensemble des centres nerveux constitués du cerveau, cervelet et tronc cérébral et contenus dans la boîte crânienne) (Idelman, 1990). Les connexions endocrines des centres nerveux supérieurs du système nerveux central et de l'hypophyse sont peu détaillées chez les mammifères marins, et sont présumées fonctionner sur un mode similaire à celui des autres mammifères. L'organisation de l'hypophyse montre des régions comparables aux tige pituitaire, lobe postérieur, lobe

antérieur et lobe tubéral (Dierauf and Gulland, 2001). L'hypophyse est constituée de la neurohypophyse ou hypophyse postérieure et de l'adénohypophyse ou hypophyse antérieure.

La neurohypophyse libère l'hormone antidiurétique et l'ocytocine produits par l'hypothalamus (situé à la base du cerveau). L'adénohypophyse sécrète des hormones en réponse à la stimulation d'hormones hypothalamiques, elle comprend cinq types de cellules sécrétoires : des cellules somatotropes sécrétant l'hormone de croissance ; des cellules lactotropes sécrétant la prolactine (impliquée dans la production du lait) ; des cellules thyrotropes sécrétant la TSH (Thyroid Stimulating Hormone) ; des cellules gonadotropes sécrétant la LH (Luteinising Hormone) et la FSH (Follicle Stimulating Hormone) ; des cellules corticotropes sécrétant la POMC (ProOpioMelanoCortin) dont le clivage donne la MSH (Melanocytes Stimulating Hormone), la bêta-LH (bêta-Lipoproteic Hormone, action lypolytique) et l'ACTH (AdrenoCorticoTropin Hormone) **qui stimule la sécrétion** d'hormones corticosurréaliennes dont le **cortisol**. La sécrétion d'ACTH est stimulée par la CRH (Corticotropin Releasing Hormone) hypothalamique, la demi-vie de l'ACTH dans le plasma est d'environ 25 minutes (Dupouy, 1993 ; Hennen, 2001).

1. 4. 3. LES GLANDES SURRÉNALES

La glande surrénale est une glande endocrine qui joue un rôle central dans les mécanismes régulateurs du métabolisme. Les deux glandes surrénales coiffent le pôle supérieur des reins, l'une à droite et l'autre à gauche.

La glande surrénale des mammifères marins présente la même architecture générale que celle des mammifères terrestres, avec une médullosurrénale entourée par la corticosurrénale. Une différence prédominante est la pseudolobulation du cortex déterminée par des *septa* ou tissu fibreux provenant de la capsule (Dierauf and Gulland, 2001). La médullosurrénale sécrète des catécholamines (adrénaline, noradrénaline, dopamine) et la corticosurrénale sécrète des hormones stéroïdes. Les sécrétions corticosurréaliennes sont sous la dépendance de l'ACTH ; il s'agit de l'aldostérone sécrétée par la partie externe ou zone glomérulée de la corticosurrénale, des androgènes (DHEA ou DéHydroEpiAndrostérone et androstène dione) sécrétés par la partie interne ou zone réticulée, du cortisol sécrété par la partie moyenne ou zone fasciculée (Dupouy, 1993 ; Greenspan and Hall, 1997).

1. 4. 4. LE CORTISOL

1. 4. 4. 1. La synthèse du cortisol

Le cortisol est un stéroïde lipophile de faible poids moléculaire (362 Dalton).

Il est synthétisé à partir du cholestérol. Le cholestérol provient essentiellement du cholestérol plasmatique alimentaire ou est synthétisé dans le foie ; une petite partie du cholestérol est synthétisé par les glandes surrénales elles-mêmes.

La biosynthèse du cholestérol débute par une coupure de la chaîne latérale du cholestérol donnant la prégnénolone. Une oxydation et une isomérisation suivies d'une série d'hydroxylations aboutissent au cortisol (Brook and Marshall, 1998).

1. 4. 4. 2. Le cortisol plasmatique

Le cortisol est véhiculé dans le plasma. Le cortisol plasmatique est en majeure partie lié à des protéines transporteuses. Certaines protéines sont dites spécifiques car elles ne lient que certains stéroïdes bien définis et ceci avec une haute affinité et une faible capacité de liaison. A l'inverse, la liaison à l'albumine est dite non spécifique car cette protéine lie tous les stéroïdes avec une faible affinité et une très grande capacité de liaison. La CBG (Corticosteroid Binding Globulin) ou transcortine est une protéine spécifique, elle lie fortement le cortisol. Lorsque la cortisolémie (taux de cortisol dans le sang) s'élève, la CBG est rapidement saturée et la fraction libre du cortisol (non lié) augmente fortement (Greenspan and Hall, 1997).

Chez les pinnipèdes comme chez les êtres humains, dans les conditions de base, environ 90 % du cortisol est sous forme liée, dont environ 75 % lié à la CBG et le reste lié à l'albumine. Environ 10 % du cortisol circulant est libre. Cette fraction libre, en équilibre continu avec la fraction liée, est la seule fraction biologiquement active. Elle est régulée par l'ACTH (Perlemuter, 2003).

La demi-vie du cortisol dans le plasma est de 70-90 minutes (Perlemuter, 2003).

1. 4. 4. 3. Les effets du cortisol

Le cortisol est indispensable au maintien de la vie. Il intervient dans la plupart des fonctions métaboliques de l'organisme (Oki and Atkinson, 2004).

Le cortisol est une hormone hyperglycémisante. L'effet le plus important du cortisol s'exerce au niveau du foie, où il stimule la gluconéogenèse (synthèse du glucose à partir du substrats non glucidique) en induisant la synthèse d'enzymes intervenant dans ces transformations métaboliques. Les substrats de cette synthèse proviennent essentiellement du catabolisme protéique s'exerçant dans divers tissus : muscles, os, peau, etc. A l'inverse, on observe dans le foie un anabolisme protéique sous l'effet du cortisol. L'ensemble de ces modifications métaboliques tend à augmenter la glycémie. Le cortisol augmente aussi la glycémie en diminuant la consommation de glucose par action antagoniste de l'insuline au niveau du transport membranaire.

Il a aussi des effets sur la répartition des graisses. Il diminue la lipogenèse et augmente la libération d'acides gras libres à partir du tissu adipeux. Il augmente donc les taux plasmatiques d'acides gras libres et du cholestérol.

Le cortisol agit également sur le métabolisme hydro-électrolytique. Il augmente la filtration glomérulaire et l'excrétion de sodium dans les urines. Le cortisol a un effet antagoniste à l'hormone antidiurétique.

Le cortisol a aussi des actions anti-inflammatoire et anti-immunitaire, une action sur l'augmentation de l'acidité gastrique, un effet anti-vitamine D au niveau du tube digestif, un effet anti-allergique ainsi qu'un effet excitateur sur le système nerveux central (Beaulieu, 1978 ; Idelman, 1990 ; Dupouy, 1993 ; Perlemuter, 2003).

1. 4. 4. 4. Le catabolisme du cortisol

Le cortisol est essentiellement catabolisé dans le foie et 90 % des stéroïdes métabolisés sont excrétés par les reins. Le cortisol est modifié avant son excrétion dans l'urine : il est rendu hydrosoluble par conjugaison hépatique afin de faciliter son élimination dans les urines ;

moins de 1 % du cortisol sécrété reste non-modifié (non conjugué) dans l'urine (Brook and Marshall).

1. 4. 5. LE CONTRÔLE DE LA SÉCRÉTION DES HORMONES CRH, ACTH ET CORTISOL

Les concentrations de cortisol chez les mammifères terrestres diurnes augmentent le matin et diminuent le soir et les concentrations cortisoliques chez les animaux nocturnes montrent le modèle contraire. La sécrétion du cortisol est contrôlée par les rythmes de sommeil-éveil plutôt que par d'autres facteurs environnementaux (Orth *et al.*, 1967 in Suzuki *et al.*, 2003 ; Luboshitzky, 2000 in Suzuki *et al.*, 2003).

La sécrétion de cortisol est contrôlée par un effet rétroactif négatif (ou *feedback* négatif). En effet, le cortisol libre du plasma exerce un effet inhibiteur sur la réponse de l'adénohypophyse à la CRH, et inhibe aussi la sécrétion de CRH directement au niveau de l'hypothalamus (Hennen, 2001).

La sécrétion de cortisol intervient aussi en réponse à un stress. Par exemple, les concentrations urinaires de cortisol chez des chats domestiques augmentent lorsque les chats sont soumis à des stress consistant en changements de cage, entraves physiques et piqûres de la veine jugulaire (Carlstead, 1992).

La réponse au stress commence au niveau du système nerveux central : les voies neurales acheminent la perception d'un stimulus stressant entraînant une réponse qui est initiée au niveau de l'hypothalamus. Cette réponse résulte en la libération de la CRH. Cette hormone stimule la sécrétion d'ACTH, qui circule dans le sang jusqu'aux glandes surrénales et stimule la libération de cortisol. Lors de stress, l'influence positive du système nerveux central sur la sécrétion d'ACTH devient prédominante et l'hypersécrétion de CRH et d'ACTH n'est plus modulée par des changements physiologiques de la concentration de cortisol plasmatique.

L'activation du système prend plusieurs minutes. La réponse optimale de cortisol a lieu vingt à quarante minutes après l'apparition des événements de stress. Le retour à des niveaux cortisoliques de base a lieu dans les quarante à soixante minutes voire 120 minutes suivant l'arrêt de l'exposition aux stressseurs (Elzinga and van Stegeren, 2002 ; Dickerson and Kemeny, 2002 in Kemeny, 2003 ; Zarkovic *et al.*, 2003).

1. 4. 6. LE RYTHME DE SÉCRÉTION DU CORTISOL

1. 4. 6. 1. Le rythme de base

La régulation de la CRH par les centres supérieurs du système nerveux central comporte une horloge réglant un rythme circadien, les taux les plus élevés de cortisol et d'ACTH étant observés en fin de nuit et à l'aube, les plus bas au cours de l'après-midi chez les mammifères diurnes comme le phoque commun (Gardiner and Hall, 1997 in Dierauf and Gulland, 2001 ; Oki and Atkinson, 2004).

Chez le grand dauphin de l'Indo-pacifique (*Tursiops aduncus*), les niveaux de cortisol sériques montrent les mêmes variations épisodiques sur 24 heures que chez les mammifères terrestres diurnes : les niveaux de cortisol sont plus bas à 18 heures et plus élevés à l'aube (Suzuki *et al.*, 2003). Chez l'orque épaulard (*Orcinus orca*), les concentrations de cortisol sont significativement plus élevées le matin que le soir (Suzuki *et al.*, 1998).

Des sécrétions de cortisol et d'ACTH se produisent par bouffées (pulses) de courte durée (quelque dizaines de minutes) se superposant aux variations circadiennes. Les bouffées sécrétoires du cortisol entraînent des oscillations de la cortisolémie (Brook and Marshall, 1998).

Le rythme circadien du cortisol est donc surimprimé de sécrétions épisodiques, résultats d'événements du système nerveux central qui régule le nombre et l'amplitude des épisodes sécrétoires de CRH et d'ACTH (Greenspan and Hall, 1997).

1. 4. 6. 2. Les variations du rythme de sécrétion

Bien que le modèle général du rythme de base de sécrétion du cortisol soit correct, il comporte des variabilités intra- et interindividuelle considérables ; cela signifie que le rythme circadien peut être altéré, notamment par des événements stressants, des changements dans les heures de sommeil, l'exposition à la lumière, les heures de repas, la reproduction ou la mue (Idelman, 1990).

Par exemple, chez des phoques de Weddel (*Leptonychotes weddelli*) non-captifs, Barrel et Montgomery n'ont pas observé de modèle circadien de sécrétion du cortisol sanguin dans des conditions naturelles d'ensoleillement continu (Barrel and Montgomery, 1988). Oki et Atkinson n'observent pas de cycle circadien en hiver à cause du peu d'ensoleillement, au contraire de l'été (Oki and Atkinson, 2004). En effet, chez les mammifères, il y a un lien direct entre la photopériode et la sécrétion hormonale hypophysaire.

Des fluctuations annuelles des taux de cortisol ont été mises en évidence chez l'orque épaulard (*Orcinus orca*), la femelle montrant des variations cycliques des concentrations cortisoliques à des intervalles de 4 mois et le mâle présentant des concentrations cortisoliques plus élevées en hiver qu'en été (Suzuki *et al.*, 2003).

De même, des phoques communs en milieu naturel peuvent présenter des différences de taux entre l'été et l'hiver telles qu'une absence de rythme circadien en hiver, cela peut être corrélé à des différences de durée d'ensoleillement (Oki and Atkinson, 2004). Les phoques communs sauvages montrent aussi des variations saisonnières significatives des niveaux cortisoliques, variations corrélées avec la reproduction et la mue : les niveaux sont plus bas durant les périodes de reproduction et de mue qu'aux autres moments de l'année (Gardiner and Hall, 1997 in Dierauf and Gulland, 2001). Par contre, des différences saisonnières des taux de cortisol ne sont pas prouvées chez les phoques captifs (Dierauf and Gulland, 2001).

1. 4. 7. LE STRESS

Le stress est une notion complexe, dont de nombreuses définitions existent. La définition, ci-dessous, proposée par Lazarus et Folkman, reprise ensuite par Kemeny semble claire et bien adaptée à une étude chez les animaux.

Le terme stress fait référence à un stimulus, une réponse à un stimulus ou aux conséquences physiologiques de cette réponse. Les « stressseurs », ou expériences de vie stressante, sont définis comme des circonstances qui menacent un but majeur, incluant le maintien de l'intégrité physique ou psychique d'un animal (Lazarus and Folkman, 1984 in Kemeny, 2003). Les stressseurs sont physiques : l'infection, le traumatisme, la sous-nutrition ; et psychologiques : l'isolation sociale ou la place dans la hiérarchie par exemple. Un « distress », ou détresse, est une réponse psychologique négative à des « stressseurs » et peut inclure une variété d'états affectifs et cognitifs, tels que l'anxiété (Kemeny, 2003).

1. 4. 7. 1. La réponse au stress

La réponse au stress permet à l'organisme de résister aux menaces immédiates de son équilibre physiologique et homéostatique (Sapolsky, 1990).

L'exposition à des situations de stress conduit, en plus de la sécrétion de cortisol, à la libération d'adrénaline et de noradrénaline, par la médullosurrénale. La réponse hormonale de la médullosurrénale est très rapide, elle peut en effet être activée endéans quelques secondes. Les taux sanguins d'adrénaline retournent à la normale en l'espace de quelques secondes (Elzinga and van Stegeren, 2002).

La réponse au stress prépare le corps pour "le combat ou la fuite" ("fight or flight"). Le glucose, source d'énergie, est mobilisé à partir des sites de stockage. Le sang, qui transporte le glucose et l'oxygène, est détourné des organes qui ne sont pas essentiels à l'effort physique, tels que la peau et l'intestin, et est délivré préférentiellement aux organes cruciaux, le cœur, les muscles et le cerveau. Le changement du flux sanguin s'accomplit en partie par constriction de capillaires sanguins, dilatation d'autres capillaires et augmentation du rythme cardiaque. La cognition est aiguë (sans doute pour faciliter le traitement de l'information), et la perception de la douleur est atténuée. Les activités physiologiques qui ne procurent pas un bénéfice immédiat sont différées; la croissance, la reproduction, l'inflammation et la digestion, tous les processus coûteux sont inhibés (Sapolsky, 1990).

La poussée d'adrénaline autorise généralement un stockage plus efficace de l'information tandis que les taux accrus de cortisol semblent être liés à un dysfonctionnement de la mémoire (études animales et humaines) (Elzinga and van Stegeren, 2002; Tops *et al.*, 2003).

1. 4. 7. 2. Le stress chronique

L'exposition aux situations stressantes s'accompagne d'une hausse du cortisol. Normalement, elle est freinée après un certain temps par rétrocontrôle négatif, afin d'éviter que la réaction de stress ne provoque un état d'épuisement.

En général, les taux de cortisol reviennent à la normale après disparition du facteur stressant. Néanmoins, le stress chronique détermine une hausse prolongée des taux cortisoliques (Elzinga and van Stegeren, 2002).

L'activation chronique de la réponse au stress peut endommager la santé de diverses façons. Si le glucose est constamment mobilisé au lieu d'être stocké, des tissus sains peuvent s'atrophier et la fatigue s'installer.

Les changements cardiovasculaires favorisent l'hypertension, qui peut être néfaste pour le cœur, les vaisseaux sanguins et les reins.

De plus, quand des processus métaboliques sont différés indéfiniment, le corps subit notamment un ralentissement de la croissance et de la réparation tissulaire, un risque augmenté d'ulcère et une diminution de la fertilité et de la fonction immunitaire (Sapolsky, 1990). Ce dernier point, la diminution des capacités des fonctions immunitaires est la conséquence notamment de la réduction des niveaux des lymphocytes circulants, de l'inhibition des fonctions de ces cellules immunitaires telles que la capacité à proliférer quand elles sont exposées à des substances étrangères (Ader, Felten and Cohen, 2001 in Kemeny, 2003) et des effets supprimeurs potentiels du cortisol sur les cellules immunitaires.

Le cortisol peut, en effet, inhiber la production de certaines cytokines (médiateurs chimiques libérés par les cellules immunitaires pour réguler les activités d'autres cellules immunitaires).

L'exposition à certains stressseurs psychologiques peut au contraire augmenter les niveaux de cytokines circulantes qui promeuvent l'inflammation, conduisant à une inflammation inappropriée en dehors d'un contexte normal d'infection, sans doute parce que des expériences stressantes peuvent réduire la sensibilité des cellules immunitaires aux effets inhibiteurs du cortisol (Miller *et al*, 2002 in Kemeny, 2003).

La diminution des capacités de la fonction immunitaire résulte en une plus grande vulnérabilité aux infections.

Les facteurs de stress environnementaux persistants peuvent conduire à des altérations de la structure surrénalienne, suivies par des déséquilibres hormonaux. Suite à un stress à long terme ou à une sommation de stressseurs, une transformation progressive de la structure du cortex surrénalien est possible.

Ces altérations sont perçues comme des adaptations fonctionnelles de l'organisme. Quand les capacités d'adaptation du corps sont à leur limite, les altérations surrénaliennes évoluent en une insuffisance corticale aigüe caractérisée par une diminution des lipides surrénaliens, des hémorragies, de la nécrose cellulaire, et enfin un arrêt circulatoire (Bragulla, 2004).

1. 5. LA SALIVE COMME OUTIL DE DOSAGE DU CORTISOL

1. 5. 1. UN ÉCHANTILLONNAGE MOINS TRAUMATISANT

Les techniques d'échantillonnage moins traumatisantes (« less invasive ») sont en plein essor dans de nombreux domaines de la biologie, notamment sous des pressions éthique. Dans le cadre de l'endocrinologie, on sait qu'il est possible de mesurer le taux de nombreuses hormones dans la salive, les urines, les fèces et la transpiration notamment, en lieu et place des traditionnelles prises de sang. Pour étudier une hormone de stress (cortisol), le choix de mettre au point des méthodes d'échantillonnage moins traumatisantes n'est pas tant un problème éthique qu'un problème de validité des résultats.

En effet, un échantillonnage sanguin cause lui-même du stress, une méthode non traumatisante pour la détermination du cortisol est donc un prérequis nécessaire pour éviter de biaiser les résultats lors du prélèvement (Möstl, 2003). En ce qui concerne cette étude, la collecte de données concernant le profil endocrinien repose sur la récolte de salive. Le dosage hormonal effectué dans la salive représente une alternative attractive en tant que technique moins traumatisante, largement utilisée avec succès notamment chez les êtres humains et les chiens (Kirschbaum and Hellhammer, 1989 ; Beerda *et al.*, 1996).

Les prélèvements de salive doivent être bien acceptés par les animaux afin que les données soient valides et non biaisées par un stress lié à la récolte. La collecte de salive chez des animaux requiert un contrôle comportemental bien établi (Dierauf and Gulland, 2001).

En effet, le stress peut agir sur les taux salivaires de l'hormone détectée, le cortisol (Kemeny, 2003).

L'échantillonnage de salive comporte beaucoup d'avantages par rapport à l'échantillonnage sanguin. Entre autres, la salive peut être collectée sans blesser la peau ou entrer dans le corps d'une autre manière (Hofman, 2001).

Les prélèvements de salive doivent être bien acceptés par les animaux afin que les données soient valides et non biaisées. La collecte de salive requiert un contrôle comportemental bien

établi (Dierauf and Gulland, 2001). En effet, le stress des animaux peut agir sur les taux salivaires de l'hormone détectée, le cortisol (Kemeny, 2003). Les concentrations de cortisol reflètent les effets de stress variés et un échantillonnage sanguin cause lui-même du stress, une méthode non traumatisante pour la détermination du cortisol est donc un prérequis nécessaire pour évaluer le stress (Möstl, 2003).

L'échantillonnage de salive comporte beaucoup d'avantages par rapport à l'échantillonnage sanguin. La salive peut être collectée sans blesser la peau ou entrer dans le corps d'une autre manière (Hofman, 2001).

1. 5. 2. LA SALIVE COMME OUTIL DE DOSAGE DU CORTISOL

Le cortisol libre entre dans les cellules par diffusion passive grâce à son faible poids moléculaire (362 Dalton) et sa nature lipophile. Cette propriété de diffusion passive rend possible la mesure de la fraction de cortisol libre, la seule active, dans tous les fluides corporels, dont la salive (Read, 1989 in Hofman, 2001). La concentration en cortisol libre dans la salive reflète son niveau dans le sang (avec un rapport de l'ordre de 100 fois moins dans la salive). De nombreuses études (Diagnostic Systems Laboratories in Hofman, 2001; Riad-Fahmy et al., 1982 in Hofman, 2001; Beerda et al., 1996) ont montré des corrélations élevées entre les taux dans les deux fluides : $r > 0.90$. Toutefois, la corrélation entre les niveaux totaux de cortisol (libre et lié) dans le sang et dans la salive est généralement plus faible, à cause des quantités variables de CBG trouvée dans le sang. Les niveaux de cortisol dans la salive ne dépendent pas du flux salivaire.

1. 6. LES HYPOTHÈSES

Afin d'obtenir des informations sur le maintien de phoques communs en captivité, les hypothèses suivantes sont testées :

1. Les niveaux sanguins de cortisol chez des mammifères marins captifs, tels que des grands dauphins de l'Indo-Pacifique (*Tursiops aduncus*) (échantillons pris au printemps et en été) et des orques épaulards (*Orcinus orca*) (échantillons pris en hiver), sont plus élevés le matin que le soir, indiquant un rythme circadien (Suzuki *et al.*, 2003).
Un rythme circadien de la sécrétion de cortisol a aussi été démontré chez des phoques communs captifs par la comparaison entre le matin (minuit à midi) et le soir (midi à minuit) des taux de cortisol d'échantillons sanguins prélevés durant l'été.
HYPOTHESE : Les niveaux salivaires de cortisol des phoques communs en captivité au parc zoologique de Cologne suivent un rythme circadien avec des taux plus élevés le matin que l'après-midi.
2. Chez des mammifères terrestres, les concentrations sériques de cortisol peuvent fluctuer suite à des variations de facteurs physiologiques et environnementaux et généralement augmentent durant les saisons froides puisque le cortisol peut être sécrété en réponse à une demande énergétique (Pääkönen and Leppäluoto, 2002). Des variations saisonnières ont aussi été rapportées chez des mammifères marins. Ainsi, les niveaux de cortisol sanguins chez des grands dauphins de la mer Noire (*Tursiops truncatus ponticus*) non-captifs sont plus élevés au printemps-été qu'en automne-hiver (Orlov *et al.*, 1988 in Suzuki *et al.*, 2003). Chez des orques épaulards (*Orcinus orca*) captifs, les mâles présentent des concentrations sanguines de cortisol plus élevées en hiver qu'en été (Suzuki *et al.*, 2003).

HYPOTHESE : Les concentrations salivaires de cortisol des phoques communs en captivité au parc zoologique de Cologne sont plus élevées en hiver qu'au printemps.

3. Les concentrations en cortisol d'un individu peuvent augmenter suite à son exposition à des événements stressants. Par exemple, le stress induit par le confinement chez des agneaux est corrélé à une augmentation des concentrations urinaires de cortisol (Berman *et al.*, 1980). Cependant, les concentrations sanguines de cortisol chez des grands dauphins (*Tursiops truncatus*) sauvages (prélèvements une heure après la capture) ne diffèrent pas de celles de grands dauphins semi-domestiqués (Saint-Aubin *et al.*, 1996). Chez des pinnipèdes tels que des phoques de Weddel mâles sauvages, le changement de compétition s'accompagne d'une augmentation passagère des concentrations sériques de cortisol (Bartsh *et al.*, 1991).

HYPOTHÈSE : Les phoques communs étudiés dans ce mémoire sont soumis à divers situations de stress tels que le confinement dans le petit bassin, d'éventuelles interactions agonistiques, la présence des visiteurs ; une augmentation des concentrations salivaires de cortisol est corrélée à ces stress.

4. Les stéréotypies semblent se développer en conséquence au stress dû à l'incapacité d'animaux captifs à contrôler leur environnement (Gruber *et al.*, 2000). Suite à l'introduction d'éléphants d'Asie (*Elephas maximus*) dans un groupe existant, sur quatre éléphants testées, un individu montrait une corrélation positive entre la quantité de stéréotypies et les concentrations urinaires de cortisol et un autre individu montrait une corrélation négative entre la locomotion et les concentrations cortisoliques (Schmid and Heisterman, 2001).

HYPOTHÈSE : Les taux de cortisol de chaque phoque sont corrélés aux caractéristiques comportementales, tels que les stéréotypies et les interactions. Les phoques les plus agités présentent des taux de cortisol différents de ceux des phoques plus calmes, par exemple un individu sautant plus souvent pour attraper un poisson qui ne lui est pas destiné, peut être considéré comme plus agité.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2. 1. LES SUJETS DE L'ÉTUDE

Les animaux étudiés sont des pinnipèdes phocidés de l'espèce *Phoca vitulina* ou phoque commun. Les phoques de ce parc zoologique (Cologne, Allemagne) sont au nombre de huit. Ce sont tous des mâles non castrés, six adultes et deux juvéniles (immatures).

Nom	Année de naissance	Éléments de reconnaissance visuelle pour l'observateur
Marko	1982	ventre clair et légèrement tâcheté
Sam	1994	ventre clair et fortement tâcheté
Henry	1997	tâche noire sur le côté droit du ventre
Bill	1998	pelage le plus sombre, presque noir
Malte	1999	pas de queue (suite à une blessure)
Nick	1999	pelage sombre
Luca	2002	cicatrice sur l'œil droit
Enzo	2003	le plus petit

Tableau 1 : Description des phoques étudiés.

L'ensemble des individus sont inclus dans plusieurs programmes de recherche de l'équipe de l'Université de Bochum (Dr G. Dehnhardt), portant essentiellement sur les perceptions visuelles et auditives. Ils sont de ce fait soumis à divers entraînements quotidiens. Ils sont donc parfaitement habitués aux interactions avec l'homme.

2. 2. LES BASSINS

Les phoques sont hébergés dans un complexe de bassin. Les bassins sont au nombre de quatre : le bassin principal et trois bassins plus petits. Les phoques ne sont maintenus que rarement dans le petit bassin gauche, par exemple lors du nettoyage des autres bassins et lors de quelques travaux de recherche. Les bassins ont des passages communicants. En dehors des expériences, les phoques sont dans le grand bassin et le petit bassin de droite. Lors des expériences, les phoques qui ne travaillent pas sont généralement maintenus dans un des petits bassins.

2. 3 CALENDRIER D'ÉCHANTILLONNAGE

La récolte des données dans le cadre de ce travail a été réalisée de janvier à juin 2005, outre quelques observations comportementales préliminaires en août 2004.

mois	nombre de jours
août-04	2
janv-05	3
févr-05	1
mars-05	6
avr-05	7
mai-05	6
juin-05	2

Tableau 2 : Récolte des données comportementales.

Les données comportementales ont été récoltées sur un total de 24 journées entre huit heures et vingt heures trente.

mois	nombre de jours	nombre de séries de prélèvements salivaires récoltés
janv-05	3	3
févr-05	1	1
mars-05	6	8
avr-05	7	10
mai-05	6	8
juin-05	2	5

Tableau 3 : Récolte de salive.

Un total de 258 échantillons de salive ont été récoltés.

2. 4. LES MANIPULATIONS DES ANIMAUX

Les manipulations de routine d'ordre médical consiste en une vérification sommaire de l'intégrité physique de l'animal. Elles sont réalisées quotidiennement sur chaque individu.

La fréquence des manipulations liées aux expériences de recherche en cours est variable selon les besoins de l'expérience et concerne uniquement un ou quelques individus spécialement entraînés pour cette expérience.

Les manipulations liées aux prélèvements de salive effectués dans le cadre de ce mémoire se sont déroulées une ou deux fois par jours lors de mes jours de présence (voir le calendrier ci-dessous et excepté le 15 juin où quatre échantillons ont été pris) sur chacun des huit individus.

Ces diverses manipulations se basent sur le principe du conditionnement opérant. Le conditionnement est la création de réflexes conditionnés, c'est à dire de réactions à des stimulations primitivement sans action sur le sujet (exemple de l'expérience de Pavlov dans laquelle le chien salive suite aux tintements d'une cloche si ce stimulus est rattaché au stimulus non conditionné de la présentation de viande). Le conditionnement opérant défini par Skinner introduit dans le processus la distribution d'une récompense (telle que la nourriture) lorsque l'animal aura atteint l'objectif escompté. La réponse ne dépend donc pas du stimulus conditionné mais elle est émise par le sujet. Dans le premier cas (Pavlov) l'animal subit la réponse et dans le second (Skinner) il agit sur son milieu.

Les manipulations utilisent notamment les éléments classiques chez les pinnipèdes (et souvent chez les cétacés aussi), tels que le poing fermé (*target*) que l'animal doit toucher du museau et qui a pour but de le maintenir à un endroit précis, l'index levé auquel l'animal réagit en stoppant ses déplacements, le bras le long du corps avec la paume de la main ouverte indique à l'animal d'approcher, l'ouverture de la main lorsqu'elle est tenue près du museau de l'animal lui signale qu'il doit ouvrir la gueule.

2. 5. L'ÉCHANTILLONNAGE HORMONAL

2. 5. 1. TEST PRÉLIMINAIRE DU PROTOCOLE DE RÉCOLTE SALIVAIRE

Le protocole de récolte de la salive a été initialement testé en janvier et février 2005 afin de repérer les éventuels problèmes. Le principal point à vérifier était de voir si la quantité de salive récoltée après centrifugation était suffisante (500 μ l) pour pouvoir effectuer un dosage RIA du cortisol en double. La quantité de salive était suffisante dans plus de 90% des échantillons (n= 23) que nous avons récoltés lors des tests préliminaires.

Les huit individus du groupe des phoques ont été échantillonnés avec la même fréquence et avec le but de tester les mêmes hypothèses.

2. 5. 2. LE SUPPORT D'ÉCHANTILLONNAGE

La manière idéale de récolter la salive est soit de faire volontairement « cracher » l'individu étudié (facile chez l'homme), soit d'aspirer directement la salive dans la bouche à l'aide d'une pipette ou une seringue adaptée. Malheureusement, ceci n'est pas possible chez la plupart de animaux. Dans ce cas, on procède en absorbant la salive sur un support placé dans la bouche. Le support le plus fréquemment utilisé est un rouleau de coton (de type rouleau de coton dentaire) de taille adaptée à la bouche de l'animal, et tenu d'une manière la moins contaminante possible (gants en latex, pince, tige en bois ou en plastique souple).

Dans ce mémoire, la salive est récoltée sur coton (rouleau de coton compris dans les Salivettes, référence 51.1534, Sarstedt, De, ou rouleau de coton dentaire, ABC Dental). Le coton est manipulé dans la bouche de l'animal grâce à un manchon : tube en plastique souple au diamètre comparable à celui des rouleaux de cotons et dans lequel le coton est

partiellement enfoncé. Ce type de support permet une récolte sans risquer de blesser la bouche de l'animal (pas d'éléments durs) mais limite aussi la prise du coton dans les doigts du manipulateur. Le coton est retiré du tube de plastique à l'aide d'une pince à épiler. Il est replacé dans la salivette. Le tube est séché et essuyé à l'aide d'un morceau de papier kleenex, de même que la pince à épiler.

2. 5. 3. LE PROTOCOLE D'ÉCHANTILLONNAGE



L'individu est appelé hors du bassin et se tient immobile devant la personne qui va effectuer le prélèvement. l'ouverture de la bouche est demandée et le coton est frotté doucement dans la cavité buccale, préférentiellement sur l'intérieur des joues. Le phoque doit fermer sa gueule quelques instants (d'une vingtaine de seconde à une minute) afin d'imprégner suffisamment le coton de salive (0.5 à 1 ml). Ensuite, il l'ouvre de nouveau et on enlève le tube et coton. Le phoque est récompensé par des morceaux de poisson puis retourne dans l'eau.

Il faut quelquefois recourir à un stimulant du flux salivaire tel que l'acide citrique (le rouleau de coton est imprégné d'acide citrique, Brock, 2004), dans ce cas il est plus prudent de faire précéder le dosage par une étape d'extraction. Je n'ai pas eu besoin d'utiliser ce stimulant avec les phoques puisqu'ils salivent suffisamment pour échantillonner.

Les sources potentielles de contamination sont les suivantes :

- ↪ Par un aliment : les phoques sont récompensés au cours de la journée par des portions de poissons dont le contenu en cortisol et/ou en composants de nature comparable susceptibles de fausser le dosage du cortisol salivaire est non négligeable (Heinen, pers. comm. 2005). Pour éviter ce type de contamination, l'individu ne doit pas avoir absorbé de nourriture endéans la demi-heure avant l'échantillon afin d'éviter de présenter des niveaux de cortisol faussement élevés. Certains médicaments interfèrent aussi avec les niveaux de cortisol salivaires, il est important d'en tenir compte (Kirshbaum, 1982).
- ↪ Par du lait : ceci ne concerne que les jeunes en période de lactation.
- ↪ Par du sang : si l'animal échantillonné présente une petite blessure quelconque dans la cavité buccale, un peu de sang peut teinter la salive de rose, or les niveaux d'analytes tels que le cortisol sont plus élevés dans la circulation générale que dans la salive.
- ↪ Par de l'eau : les pinnipèdes en captivité passant beaucoup de temps dans l'eau de leur bassin, il arrive qu'ils se présentent pour l'échantillonnage avec la bouche dégoulinante d'eau. S'il est difficile de définir précisément quel contaminant se trouve dans l'eau, il est clair par contre que la concentration en cortisol salivaire (en ng par unité de volume de liquide) peut s'en trouver artificiellement diminuée (dilution).

2. 5. 4. LA CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons de salive sur support coton sont placés dans un double tube (Salivette, Sarstedt) dont le tube intérieur présente un fond percé et dont le tube extérieur est fermé de manière étanche pour éviter toute dessiccation (danger de modification de la concentration en analytes). Le fond percé permettra la récolte de salive dans le tube externe via une centrifugation. (Une autre façon de récupérer la salive absorbée sur le coton est la compression de celui-ci dans une seringue de diamètre adapté.)

Le cortisol salivaire est stable à température ambiante pendant une période allant de deux à quatre semaines : même après quatre semaines sans réfrigération, un échantillon salivaire donne le même niveau de cortisol qu'après un dosage immédiat ou qu'avec des échantillons réfrigérés (Kirschbaum, website). Cependant, pour éviter les moisissures et la prolifération bactérienne, les échantillons de salive sont stockés à au moins -20° Celsius. La réfrigération n'est pas requise lors du transport des échantillons lorsqu'il n'excède pas deux à quatre semaines. Les congélations et décongélations des échantillons n'affectent pas les niveaux cortisoliqes (Abigail Caudron, pers. comm. 2005).

2. 5. 5. DOSAGE DU CORTISOL LIBRE SALIVAIRE

Le dosage du cortisol salivaire a été effectué par mes soins au Laboratoire de Physiologie de la Reproduction (Professeur J.F. Beckers, Dr J. Sulon) de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l' Université de Liège (ULg).

Après dégel à température ambiante, les doubles tubes contenant les cotons imbibés de salive sont d'abord centrifugés à 3500 tpm pendant quinze minutes afin d'extraire un maximum de salive des cotons vers le tube externe.

La concentration en cortisol peut s'effectuer de manière similaire dans les différents fluides (sang, salive, urine notamment), moyennant quelques adaptations. Une méthode bien au point depuis 1977 est le dosage par radio-immunologie (Sulon, 1977).

Le principe de cette méthode repose sur la compétition entre des antigènes marqués et non-marqués vis-à-vis d'un anticorps spécifique à cet antigène non-marqué, dans le cas présent, le cortisol. Les concentrations en antigène marqué et en anticorps sont constantes et connues (composants ajoutés lors du dosage). Une augmentation de la concentration en antigène (cortisol, présent dans l'échantillon en concentration inconnue) entraîne une augmentation de la concentration du complexe antigène non marqué-anticorps qui se forme au détriment du complexe antigène marqué-anticorps. On ne conserve ensuite que le complexe antigène-anticorps, les portions libres (marquées ou non) de l'antigène étant éliminées. La quantité de complexe marqué (quantifiable grâce au marquage radioactif détectable à l'aide d'un compteur Gamma) sera d'autant plus faible que la quantité d'antigène non-marquée (cortisol présent dans l'échantillon) était élevée au départ. En se référant à une courbe standard, que l'on réalise en parallèle à chaque dosage, avec des concentrations d'antigène non marqué (cortisol commercial) connues, on peut aisément déterminer la concentration en cortisol présente à l'origine dans l'échantillon, en comparant la quantité de complexe marqué qui subsiste en fin de dosage.

2. 6. L'ÉCHANTILLONNAGE COMPORTEMENTAL

2. 6. 1. DÉFINITION

- 1. L'échantillonnage continu ou *ad libitum*** consiste à enregistrer la succession de tous les événements comportementaux, pour un individu donné pendant une assez longue période. Un tel échantillonnage permet de quantifier la structure du comportement individuel dans l'espace et dans le temps, par la fréquence, la durée et les fréquences de transition des unités motrices, ainsi que leurs localisations spatiales (Altman, J., 1974 in Mc Farland, D., 2001). Il permet entre autre d'établir un éthogramme du groupe d'individus observés. Un éthogramme est un inventaire des mouvements communs à tous les individus du groupe étudié (Guyomarc'h, 1980). On choisit des unités de comportements qui ne sont ni trop petites ni trop pauvres en caractéristiques pour pouvoir être distinguées, mais qui ne sont pas cependant trop grandes, donc peut-être trop variables. La description d'un mode de comportement doit idéalement rendre compte de chaque détail de l'action mais c'est rarement le cas en pratique car l'observateur néglige ce qui lui paraît sans importance (Eibl-eibesfeldt, 1972).
- 2. L'échantillonnage par balayage ou *scan sampling*** consiste à réaliser une série d'instantanés des événements observables, à intervalle de temps identiques pour tous les individus observés, tel la localisation au temps t de tous les animaux visibles dans l'aire d'étude. Puisque cela prend un certain temps d'effectuer chaque scan, il faut toujours commencer du même endroit et scanner dans la même direction afin de réaliser des observations le plus standardisées possibles. L'avantage de ce type d'échantillonnage est de pouvoir simultanément récolter des données sur plusieurs animaux. Cependant, une marge d'erreur est possible car les individus peuvent changer d'endroit dans le délai qui sépare le premier et le dernier animal considérés. L'échantillonnage par balayage est généralement utilisé pour étudier des comportements non-sociaux, la synchronisation de comportements et la distribution spatiale des individus au sein d'un milieu (Altman, J., 1974 in Mc Farland, D., 2001).
- 3. L'échantillonnage centré ou *focal sampling*** consiste en une focalisation de l'observation sur un animal en particulier pendant une période donnée, puis sur un autre, pendant la même période, et ainsi de suite avec tous les animaux observables. Pour chaque sujet, on enregistre de manière exhaustive le flux comportemental, c'est-à-dire la succession dans le temps des différents comportements. Lorsque l'ensemble des animaux a été échantillonné, on peut recommencer dans le même ordre ou dans un autre ordre. Afin d'éviter de biaiser les données en sélectionnant un animal qui est particulièrement visible ou qui fait quelque chose de particulièrement intéressant, on peut par exemple travailler avec une liste de tous les animaux étudiés et commencer avec chaque animal de la liste tour à tour. L'échantillonnage focalisé permet une observation précise des événements pour chaque sujet mais un seul animal est échantillonné à la fois. L'échantillonnage focalisé est utilisé entre autre pour mesurer des taux ou des durées de certaines activités, par exemple pour établir un budget d'activité. Ce n'est pas un bon outil de mesure pour évaluer des comportements synchronisés (Altman, J., 1974 in Mc Farland, D., 2001).

4. L'échantillonnage toute occurrence enregistre tous les items d'un comportement donné exécuté durant une période de temps donnée. Bien que l'échantillonnage toute occurrence puisse être utilisé pour suivre un seul animal, il est plus fréquemment utilisé pour l'observation de plusieurs individus.

Cette méthode d'échantillonnage permet d'accumuler des données sur plusieurs individus bien qu'il puisse être difficile d'être attentif à ce que chaque animal fait.

L'échantillonnage toute occurrence est utilisé notamment pour quantifier des taux de comportements et la synchronie d'actions par différents individus (Altman, J., 1974 in Mc Farland, D., 2001).

2. 6. 2. PROCÉDURE

2. 6. 2. 1. L'échantillonnage continu

L'échantillonnage continu a été réalisé avec pour but d'établir un éthogramme.

2. 6. 2. 2. L'échantillonnage focal

Les échantillonnages focaux ont une durée de dix minutes.

Les observations sont réparties tout au long de la journée, de huit heures à vingt heures trois quart.

Les observations ont été effectuées essentiellement durant les mois d'avril, mai et début juin car les journées étant plus longues (et le budget limité) permettaient la reconnaissance des phoques lors des observations en soirée.

2. 6. 2. 3. L'échantillonnage par balayage

Les scans sont réalisés entre les observations focales, ils sont utiles pour situer les animaux individuellement mais aussi pour étudier l'éventuelle association d'individus.

Pour étudier la répartition des phoques dans l'espace, je me suis intéressée aux périodes où ils étaient maintenus dans le complexe de piscine constitué par le grand bassin, le petit bassin de droite et le petit bassin situé à l'avant gauche.

J'ai divisé l'ensemble de ces bassins en cinq parties (voir schéma des bassins):

- de l'avant vers l'arrière, le grand bassin comporte trois régions (BA, BB et BC) ;
- le petit bassin de droite (bd) ;
- le petit bassin à l'arrière gauche (bg).

2. 6. 2. 4. L'échantillonnage au hasard

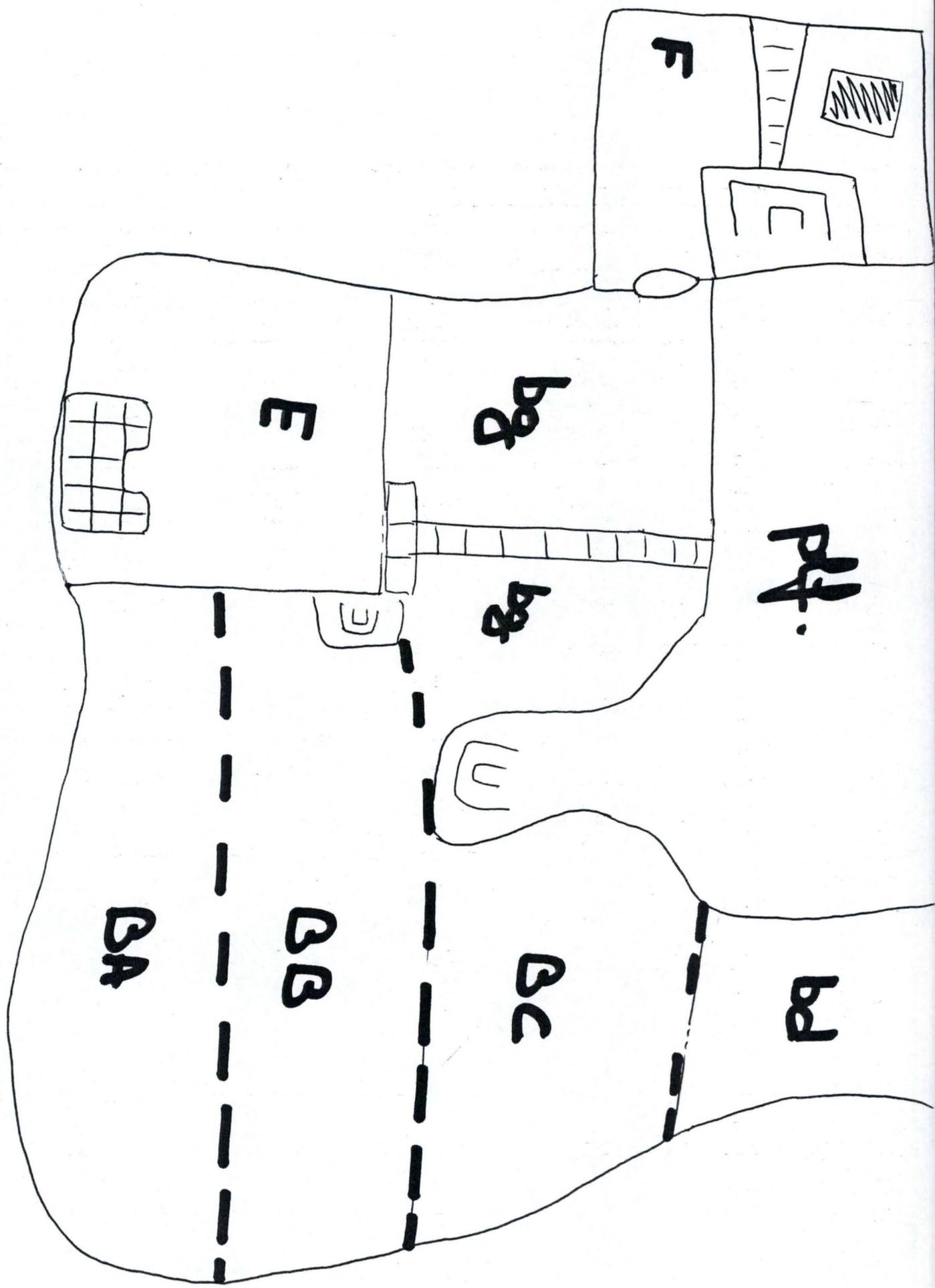
Les observations au hasard concernent les évènements d'interactions. En effet, ceux-ci sont peu fréquents, j'ai donc choisi de les noter à chaque fois que j'ai pu en observer.

2. 7. ANALYSES STATISTIQUES

Pour déterminer si la différence entre les moyennes des concentrations de cortisol est significative, l'ANOVA a été utilisée. Puisque les échantillons étaient parfois de taille fort différente, une randomisation a été nécessaire afin d'obtenir des échantillons de taille semblable, notamment pour l'étude de l'influence du bassin et de la saison.

Le coefficient de corrélation r de Pierson a été employé pour évaluer la relation entre les concentrations de cortisol et les interactions.

Schema des bassins.



Exemple d'une grille pour la prise de données comportementales

Date

heure	
plf	(nom)
bg	(nom)
BA	(nom)
BB	(nom)
BC	(nom)
bd	(nom)

heure	
plf	(nom)
bg	(nom)
BA	(nom)
BB	(nom)
BC	(nom)
bd	(nom)

heure	
plf	(nom)
bg	(nom)
BA	(nom)
BB	(nom)
BC	(nom)
bd	(nom)

heure	
plf	(nom)
bg	(nom)
BA	(nom)
BB	(nom)
BC	(nom)
bd	(nom)

nom	
heure	
bassin	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

nom	
heure	
bassin	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

nom	
heure	
bassin	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

nom	
heure	
bassin	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Légende

plf : plate-forme non-immersée ;
 bg : bassin de gauche ;
 BA : grand bassin, région A ;
 BB : grand bassin, région B ;
 BC : grand bassin, région C ;
 bd : bassin de droite.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3. 1. RÉSULTATS

3. 1. 1. ETHOGRAMME

Peu d'événements d'interaction se sont déroulés en l'absence des soigneurs, la grande majorité des comportements observés concernent donc un contexte non social, l'animal agissant seul, sans répondre aux actes d'un partenaire et sans que son comportement n'entraîne de réponse autour de lui (Caudron, 1991).

L'éthogramme suivant est construit à partir des observations effectuées en l'absence des soigneurs.

Il ne comporte pas de comportements alimentaires chaque animal est appelé pour recevoir sa nourriture. L'éthogramme ne comprend pas non plus d'éléments concernant la reproduction puisque le groupe est constitué uniquement de mâles.

Types de comportements	Description
La nage rapide	L'animal nage sur le dos, le ventre ou le côté, en profondeur ou en surface, à différentes vitesses.
La nage normale	
La nage lente	
La nage stéréotypée	L'animal effectue le même trajet de façon répétitive.
Le plongeon	Le phoque fait des sauts dans l'eau.
Frapper l'eau	L'animal est dans l'eau et frappe l'eau avec ses nageoires postérieures.
La bouteille	L'animal est en position verticale dans l'eau, il garde la tête hors de l'eau et ne se déplace pas.
Sur place au fond	L'animal est en position horizontale, couché sur le fond du bassin et ne se déplace pas.
Sur place en surface	L'animal est en position horizontale la tête en surface ; il ne se déplace pas.
Sur la plate-forme immergée	L'animal est dans l'eau, il ne se déplace pas et est appuyé sur une partie de la plate-forme qui est immergée, la tête est hors de l'eau.
La locomotion terrestre	L'animal avance sur la plate-forme non-immersée.
Le repos sur le ventre	L'animal se trouve sur la plate-forme non-immersée, couché sur le ventre.
Le repos sur le côté	L'animal se trouve sur la plate-forme non-immersée, couché sur le côté.
Le repos sur le dos	L'animal se trouve sur la plate-forme non-immersée, couché sur le dos.
Le repos en banane	L'animal se trouve sur la plate-forme non-immersée, la tête et les nageoires postérieures sont étirés vers le haut, les nageoires postérieures sont souvent enroulées l'une autour de l'autre.
L'interaction de contact nez à nez	Deux individus établissent un contact bref avec leur museau.
L'interaction agoniste	Un individu repousse un autre qui l'approche.

Tableau 4: Ethogramme.

3. 1. 2. LES BUDGETS D'ACTIVITÉ

Le budget d'activité donne une répartition du temps que passe un individu observé à différentes activités. Un budget d'activité a été réalisé pour chaque individu séparément ainsi qu'un budget d'activité total (figures 1). La figure 2 compare le budget d'activité total en fonction de l'heure de la journée tandis que la figure 3 contraste le budget d'activité total en fonction du bassin.

Les observations sont réparties sur la journée entre huit heures et vingt heures trente.

3. 1. 2. 1. Budgets d'activité individuels et total

Les budgets d'activité individuels et total sont construits à partir des comportements suivants : la nage normale, la nage lente, la nage rapide, la nage stéréotypée ; sur la plate-forme non-immersée, les positions couché sur le ventre, sur le côté, en banane ; dans l'eau, appuyé à la plate-forme ; en bouteille ; posé sur le fond du bassin.

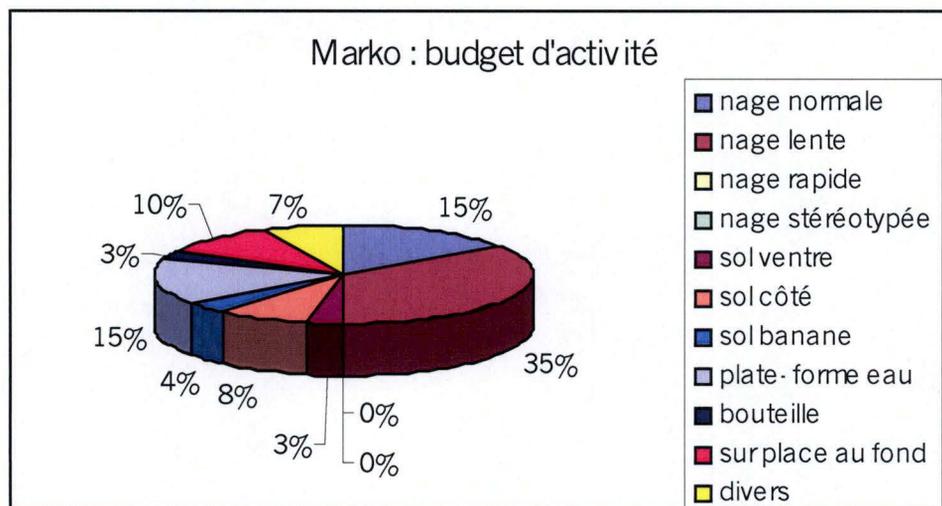


Figure 1.1 : Budget d'activité de Marko.

Marko passe proportionnellement moins de temps à nager (50 %) que les autres phoques. Il nage souvent lentement (35 %) et jamais rapidement. Il se trouve souvent sur les plates-formes, non-immersée et immergée (30 %) sans effectuer de mouvement. Il est plus de trois fois plus souvent appuyé sur la plate-forme immergée (15 %) que les autres phoques. Il passe également beaucoup de temps posé sur le fond du bassin (10 %). Au total, son budget d'activité est caractérisé par 50 % de nage et près de 50 % de repos ou, du moins, d'absence de déplacement.

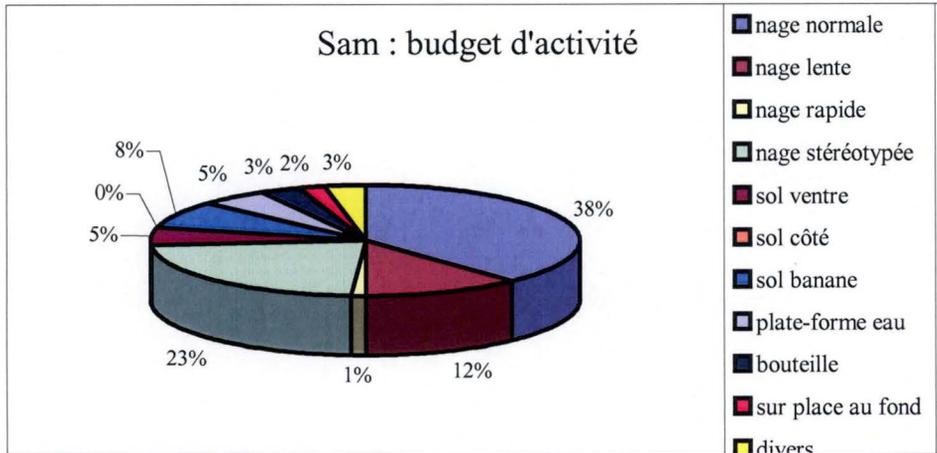


Figure 1.2 : Budget d'activité de Sam.

Sam nage 74 % du temps d'observation. Si la nage normale semble être moins observée que pour les autres individus, la nage stéréotypée (qui est aussi effectuée à allure normale) occupe près du tiers du temps de nage. Sam est le seul phoque pour lequel j'ai remarqué une nage stéréotypée. Elle comprend deux modèles : l'un se déroulant uniquement dans les régions BA, BB et BC du grand bassin, l'autre comprenant en plus un passage dans le petit bassin. Chaque type de nage stéréotypée est, la plupart du temps, réalisée suivant les mêmes éléments de nage ; en effet, Sam nage sur le côté et en profondeur lorsqu'il longe la paroi du grand bassin, sur le dos ou le ventre et en profondeur lorsqu'il traverse le grand bassin et finalement sur le ventre en surface lorsqu'il rejoint le bord du bassin. Sam est parmi les phoques passant le moins de temps sur la plate-forme non-immersée (13 %). Il reste près du quart de la journée sans effectuer de déplacement bien qu'il soit un des phoques passant le plus de temps dans l'eau au total (84 %).

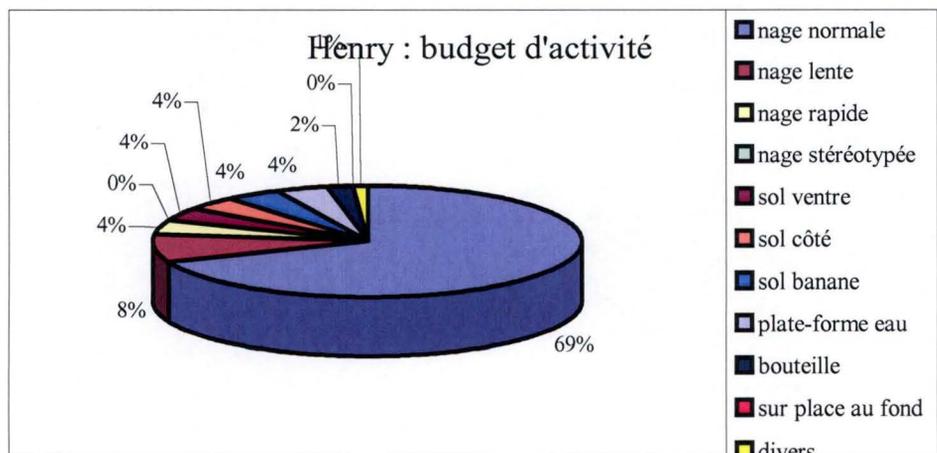


Figure 1.3 : Budget d'activité de Henry.

L'individu qui se trouve le plus fréquemment dans l'eau (nage et autres : 87 %) est Henry. C'est aussi lui qui nage le plus, aussi bien pour tous les types de nage réunis (81 %) que pour la nage normale seule (69 %). Par conséquent, il est le phoque se trouvant le moins souvent sur la plate-forme non-immersée (12 %) ou dans l'eau sans bouger de place (6 %).

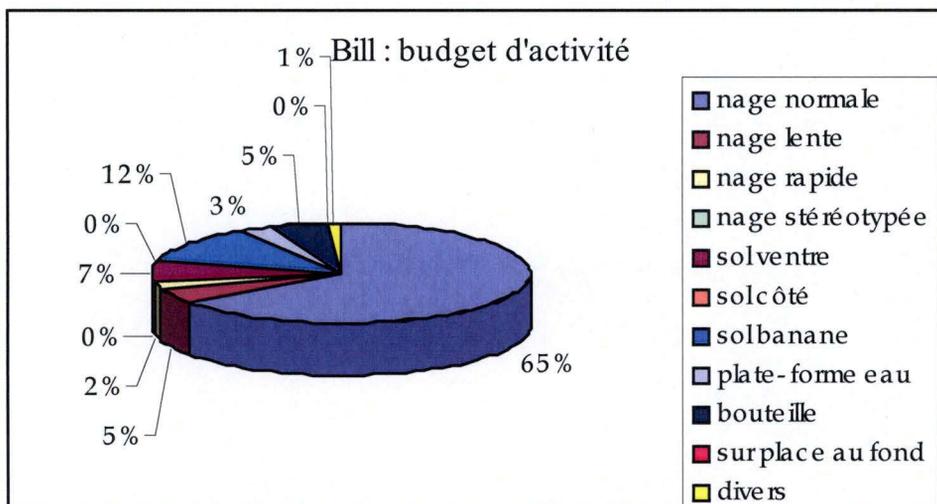


Figure 1.4 : Budget d'activité de Bill.

Bill passe beaucoup de temps à nager (72 % au total), il possède le plus haut pourcentage de nage normale (65 %) après Henry, et le plus bas pourcentage de nage lente (5 %). Le temps qu'il passe sur la plate-forme non-immersée (19 %) ainsi que le temps passé dans l'eau sans effectuer de mouvement de déplacement (8 % sur la plate-forme immergée et en bouteille) sont comparables à la moyenne générale (respectivement 21 % et 8 %).

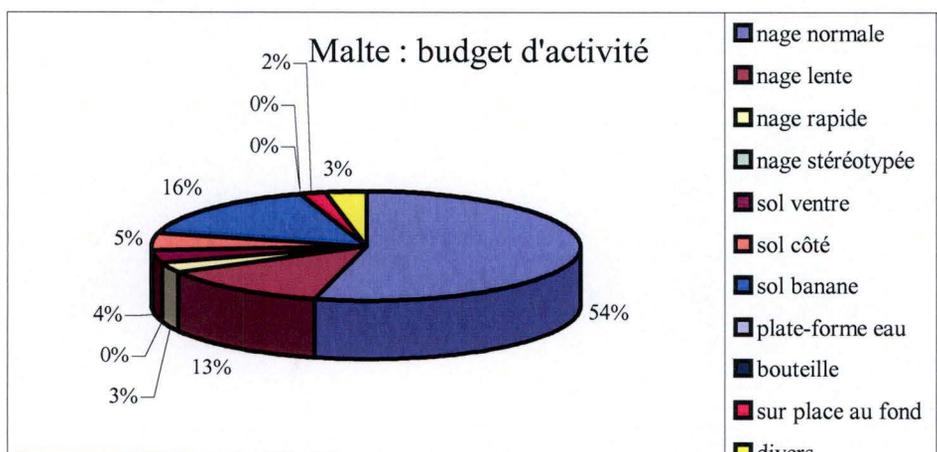


Figure 1.5 : Budget d'activité de Malte.

Malte est 72 % du temps d'observation dans l'eau dont seulement 2 % passé sans nager (2 % posé sur le fond du bassin). 70 % de nage est un pourcentage comparable à celui de Bill, cependant Malte a un taux plus élevé de nage lente (13 %) que Bill (5 %). Malte se trouve un quart du temps total sur la plate-forme non-immersée, Malte y est le plus souvent dans la position caractéristique de la banane (16 %).

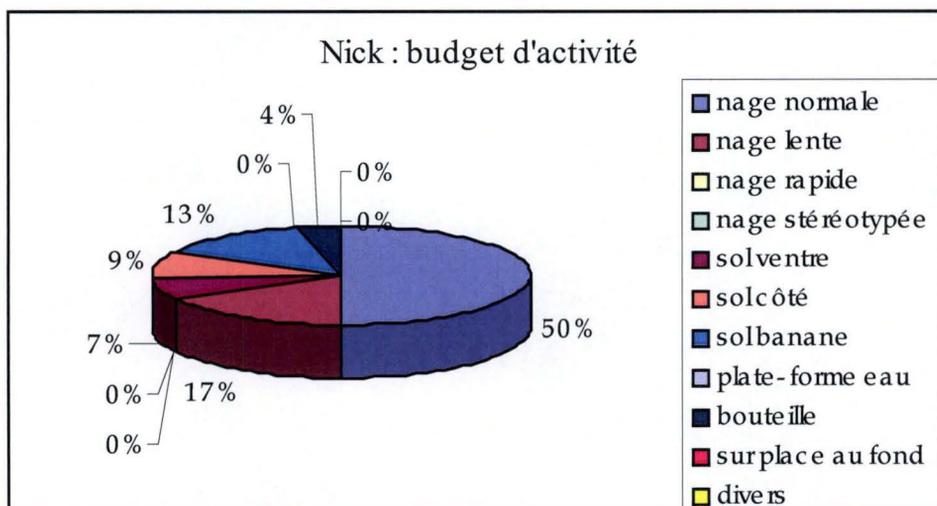


Figure 1.6 : Budget d'activité de Nick.

Nick passe un temps total de nage comparable à la moyenne générale (67 % pour Nick et 65% en moyenne). Cependant, si le temps de nage normale est similaire à la moyenne (50 % dans les deux cas), celui de la nage lente est légèrement plus élevé (respectivement 17 % et 12 %). Nick se trouve près de 30 % du temps sur la plate-forme non-immersée, réparti de façon presque égale entre la position sur le ventre, sur le côté et la position en banane.

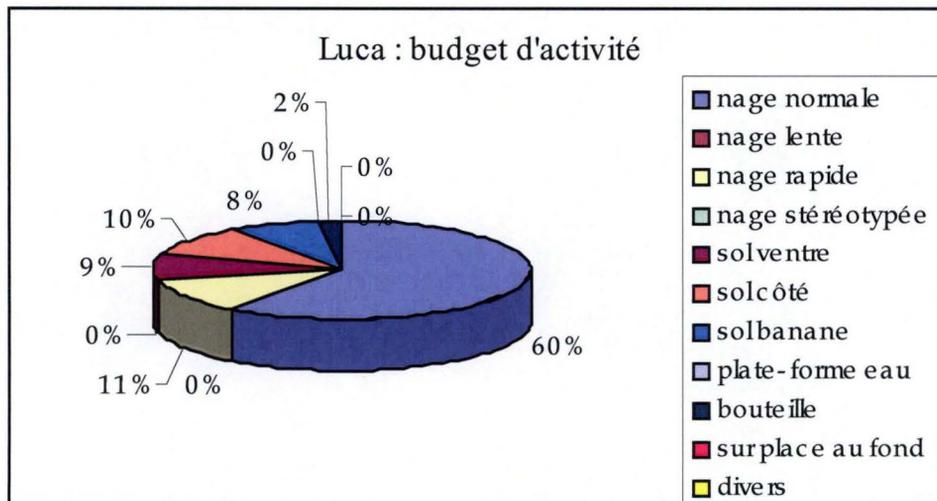


Figure 1.7 : Budget d'activité de Luca.

Luca nage au total 71 % du temps d'observation dont 60 % de nage normale. C'est le phoque effectuant le plus de nage rapide et le moins de nage lente. Il passe, comme Nick, près de 30 % du temps sur la plate-forme non-immersée. Luca nage au total 71 % du temps d'observation dont 60 % de nage normale. C'est le phoque effectuant le plus de nage rapide et le moins de nage lente. Il passe, comme Nick, près de 30 % du temps sur la plate-forme non-immersée, dont environ 10 % pour chacune des positions (ventre, côté, en banane).

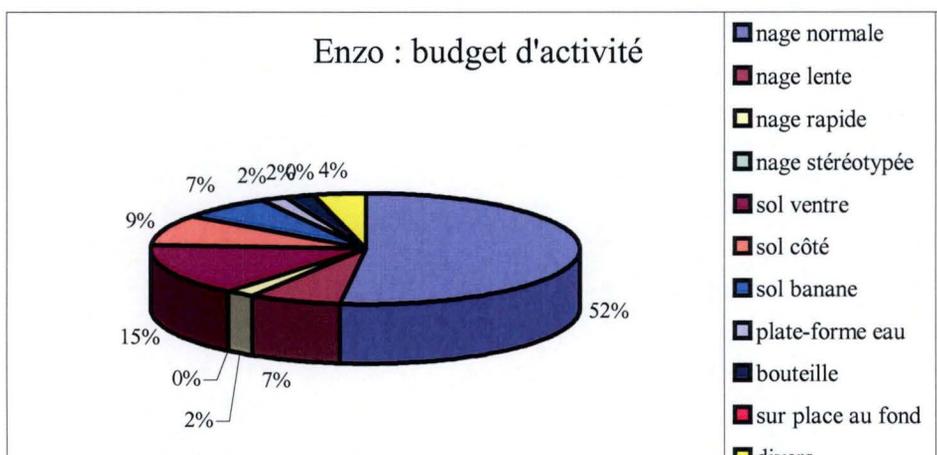


Figure 1.8 : Budget d'activité de Enzo.

Enzo est, après Marko, le phoque passant le moins de temps à nage (61 %). C'est d'ailleurs l'individu le moins souvent dans l'eau (64 %) et le plus souvent sur la plate-forme non-immersée (31 %).

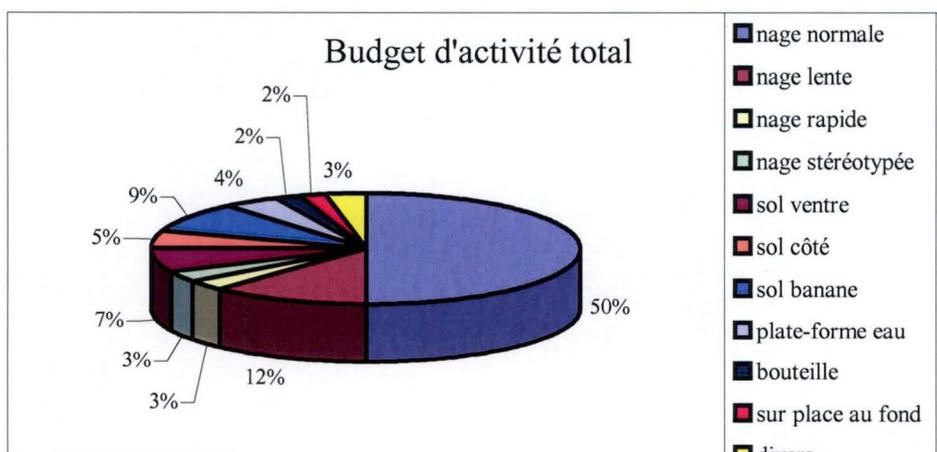


Figure 1.9 : Budget d'activité total.

En moyenne, dans le groupe de phoques étudiés, 65 % du temps est utilisé pour la nage dont 50 % pour la nage normale. Les phoques passent un cinquième du temps sur la plate-forme non-immersée et près d'un dixième du temps sans déplacement dans l'eau. plate-forme non-immersée, dont environ 10 % pour chacune des positions (ventre, côté, en banane).

3. 1. 2. 2. Budgets d'activité selon l'heure et le bassin

Ces budgets d'activité sont construits pour les comportements suivants : la nage normale, la nage rapide, la nage lente, la nage stéréotypée ; les positions couché sur le ventre, sur le côté et en banane (sur la plate-forme non-immersée) ; dans l'eau, appuyé à la plate-forme ; la position en bouteille.

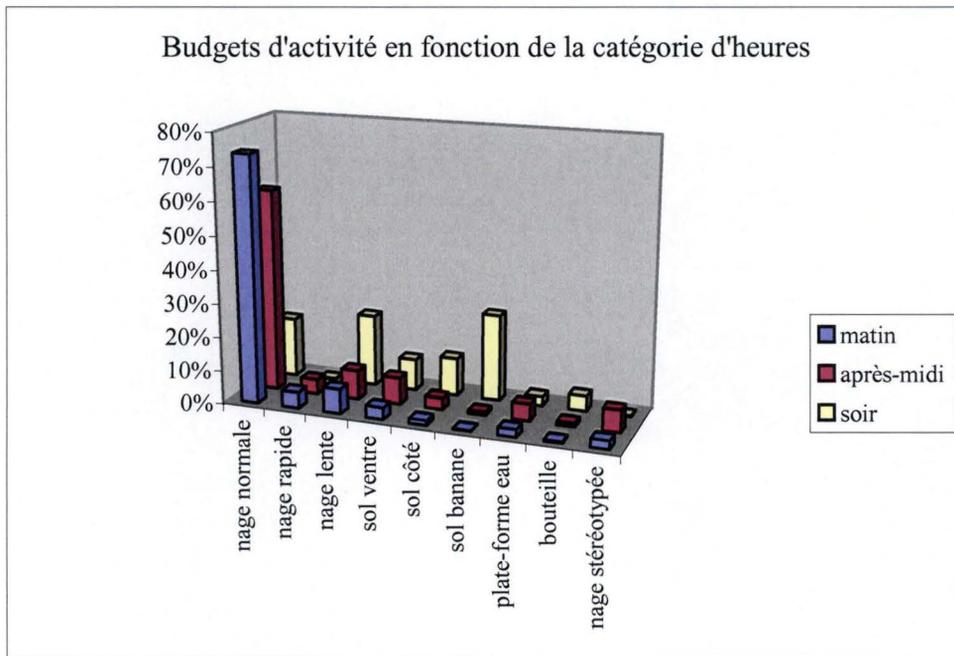


Figure 2 : Budget d'activité en fonction de la catégorie d'heure (matin : 8h00 à 12h10, après-midi : 12h10 à 16h20, soir : 16h20 à 20h30).

Les budgets d'activité sont comparables entre le matin et l'après-midi. Les différences de ces deux catégories avec le soir sont importantes. Les phoques passent moins de temps au total à nager le soir que le reste de la journée. Le temps de nage normale est fortement réduit le soir, par contre le temps de nage lente est plus élevé. Les phoques sont plus souvent sur la plate-forme non-immersée le soir que le matin ou l'après-midi.

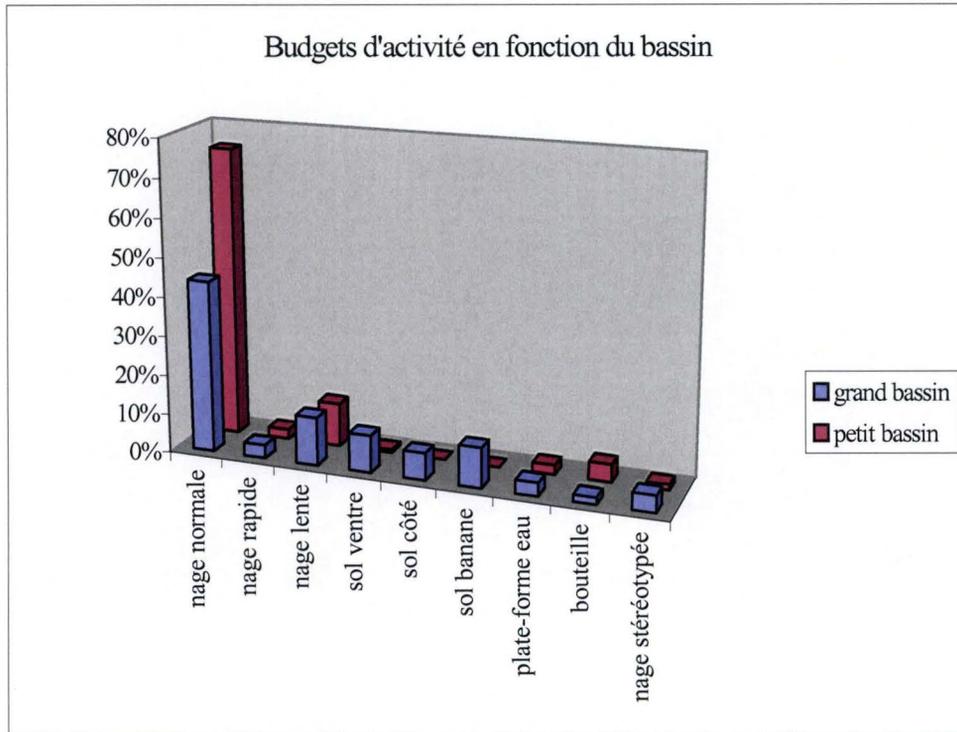


Figure 3 : Budget d'activité en fonction du bassin.

Les phoques passent près du double du temps à effectuer la nage normale dans le petit bassin par rapport au grand bassin. Ils sont plus souvent sur la plate-forme non-immersée (repos sur le ventre, le côté, en position de banane) dans le grand bassin que dans le petit.

3. 1. 3. OCCUPATION SPATIALE

Les figures suivantes renseignent sur l'occupation de l'espace, bassins et plate-forme, pour les différents individus (schéma des bassins : voir matériel et méthodes).

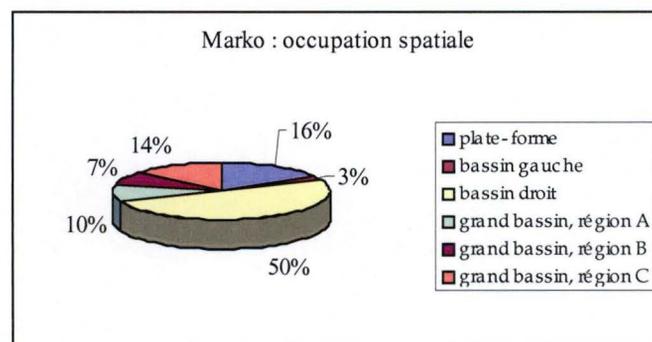


Figure 4.1 : Occupation spatiale de Marko.

Marko se localise la moitié du temps dans le petit bassin de droite, c'est essentiellement dans ce bassin que je l'ai observé appuyé à la plate-forme immergée. C'est aussi dans ce bassin qu'a lieu l'expérience le concernant.

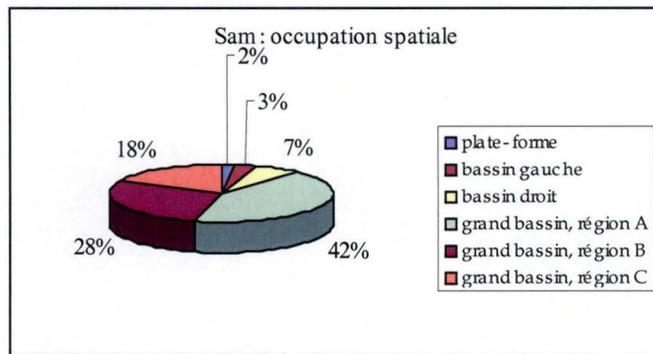


Figure 4.2 : Occupation spatiale de Sam.

Sam se situe principalement dans le grand bassin. Les pourcentages des trois régions de ce bassin comptabilisées ensemble totalisent 90 %.

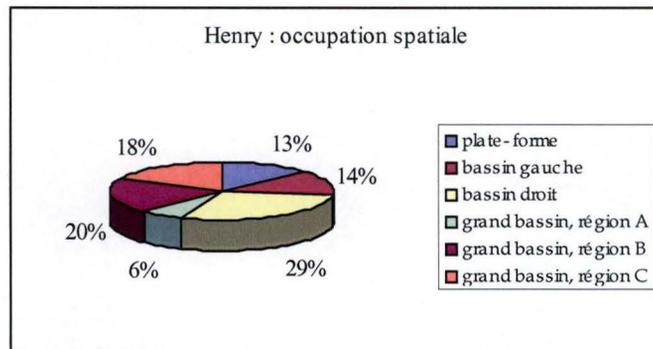


Figure 4.3 : Occupation spatiale de Henry.

Henry est localisé de façon presque équivalente dans chaque lieu, excepté dans la région A du grand bassin où le taux de présence est plus faible et dans le bassin de droite où le taux est plus élevé.

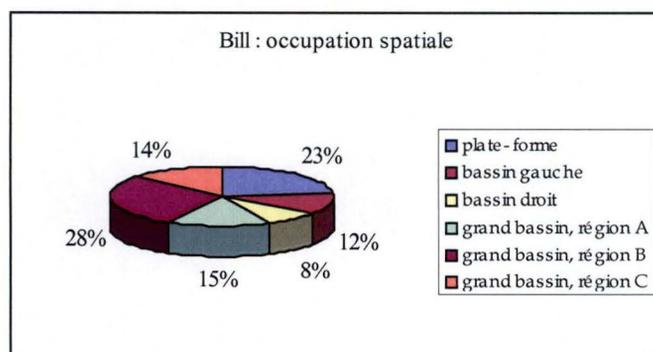


Figure 4.4 : Occupation spatiale de Bill.

Bill est localisé de façon presque équivalente dans chaque région.

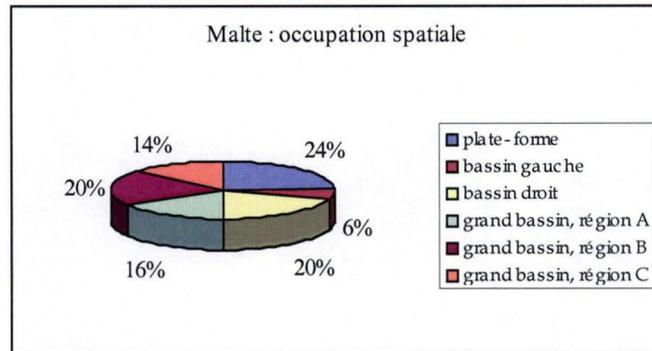


Figure 4.5 : Occupation spatiale de Malte.

Malte est le troisième phoque après Marko et Henry à se situer le plus souvent dans le bassin de droite.

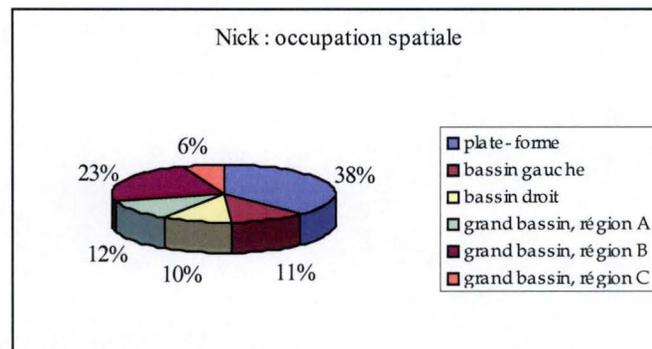


Figure 4.6 : Occupation spatiale de Nick.

Nick est, avec Enzo, l'individu passant le plus de temps sur la plate-forme.

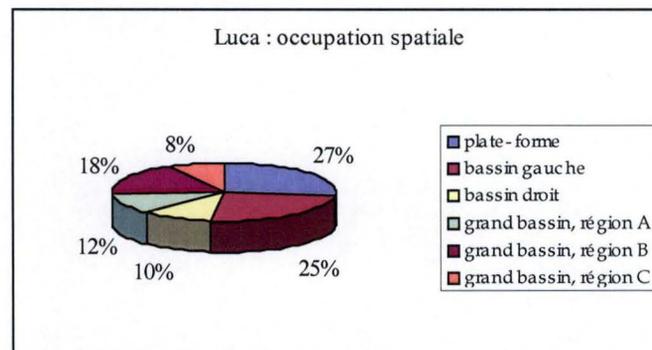


Figure 4.7 : Occupation spatiale de Luca.

Luca est, de tous les individus, celui se situant le plus souvent dans le bassin de gauche.

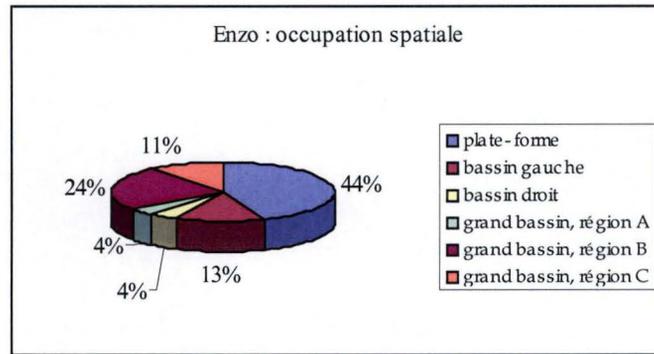


Figure 4.8 : Occupation spatiale de Enzo.

Enzo est souvent sur la plate-forme. Tandis que les autres individus, lorsqu'ils sont sur la plate-forme, sont sur la plate-forme "solide", Enzo se trouve de préférence sur le pont flottant séparant le bassin gauche et le grand bassin.

3. 1. 4. LES INTERACTIONS

3. 1. 4. 1. Interactions hors de la présence des soigneurs

Les observations étant peu fréquentes hors de la présence des soigneurs, je les ai notées à chaque fois qu'elles survenaient (échantillonnage toute occurrence).

date	heure	type d'interaction	Individus
18/08/04	16h00	agonistique	Bill et Malte
20/08/04	13h37	contact nez à nez	Nick et Sam
14/04/05	8h14	contact nez à nez	Bill et Malte
20/04/05	14h20	contact nez à nez	Henry et Sam
21/04/05	9h24	contact nez à nez	Bill et Sam
17/05/05	18h46	contact nez à nez	Malte et Marko
18/05/05	18h47	contact nez à nez	Marko et Nick
14/06/05	18h10	contact nez à nez	Enzo et Malte

Tableau 5 : Interactions observées en l'absence des soigneurs.

Dans le groupe de phoques étudiés, le contact nez à nez survient généralement lorsqu'au moins un des deux animaux se trouvent sur la plate-forme. L'interaction agonistique observée consistait en une approche de Malte vers Bill, approche que ce dernier a repoussée.

3. 1. 4. 2. Interactions en présence des soigneurs dans un contexte alimentaire

Des interactions entre les phoques ont été plus fréquemment observées lorsque les animaux sont en présence de soigneurs notamment lors de récompenses alimentaires (conditionnement opérant), elles sont la manifestation d'un comportement social et sont donc intéressantes à étudier.

Lorsqu'un chercheur mène son expérience avec un phoque, les autres phoques sont généralement confinés dans le petit bassin à l'avant. Dans celui-ci, les animaux doivent se placer côte à côte lorsque le soigneur en donne l'ordre, chaque phoque possédant une place particulière qui est symbolisée par une forme en métal suspendue et affleurant la surface de l'eau. Lorsque les phoques répondent positivement à l'ordre, ils sont récompensés tour à tour par un morceau de poisson. Il arrive parfois qu'un phoque saute afin d'attraper un morceau



de poisson qui ne lui est pas destiné. Cet élément comportemental pourrait éventuellement être corrélé à un taux de cortisol plus élevé aussi bien pour les phoques ayant la tendance la plus élevée à voler un morceau de poisson que pour ceux qui subissent le plus souvent ce comportement d'un autre phoque.

Chaque phoque ayant une place particulière et se trouvant toujours à côté des mêmes individus lors de récompenses dans ce bassin, cela peut

entraîner un biais, bien qu'un phoque ne tente pas nécessairement d'attraper un poisson au phoque qui lui est directement voisin.

	Marko	Nick	Henry	Malte	Bill	Sam	Luka	Enzo
Nombre de fois où l'individu a été nourri	10	61	48	57	69	47	42	40
nombre de fois où l'individu a subi une tentative de vol	5	4	6	8	12	30	23	14
nombre de fois où l'individu a tenté de voler un poisson	0	3	8	24	22	5	21	19
nombre de fois où tous les autres individus ont été nourris	364	313	326	317	305	327	332	334
Pourcentage où l'individu a subi une tentative de vol	50,0	6,6	12,5	14,0	17,4	63,8	54,8	35,0
Pourcentage de tentative de vol	0,0	1,0	2,5	7,6	7,2	1,5	6,3	5,7

Tableau 6 : Illustration d'interactions observées en présence de soigneurs.

L'ordre selon lequel la place de chaque animal est distribuée est, de gauche à droite : Marko, Nick, Henry, Malte, Bill, Sam, Luca, Enzo.

Les phoques ne sont pas toujours renforcés de façon égale même si c'est un but vers lequel les soigneurs tendent. En effet, un animal se faisant remarquer par sa désobéissance sera aussi remarqué quand il obéit à l'ordre et donc sera vite récompensé d'un morceau de poisson.

Marko a, en réalité, été nourri plus de dix fois. Ce phoque étant presque aveugle, il n'attrape pas souvent le poisson qui lui est lancé et le soigneur l'appelle donc généralement près de lui quand il veut lui donner un poisson. Puisque cela élimine alors le risque de tentative de vol (le soigneur donnant directement le poisson sans le lancer), je n'ai pas comptabilisé cette façon de nourrir.

Le fait que Marko soit malvoyant explique qu'il n'ait jamais tenté un vol.

Nick a effectué et subi peu de tentatives de vol, notamment car il est placé à côté de Marko (les possibilités de vol sont diminuées).

Sam et **Luca** ont subi beaucoup de tentatives de vol (respectivement 63.8 % et 54.8 % du nombre de fois où ils ont été nourris). Cependant, Sam, contrairement à Luca a peu tenté de vol. **Enzo** a tenté presque autant de vol que Luca mais en a subi relativement moins.

Malte, Henry et **Bill** ont subi des pourcentages comparables de tentatives de vol. Par contre, Henry a tenté peu de vol en comparaison de Malte et Bill.

3. 1. 5. DOSAGES SALIVAIRES

3. 1. 5. 1. Validité et reproductibilité des dosages

La validité et la reproductibilité du dosage radio-immunologique sont testées respectivement par les coefficients de variation intra-essai et inter-essai.

CV inter-essai	8,32%
	8,84%
CV intra-essai	7,70%

Tableau 7 : Coefficients de variation.

Les coefficients de variation sont dans la limite des variations acceptables pour de tels dosages.

3. 1. 5. 2. Evolution circadienne des taux de cortisol

La figure 5 présente, sur base de l'ensemble des échantillons dosés, les concentrations cortisoliques moyennes selon trois catégories d'heures pour les huit phoques étudiés. Les figures 6 reprend l'évolution des taux de cortisol au cours d'une même journée sur base de quatre prélèvements par animal.

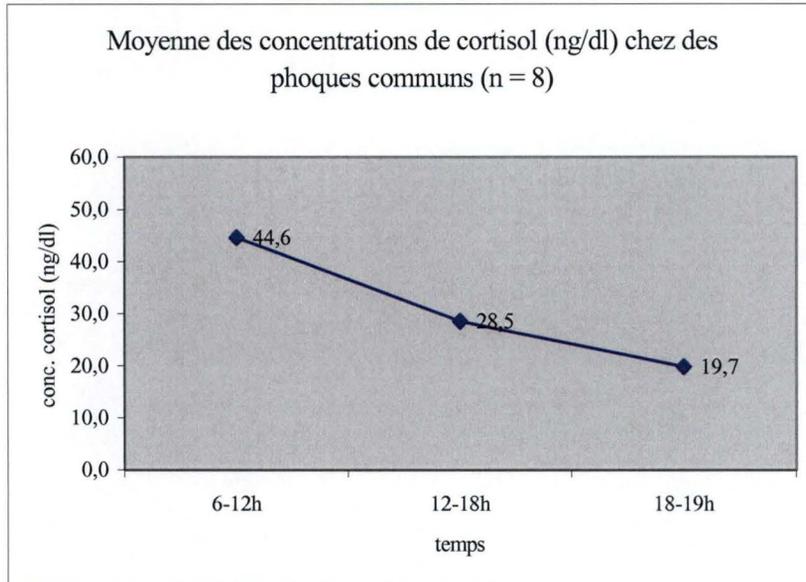
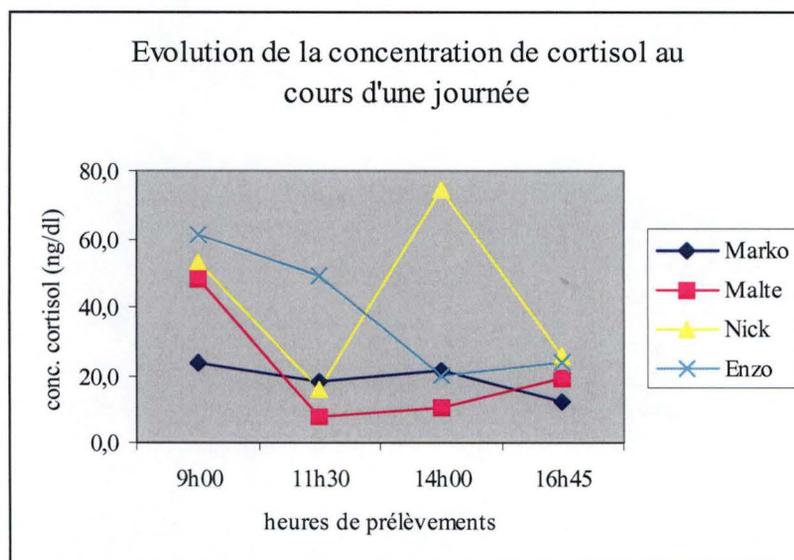
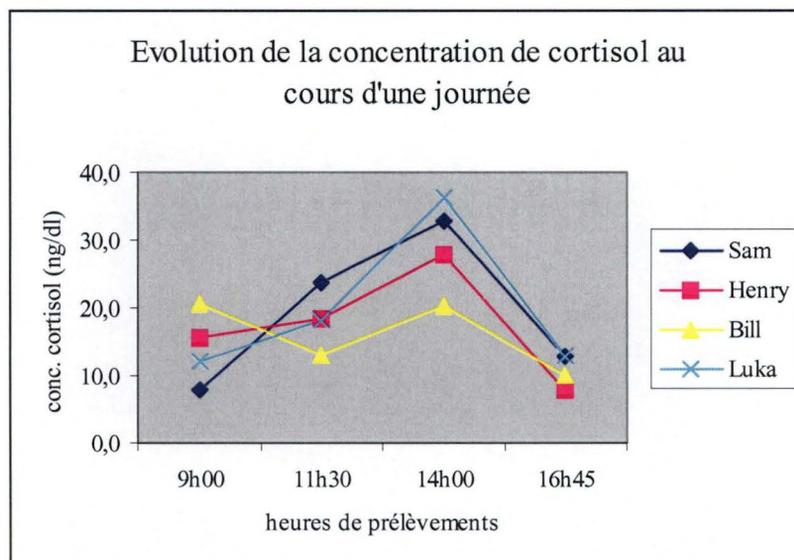


Figure 5 : Moyenne des concentrations de cortisol (ng/dl) chez des phoques communs (n = 8).
 Matin (6-12h) : moyenne = 44.6 ng/dl (7.8 – 202.8 ng/dl, n = 113).
 Après-midi (12-18h) : moyenne = 28.5 ng/dl (7.8 – 86.2 ng/dl, n = 107).
 Soir (18-19h) : moyenne = 19.7 ng/dl (7.8 – 69.7 ng/dl, n = 38). (Cette dernière catégorie ne porte que sur une heure de temps car il était pratiquement peu possible d'effectuer des prélèvements après 19 heures.)

La figure 5 met en évidence la différence des moyennes de concentration de cortisol entre le matin et l'après-midi ($p < 0.001$), ces données suggèrent la présence d'un rythme circadien, avec un taux plus élevé le matin que l'après-midi chez des phoques communs captifs. Les niveaux cortisoliques de l'après-midi sont aussi significativement différents de ceux du soir ($p < 0.01$) ; cependant, le test statistique peut être affaibli par la taille fort différente des échantillons.





Figures 6 : Evolution de la concentration de cortisol au cours d'une journée (15/06/05).

Des échantillons de salive ont été prélevés sur chaque phoque et dosé au cours d'une journée afin de visualiser l'évolution de la concentration cortisolique au cours d'une même journée. Etant donné le nombre d'animaux (n=8) et les travaux de recherche menés par l'équipe de Cologne, la durée de disponibilité pour effectuer plusieurs prises lors d'un cycle ou pour effectuer plusieurs cycles était réduite. Un seul cycle a donc été réalisé et seuls quatre échantillons ont été prélevés au cours de ce cycle. Les figures 6 sont donc présentés uniquement à titre d'indication.

Seuls deux phoques, Malte et Enzo, présentent l'évolution des taux de cortisol attendue, c'est-à-dire des taux plus élevés le matin que l'après-midi. Les niveaux de cortisol de Marko sont relativement constants, tandis que la concentration de cortisol des cinq autres phoques (Nick, Sam, Henry, Bill et Luca) sont plus élevés en début d'après-midi qu'au matin. Je n'ai observé aucun événement particulier permettant d'expliquer cette augmentation.

3. 1. 5. 3. Influence de l'âge sur les concentrations cortisoliques

Puisque les âges des phoques étudiés sont diversifiés, j'ai comparé les taux de cortisol en fonction de cette variable. La figure 7 présente les taux de cortisol en fonction de trois catégories d'âge : la première catégorie comprend deux individus juvéniles de deux à trois ans (Enzo et Luca), la deuxième catégorie renferme cinq individus de six à onze ans (Nick, Malte, Bill, Henry et Sam) et la troisième catégorie est constituée d'un seul individu de 23 ans (Marko).

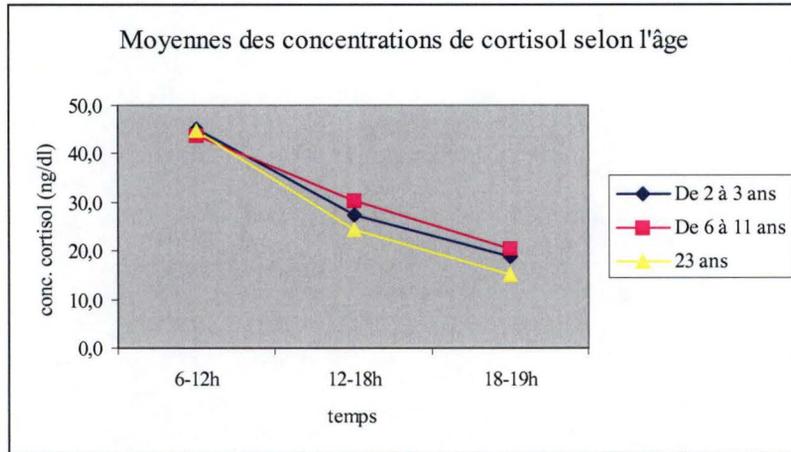


Figure 7 : Moyenne des concentrations de cortisol selon l'âge.

	6-12h	12-18h	18-19h
2 à 3 ans	45,2	27,2	18,8
6 à 11 ans	43,8	30,4	20,6
23 ans	44,6	24,2	15,2

La moyenne des concentrations cortisoliques ne semble pas être influencée par l'âge. Comme la troisième catégorie d'âge comprend un seul individu, elle compte peu d'échantillons et ne permet donc pas une analyse statistique.

3. 1. 5. 4. Influence du bassin sur les concentrations cortisoliques

La figure 8 présente l'influence du bassin où se trouvent les animaux lors de l'échantillonnage de salive. Les phoques sont généralement maintenus dans le grand bassin mais sont régulièrement (une à deux fois par semaine) confinés dans le petit bassin F (schéma des bassins : voir matériel et méthodes) lors du nettoyage du grand bassin. Ils passent la nuit précédent le jour de nettoyage dans le petit bassin pendant que l'autre est vidé. Ils retournent dans le grand bassin durant l'après-midi.

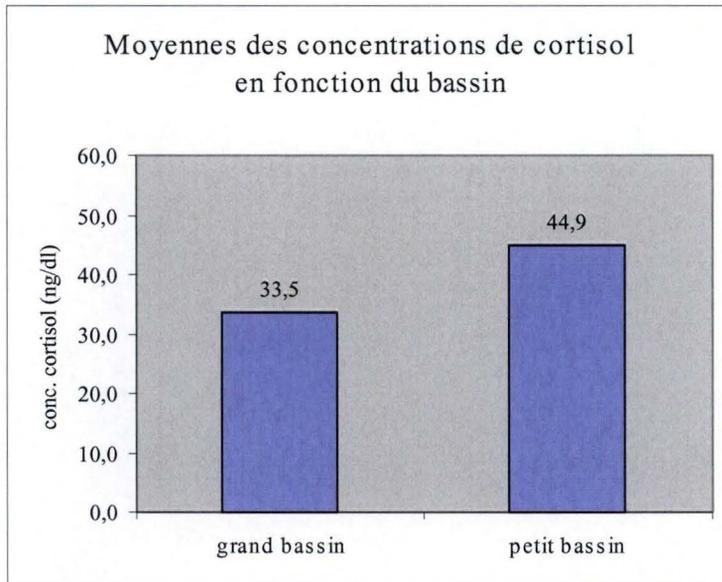


Figure 8 : Moyenne des concentrations de cortisol en fonction du bassin.

Grand bassin : moyenne = 33.5 ng/dl (7.8 – 177.3 ng/dl, n = 60).

Petit bassin : moyenne = 44.9 ng/dl (7.8 – 202.8 ng/dl, n = 60).

Les moyennes des concentrations de cortisol des deux bassins diffèrent de façon significative ($p < 0.01$) suggérant une situation de stress liée au maintien dans le petit bassin.

3. 1. 5. 5. Influence de la saison sur les concentrations cortisoliques

La figure 9 montre l'effet de la saison sur les taux de cortisol mesurés dans la salive. Les deux périodes sont réparties de la façon suivante : la première période comprend les mois de janvier à mars et la deuxième période comporte les mois de mai et juin.

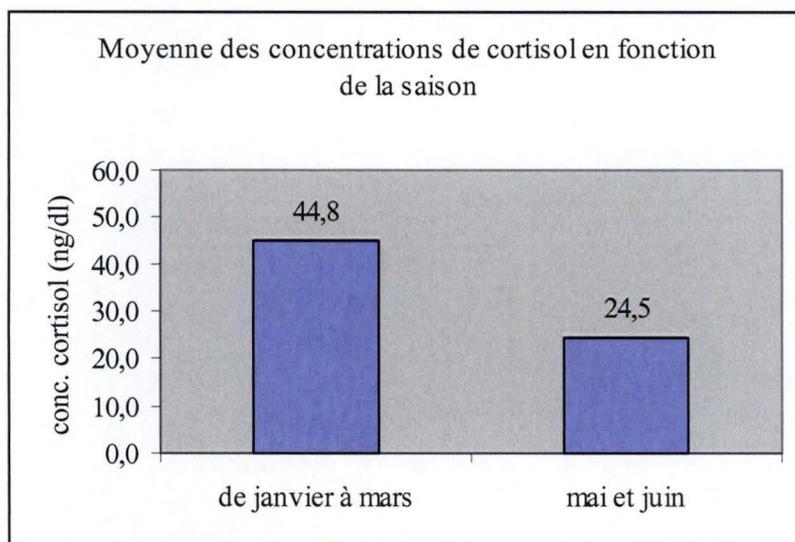


Figure 9 : Moyenne des concentrations de cortisol en fonction de la saison.

Hiver : moyenne = 44.8 ng/dl (7.8 – 202.8 ng/dl, n = 54).

Printemps : moyenne = 24.5 ng/dl (7.8 – 74.7 ng/dl, n = 54).

Les concentrations moyenne de cortisol varie de façon significative selon la saison ($p < 0.001$) avec des taux plus élevés en hiver qu'au printemps.

3. 1. 5. 6. Influence de la personne échantillonnant sur le concentrations cortisoliques

La figure 11 s'intéresse à l'impact de la personne prélevant la salive des phoques. Les premiers échantillons ont été pris par une personne de l'équipe de chercheurs (A) travaillant avec les phoques, les animaux y sont donc habitués. Ensuite, j'ai prélevé la salive seule (B) et, les phoques étant moins habitués à ma présence, un stress pouvait en résulter.

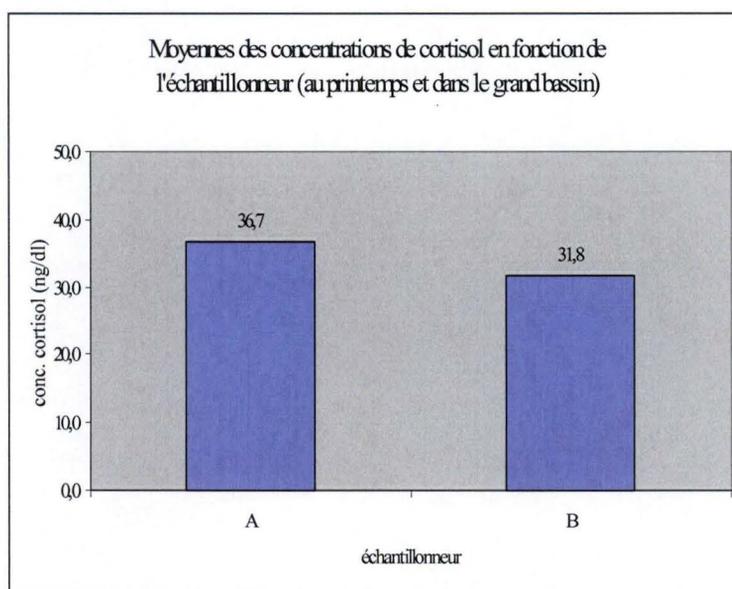


Figure 11 : Moyennes des concentrations de cortisol en fonction de l'échantillonneur (au printemps et dans le grand bassin). Les moyennes sont calculées en tenant compte de deux variables significatives, la saison et le bassin, car je n'ai effectué aucun prélèvement en hiver et trop peu dans le petit bassin.

A (chercheuse) : moyenne = 36.7 ng/dl (18.0 – 71.3 ng/dl).

B (moi) : moyenne = 31.8 ng/dl (7.8 – 177.3 ng/dl).

La taille de l'échantillon de A est trop petite pour pouvoir effectuer un test statistique. L'observation des moyennes indique un taux de cortisol légèrement plus élevé pour A que pour B.

3. 1. 6. RELATION ENTRE LA CONCENTRATION CORTISOLIQUE ET UN ÉLÉMENT DU COMPORTEMENT ALIMENTAIRE

Dans le tableau 3, le pourcentage où chaque phoque a subi une tentative de vol d'un morceau de poisson que le soigneur lui a lancé et le pourcentage de tentative de vol réalisé par chaque animal sont exposés. A cet élément du comportement social peut être rapprochés la concentration de cortisol de chaque individu. Les nuages de point des figures 12 et 13

représentent la corrélation entre la tendance à essayer de voler un poisson et la concentration en cortisol dans la première et, entre la tendance à être volé et la concentration en cortisol dans la deuxième figure.

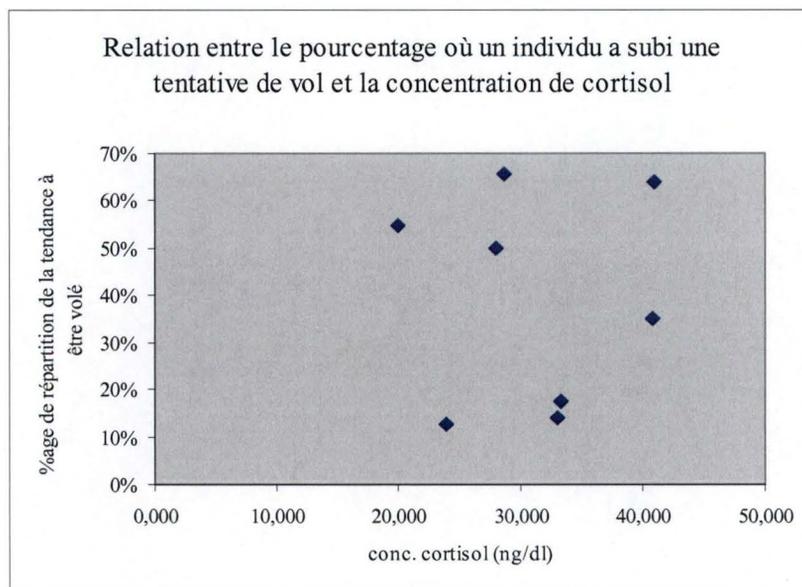


Figure 12 : Relation entre le pourcentage où un individu a subi une tentative de vol et la concentration de cortisol.

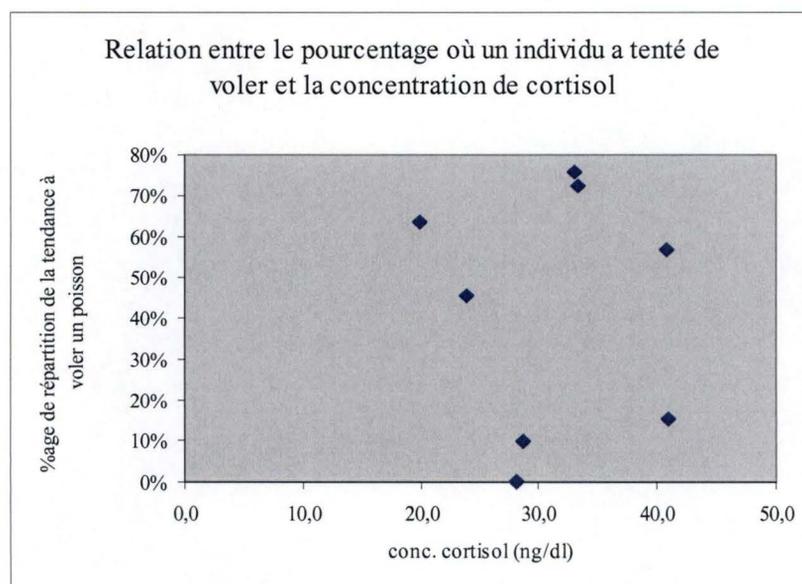


Figure 13 : Relation entre le pourcentage où un individu a tenté de voler un morceau de poisson qui ne lui était pas destiné et la concentration de cortisol.

Ces nuages de points ne semblent présenter aucune corrélation significative entre les deux données analysées, cela est confirmé par le calcul du coefficient de corrélation r

(r vaut -0.020 dans la figure 12 et 0.017 dans la figure 13). Il n'y a donc pas de corrélation entre les deux données analysées.

3. 2 DISCUSSION

3. 2. 1. LE COMPORTEMENT

3. 2. 1. 1. Le budget d'activité individuel

Peu de données sont disponibles sur le comportement des phoques communs notamment en captivité. Les budgets d'activité, bien que comportant des particularités individuelles, sont généralement comparables. Cependant, le budget d'activité de Marko diffère sur plusieurs points des budgets d'activité des autres individus. Marko effectue proportionnellement moins de déplacements que les autres phoques et, de plus, le type de nage majoritairement réalisée est la nage lente.

Plusieurs éléments peuvent expliquer cette différence par rapport aux autres individus. Cela peut notamment être une cause de l'âge de Marko. En effet, à 23 ans, Marko est le plus âgé des phoques du groupe. La longévité du phoque commun est de 29 ans. De plus, Marko est presque sourd et aveugle, les mouvements plus lents et la faible proportion de déplacement peuvent en être une conséquence. Un dernier élément permet de comprendre les caractéristiques du comportement de Marko : Marko a été introduit tardivement dans le groupe, auparavant il ne bénéficiait que d'un bassin de petite taille dans un autre parc animalier où la possibilité de ses déplacements était réduite et il ne faisait pas l'objet d'un travail de recherche ou d'un spectacle. L'absence d'occupation, le confinement et l'isolation sociale pendant plusieurs années ont peut-être habitué Marko à moins de effectuer moins de mouvements.

3. 2. 1. 2. Le budget d'activité en fonction du bassin

Les phoques nagent près de deux fois plus dans le petit bassin que dans le grand. Ils sont plus fréquemment sur la plate-forme non-immersée dans le grand bassin que dans le petit.

Le petit bassin possède une plus petite plate-forme que le grand bassin et, comme les phoques communs maintiennent des distances entre eux (Marion et Sylvestre, 1993), cette plate-forme moins étendue est peut-être moins adaptée à huit individus.

D'autres observations peuvent appuyer cette supposition. Le soir, lorsque les phoques choisissent leur endroit de repos, ceux-ci sont fort diversifiés dans le petit bassin. En général, dans le petit bassin, Enzo se repose généralement sur une construction flottant sur l'eau (construction utilisée dans un travail de recherche), Luca dort dans le tunnel servant de communication entre le petit et le grand bassin, Bill monte sur une planche faisant partie d'un matériel d'expérience, les autres phoques se situent sur la plate-forme proprement dite. Par contre, dans le grand bassin, excepté Enzo qui se repose sur le pont flottant, les sept autres individus dorment sur la plate-forme proprement dite. La dispersion, lors du repos, essentiellement sur la plate-forme ou bien utilisant tout promontoire disponible, peut être interprétée comme la recherche du maintien de distances interindividuelles.

Un soir que la communication entre le petit et le grand bassin était restée ouverte, sept phoques sont montés sur la plate-forme du grand bassin et un phoque, Bill, s'est installé dans

le petit bassin. Il n'a pas choisi sa place habituelle sur la planche mais est monté sur la plate-forme.

L'ensemble de ces observations, le budget d'activité en fonction du bassin et le choix de l'emplacement de repos, suggèrent que la plate-forme du petit bassin est sans doute trop exigüe.

3. 2. 1. 3. Les interactions

Le contact nez à nez est une forme de reconnaissance individuelle, les vibrisses se touchent lors de ce contact, elles y jouent certainement un grand rôle (Martin, 1977 ; Dehnhardt *et al.*, 2001).

L'observation de peu d'interactions, en l'absence des soigneurs, dans ce groupe de phoques captifs semblent correspondre aux données disponibles sur les comportements dans la vie sauvage : en effet, les phoques communs tendent à être solitaires (Ridgway and Harrison, 1981 ; van Parijs *et al.*, 1997), ce sont des animaux peu sociaux. De plus, le groupe étant constitué uniquement de mâles, les comportements du contexte de la reproduction, qui comprennent des interactions, ne sont pas observables.

Lorsque les chercheurs sont présents, les interactions sont plus fréquentes, surtout lorsque les animaux sont nourris, les autres phoques tentant parfois d'attraper un poisson qui ne leur est pas destiné.

3. 2. 2. DOSAGES SALIVAIRES : ÉVOLUTION CIRCADIENNE ET DIVERS FACTEURS POTENTIELS INFLUENÇANT LES TAUX DE CORTISOL

3. 2. 2. 1. Evolution circadienne des taux de cortisol

Les taux de cortisol sont significativement plus élevés le matin que l'après-midi, suggérant un modèle circadien similaire à celui d'autres mammifères tels que les otaries à fourrure d'Afrique dont des échantillons salivaires de groupes mixtes en captivité ont été analysés par (Brock, 2003).

Moyennes de Brock : matin : 39 ng/dl (21-96, n = 26) ;
après-midi : 27 ng/dl (15-48, n = 27).

Mes moyennes : matin : 45 ng/dl (8-203, n = 113) ;
après-midi : 29 ng/dl (8-86, n = 107).

Brock a utilisé des cotons imprégnés d'acide citrique pour les prélèvements salivaires, il a donc dû réaliser une étape d'extraction avant le dosage proprement dit. L'extraction est susceptible de diminuer les taux de cortisol salivaire.

3. 2. 2. 2. Influence de l'âge

Les taux de cortisol ne diffèrent pas selon l'âge dans ce groupe de phoque captifs. Les phoques ont entre 2 et 23 ans et sont répartis en trois catégories : deux individus de 2 et 3 ans, cinq individus de 6 à 11 ans et un seul individu de 23 ans.

L'âge n'influence pas non plus les niveaux de cortisol dans des groupes d'autres mammifères marins, tels les Grands dauphins (St Aubin *et al.*, 1996). Dans cette étude, les dauphins avaient entre 4 et 3 ans répartis en trois catégories : les individus de moins de 10 ans, les individus ayant entre 10 et 20 ans et les individus ayant plus de 20 ans ; les grands dauphins ont une durée de vie d'environ 40 ans.

3. 2. 2. 3. Influence du bassin

Les phoques sont régulièrement (une à deux fois par semaine) confinés dans le petit bassin lors du nettoyage du grand bassin. Ils passent la nuit précédent le jour de nettoyage dans le petit bassin pendant que le grand bassin est vidé. Ils retournent dans le grand bassin durant l'après-midi.

La comparaison des concentrations cortisoliques entre grand et petit bassin montre une différence significative avec des taux plus élevés quand les animaux sont maintenus dans le petit bassin.

Divers éléments peuvent être avancés pour expliquer des niveaux de cortisol plus élevés dans le petit bassin.

Tout d'abord, le maintien des animaux dans un espace restreint par rapport à l'espace disponible habituellement peut être un facteur de stress et augmenter la sécrétion du cortisol par les glandes surrénales (Berman *et al.*, 1980). Une conséquence du confinement dans le petit bassin est la plus grande proximité entre les individus. Or, les phoques communs maintiennent habituellement des distances entre eux.

Ensuite, le grand bassin doit être vidé pour permettre son nettoyage, le pompage de l'eau occasionne un bruit continu qui constitue également un stress potentiel.

Enfin, les interactions avec les chercheurs sont diminuées car les expériences sont principalement menées dans le grand bassin, cette situation peut causer un stress.

Le confinement dans un petit bassin, le bruit dû au pompage et l'isolement par rapport aux chercheurs peuvent être combinés, ce qui augmente le stress ressenti par les phoques.

3. 2. 2. 4. Influence de la saison

Les taux cortisoliques sont significativement plus élevés en hiver qu'au printemps et une évolution circadienne est observée durant ces deux saisons. Deux études, l'une menée sur des Grands dauphins sauvages et semi-domestiqués (St Aubin *et al.*, 1996) et l'autre suivant des phoques communs sauvages (Oki and Atkinson, 2004), ne démontrent pas de différence des concentrations cortisoliques en fonction de la saison (échantillons sanguins).

3. 2. 3. RELATION ENTRE LE COMPORTEMENT ET LES TAUX DE CORTISOL

3. 2. 3. 1. La nage stéréotypée

Sam est le seul phoque du groupe à nager de façon stéréotypée. Des prélèvements supplémentaires seraient nécessaires pour évaluer si ses concentrations cortisoliques sont significativement supérieures à la moyenne.

3. 2. 3. 2. Le comportement lors des prélèvements de salive

Lors de l'échantillonnage, les phoques, exceptés Nick et Enzo, ont gardé un comportement calme, bien qu'ils soient souvent moins obéissants le soir.

Enzo n'acceptait pas toujours le prélèvement, soit qu'il refusait d'ouvrir la gueule, soit qu'il ne répondait pas à l'appel. Nick grognait quelquefois. Ces comportements ont été peu fréquents ($n = 5$ pour Enzo et $n = 14$ pour Nick), ne permettant pas de comparer les taux cortisoliques associés à ces comportements et les taux associés à un comportement calme. Cependant, le temps d'activation de la sécrétion de cortisol étant d'environ 20 minutes et le temps nécessaire pour prendre de la salive sur les 8 phoques d'environ une demi-heure, les taux de cortisol n'ont probablement pas affectés.

Le comportement moins obéissant le soir (18-19h) se traduisait par le fait que les phoques montaient sur la plate-forme avant que je ne les ai appelé et ne retournaient dans l'eau qu'après que l'ordre ait été répété plusieurs fois. Ce comportement moins discipliné en soirée peut être la conséquence de la fatigue des phoques. Les phoques montaient sur la plate-forme pour se reposer peu de temps après que j'ai terminé l'échantillonnage (environ trente minutes).

3. 2. 3. 3. Relation entre la concentration cortisolique et un élément du comportement alimentaire

Même si un biais est possible dans les interactions observées lorsque les phoques sont nourris, ces interactions peuvent fournir des indications sur l'état général plus stressé d'un phoque ayant tendance à voler un morceau de poisson ou surtout d'un phoque subissant beaucoup de tentative de vol. En effet, être volé constitue une situation potentiellement stressante. Par exemple, Sam a subi le plus de tentative de vol et c'est aussi le seul phoque présentant une nage stéréotypée, ce qui peut être le signe de stress (sans pour autant affirmer que l'un soit la conséquence de l'autre). Aucune corrélation n'est observée entre les niveaux de cortisol et les proportions de tentatives de vol subies ou effectuées. Cela signifie que l'événement potentiellement stressant de vol n'a pas d'influence sur l'état général de stress, ou, en d'autres mots, sur le stress ressenti de façon générale.

4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

4. 1. CONCLUSION

Le but de ce mémoire était l'étude des variations des niveaux de cortisol, la collecte de données comportementales et la mise en rapport des niveaux de cortisol avec le comportement.

Les sujets étudiés étaient un groupe de huit phoques communs mâles captifs, hébergés dans un parc zoologique (Cologne, Allemagne).

Le cortisol est une hormone stéroïde, sa sécrétion est influencée par les événements de stress. Afin de récolter des données utilisables, une méthode d'échantillonnage moins traumatisante que la prise de sang était nécessaire. En effet, si on veut évaluer l'influence de divers stress potentiels, une méthode provoquant le minimum de stress possible est indispensable. Or, la prise de sang est elle-même une cause de stress. C'est pourquoi l'utilisation de la salive comme outil de dosage représente une alternative extrêmement intéressante à la prise de sang. Les phoques hébergés au parc zoologique de Cologne sont inscrits dans divers programmes de recherche (ils appartiennent à l'université de Bochum, Allemagne), ils sont habitués au contact de l'homme et sont soumis continuellement à des apprentissages dans le cadre des recherches. La méthode de prélèvement salivaire était donc tout à fait appropriée. Des échantillons de salive ont été prélevés sur chaque individu une à deux fois par jour (lors de mes jours de présence) et quatre séries d'échantillons ont été prélevées sur une même journée.

La comparaison des concentrations de cortisol au long de la journée suggère un rythme circadien de la sécrétion cortisolique similaire à celui des autres mammifères, avec des taux plus élevés le matin que l'après-midi. Cependant, le dosage des quatre séries d'échantillons ne montre pas des niveaux cortisoliques évoluant selon ce rythme, sans qu'aucun événement potentiellement stressant ayant pu influencer ces taux cortisoliques n'ait été observé.

L'analyse des taux de cortisol montre une influence de la saison avec des taux plus élevés durant les mois de janvier, février et mars que durant les mois de mai et juin, cela peut être rapporté à la fonction de maintien de la température corporelle par le cortisol.

Le bassin où sont confinés les animaux lors de l'échantillonnage constitue une source éventuelle de stress, les taux les plus élevés ont été mesurés lors de prélèvements salivaires dans un petit bassin.

Par contre, l'échantillonneur ne semble pas influencer significativement la sécrétion de cortisol.

Les données comportementales récoltées ont permis d'établir, grâce aux observations focales, le budget d'activité de chaque animal. Un seul phoque présente une stéréotypie de mouvement.

L'occupation spatiale de chaque individu a été construite à partir des scans. L'occupation spatiale comporte des particularités individuelles dont la plus évidente est une localisation très fréquente (50 %) dans un petit bassin pour le plus âgé des phoques, qui est aussi celui dont le budget d'activité présente le moins de nage.

Peu d'interactions ont été observées, cela donne peu d'informations sur le statut social.

La confrontation des taux de cortisol à deux types d'interaction (tentative de vol subie ou réalisée) n'indique pas de corrélation.

4. 2. PERSPECTIVES

4. 2. 1. INFLUENCE DE LA SESSION D'ENTRAÎNEMENT

Le comportement et les niveaux de cortisol au début et en fin d'une session d'entraînement pourraient être influencés par celle-ci. Il serait intéressant d'étudier dans quelle mesure cela provoque un effet dans le cas de session programmée à heure fixe et dans le cas de session à horaire variable.

Dans le premier cas, l'animal s'attend à la session d'entraînement et cela pourrait augmenter le stress et donc le taux de cortisol. Celui des autres animaux pourrait aussi être plus élevé car ceux-ci s'attendent à être maintenus dans un petit bassin.

Dans le deuxième cas, l'horaire des sessions d'entraînement étant variable, les phoques ne peuvent pas prévoir lequel d'entre eux va travailler lorsqu'un chercheur les isole. Bien que l'horaire est modifié de jour en jour, un chercheur travaille généralement toujours avec un même phoque, et les animaux reconnaissent la personne qui s'occupe le plus souvent d'eux. Cependant, les phoques n'ont pas pu s'habituer à un horaire.

Au début, les chercheurs travaillant du parc zoologique de Cologne avec les phoques effectuaient leurs sessions selon un horaire fixe. Lorsqu'un chercheur veut travailler avec un phoque, il appelle d'abord tout les individus dans un bassin afin de les isoler, puis donne l'ordre à l'animal sur lequel repose sa recherche de retourner dans le grand bassin tandis que les 7 autres individus restent enfermés. Les phoques se sont vite habitués à cet horaire et, lorsque survenait l'heure d'une session d'entraînement, ils refusaient souvent d'aller dans le bassin où ils seraient isolés. Ce comportement peut être corrélé à des taux plus élevés dans les minutes précédant une session d'entraînement.

Une comparaison des deux situations pour le comportement et la concentration de cortisol serait intéressante afin d'évaluer dans quel mesure le fait de pouvoir prédire un événement peut occasionner un stress.

4. 2. 2. ETUDE D'UN GROUPE MIXTE

Dans un groupe mixte, l'éthogramme serait sans doute plus varié et comporterait sans doute plus d'interactions qui pourraient influencer les taux cortisoliques.

Le phoque commun est un animal peu social en dehors des périodes de reproduction (van Parijs, 1997). L'observation des comportements durant ces périodes apporterait des informations intéressantes sur le statut social des individus.

Dans un groupe mixte, une période de reproduction pourrait être observée et les relations qui seraient éventuellement établies entre le stress et la reproduction intéressantes à étudier. De plus, l'étude de l'influence du genre sur la réponse au stress est aussi une source d'informations utiles.

L'étude d'un groupe mixte en captivité donnerait également des indications sur l'état de bien-être des animaux car les conditions de captivité des individus sont considérées comme ayant une influence considérable sur les possibilités de reproduction des animaux (Mc Farland, 1987).

Il serait intéressant de pouvoir comparer les données obtenues par cette étude de phoques communs captifs à des phoques communs non-captifs afin d'évaluer si les comportements et les niveaux de cortisol sont modifiés entre ces deux situations.

4. 2. 3. INFLUENCE DES VISITES

Dans ce mémoire, l'influence des visites n'a pu être analysée car celles-ci étaient fort identiques au niveau de la quantité de visiteurs de jour en jour, le parc zoologique de Cologne étant ouvert toute l'année. Le bruit, la lumière occasionnée par les flash d'appareils photographiques, les objets qui sont quelquefois lancés sont causes éventuelles de stress pour les animaux. Contraster des groupes de phoques communs dont les différences seraient essentiellement ces visites seraient intéressant afin d'évaluer quel niveau de stress est provoqué par les visites.

Le directeur de l'équipe de recherche s'occupant des phoques voudrait déménager le groupe de phoques dans un bassin n'appartenant pas à un parc zoologique, cela serait intéressant d'étudier les comportements et les taux cortisoliques des phoques, entre autre pour obtenir une idée de l'effet des visites, mais aussi pour analyser de quelle façon les animaux s'habituerait à leur nouveau bassin.

4. 2. 4. OBSERVATIONS SUPPLÉMENTAIRES

Pour diverses raisons (sessions d'entraînement notamment), les observations comportementales ne sont pas réparties sur un total élevé d'heures. Plus d'heures d'observations comportementales pourraient peut-être permettre de mettre en évidence l'influence de certains facteurs tels que l'influence des soigneurs qui nourrissent les animaux.

De même, des échantillonnages salivaires au long de plusieurs journées complètes permettraient d'évaluer si un comportement particulier (telle qu'une nage stéréotypée) est corrélée à des niveaux cortisoliques plus élevés.

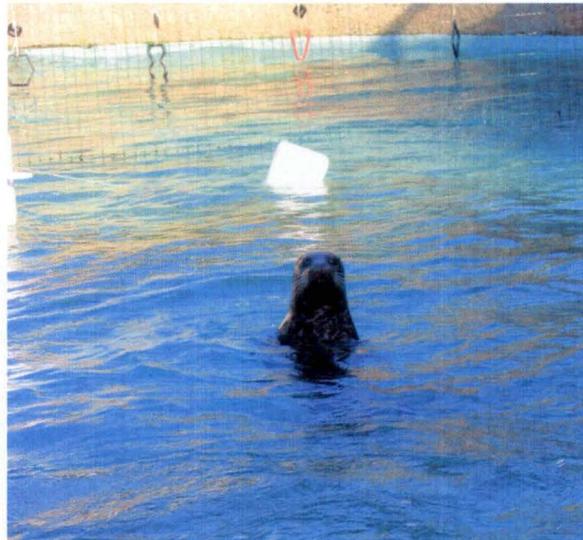
4. 2. 5. ETUDE DE L'ASPECT TERRITORIAL

L'observation des comportements ainsi que la prise de salive d'un groupe en captivité lors de sa constitution ou lors de l'introduction d'un nouvel individu dans un groupe formé pourraient éclairer l'aspect territorial notamment lors des périodes de repos. En effet, lors de mes observations en soirée, j'ai constaté que certains phoques occupaient souvent les mêmes places sur la plate-forme. Par exemple, Enzo se situait sur le pont flottant séparant le bassin de gauche et le grand bassin. Malte était généralement couché sur l'escalier. Pouvoir étudier de quel façon ont été réparti les places de repos apporterait des indications sur un statut social.

4. 2. 6. L'AMYLASE COMME INDICATEUR DU STRESS

Un article récent (Takai *et al.*, 2004) signale la possibilité d'utiliser un autre indicateur du stress l'amylase. La salive est également utilisée comme outil de dosage. Cette étude, réalisée sur des êtres humains adultes et sains a comparé l'amylase et le cortisol comme indicateurs de stress. Les résultats obtenus permettent aux auteurs de conclure que les niveaux salivaires de l'amylase augmentent significativement plus que les niveaux salivaires de cortisol. De plus, la sécrétion de l'amylase est plus rapide que celle du cortisol (9 minutes de latence pour l'amylase contre 18 minutes pour le cortisol) suite à un stress psychologique (vision d'une vidéo stressante), ce qui suggère que l'amylase est un meilleur index du stress que le cortisol. L'amylase semble aussi être un indicateur de la relaxation car la vision d'une vidéo relaxante en diminue significativement la concentration salivaire.

Il serait intéressant d'étudier de quelle manière agit cette enzyme vis-à-vis du stress chez les animaux, d'en étudier les avantages et inconvénients par rapport au cortisol (par exemple au niveau de la conservation et des sources éventuelles de contamination) pour l'utilisation chez des mammifères marins tels que les phoques communs.



5. BIBLIOGRAPHIE

- Ader, J.-L., Carré, F. et Dinh-Xuan, A. T. Physiologie. *Masson* pp. 395 (2003).
- Ader, R., Felten, D. L. and Cohen, N. Psychoneuroimmunology (3rd edition). *New York : Academic Press* pp. 727 (2001).
- Agrimonti, F., Angeli, A., Frairia, R., Fazzari, A., Tamagnone, C., Farnaro, D. and Ceresa, F. Circannual rhythmicities of cortisol levels in the peripheral plasma of healthy subject. *Chronobiologia* **9** : 107-114 (1982).
- Al'Absi, M., Hugdahl, K. and Lovallo, W. R. Adrenocortical stress responses and altered working memory performance. *Psychophysiology* **39** : 95-99 (2002).
- Amoroso, E. C., Bourne, G. H., Harrison, R. J., Matthews, L. H., Rowlands, I. W. and Sloper, J. C. Reproductive and endocrine organs of foetal newborn and adult seals. *Journal of Zoology* **147** : 430-486 (1965).
- Anonyme. Colloques internationaux du CNRS. L'effet de groupe chez les animaux. *Editions du CNRS* pp. 390 (1967).
- Argemi, B. Les indications du dosage des hormones stéroïdes. *Revue de l'ACOMEN* (4) 3 (1998).
- Balm, P. Stress physiology in animals. *CRC Press Sheffield Academic Press* pp. 284 (1999).
- Barrell, G. K. and Montgomery, G. W. Absence of circadian patterns of secretion of melatonin or cortisol in Weddell seals under continuous natural daylight. *Journal of Endocrinology* **122** : 445-449 (1989).
- Barsth, S. S., Johnston, S. D. and Siniff, D. B. Territorial behavior and breeding frequency of male Weddell seals (*Leptonychotes weddelli*) in relation to age, size, and concentrations of serum testosterone and cortisol. *Canadian Journal of Zoology* **70** : 680-692 (1991).
- Baulieu, E.-E. Hormones : aspects fondamentaux et physio-pathologiques. *Hermann, éditeurs des sciences et des arts* pp. 550 (1978).
- Baulieu, E.-E., Bricaire, H. et Leprat, J. Glandes endocrines. *Flammarion Médecine Sciences* pp. 338 (1972).
- Beerda, B., Schilder, M. B. H. and Janssen, N. C. R. M. & Mol J. A. The use of saliva cortisol, urinary cortisol, and catecholamine measurements for a noninvasive assessment of stress responses in dogs. *Hormones and Behavior* **30** : 272-279 (1996).
- Berman, D. G., Johnson, D. E., Phillips, R. W. and Barry, B. P. Physiological and urinary metabolite responses to cold shock and confinement of sheep. *Journal of Animal Science* **50** : (4) 713-722 (1980).
- Bragulla, H., Hirschberg, R. M., Schlotfeldt, U., Stede, M. and Budras, K.-D. On the structure of the adrenal gland of the common seal (*Phoca vitulina vitulina*). *Anatomia, Histologia, Embryologia* **33** : 263-272 (2004).
- Brock, O. Aspects comportementaux et hormonaux de l'équilibre social d'un groupe de pinnipèdes en captivité. Etude pilote chez l'otarie à fourrure d'Afrique du Sud (*Arctocephalus pusillus pusillus*). *Mémoire de Licence en Biologie animale, Unité de Biologie du Comportement, Université de Liège* (2003).
- Brook, C. and Marshall, N. Endocrinologie. *De Boeck Université* pp. 206 (1998).
- Bubenik, G. A., Schams, D., White, R. G. Rowell, J., Blake, J. and Bartos, L. Seasonal levels of metabolic hormone and substrates in male and female reindeer (*Rangifer tarandus*). *Comparative Biochemistry and Physiology* **120** : 307-315 (1998).
- Campbell, N. A. Biologie. *De Boeck Université* (3^{ème} édition) pp 1280 (1995).
- Carlstead, K., Brown, J. L., Monfort, S. L., Killens, R. and Wildt, D. E. Urinary monitoring of adrenal responses to psychological stressors in domestic and nondomestic felids. *Zoo Biology* **11** : 165-176 (1992).

Castel, Y. Psychobiologie humaine, *site internet* : www.psychobiology.org (site en phase de développement jusqu'en 2005) (2005).

Caudron, A. Etude comportementale d'un groupe d'otaries à fourrure d'Afrique du Sud en captivité : éthogramme, budget d'activité, structure sociale. *Mémoire de Licence en Sciences Zoologique, Service d'Ethologie et de Psychologie animale*, Université de Liège (1991).

Colbert, E. H. and Morales, M. Evolution of the vertebrates (4th edition). *John Wiley and Sons Inc., New York* pp. 470 (1991).

Creel, S., Creel, N. M., Mills, M. G. L. and Monfort, S. L. Rank and reproduction in cooperatively breeding African wild dogs : behavioral and endocrine correlates. *Behavioral Ecology* **8** (3) 298-306 (1996).

Czeiler, C. A. and Klerman, E. B. Circadian and sleep-dependent regulation of hormone release in humans. *Recent Progress in Hormone Research* **54** : 97-132 (1999).

Dantzer, R. Behavioural, physiological and functional aspects of stereotypic behaviour : a review and a reinterpretation. *Journal of Animal Science* **62** (6) : 1776-1786 (1986).

Davies, J., Baxter, J., Bradley, M., Connor, D., Khan, J., Murray, E., Sanderson, W., Turnbull, C. and Vincent, M. (eds). Marine monitoring handbook. Joint Nature Conservation Committee, Peterborough, UK 125-128 pp. 405 (2001).

Dehnhardt, G., Mack, B., Hanke, W., Bleckmann, H. Hydrodynamic trail-following in harbor seals (*Phoca vitulina*) *Science* **293** : 102-103 (2001).

Dickerson, S. S., Gruenewald, T. L. and Kemeny, M. E. When the social self is threatened: shame, physiology and health. *Journal of Personality* **72** (6) : 1191-216 (2004).

Dierauf, L. A. and St Aubin, D. J. Stress and marine mammals in Dierauf, L. A. and St Aubin, D. J. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine (2nd edition) chapter 13. *CRC Press* 256-269 pp. 1063 (2001).

Duguy, R. and Robineau, D. Guide des mammifères marins d'Europe. *Delachaux et Niestlé* pp. 201 (1982).

Dupouy, J.-P. (coordinateur). Hormones et grandes fonctions Tome 1. *Editions Ellipses* pp. 352 (1993).

Eibl-eibesfeldt, I. Ethologie, biologie du comportement (3^{ème} édition). *Naruralia et Biologica, éditions scientifiques, Paris* (1972).

Ellenbogen, M. A., Schwartzman, A. E., Stewart, J. and Walker C.-D. Stress and selective attention : the interplay of mood, cortisol levels, and emotional information processing. *Psychophysiology* **39** : 723-732 (2002).

Elsinga, B., van Stegeren, A. Le rôle de la noradrénaline et du cortisol dans la fonction mnésique et en cas de stress post-traumatique. *Patient Care : Neuropsychiatrie (édition belge)* : 4-12 (numéro de mai 2002).

Etienne, P. Le phoque veau-marin. *Eveil Nature* pp. 72 (2000).

Gardiner, K. J. and Hall, A. J. Diel and annual variation in plasma cortisol concentrations among wild and captive harbor seals (*Phoca vitulina*). *Canadian Journal of Zoology* **75** : 1773-1780 (1997).

Greenspan, F. S. and Gordon, J. S. Basic and Clinical Endocrinology, fifth edition. *Prentice-Hall International Inc* pp. 824 (1997).

Hainard, R. Mammifères sauvages d'Europe. *Delachaux et Niestlé* pp. 274 (1988).

Hennen, G. Endocrinologie. *De Boeck Université* pp. 519 (2001).

Hofman, L. F. Human saliva as a diagnostic specimen. *American Society for Nutritional Sciences* **131** (5) : 1621-1625 (2001).

Idelman, S. Endocrinologie, Fondements physiologiques. Collection Grenoble Sciences. *Presses universitaires de Grenoble* pp. 320 (1990).

- Immelmann, K. Dictionnaire de l'éthologie. *Pierre Mardaga Editeur* pp. 293 (1982).
- Kemeny, M. E. The psychobiology of stress. *Current directions in psychological science* **12** (4) 124-129 (2003).
- Kirschbaum, C. Salivary cortisol, technical issues. *Website : poolux.psychopool.tu-dresden.de/biopsy/eng/5/page_5_1_1_0.php?t1=5&t2=1&t3=1&t4=0&datei_format=ph*.
- Kirschbaum, C. and Hellhammer, D. H. Salivary cortisol in psychobiological research: An overview. *Neuropsychobiology* **22** : 150-169 (1982).
- Lazarus, R. S. and Folkman, S. Stress, appraisal and coping. *New York : Springer* pp. 464 (1984).
- Lovallo, W. R. Physiological regulation during physical and psychological stress, in *Stress and Health : Behavioral and Psychological Interactions*, Lovallo, W. R. (Ed.). *Sage Publications, Thousand Oaks, CA*. 55-74 (1997).
- Luboshitzky, R. Endocrine activity during sleep. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* **13** : 13-20 (2000).
- Mc Farland, D. The Oxford companion to animal behaviour. *Oxford University Press* pp. 576 (1987).
- Mc Farland, D. Le comportement animal : psychobiologie, éthologie et évolution. *De Boeck* pp. 613 (2001).
- McLeod, P. J., Moger, W. H., Ryon, J., Gadbolds, S. and Fentress, J.-C. The relation between urinary cortisol levels and social behaviour in captive timber wolves. *Canadian Journal of Zoology* **74** : 209-216 (1996).
- Maes, M., Mommen, K., Hendrickx, D., Peeters, D., D'Hondt, P., Ranjan, R., De Meyer, F. and Scharpe, S. Components of biological variation, including seasonality in blood concentrations of TSH, PRL, cortisol and testosterone in healthy volunteers. *Clinical Endocrinology* **46** : 587-598 (1997).
- Marion, R. and Sylvestre, J.-P. Guide des otaries, phoques et siréniens. *Delachaux et Niestlé* pp. 160 (1993).
- Martin, R. Les mammifères marins. *Elsevier Séquoia, Bruxelles* pp. 340 (1977).
- Miller, G. E., Cohen, S. and Ritchey, A. K. Chronic psychological stress and the regulation of pro-inflammatory cytokines : A glucocorticoid resistance model. *Health Psychology* **21** : 531-541 (2002).
- Möstl, E. and Palme, R. Short overview of their recent work. Address : Institute of Biochemistry, University of Veterinary Medicine, Veterinärplatz 1, Vienna, Austria. pp. 3 (2003).
- Noonan, L. M., Ronald, K. and Raeside, J. Plasma testosterone concentrations of captive male hooded seals (*Cystophora cristata*). *Canadian Journal of Zoology* **69** : 2279-2282 (1991).
- Oki, C. and Atkinson, S. Diurnal patterns of cortisol and thyroid hormones in the Harbor seal (*Phoca vitulina*) during summer and winter seasons. *General and Comparative Endocrinology* **136** : 289-297 (2004).
- Orth, D. N., Island, D. P. and Liddle, G. W. Experimental alteration of the circadian rhythm in plasma cortisol (17-OHCS) concentration in man. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **27** (4) : 549-555 (1967).
- Perlemuter, L. Endocrinologie. *Masson* pp. 494 (2003).
- Read, G. F. Hormones in saliva. In : *Human Saliva : Clinical Chemistry and Microbiology* **2** (Tenovic, J. O., ed). *CRC Press Inc. : Boca Raton, FL* 147-176 (1989).
- Riad-Fahmy, D., Read, G. F., Walker, R. F. and Griffiths, K. Steroids in saliva for assessing endocrine function. *Endocrine Reviews* **3** : 367-395 (1982).

Ridgway, S. H. and Harrison, R. J. Handbook of Marine Mammals 2 Seals. *Academic Press* pp. 359 (1981).

Réseau d'Observation de Mammifères Marins (ROMM). Plan d'action sur le phoque commun (*Phoca vitulina concolor*) de l'estuaire du Saint-Laurent. *Rapport produit pour le ministère des Pêches et des Océans du Canada et le parc marin du Saguenay-Saint-Laurent en collaboration avec les partenaires de la table de concertation sur le phoque commun de l'estuaire du Saint-Laurent* pagination multiple (2004).

St Aubin, D. J. Endocrinology, in Dierauf, L. A. and St Aubin, D. J. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine (2nd edition) : chapter 10, 165-192. *CRC Press* pp. 1063 (2001).

St. Aubin, D. J., Ridgway, S. H., Wells, R. S. and Rhinehart, H. Dolphin thyroid and adrenal hormones: circulating levels in wild and domesticated *Tursiops truncatus* and influence of sex, age and season. *Marine Mammal Science* **12** : 1-13 (1996).

Saltz, D. and White, G. C. Urinary cortisol and urea nitrogen responses to winter stress in mule deer. *Journal of Wildlife Disease* **55** (1) : 1-16 (1991).

Sapolsky, R. M. Stress in the Wild. *Scientific American* : 106-113 (1990).

Schmid, J. and Heistermann, M. Introduction of foreign asian elephants (*Elephas maximus*) into an existing group: behavioural reactions and changes in cortisol levels. *Animal welfare* **10** (4) : 357-372 (2001)

Selye, H. A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* **138** : 2 (1936).

Society for Marine Mammalogy. Notes : Monitoring total androgen concentrations in saliva from captive hawaiian monk seals (*Monachus schauinslandi*). *Marine Mammal Science* **14** (2) : 304-310 (1998).

Sulon, J., Demey-Ponsart, L., Beauduin, P. and Sodoyez, J. C. Radioimmunoassay of corticosterone, cortisol and cortisone : their application to human cord and maternal plasma. *Journal of Steroid Biochemistry* **9** : 671-676 (1977).

Sucheston, M. E. and Cannon, M. S. Cortex of the suprarenal (adrenal) gland of *Phoca vitulina richardi*. *Ohio J. Sci* **80** : 140-144 (1980).

Suzuki, M., Tobayama, T., Katsumata, E., Yoshioka, M. and Aida K. Serum cortisol levels in captive killer whale and bottlenose dolphin. *Fisheries Science* **64** (4) : 643-647 (1998).

Suzuki, M., Uchida, S., Ueda, K., Tobayama, T., Katsumata, E., Yoshioka, M. and Aida, K. Diurnal and annual changes in serum cortisol concentrations in Indo-Pacific bottlenose dolphins *Tursiops aduncus* and killer whales *Orcinus orca*. *General and Comparative Endocrinology* **132** : 427-433 (2003).

Takai, N., Yamaguchi, M., Aragaki, T., Eto, K., Uchihashi, K. and Nishikawa, Y. Effect of psychological stress on the salivary cortisol and amylase levels in healthy young adults. *Archives of Oral Biology* **49** : 963-968 (2004).

Tollu, B. Phoques, morses, otaries ; écologie et vie sociale. Collection Science et Découvertes. *Le Rocher* pp. 155 (1986).

Tops, M., van der Pompe, G., Baas, D., Mulder, L. J. M., Den Boer, J. A., Meyman, T. F. and Korf, J. Acute cortisol effects on immediate free recall and recognition of nouns depend on stimulus valence. *Psychophysiology* **40** : 167-173 (2003).

Van Parijs, S. M., Thompson, P. M., Tollit, D. J. and Mackay, A. Distribution and activity of male harbour seals during mating season. *Animal Behaviour* **54** (1): 35-43 (1997).

Wommack, J. C., Salinas, A., Melloni, R. H. and Delville, Y. Behavioural and neuroendocrine adaptations to repeated stress during puberty in male golden hamsters. *Journal of Neuroendocrinology* **16** : 767-775 (2004).

Wong, V., Yan, T., Donald, A. and McLean M. Saliva and bloodspot cortisol : novel sampling methods to assess hydrocortisone replacement therapy in hypoadrenal patients. *Clinical Endocrinology* **61** : 131-137 (2004).

Zarkovic, M., Stefanova, E., Ciric, J., Penezic, Z., Kostic, V., Sumarac-Dumanovic M., Macut, D., Ivovic M. S. and Gligorovic P. V. Prolonged psychological stress supresses cortisol secretion. *Clinical Endocrinology* **59** : 811-816 (2003).

SECRETARIAT BIOLOGIE
F.U.N.D.P.
Rue de Bruxelles, 59
B 5000 NAMUR (Belgique)
Tél. 081 / 72 44 18 - Fax 081 / 72 44 20

24 AOÛT 2005