

UNIVERSITÉ PARIS XIII
ÉCOLE DOCTORALE GALILÉE

THÈSE

présentée pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS XIII

Spécialité : Éthologie

Conséquences émotionnelles et sociales du vieillissement :
étude comportementale chez un rongeur monogame de type sauvage,
Mus spicilegus

présentée par

Marie LAFAILLE

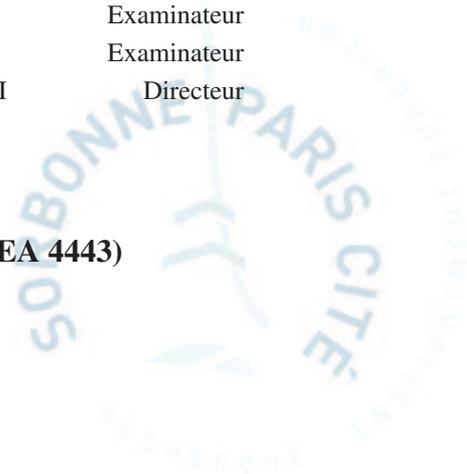
sous la direction de Christophe FÉRON

soutenue publiquement le 13 février 2015

JURY

Dr Guila GANEM	Chargée de recherche, CNRS - ISEM, Université Montpellier II	Rapporteur
Dr Benoist SCHAAL	Directeur de recherche, CNRS - CSGA, Université de Dijon	Rapporteur
Pr Thomas FRERET	Professeur, GMPC, Université de Caen	Examineur
Pr Heiko RÖDEL	Professeur, LEEC, Université Paris XIII	Examineur
Dr Christophe FÉRON	Maître de conférence, LEEC, Université Paris XIII	Directeur

Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée (EA 4443)



Remerciements

Durant ces dernières années, j'ai été amenée à rencontrer de nombreuses personnes. Je souhaite remercier ici toutes celles qui ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de cette thèse. Ces personnes sont la preuve que la thèse est loin d'être un travail solitaire.

Mes premiers remerciements vont à mon directeur de thèse, le Dr. Christophe Féron, pour m'avoir encadrée pendant ce travail doctoral, pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'il a consacrées à diriger cette recherche. J'aimerais également lui dire à quel point j'ai apprécié sa grande disponibilité et ses grandes qualités humaines d'écoute et de compréhension dont il a fait preuve durant toutes ces années.

Je tiens à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail et d'y avoir apporté leur regard critique : le Dr. Guila Ganem, le Dr. Benoist Schaal, le Pr. Thomas Freret, le Pr. Heiko Rödel et le Dr. Christophe Féron. Merci particulièrement au Dr. Guila Ganem et au Dr. Benoist Schaal pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce manuscrit.

Je témoigne toute ma reconnaissance au Pr. Heiko Rödel pour son accueil chaleureux à chaque fois que j'ai sollicité son aide, pour avoir partagé ses connaissances en statistiques et pour la relecture des articles. Je le remercie également pour son enthousiasme inébranlable, sa disponibilité et sa bonne humeur.

Mes remerciements vont également au Dr. Patrick Gouat pour ses précieux conseils, son esprit critique et son aide pour la relecture des articles.

Je souhaiterais exprimer toute ma gratitude à Simone Demouron pour son expérience, son savoir-faire et nos longues heures de discussion. Merci infiniment pour avoir bichonné les souris pendant mon absence. Je remercie également Sonia et Ludivine qui a pris le relai efficacement lors de la fin de ma thèse.

Ces remerciements seraient incomplets si je n'en adressais pas aux étudiants, désormais amis, que j'ai rencontré au sein du laboratoire. Merci à Maria (nos routes se recroiseront au Chili), Benji (merci infiniment pour la relecture du manuscrit), Sabrina, Lucile et Émilie pour leur bonne humeur et toutes ces discussions (scientifiques ou non) échangées durant ces années. Un grand merci aux autres membres du laboratoire pour leur sympathie.

Enfin, ma reconnaissance va à ceux qui ont plus particulièrement assuré le soutien affectif de ce travail doctoral : ma famille, Charlotte et Julia.

Merci à vous tous sans qui ce travail n'aurait jamais vu le jour.

Liste des figures

HORS FIGURES CONTENUES DANS LES ARTICLES

1	Pyramides d'âges des pays les plus et les moins développés	3
2	Illustration de S.J Tatz tiré de "The snark was a boojum" (Beach,1950)	9
3	Effet de l'âge maternel sur le succès reproducteur chez deux espèces de mammifères	17
4	Répartition géographique de <i>Mus spicilegus</i>	27
5	Tumulus de <i>Mus spicilegus</i>	29
6	Cycle de vie de <i>Mus spicilegus</i>	30
7	Schéma expérimental du test de double choix olfactif	79
8	Effet de l'âge sur la préférence olfactive du mâle pour sa partenaire	81
9	Effet de l'âge parental sur l'absence simultanée au nid	99
10	Effet de l'âge maternel sur la présence au nid et les postures d'allaitements	100
11	Effet de l'âge paternel sur la présence au nid et les postures de recouvrement	101
12	Effet de l'âge maternel sur le comportement de léchage/toilettage	102
13	Effet de l'âge maternel sur le comportement de récupération des nouveau-nés	103
14	Effet de l'âge paternel sur le comportement de récupération des nouveau-nés	104
15	Effet des comportements LG-ABN sur les comportements exploratoires et anxieux de la descendance	124
16	Effets de l'âge de mise en couple des parents sur les comportements néophobes de la descendance	125
17	Effets du rang de la portée sur les comportements exploratoires et anxieux de la descendance	126
18	Effet du sexe-ratio des portées sur les comportements anxieux de la descendance	127
19	Corrélation entre les postures arquées et les comportements de léchage/toilettage des parents	132
20	Effet de l'âge parental sur les postures arquées et comportements de léchage/toilettage	133
21	Structures cérébrales impliquées dans la détection des menaces et la régulations des réponses comportementales associées	140

Liste des tableaux

HORS TABLEAUX CONTENUS DANS LES ARTICLES

1	Éthogramme des comportements sociaux	65
2	Temps de flairage des mâles lors du test de double choix olfactif	85
3	Caractéristiques des couples reproducteurs	94
4	Éthogramme des comportements parentaux	95
5	Effet de l'âge parental sur le nombre de jeunes sevrés	104
6	Effet de l'âge parental sur le développement pondéral des jeunes	105
7	Effectifs des descendants mâles et femelles testés	121
8	Synthèse des résultats	138

Table des matières

Introduction générale	1
1 Le vieillissement	2
1.1 Pourquoi étudier le vieillissement ?	2
1.2 Les théories du vieillissement	3
1.2.1 La théorie de l'accumulation des mutations délétères	4
1.2.2 La théorie de la pléiotropie antagoniste	4
1.2.3 La théorie du soma jetable	4
2 Les modèles animaux utilisés dans la recherche sur le vieillissement	5
2.1 Les invertébrés	5
2.2 Les vertébrés	6
2.3 L'intérêt du modèle murin dans la recherche sur le vieillissement	7
2.4 L'intérêt de l'utilisation de modèles de type sauvage pour l'étude du vieillissement	9
3 Conséquences comportementales du vieillissement	10
3.1 Les comportements exploratoires	10
3.1.1 Exploration et anxiété	11
3.1.2 L'anxiété au cours du vieillissement	12
3.1.3 L'âge parental et les comportements anxieux de la descendance	12
3.1.4 Différence entre les sexes	13
3.2 Les comportements sociaux	14
4 Perspective éco-éthologique du vieillissement	15
4.1 La théorie des traits d'histoire de vie	15
4.2 Âge et succès reproducteur	16
4.2.1 De la maturation à la sénescence reproductrice	16
4.2.2 Vieillesse et effort reproducteur	17
4.2.3 Les comportements parentaux, un facteur ignoré	18
4.3 L'âge de première reproduction, un trait d'histoire de vie déterminant	19
4.3.1 Les conséquences d'une reproduction retardée sur le succès et l'effort reproducteur en début de vie reproductrice	20
4.4 Les conséquences à long terme d'une reproduction retardée	21
5 Motivations, modèle biologique et objectifs de la thèse	21
5.1 Motivations	21
5.2 La souris glaneuse, modèle d'étude pour l'étude du vieillissement	22

5.3	Objectifs de la thèse	23
Modèle d'étude, matériel et approches expérimentales		26
1	La souris glaneuse, <i>Mus spicilegus</i>	27
1.1	Le tumulus	28
1.2	Tumulus, fractionnement des cohortes et expérience sociale	30
1.3	Agressivité	31
1.4	Comportements socio-sexuels	31
1.5	Performances reproductrices	32
1.6	Comportements parentaux	32
2	Dispositifs d'évaluation des comportements anxieux	33
2.1	Les tests de l'open field et de l'elevated plus maze	33
2.2	Le test d'exploration d'un nouvel objet	34
2.3	Le test d'interactions sociales	34
3	Approches expérimentales	35
3.1	Approche transversale	35
3.2	Approche transversale séquentielle	36
Chapitre 1	Effet de l'âge sur les comportements exploratoires en situation anxiogène	37
Chapitre 2	Effets de l'âge sur les interactions sociales	46
Chapitre 3	Effets de l'âge sur l'initiation de la reproduction et les performances reproductrices	66
Chapitre 4	Effets de l'âge de première reproduction et de la durée de vie reproductive du couple sur la préférence olfactive du mâle pour sa partenaire	73
Chapitre 5	Effets de l'âge de première reproduction et de la durée de vie reproductive sur les comportements parentaux	89
Chapitre 6	Effets de l'âge des parents et des comportements parentaux sur le profil anxieux de la descendance	115
Discussion générale et perspectives		137
1	Relation non-linéaire entre vieillissement et anxiété	139
2	Différences comportementales, émotionnelles et sociales, entre les souris de 3 mois et de 6 mois	141
2.1	Comportements liés à l'anxiété	141
2.2	Initiation de l'accouplement	142
2.3	Comportements parentaux	142
2.4	Comportements néophobes de la descendance	144
3	Effets de la durée de vie reproductive sur la préférence pour la partenaire, les comportements parentaux et les comportements anxieux de la descendance	144
4	Les conséquences à long terme d'une reproduction retardée	146

5	Impacts écologiques possibles	146
5.1	Dispersion	146
5.2	Stratégie de reproduction	148
5.3	Variabilité phénotypique de la descendance	149
6	Limites des approches employées dans cette thèse	149
6.1	L'effet cohorte	149
6.2	Hétérogénéité individuelle	150
6.3	Prise en compte de la parité	151
7	Quelques perspectives...	151
7.1	Différences entre mâles et femelles	151
7.2	Corrélat neurobiologiques liés aux changements comportementaux	152
7.3	Initiation de la reproduction	152
7.4	Évaluation de l'investissement reproducteur	153
8	Conclusion	153

Introduction générale

1 Le vieillissement

Le vieillissement est un processus biologique complexe, universel ¹ entraînant pour chaque individu une détérioration lente, progressive et généralisée des fonctions de l'organisme le conduisant irréversiblement à la perte de ces fonctions et à sa mort (Masoro & Austad, 2011). Il est de façon plus précise caractérisé par une augmentation du risque de mortalité concomitante à des changements de la composition biochimique des tissus, une diminution des aptitudes physiologiques, une capacité moindre à répondre adaptativement à un stimulus environnemental et une plus forte vulnérabilité aux maladies (Troen, 2003). Le vieillissement est la résultante des effets combinés de facteurs génétiques (vieillesse intrinsèque) et de facteurs environnementaux auxquels est soumis l'organisme tout au long de sa vie.

1.1 Pourquoi étudier le vieillissement ?

Bien qu'il soit plus ou moins avancé selon les pays, le vieillissement démographique n'est plus seulement un problème de pays développés mais touche toute la planète. Il commence à toucher les pays en voie de développement et sera l'un des grands défis sociaux de l'humanité au cours du XXI^e siècle. Si actuellement, sur 100 personnes de plus de 65 ans dans le monde, 53 habitent dans un pays en voie de développement, en 2025 elles seront 69 (Pison, 2009). La population mondiale des personnes âgées croît au rythme de 2% par an, soit beaucoup plus rapidement que la population dans son ensemble. La population âgée elle-même vieillit. Le groupe d'âge qui progresse actuellement le plus rapidement dans le monde est celui des personnes les plus âgées (80 ans et plus) : il augmente de 3,8% par an. En 2050, les projections démographiques prévoient que les personnes âgées de plus de 60 ans seront plus de 2 milliards sur les 9 milliards d'humains que comptera la planète (United Nations 2013 ; Figure 1). La baisse de la fécondité et l'allongement de l'espérance de vie mondiale va entraîner

ENCADRÉ 1 - Vieillesse vs sénescence

Les termes vieillissement et sénescence sont souvent employés de façon interchangeable dans la littérature. Ces deux notions caractérisent des changements progressifs corporels menant aux déclin des fonctions puis à la mort. Le terme sénescence renvoie plus précisément aux dégénérescences après l'âge du pic d'efficacité fonctionnelle qui vont diminuer la survie et la reproduction (Kirkwood & Rose, 1991). D'une manière générale, nous emploierons dans ce manuscrit le terme vieillissement qui se réfère quant à lui à l'ensemble des changements qui se produisent avec le temps et qui s'étend donc de la conception à la mort de l'organisme (Balcombe & Sinclair, 2001). Le terme sénescence sera réservé lorsque nous observerons des effets néfastes de l'âge sur la reproduction.

1. De rares organismes peuvent être considérés comme biologiquement immortels comme la méduse *Turritopsis nutricula* qui est capable d'inverser son processus de vieillissement et de retourner à sa forme juvénile après avoir atteint sa maturité sexuelle et ce théoriquement de façon illimitée. Voir la revue récente de Petralia et al. (2014) sur les mécanismes de régénération et de rajeunissement qui sont les facteurs clefs de l'immortalité biologique.

des enjeux économiques, politiques et sociaux majeurs. Dans ses rapports, l'ONU souligne la priorité et l'importance de promouvoir le bien-être des personnes âgées à venir United Nations (2013). De nombreuses pathologies liées au vieillissement impliquent des troubles émotionnels pouvant provoquer un fonctionnement social anormal particulièrement handicapant. L'apport de la recherche scientifique dans l'étude et la compréhension des conséquences comportementales liées au vieillissement est dans ce sens primordial, au même titre que l'est celle des mécanismes génétiques, physiologiques causaux du déclin des fonctions de l'individu.

Le travail conduit durant cette thèse vise à approfondir les recherches et à apporter de nouvelles connaissances sur les conséquences comportementales et émotionnelles du vieillissement.

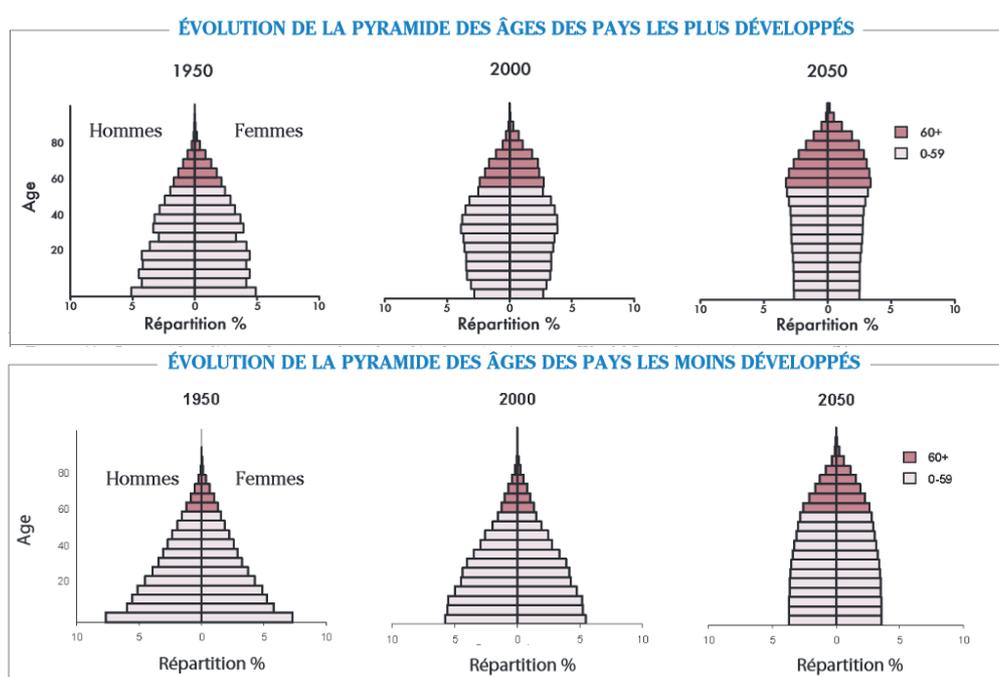


FIGURE 1 – Pyramides d'âges des pays les plus et les moins développés en 1970, 2002 et données prévisionnelles pour 2050. Source" Le vieillissement mondial de la population dans le monde de Jacques Dupâquier, tiré de "World Population Ageing" p. 51.

1.2 Les théories du vieillissement

La question du maintien des individus âgés au sein des populations a longtemps intrigué les évolutionnistes, tant il est difficile de lui trouver une explication sur le plan fonctionnel. En effet si le vieillissement correspond à un déclin des variables associées à l'aptitude phénotypique des individus, comment expliquer qu'il soit si ubiquiste dans les lignées d'êtres vivants ? Comment un tel phénomène peut-il ne pas être contre-sélectionné afin que les individus âgés aux basses performances reproductrices disparaissent au profit des individus plus

jeunes et plus compétitifs ? Trois propositions théoriques tentent de placer le vieillissement dans un cadre évolutif.

1.2.1 La théorie de l'accumulation des mutations délétères

La première hypothèse formulée par Haldane (1941) puis reprise par Medawar (1952) repose sur l'observation de la fréquence de la chorée de Huntington, maladie mortelle entraînant une dégénérescence cérébrale, due à une mutation dominante dont la fréquence (1/15000) est bien supérieure à la plupart des maladies génétiques. Théoriquement, de telles mutations dominantes devraient être fortement contre-sélectionnées et se retrouver rarement dans les populations. Toutefois, la chorée de Huntington diffère d'autres maladies génétiques par l'apparition tardive des symptômes (après 40 ans) à un âge où les porteurs de la mutation se sont donc généralement déjà reproduits. Cette caractéristique permettrait à la mutation de se maintenir à des taux relativement élevés dans la population humaine. La théorie d'"*accumulation des mutations délétères*" repose sur le fait que les mutations dont les effets délétères ne sont exprimés qu'après l'âge de la reproduction ne peuvent être éliminées par la sélection naturelle. N'étant pas efficacement contre-sélectionnées ces mutations s'accumulent dans le génome et seraient susceptibles d'entraîner un déclin du succès reproducteur et de la survie des individus au cours du temps (Hamilton, 1966).

1.2.2 La théorie de la pléiotropie antagoniste

La deuxième hypothèse formulée par Williams (1957) dite de la "*pléiotropie antagoniste*" découle de la théorie de Medawar. Williams suggère l'existence de gènes pléiotropiques qui s'exprimeraient à différents moments de la vie de l'individu. Tout comme la théorie précédente, le vieillissement serait dû à l'accumulation de mutations dans le génome ayant un effet délétère tardif. Cependant, ces dernières pourraient être favorisées par la sélection car elles auraient un effet bénéfique sur la valeur sélective (contributions positive à la survie ou fécondité) des individus au début de leur vie. Ce n'est que par la suite, à un âge plus avancé (après la reproduction), qu'elles se révéleraient dommageables ce qui les préserverait d'une élimination.

1.2.3 La théorie du soma jetable

Enfin la troisième théorie dite du "*soma jetable*" du biologiste Thomas Kirkwood (1977) s'intègre dans la théorie des traits d'histoire de vie et dans l'existence de compromis d'allocation de l'énergie et de coût de la reproduction (Kirkwood & Rose, 1991). Au cours de la vie d'un organisme, le métabolisme normal engendre naturellement des dégâts irréversibles, notamment des dégâts oxydatifs. Le stress induit par la reproduction,

processus extrêmement coûteux, engendre des dégâts supplémentaires qui s'accumulent avec l'âge. Bien que l'organisme dispose de mécanismes de défense contre ces dégâts, ils sont aussi très coûteux au niveau énergétique et l'organisme doit par conséquent faire des compromis entre la maintenance somatique, qui limite l'accumulation de dégâts métaboliques compromettant la survie et la reproduction. Dans cette optique, l'organisme est un outil à usage unique, un soma jetable dont la seule fonction est de permettre la reproduction et la transmission des gènes.

2 Les modèles animaux utilisés dans la recherche sur le vieillissement

Étudier le vieillissement chez l'humain présente sans conteste des limites méthodologiques et éthiques importantes impliquant le recours à l'expérimentation animale. De nombreux modèles animaux, invertébrés et vertébrés, sont aujourd'hui utilisés pour répondre à des problématiques diverses. Il faut admettre qu'aucun modèle animal ne permet de transposer directement les résultats obtenus aux humains, même dans le cas des primates qui sont proches phylogénétiquement. Ces études peuvent néanmoins, même en l'absence d'extrapolation directe, permettre la compréhension des mécanismes généraux liés au processus du vieillissement.

2.1 Les invertébrés

L'utilisation d'*invertébrés* présente plusieurs atouts dans la recherche sur le vieillissement comme leur facilité de manipulation, leur exigence nutritive parfois facile à contenter, leur croissance rapide et leur reproduction prolifique. Certains invertébrés présentent cependant un répertoire comportemental pauvre qui limite leur intérêt.

La levure *Saccharomyces cerevisiae* (appelée communément levure du boulanger) est un champignon unicellulaire. Elle est un modèle intéressant dans l'étude du vieillissement en raison notamment de son génome facilement manipulable. Cette levure partage des similarités génétiques et cellulaires avec les eucaryotes supérieurs ce qui permet de déterminer le fonctionnement de gènes ou protéines spécifiques chez les animaux, y compris l'humain (Breitenbach et al., 2011).

Le nématode *Caenorhabditis elegans* est un petit ver d'un millimètre qui ne possède que 302 neurones, se reproduit principalement de façon hermaphrodite et possède un corps transparent. La simplicité de ce ver l'a imposé dans l'étude du vieillissement cellulaire et il est devenu aujourd'hui un modèle particulièrement recherché pour l'étude de la physiopathologie d'un certain nombre de maladies humaines (McCulloch &

Gems, 2003) et pour les travaux en neurotoxicité (Williams et al., 2000).

Drosophila melanogaster ou la mouche du fruit est utilisée depuis plus d'un siècle en gériologie expérimentale. Son génome a été entièrement décrypté au début des années 2000 ce qui en fait un modèle adéquat pour l'étude de nombreuses pathologies humaines (maladie d'Alzheimer, cancer, maladies infectieuses, obésité...) sur les plans génétique, biochimique, cellulaire et comportemental (Brandt & Vilcinskis, 2013).

L'étude des mollusques dont fait partie la grande Limnée (*Lymnaea stagnalis*) a permis d'apporter de nouvelles connaissances dans la recherche sur le vieillissement notamment au plan neuronal (Yeoman & Faragher, 2001). Bien que différent du système nerveux des vertébrés sur le plan anatomique et fonctionnel, celui des mollusques présente une structure simple constituée de grands neurones identifiables qui peuvent être étudiés individuellement.

La recherche sur le vieillissement axé sur les insectes sociaux, dont l'abeille à miel (*Apis mellifera*) en particulier, est encore à ses tous débuts mais des résultats intéressants commencent à émerger concernant les aspects ultimes et proximaux de la longévité. Les taux variables de vieillissement observables chez les différentes castes d'abeilles permettent d'étudier la régulation épigénétique de la durée de vie. Nous commençons à comprendre comment l'optimisation des ressources au niveau de la colonie entraîne des changements physiologiques chez l'individu accompagné de conséquences importantes sur le vieillissement (les abeilles fourrageuses subissent par exemple plus de dommages oxydatifs cérébraux que les femelles qui s'occupent de la progéniture et restent à l'intérieur de la colonie ; Omholt & Amdam 2004).

2.2 Les vertébrés

Les modèles biologiques vertébrés sont beaucoup plus hétérogènes dans leurs traits d'histoire de vie mais présentent la particularité d'être phylogénétiquement plus proches de l'humain et d'exprimer des répertoires comportementaux complexes.

Parmi les poissons, le poisson zèbre (*Danio rerio*) était initialement utilisé pour les études génétiques en biologie du développement. Le développement embryogénique externe et la transparence du corps durant les premiers jours de vie ont permis des observations *in vivo* du développement tumoral ou neuronal par fluorescence. Récemment, ce petit poisson est devenu un candidat idéal pour l'étude du vieillissement grâce notamment à ses capacités remarquables de régénération des muscles, du cœur, de la moelle épinière et d'autres tissus (Kishi et al., 2003).

Les études de vieillissement chez les oiseaux ont réfuté les vieilles hypothèses sur le métabolisme et le vieillissement montrant que, même avec des taux métaboliques élevés, des espèces comme les oiseaux marins

appartenait aux animaux longévifs. Les espèces comme la perruche ondulée et le diamant mandarin sont aujourd'hui utilisées pour étudier les processus neurophysiologiques et comportementaux liés au vieillissement (Austad, 2011).

Un des grands intérêts des *primates non-humains* en tant que modèles biologiques est leur proximité phylogénétique avec l'humain. Le macaque rhésus (*Macaca mulatta*) et le microcèbe mignon (*Microcebus murinus*) sont les deux principaux primates utilisés pour étudier les changements morphologiques, comportementaux, hormonaux, sensoriels ou cognitifs liés à l'âge (Roth et al., 2004; Fischer & Austad, 2011). L'expérimentation sur le microcèbe qui a une espérance de vie plus courte que le macaque (8 ans contre 26 ans en captivité) va probablement se développer dans l'avenir. Ses traits de vie demeurent toutefois éloignés de l'Homme particulièrement au niveau métabolique (primate hétérotherme).

L'hétérocéphale (*Heterocephalus glaber*), aussi appelé *rat-taupe nu* est un petit rongeur d'Afrique de l'Est. Cette espèce est remarquable sur plusieurs points dont son exceptionnelle longévité (jusqu'à 31 ans en captivité), le maintien de son activité physique et de ses fonctions reproductives et physiologiques jusqu'à un âge avancé et sa capacité unique à résister aux maladies cardiovasculaires, dégénératives ou aux cancers qui font de lui un modèle animal idéal pour l'étude du vieillissement et la recherche biomédicale. Son génome a été séquencé en 2011 ce qui permettra dans l'avenir de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents qui confèrent à ce rongeur son immunité et son extrême longévité .

2.3 L'intérêt du modèle murin dans la recherche sur le vieillissement

À mi-chemin entre les invertébrés à courte durée de vie et les espèces longévives se situent le rat (*Rattus norvegicus*) et la souris (*Mus musculus*). Ces deux espèces sont plus apparentées à l'Homme que le sont les invertébrés et leur relative petite taille et leur courte espérance de vie les rendent plus aisément étudiables que les autres vertébrés. Leur courte espérance de vie facilite les études longitudinales, particulièrement informatives, qui sont difficiles à mettre en place chez des espèces longévives. Actuellement, les rongeurs sont les modèles animaux les plus utilisés pour étudier les effets du vieillissement (Sprott, 2011). Au cours de ces dernières années, un fort engouement dans la recherche sur le vieillissement est venu des découvertes dévoilant l'augmentation considérable de l'espérance de vie médiane et maximale et le retardement du déclin des fonctions physiologiques chez des souris et des rats soumis à une restriction calorique (Harper et al., 2006).

Le rat a été peu à peu délaissé au cours du siècle dernier au profit de la souris car son hébergement est plus

facile, elle se reproduit plus vite et les manipulations génétiques sont relativement aisées chez cette espèce. Son génome a été décrypté en 2003 dévoilant que *Mus musculus* possédait 99% de gènes homologues avec l'humain. Bien que la souris domestique diffère de l'Homme sur certains aspects, elle lui est relativement similaire au niveau des mécanismes moléculaires qui régulent la différenciation et la mort et qui exécutent les processus cellulaires basaux. L'utilisation de souris transgéniques (Richardson et al., 1997) ou de souris qui portent des caractéristiques spécifiques du vieillissement précoce (Senescence-Accelerated Mouse ; Takeda, 1999) a permis d'effectuer des progrès notables dans la compréhension des altérations liées au vieillissement.

La souris et l'humain partagent également des similarités au niveau hormonal et physiologique comme par exemple au niveau de la **reproduction**. Il a été montré que ces espèces partagent des points communs importants dans la cyclicité reproductive et le contrôle hypothalamique des fonctions ovarienne et testiculaire (Downs & Wise, 2009) et subissent toutes deux un vieillissement reproductif qui se caractérise par un déclin de la fertilité attribué à de multiples facteurs comme la réduction de la qualité des oocytes et de l'utérus (Danilovich & Ram Sairam, 2006) ou la diminution de la motilité des spermatozoïdes (Kidd et al., 2001). La souris est donc un modèle pertinent pour étudier les effets du vieillissement sur la **reproduction** et en particulier les conséquences délétères de l'âge sur les performances reproductives.

Le répertoire comportemental très varié de la souris permet de la soumettre à des expériences qui mettent en jeu des tâches cognitives (d'apprentissage ou de mémoire) mais aussi des réponses émotionnelles comme l'**anxiété**. Humains et souris expriment de grandes similitudes quant aux réactions anatomiques et aux comportements défensifs lors de l'utilisation d'agents anxiolytiques et anxiogènes (Blanchard et al., 2001; Leonardo & Hen, 2006). Les situations anxiogènes provoquent chez les souris des réactions spontanées et innées comme l'évitement, le comportement de freezing (voir Encadré 2 pour une description détaillée) ou de panique qui paraissent être de bons analogues aux réactions de personnes atteintes de troubles anxieux (Hohoff, 2009). Au niveau cérébral, les circuits impliqués dans l'anxiété sont hautement conservés et possèdent une forte homologie fonctionnelle (Leonardo & Hen, 2006). Dans des situations anxiogènes, les mêmes paramètres physiologiques (rythme cardiaque, pression sanguine et température corporelle) sont sollicités chez les deux espèces (Everly & Lating,

ENCADRÉ 2 - Comportement de freezing

Le comportement de freezing (ou d'immobilité tonique rigide) est caractérisé par l'absence de tout mouvement exceptés ceux requis pour la respiration et est exprimé dans un environnement menaçant. Face à la présence d'un prédateur, cette posture peut sembler contre intuitive mais elle représente la meilleure option quand les autres stratégies défensives pourraient se révéler inefficaces, quand par exemple l'animal perçoit une faible chance immédiate de fuite ou de gagner un combat (Korte et al., 2005). En effet, de nombreux prédateurs ont souvent des difficultés à détecter une proie immobile et le mouvement est souvent un stimulus déclencheur de leurs attaques (Fanselow & Lester, 1988). Cette posture se retrouve également chez l'Homme dans des situations de challenges biologiques par exemple, et semble fortement liée à l'état d'anxiété des personnes (Schmidt et al., 2008).

2002; Depino & Gross, 2007).

2.4 L'intérêt de l'utilisation de modèles de type sauvage pour l'étude du vieillissement

L'utilisation de souches de souris transgéniques et consanguines dans la recherche sur le vieillissement permet de diminuer la variance liée aux différences interindividuelles et donc d'augmenter la probabilité de détecter, en ayant recours à un nombre d'animaux réduit, les effets d'un traitement quelconque ou les altérations physiologiques et comportementales liées à l'âge. Toutefois le manque de diversité génétique de ces souches les éloigne des caractéristiques des populations naturelles, de la diversité pouvant également exister au sein des populations humaines et peut se traduire par de multiples désavantages pour étudier le vieillissement (voir pour revue Miller et al., 1999). Certaines souches sont même exclues d'office des études évaluant les changements comportementaux liés au vieillissement à cause de troubles sensoriels sévères (Harper, 2008).

AGE (2008) 30:135–145

DOI 10.1007/s11357-008-9057-0

Wild-derived mouse stocks: an underappreciated tool for aging research

James M. Harper

Le principal avantage des lignées de type sauvage est leur hétérogénéité génétique façonnée par des conditions environnementales naturelles, qui serait plus adéquate pour étudier un processus aussi complexe et multifactoriel que le vieillissement. Déjà des résultats prometteurs comme l'effet de la restriction calorique sur l'allongement de l'espérance de vie trouvée chez les souches consanguines n'a pas pu être mise en évidence chez des souris sauvages (Harper et al., 2006). L'utilisation de ces lignées sauvages est encouragée mais demeure encore marginale dans la recherche sur le vieillissement. Elle amène toutefois à des réflexions essentielles sur la démarche scientifique à employer et incite à pondérer les résultats obtenus sur des organismes modèles consanguins.

L'utilisation de souris de type sauvage permet également de prendre en compte les traits d'histoire de vie de l'espèce étudiée pour rendre compte de façon pertinente des changements liés à l'âge. Cette approche éthologique a été suggérée à plusieurs reprises notamment par Alleva et al. (1995) qui proposaient de conjuguer le champ émergent des neurosciences comportementales avec une approche plus "darwinienne" en prenant en compte les facteurs de survie réels des espèces.

Le principal avantage des lignées de type sauvage est leur hétérogénéité génétique façonnée par des conditions environnementales naturelles, qui serait plus adéquate pour étudier un processus aussi complexe et multifactoriel que le vieillissement.

Déjà des résultats prometteurs comme l'effet de la

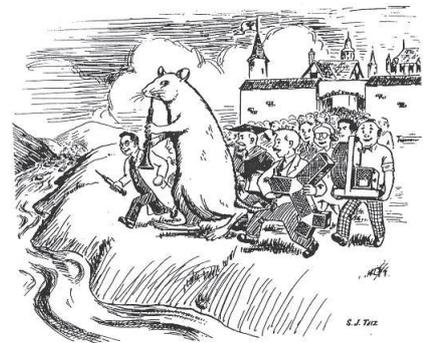


FIGURE 2 – Position de nombreux psychologues expérimentaux en 1950.

Les rats et les souris domestiques sont aujourd'hui les organismes modèles les plus utilisés dans la recherche scientifique tous domaines confondus y compris en recherche sur le vieillissement et dans les sciences comportementales. L'utilisation intensive de ces deux espèces n'est bien entendu pas nouvelle et dès 1950, l'endocrinologue comportemental Frank Ambrose Beach (1950) souligna la pauvreté des modèles biologiques employés en psychologie comparée (qui finalement n'avait de comparée que le nom, Figure 2). L'apport de nouvelles espèces dans l'étude des effets de l'âge sur les comportements semble dans ce sens une initiative intéressante.

L'utilisation d'espèces de type sauvage permettrait d'apporter de nouveaux modèles à la recherche sur le vieillissement et d'étudier ce processus à travers les traits d'histoire de vie des organismes.

3 Conséquences comportementales du vieillissement

Les modifications comportementales au cours du processus du vieillissement sont nombreuses et diverses. Le vieillissement entraîne par exemple, une altération du comportement phototaxique (drosophile, Grotewiel et al. 2005), des comportements socio-sexuels (microcèbe mignon, Aujard & Perret 1998) et des comportements alimentaires (Homme, Drewnowski & Shultz 2001). Ces exemples de modifications comportementales sont le signe externe de modifications physiologiques importantes. Elles sont aisément décelables de façon peu invasive. Les conséquences comportementales du vieillissement sont réellement pertinentes pour les organismes car, le comportement étant une interface d'ajustement entre les animaux et leur milieu, tout changement comportemental pourra avoir des effets directs sur leur trajectoire de vie.

3.1 Les comportements exploratoires

L'exploration réfère à une large catégorie de comportements qui ont pour fonction de fournir à un organisme des informations relatives à son environnement externe (Berlyne, 1960). Cette activité est donc prédominante dans la vie d'un organisme et est associée à certains processus écologiques fondamentaux comme le phénomène de dispersion. Au milieu du 20^e siècle, l'idée que de les comportements exploratoires soient uniquement motivés par des activités liées à la survie (recherche de nourriture, reproduction, évitement de blessures...) était largement répandue mais des recherches ultérieures montrèrent que l'exploration pouvait néanmoins exister même en l'absence de stimuli nuisibles ou à bénéfices biologiques (Welker, 1961). Quelle que soit la situation à laquelle fait face un animal, le comportement d'exploration nécessaire à l'acquisition

d'informations dans un environnement inconnu ou dans un environnement familier montrant de nouvelles caractéristiques va être fortement influencé par l'état émotionnel de l'individu (Lima & Dill, 1990).

3.1.1 Exploration et anxiété

L'anxiété est définie comme un état conduisant à un ensemble de réponses comportementales exprimées lors "d'une expérience affective déplaisante marquée par un haut degré d'appréhension de futurs événements d'apparence potentiellement aversifs et nuisibles" (DiTornasso & Gosch, 2007) et se distingue de la peur (voir Encadré 3). L'anxiété est adaptative ; son rôle est de faciliter le traitement sensoriel et le déclenchement rapide des mécanismes de défense (Cornwell et al., 2007) en réponse à un stimulus menaçant (Blanchard & Blanchard, 2011). Une anxiété excessive est en revanche non-adaptative. Chez l'Homme, les troubles anxieux qui constituent un ensemble de troubles psychologiques et neurologiques caractérisés par une anxiété persistante et excessive sont les troubles mentaux les plus courants. Une personne sur cinq souffrira d'au moins un de ces troubles durant son existence. Leur prévalence est plus élevée chez les personnes âgées et chez les femmes. Aux États-Unis, le coût annuel des troubles anxieux est estimé à 44 milliards de dollars (Gross & Hen, 2004).

Pour tenter d'étudier l'anxiété pathologique humaine chez les rongeurs, un large éventail de tests comportementaux basés sur l'**exploration** a été développé (Bailey & Crawley, 2009). Le tests les plus communément employés de nos jours sont le test de l'open-field (OF), de l'elevated plus maze (EPM) et des tests d'exploration libre comme le test d'exploration du nouvel objet (NO). Suivant leur configuration, ils intègrent soit un conflit entre exploration de lieux plus ou moins aversifs (OF, EPM) soit un conflit d'approche-évitement envers un milieu ou stimulus nouveau (test NO) (voir le chapitre suivant pour une

ENCADRÉ 3 - Anxiété vs peur

L'anxiété et la peur sont toutes deux caractérisées par l'anticipation et la préparation de l'organisme face à une future menace et engendrent des réponses défensives, hautement conservées entre espèces, qui varient suivant la nature du danger. Ces deux états sont néanmoins deux phénomènes distincts. Contrairement à la peur qui est augmentation de l'excitation physiologique, une réaction d'alarme (menant au combat ou à fuite) ou qui a pour but de réduire l'impact d'une menace proximale (comme diminuer la sensation de douleur), l'anxiété est un état émotionnel suscité par l'imprédictibilité et par la perception d'une menace potentielle, non perçue ou symbolique (Grillon, 2008). Ces deux états ont des profils pharmacologiques différents et mettent en jeu des circuits neuronaux distincts (Blanchard et al., 1993).

description plus détaillée). Ces tests présentent une excellente sensibilité aux agents pharmacologiques anxiolytiques et anxiogéniques (Carola et al., 2002). Ils sont facilement réalisables, sont écologiquement valides et des études antérieures ont montré qu'ils donnaient une bonne appréciation des capacités des individus à explorer et prendre des risques dans de nouveaux environnements en conditions naturelles (Dingemans et al., 2003). Chez les rongeurs, il a par exemple été montré que la tendance à disperser est corrélée positivement à

l'activité exploratrice chez la souris *Mus musculus musculus* de type sauvage (Krackow, 2003).

3.1.2 L'anxiété au cours du vieillissement

Chez l'Homme, il a été montré que les troubles anxieux présentaient un taux de prévalence élevé chez les personnes âgées (Beekman et al., 1998). Des résultats similaires ont été reportés chez différentes souches de rats et de souris de laboratoire communément employées lors d'études pharmacologiques. Comparativement aux adultes, les individus âgés évitent l'exploration de zones aversives dans de nouveaux environnements ou sont plus néophobes face à de nouveaux stimuli (objet, source alimentaire...) (Boguszewski & Zagrodzka, 2002; Meyza et al., 2011; Miyamoto et al., 1992). Certaines études apportent cependant des résultats contradictoires et montrent une diminution (Torras-Garcia et al., 2005) ou une absence de changement du niveau d'anxiété avec l'âge (Popović et al., 2009). Cette augmentation de l'anxiété est souvent couplée à une diminution de l'activité locomotrice dans les dispositifs mais ces deux phénomènes n'entretiennent pas forcément une relation causale (Boguszewski & Zagrodzka, 2002). *Des changements de l'anxiété et/ou de la néophobie au cours du processus de vieillissement pourrait fortement influencer l'exploration et la prise de risque des individus et affecter les potentialités d'exploration.*

3.1.3 L'âge parental et les comportements anxieux de la descendance

Dans les pays développés, les âges maternel et paternel sont en constante augmentation. En France, l'âge moyen des femmes à la maternité a augmenté de 4 ans entre 1960 et 2010 pour atteindre une moyenne de 28 ans (Insee, 2012). En Angleterre et au Pays de Galle, l'âge moyen des pères est passé de 29,2 en 1980 à 32,1 ans en 2002 (Bray et al., 2006). Face à ce constat, de nombreuses études ont vu le jour dans l'optique d'estimer les conséquences sanitaires d'un âge parental avancé sur les enfants. Récemment, les conséquences de l'augmentation de l'âge paternel sur la descendance ont reçu une attention particulière notamment par le biais de modèles murins (Foldi et al., 2011).

Chez l'Homme mais aussi au sein de populations naturelles de mammifères et d'oiseaux, il a été montré que les jeunes nés de mères âgées (ou de mères avec un niveau élevé d'événements reproductifs antérieurs) avaient des taux importants de risque de mortalité et étaient moins susceptibles d'atteindre l'âge adulte (Djahanbakhch et al., 2007; Nussey et al., 2013). Outre la survie des descendants, l'âge parental a des effets notables sur le développement cognitif et émotionnel de la descendance. Des effets non linéaires de l'âge parental ont par exemple été montré concernant l'intelligence des enfants (les mères âgées ont généralement des enfants au QI supérieur mais l'augmentation accrue du risque de donner naissance à un enfant atteint

du syndrome de Down inverse cette relation ; Trimble et al. 1978). Ces effets peuvent par ailleurs être contrastés suivant que le parent âgé soit le père ou la mère (les capacités cognitives peuvent augmenter avec l'âge maternel et diminuer avec l'âge paternel ; Saha et al. 2009). L'âge parental peut également affecter les comportements liés à l'anxiété de la descendance et dans ce cas précis, les études semblent plutôt unanimes et reportent un effet linéaire et analogue entre pères et mères. De nombreux travaux ont montré que les individus nés de mère, de père ou de couples âgés présentaient des taux accrus de troubles psychiatriques à forte comorbidité anxieuse (Cosoff & Julian Hafner, 1998; Leyfer et al., 2006). Chez les rongeurs de laboratoire, les descendants nés de pères âgés expriment à l'âge adulte un bas niveau d'exploration (Smith et al., 2009) et de nombreux comportements révélateurs d'anxiété dans des nouveaux environnements (Foldi et al., 2010; Sampino et al., 2014). *Dans les populations naturelles d'animaux, l'âge des parents pourrait donc être un facteur crucial car il serait alors susceptible d'influencer les stratégies de dispersion et de reproduction des descendants et donc de déterminer leur contribution dans la population.*

3.1.4 Différence entre les sexes

Chez l'espèce humaine, le taux de prévalence des troubles anxieux est également plus élevé chez les femmes et certains troubles comme les troubles anxieux généralisés semblent apparaître plus précocement chez les femmes que chez les hommes (Steiner et al., 2005; Simon et al., 2006). Cependant, la grande majorité de la recherche visant à mieux comprendre le développement de l'anxiété ou à tester d'éventuels traitements pharmacologiques est essentiellement réalisée sur des rongeurs mâles notamment pour des raisons méthodologiques et économiques (Palanza et al., 2001). La différence de vulnérabilité entre les sexes serait notamment expliquée par un développement sexuellement dimorphique au niveau des systèmes neuronaux impliqués dans les comportements défensifs comme le cortex préfrontal, l'amygdale ou l'hippocampe (Kong et al., 2013). Il demeure donc tout à fait envisageable que les réponses comportementales des animaux face à une situation anxiogène présentent une évolution similaire au cours du vieillissement mais avec une apparition plus précoce chez les femelles. L'hypothèse d'une dynamique différente des réponses comportementales demeure également plausible. De même, l'âge parental pourrait avoir des conséquences différentes entre descendants mâles et femelles.

L'intégration d'animaux femelles semble en ce sens essentielle à une meilleure compréhension du développement des comportements anxieux lors du processus de vieillissement.

3.2 Les comportements sociaux

Les comportements sociaux correspondent à l'ensemble des interactions entre deux ou plusieurs individus d'une même espèce et peuvent être définis de façon plus restrictive comme les interactions entre individus d'un groupe social qui modifient l'activité de ce groupe (Fraser et al., 1997). Ils ont des impacts notables sur la fitness et la survie (confrontation avec des compétiteurs), ils influencent certains traits d'histoire de vie (dispersion) et sont également primordiaux dans la cohésion des groupes sociaux (groupes, unités familiales, couples) ou l'élevage, la survie et le développement comportemental de la progéniture (comportements parentaux). Au sein d'un groupe social, il semble que le vieillissement soit accompagné d'une diminution des interactions sociales entre congénères. Chez de nombreuses espèces de primates allant des lémuriens aux chimpanzés, les individus âgés expriment moins de comportements sociaux (allotoiletage par exemple) envers les autres membres du groupe et passent plus de temps isolés. Ce retrait social n'est pas un processus passif causé par une réduction de l'activité générale, mais plus un évitement actif des congénères et apparaît d'autant plus marqué que le rang social est faible (Veenema et al., 2001). De plus, les individus âgés interagissent préférentiellement avec des congénères de même âge et familiers (Veenema et al., 1997). Une tendance similaire est visible chez certaines personnes âgées qui limitent les interactions sociales et reportent un sentiment de mal-être en situation sociale (Loue & Sajatovic, 2007). Chez les rats et souris de laboratoire, certaines études rapportent une diminution des comportements sociaux actifs avec l'âge pouvant découler d'une augmentation de l'anxiété (File & Seth, 2003) ou d'un intérêt réduit à interagir avec un nouveau partenaire (Salchner et al., 2004). D'autres études mentionnent également une augmentation du comportement de freezing en situation sociale (Andersen et al., 1999) et une diminution des comportements agressifs (Engellenner et al., 1986). Les comportements agressifs jouent un rôle décisif dans l'accès aux ressources, la dispersion, les individus dispersants étant généralement plus agressifs que les résidents (Duckworth & Badyaev, 2007) et participent à la structuration des couples monogames (Sue Carter et al., 1995). *Les modifications comportementales liées à l'âge peuvent donc affecter notablement les potentialités de dispersion des individus, l'organisation et la composition des groupes sociaux.* Malgré le rôle important tenu par les interactions sociales dans la vie quotidienne de nombreuses espèces, les travaux qui se sont attardés à mesurer les impacts du vieillissement sur les comportements sociaux sont peu nombreux.

L'apport de nouvelles études évaluant les effets du vieillissement sur les comportements sociaux, éléments fondateurs des populations animales est donc pertinente.

Dans la partie suivante qui aborde le vieillissement sous une perspective éco-éthologique, nous verrons que l'effet de l'âge sur les comportements parentaux est également très rarement étudié malgré leur importance dans le succès reproducteur chez de nombreuses espèces.

4 Perspective éco-éthologique du vieillissement

L'âge est un facteur déterminant dans les stratégies comportementales adoptées par les organismes et influence les décisions d'allocation des ressources dans les grandes composantes de la fitness. Les études qui s'intéressent aux effets de l'âge sur les traits d'histoire de vie des individus sont issues d'observations conduites en milieu naturel mais aussi d'expériences réalisées en laboratoire qui sont essentielles pour manipuler indépendamment le facteur "âge" et isoler ses effets réels sur les variables comportementales observées.

4.1 La théorie des traits d'histoire de vie

Un trait d'histoire de vie est un caractère quantitatif ou une caractéristique démographique qui résulte d'une décision fondamentale survenue au cours de la vie des individus impliquant des allocations d'énergie (Stearns, 1992). Les traits d'histoire de vie sont principalement liés à la croissance, la maintenance, la survie et la reproduction des individus et sont donc des déterminants de la fitness. Les ressources des organismes étant limitées (et comme il est très peu probable qu'un "Démon Darwinien"² existe ; Law 1979), les organismes ne peuvent optimiser simultanément leur reproduction, leur survie, leur maintenance et leur croissance, et doivent allouer leur temps et leur énergie entre ces différentes composantes. Ceci génère des contraintes puisque tout investissement dans un trait est réalisé au détriment d'un autre trait (Stearns, 1992). Ces choix sont appelés *compromis évolutifs* et sont au cœur de la théorie de l'évolution des traits d'histoire de vie. Le principal compromis concerne l'investissement des organismes dans leur reproduction immédiate par rapport à l'investissement réalisé dans leur survie et leur reproduction future (Williams, 1966) et intègre la notion de "*coût de la reproduction*" (Roff, 1992). Ce concept renvoie au fait que la reproduction, processus hautement coûteux, peut avoir des conséquences à long terme sur la physiologie et la longévité des organismes. Ces coûts peuvent être dits écologiques comme par exemple le risque de prédation accru associé à la recherche de

2. Organisme hypothétique qui peut maximiser simultanément tous les aspects de sa fitness et qui existerait si l'évolution des espèces était entièrement libre de toutes contraintes. Il serait par exemple capable de se reproduire immédiatement après sa naissance, de produire un nombre illimité de descendants, et de vivre indéfiniment.

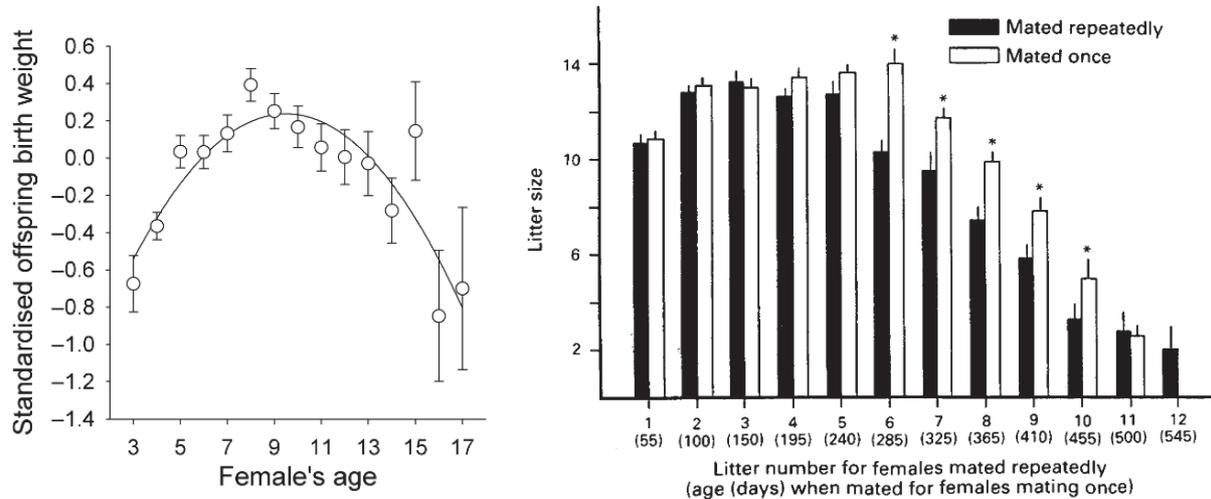
nourriture fréquente nécessaire à la reproduction ou bien physiologiques. Les coûts physiologiques peuvent être soit directs comme la demande importante d'énergie, la nécessité d'un apport important en protéines ou en calcium et l'expansion de certains organes soit indirects comme une déficience du système immunitaire, une réduction de l'activité physique, une perte de la masse osseuse ou une augmentation des risques d'hyperthermie et de stress oxydatif (Speakman, 2008). Chez les mammifères, ces coûts sont généralement associés à la lactation, la période post-partum est donc la plus énergiquement demandeuse.

4.2 Âge et succès reproducteur

4.2.1 De la maturation à la sénescence reproductive

Chez de nombreuses espèces animales captives ou sauvages, il a été montré que les performances reproductives augmentent avec l'âge dans la première partie de la vie avant de se stabiliser. Cette augmentation de la performance reproductive (nombre et masse corporelle de la progéniture, probabilité de survie de la progéniture jusqu'au sevrage) peut être expliquée par une survie plus élevée des parents de meilleure qualité ("selection hypothesis", Curio 1983) ou une amélioration des compétences nécessaires à un succès reproducteur optimal (condition physiologique, recherche alimentaire, soins parentaux ; "constraint hypothesis", Curio 1983).

Après cette phase d'augmentation et de stabilisation chez les jeunes individus primipares, on peut s'attendre à une diminution des performances reproductrices chez les individus les plus âgés, on parle alors de sénescence reproductive. Celle-ci peut apparaître juste après le premier événement reproducteur (Hamilton, 1966) ou après une période de stabilité durant laquelle les individus ont atteint les performances maximales (Jones et al., 2008) (voir Figure 3). L'existence de la sénescence en conditions naturelles a été âprement débattue parmi les écologistes mais de récentes études comparatives ont souligné que la sénescence était largement répandue et aisément détectable dans la nature et que les animaux ne mourraient pas seulement d'accidents, de maladies ou de prédation avant d'avoir atteint un âge avancé (Jones et al., 2008). Cependant, toutes les études ne rapportent pas une diminution du succès reproducteur avec l'âge mais parfois une stabilisation voire une augmentation. Ces observations peuvent être expliquées à la lumière de la théorie des traits d'histoire de vie et de l'existence de compromis d'allocation de l'énergie entre reproduction immédiate et future.



(a) Poids à la naissance des jeunes chez le cerf élaphe (Moyenne standardisée \pm SEM, ligne de régression quadratique) en fonction de l'âge de la mère. Les performances maternelles augmentent initialement avec l'âge pour atteindre un pic à 8 ans et déclinent ensuite jusqu'à la mort.

(b) Taille de la portée (moyenne \pm SEM) chez des femelles hamsters dorés qui se sont reproduites de façon répétée ou une seule fois à différents âges. Le symbole * montrent les différences significatives entre les deux groupes de femelles. Les effets des événements reproducteurs successifs sur le succès reproducteur sont plus extrêmes que ceux du vieillissement. Chez les femelles qui se sont reproduites plusieurs fois, la taille de la portée augmente significativement entre la 1^{re} et la 2^e portée pour ensuite se stabiliser et décroître à la 6^e portée.

FIGURE 3 – Effet de l'âge maternel sur le succès reproducteur chez deux espèces de mammifères, travaux en conditions naturelles (cerf élaphe, Nussey et al. 2008) ou de laboratoire (hamster doré, Huck et al. 1988).

4.2.2 Vieillesse et effort reproducteur

En 1966, Williams propose une théorie basée sur la probabilité de reproduction future des organismes. Cette probabilité nommée "valeur reproductive résiduelle" décroît avec l'âge des individus et s'amenuise après un événement reproducteur. Cette hypothèse suppose que l'effort reproducteur (allocation proportionnelle dans la reproduction immédiate) devrait être plus mesuré chez les jeunes reproducteurs ("restraint hypothesis") et que les individus âgés, à faible valeur résiduelle qui présentent donc une faible probabilité de reproduction future devraient augmenter leur effort parental afin de maximiser leur fitness (Williams, 1966; Clutton-Brock, 1984). Les animaux en fin de vie devraient par conséquent fournir un "investissement terminal" dans la reproduction. L'augmentation de l'effort reproducteur au regard de l'âge des individus a été rapporté chez plusieurs espèces via différentes variables. Par exemple, chez l'écureuil (*Sciurus vulgaris*), les femelles âgées tentent de se reproduire deux fois lors d'une période de reproduction (Descamps et al., 2008). De même chez les cobes de Lechwe du Nil (*Kobus megaceros*) les femelles âgées produisent plus de fils, sexe le plus coûteux à produire chez cette espèce, ce qui est fréquemment associé à une augmentation de la mortalité des mères (Bercovitch et al., 2009). D'autres études ont montré que les deux sexes pouvaient être concernés par ce phénomène. En réponse à des déficits immunitaires (diminuant la valeur reproductive résiduelle), les

coléoptères mâles *Tenebrio molitor* augmentent leur investissement dans les signaux sexuels (Sadd et al., 2006).

4.2.3 Les comportements parentaux, un facteur ignoré

Il est intéressant de noter que les deux phénomènes, sénescence et augmentation de l'effort reproducteur ne sont pas exclusifs et peuvent interférer avec le succès reproducteur qui peut être en conséquence similaire chez les individus jeunes et âgés voire plus faible chez les individus âgés. Par exemple, bien que les femelles âgées investissent hautement leur énergie en faveur de la descendance, le déclin des fonctions lors de la sénescence peut annuler l'effet d'un effort reproducteur. Ce phénomène a été observé chez le macaque rhésus. Chez ce primate, les femelles âgées passent plus de temps en contact ventro-ventral avec leur jeune (comportement régulé par la mère et utilisé comme indicateur de la volonté de la mère à investir dans sa progéniture) mais ont des jeunes présentant une masse corporelle et un taux de survie plus faible que ceux nés de jeunes mères (Hoffman et al., 2010). Cet exemple montre clairement que l'évaluation du nombre de jeunes au sevrage ou de leur condition physique ne permet pas systématiquement de déterminer si les femelles les plus âgées ont augmenté leur effort reproducteur. La prise en compte d'autres indices comme les soins parentaux semble plus informatif afin de mieux comprendre les décisions d'allocation d'énergie dans la reproduction des individus en fonction de l'âge. Des études réalisées chez d'autres espèces, notamment des ongulés (Green, 1990; Cameron et al., 2000), reportent également une augmentation des comportements maternels avec l'âge mais leur nombre reste marginal. Ce manque d'intérêt peut s'expliquer par les difficultés à observer de tels comportements dans la nature voire même en laboratoire quand les espèces d'intérêt élaborent des nids. L'estimation des soins parentaux (tous domaines de recherche confondus) se limite de ce fait à des indices très généraux comme par exemple, la présence au nid, la fréquence de contact ou de nourrissage des jeunes. Toutefois ces variables peuvent manquer de précision et surestimer la quantité des soins (la présence au nid n'oblige pas le contact avec les jeunes) et leur qualité (certaines postures d'allaitement sont plus efficaces contre la déperdition de chaleur des nouveau-nés ou leur apportent plus de stimulations). En outre, les soins diffèrent dans leur coût, certains étant énergiquement plus demandeurs en énergie que d'autres (et ceux-là sont souvent les plus bénéfiques à la progéniture). Une description fine des comportements parentaux détaillant les aspects quantitatifs et qualitatifs des soins permettrait donc de rendre compte plus facilement de l'effort reproducteur fourni par les individus.

La plupart des mammifères étant polygynes, l'implication des mâles dans les soins parentaux directs (recouvrement, stimulation des jeunes...) est un phénomène rarement observé et la littérature reporte majo-

ritairement les effets de l'âge sur les comportements maternels. Toutefois, parmi les espèces biparentales, certains mâles expriment des comportements parentaux aussi variés que ceux des femelles. Bien qu'il n'existe pas de coûts associés à la gestation et à la lactation chez ce sexe, l'âge pourrait influencer les décisions d'allocation des ressources dans les soins prodigués aux jeunes et conduire à des modifications notables des comportements paternels.

4.3 L'âge de première reproduction, un trait d'histoire de vie déterminant

Dès la moitié du 20^e siècle, l'écologiste L. C. Cole (1954) définit l'âge de première reproduction comme le trait démographique ayant le plus d'influence sur la fitness des organismes et, celui-ci est aujourd'hui un sujet majeur dans l'étude des histoires de vie. En l'absence de coûts reproductifs et dans un environnement constant, les animaux itéropares devraient atteindre l'âge de maturité sexuelle à un âge précoce et se reproduire le plus tôt et aussi souvent que possible (Tuljapurkar, 1990; Roff, 1992). Toutefois comme nous l'avons vu dans la partie 4.1, la reproduction comporte des coûts (physiologiques et écologiques) et prend place dans un environnement changeant (variation stochastique du climat, de la présence de prédateurs, des ressources...). Dans de telles situations, une reproduction retardée peut être favorisée. Théoriquement, les individus devraient retarder leur âge de première reproduction quand les avantages d'une reproduction retardée l'emportent sur les coûts d'une reproduction plus précoce en terme de réduction de la survie, d'opportunités de futures reproductions et de croissance (Stearns, 1992).

Le report de la première reproduction est observée chez de nombreux organismes. La dormance des graines chez les plantes, la diapause juvénile chez les invertébrés et le fractionnement des cohortes chez les vertébrés retardent considérablement l'âge de première reproduction (Stearns, 1992). Les causes menant à un retard de la reproduction sont diverses et dépendent en partie des conditions environnementales. Un risque de prédation élevé peut, par exemple, inciter les individus à inhiber leur activité reproductive et à la retarder jusqu'à ce que la densité de prédateurs décline ("predator-induced breeding suppression" hypothesis, Ylönen & Ronkainen, 1994). La faible disponibilité ou l'absence de ressources peut également pousser les individus à retarder leur reproduction. Dans de nombreuses populations de microtidés comme la souris sylvestre (*Peromyscus maniculatus*) et le campagnol roussâtre (*Clethrionomys glareolus*), les jeunes individus peuvent soit se reproduire dans l'année ou retarder leur reproduction jusqu'à l'année suivante face à la diminution drastique de ressources alimentaires lors de la période hivernale (Kaitala et al., 1997). Bien que le report de l'âge de première reproduction soit clairement nécessaire dans une telle situation, nous verrons qu'il n'est pas sans conséquence sur les stratégies comportementales que peuvent adopter les individus et qu'il est

susceptible d'affecter leur succès reproducteur.

4.3.1 Les conséquences d'une reproduction retardée sur le succès et l'effort reproducteur en début de vie reproductive

Comme nous l'avons vu dans la partie 4.2.1, les individus peuvent subir au cours de leur vie les effets néfastes du vieillissement et avoir un succès reproducteur inférieur en fin de vie reproductive. Contrairement aux individus qui débutent leur vie reproductive après avoir atteint la maturité sexuelle, les individus qui ont retardé leur âge de première reproduction ont alloué de l'énergie dans le maintien du soma avant l'événement reproducteur. Cette allocation pourrait-elle limiter l'énergie disponible pour la reproduction et réduire le succès reproducteur de ces individus dès le début de leur vie reproductive ? C'est ce que suggère certaines études qui ont comparé le succès reproducteur de plusieurs cohortes d'individus d'âges différents. Par exemple, chez deux espèces de lépidoptères, les femelles qui se sont reproduites tardivement produisent moins d'œufs et ont un succès reproducteur plus faible que les jeunes femelles (Fitzpatrick, 2006; Yu et al., 2014).

Dans la partie 4.2.2, nous avons également mentionné que chez de nombreuses espèces, les individus âgés en fin de vie reproductive augmentaient leur effort reproducteur. Toutefois, nous pouvons nous demander si cette augmentation de l'effort reproducteur est également décelable dès le début de la vie reproductive d'individus qui ont retardé leur âge de première reproduction. L'augmentation de l'effort reproducteur chez les femelles qui retardent leur âge de première reproduction a par exemple été rapportée au travers d'études axées sur les comportements maternels. Chez la caille japonaise (*Coturnix japonica*), il a récemment été montré que les femelles qui se sont reproduites à 8 mois passent plus de temps à couvrir et repoussent moins leurs jeunes que les femelles âgées de 2 mois (Pittet et al., 2012).

L'âge des individus sexuellement naïfs peut également affecter la latence à l'accouplement. Il a effectivement été montré que les femelles qui retardent leur reproduction (qui ont donc une faible valeur reproductive résiduelle) se reproduisaient plus rapidement que les jeunes femelles car très probablement moins exigeantes sur le choix du partenaire. Chez la blatte cendrée (*Nauphoeta cinera*), les femelles âgées répondent plus rapidement aux sollicitations des mâles et leur latence de premier accouplement est significativement plus courte que celle des jeunes femelles (Moore & Moore, 2001). D'autres études réalisées chez les insectes corroborent ce résultat (Mautz & Sakaluk, 2008; Pacheco et al., 2013) et il a aussi été montré que même en présence d'indices de prédation, des papillons femelles vierges âgées étaient plus enclines à rejoindre un partenaire et à se reproduire rapidement (Lafaille et al., 2010). Peu de travaux s'intéressent toutefois à cette

problématique chez d'autres organismes. L'emploi privilégié d'insectes dans ces études semble justifié par une courte période de reproduction qui conditionnerait un choix rapide du partenaire. Les coûts associés à l'exigence ou à la sélectivité des femelles inclut, outre une perte en temps, une dépense en énergie lors des activités qui précèdent l'accouplement (Jennions & Petrie, 1997) comme le comportement d'échantillonnage des mâles, les comportements de cour ou les comportements agonistiques des femelles envers les mâles. Les femelles qui ont retardé leur âge de première reproduction pourraient choisir de s'accoupler plus vite afin de limiter les dépenses d'énergie dans ces comportements.

4.4 Les conséquences à long terme d'une reproduction retardée

Les études qui se focalisent sur les conséquences d'un âge tardif de reproduction sur le succès reproducteur à court (début de vie de reproductive) et à long terme (fin de vie reproductive) sont rarissimes. Elles rapportent en général des conséquences délétères du report de l'âge de première reproduction sur le succès reproducteur des femelles durant leur vie reproductive (Oli et al., 2002). Une étude réalisée sur la souris domestique a montré que les femelles qui se reproduisent tardivement présentent une vie reproductive plus courte que les femelles qui débutent leur vie reproductive plus précocement (Tarin et al., 2004). Cette étude dévoile également que la masse corporelle au sevrage des jeunes nés des mères qui se reproduisent tardivement est plus élevée alors que les autres variables relevées mettent en avant des effets délétères du report de l'âge de première reproduction. Il est intéressant de noter que les auteurs ne mentionnent pas un possible effet de l'augmentation de l'effort maternel qui pourrait être une hypothèse expliquant ce résultat.

5 Motivations, modèle biologique et objectifs de la thèse

5.1 Motivations

Cette thèse s'inscrit dans la volonté d'apporter de nouvelles contributions à l'étude des conséquences comportementales du vieillissement

- i – en comblant le manque d'études qui traitent du processus de vieillissement sous l'angle des traits d'histoire de vie du modèle biologique tout en y associant des thématiques d'intérêt pour l'Homme,
- ii – en étudiant les effets de l'âge sur la reproduction en combinant âge de première reproduction et vie reproductive,
- iii – en abordant les effets de l'âge sur les comportements sociaux, thématique encore peu abordée

aujourd'hui et

- iv – en intégrant les deux sexes dans les différents aspects étudiés (femelles dans l'étude portant sur l'anxiété et mâles dans les études portant sur les comportements parentaux).

5.2 La souris glaneuse, modèle d'étude pour l'étude du vieillissement

Notre modèle d'étude est un rongeur d'Europe centrale et orientale, la souris glaneuse (*Mus spicilegus*) qui présente plusieurs caractéristiques avantageuses pour l'étude du vieillissement.

Cette espèce est une souris de type sauvage (non sélectionnée depuis de nombreuses générations à des fins d'expérimentation animale), ce qui nous permet de travailler d'une part sur un genre bien connu, présentant de fortes similarités dans les processus de vieillissement avec l'Homme (section 2.3) et pour lequel de nombreux tests comportementaux ont été validés (section 3) et, d'autre part, de prendre en considération les traits d'histoire de vie des individus (section 2.4).

Dans le milieu naturel, cette espèce a une courte durée de vie et a donc évolué sous de fortes pressions de sélection qui ont conditionné ses traits d'histoire de vie et ses décisions d'allocation des ressources (par exemple, on s'attend à ce que les espèces à courte durée de vie s'investissent préférentiellement dans la reproduction, au détriment de leur propre survie). Toutefois, dans des conditions protégées de laboratoire, la souris glaneuse peut atteindre l'âge de deux ans ce qui nous permet d'étudier les conséquences du vieillissement sur le long terme et ainsi d'intégrer des thématiques d'intérêt pour l'Homme comme l'évolution de l'anxiété ou des performances reproductives au fil de l'âge.

La souris glaneuse présente un cycle de vie spécifique découlant d'un fractionnement de la population en deux cohortes qui dispersent et se reproduisent à deux âges différents (voir Figure 6 pour un schéma illustratif). Chez cette espèce, les individus nés à la fin de l'été et au début de l'automne retardent leur âge de dispersion et de reproduction lors de la période hivernale. Contrairement à ceux nés durant la saison de reproduction qui dispersent et se reproduisent dès 3 mois, les individus "hivernants" dispersent et se reproduisent entre 6 et 8 mois seulement. L'étude des effets du vieillissement sur les comportements exploratoires dans des situations anxiogènes est justifié grâce à l'existence en conditions naturelles d'individus à dispersion précoce et d'autres à dispersion tardive. Ce cycle biologique nous permet également d'étudier les conséquences de l'âge de première reproduction sur le succès et l'effort reproducteur au fil de la vie reproductive de deux groupes d'individus.

Le haut niveau d'agressivité caractéristique de cette espèce nous donne l'opportunité d'étudier les effets du vieillissement sur les comportements agonistiques qui sont des comportements sociaux jouant un rôle

prépondérant dans plusieurs traits d'histoire de vie (dispersion) ou dans le développement et le maintien des stratégies de reproduction (monogamie).

Grâce à son système d'appariement monogame, la souris glaneuse nous permet d'investiguer des aspects méconnus du vieillissement comme par exemple les effets de l'âge sur les comportements paternels ou sur la préférence du mâle pour sa partenaire. Enfin, l'implication des deux sexes dans le processus de dispersion et dans les soins parentaux justifie pleinement l'étude du vieillissement aussi bien chez les mâles que chez les femelles.

Pour l'ensemble de ces raisons la souris glaneuse nous est apparue être un modèle approprié et prometteur pour étudier les conséquences comportementales du vieillissement.

5.3 Objectifs de la thèse

L'objectif de cette thèse est d'étudier les conséquences émotionnelles et sociales du vieillissement via une approche comportementale. Le point de départ de notre démarche est d'étudier les effets du vieillissement en tenant compte des traits d'histoire de vie de notre modèle biologique avec une attention toute particulière portée aux comportements d'exploration et à certains comportements sociaux (interactions entre congénères adultes inconnus et comportements parentaux) des deux sexes.

Dans le premier chapitre nous explorerons **les effets du vieillissement sur les comportements exploratoires et de prise de risque** des souris dans des tests classiques d'évaluation de l'anxiété et de la néophobie. Nous nous poserons les questions suivantes :

- i – Les comportements liés à l'anxiété et à la néophobie varient-ils au cours du vieillissement chez la souris glaneuse ?
- ii – Si le vieillissement a un effet sur ces comportements, s'agit-il d'une augmentation ou d'une diminution ? Ou bien cette relation est-elle non-linéaire ?
- iii – Anxiété et néophobie suivent-elle la même évolution ?
- iv – Les individus ayant l'âge des deux cohortes qui dispersent dans la nature ont-ils un profil similaire ?
- v – L'évolution des comportements liés à l'anxiété et à la néophobie au fil du vieillissement est-elle similaire entre les mâles et les femelles ?

Dans le second chapitre nous étudierons **les effets du vieillissement sur les interactions sociales** des souris confrontées à des congénères inconnus. Nous examinerons les questions suivantes :

- i – L'agressivité des individus varie-t-elle avec l'âge ?
- ii – Les individus de même âge que ceux des deux cohortes qui dispersent dans la nature ont-ils un profil similaire ?
- iii – L'évolution des comportements agressifs au fil du vieillissement est-elle similaire entre les mâles et les femelles ?
- iv – Les réponses émotionnelles exprimées par les individus lors des confrontations sociales varient-elles avec l'âge ?

Dans le troisième chapitre nous aborderons **les effets de l'âge de première reproduction et de durée de vie reproductive des couples sur la préférence olfactive du mâle pour sa partenaire par rapport à une femelle étrangère**. Les questions posées seront les suivantes :

- i – Les mâles *M. spicilegus* expriment-ils une préférence pour l'odeur de leur partenaire ?
- ii – Cette préférence est-elle observable dès le début de vie reproductive du couple ?
- iii – Comment évolue-t-elle au fil de la vie reproductive du couple ?
- iv – Cette préférence diffère-t-elle selon l'âge de première reproduction des mâles ?

Dans le quatrième chapitre nous aborderons **les effets de l'âge sur l'initiation de la reproduction et le succès reproducteur** des souris. Nous nous poserons les questions suivantes :

- i – L'âge de première reproduction influence-t-il les performances reproductrices des souris ?
- ii – L'âge de première reproduction influence-t-il la latence de première mise bas ?
- iii – L'âge de première reproduction influence-t-il les latences inter-portées ?

Dans le cinquième chapitre nous étudierons **les effets de l'âge de première reproduction et de durée de vie reproductive sur les comportements parentaux et le succès reproducteur** des souris. Dans cette

partie, le succès reproducteur des souris a été analysé plus finement et sur une période plus étendue. Nous tenterons de répondre aux questions suivantes :

- i – L'âge de première reproduction affecte-il les comportements parentaux ?
- ii – La durée de vie reproductive affecte-t-elle les comportements parentaux ?
- iii – Ces effets sont-ils similaires entre les mâles et les femelles ?
- iv – Les caractéristiques de la portée peuvent-elles influencer les comportements parentaux et affecter différemment les parents suivant leur âge de première reproduction et leur durée de vie reproductive ?

Enfin dans le sixième et dernier chapitre, nous étudierons **les effets de l'âge de mise en couple et du rang de la portée (ou parité) sur les comportements anxieux et néophobiques de la descendance à l'âge adulte**. Nous examinerons les questions suivantes :

- i – L'âge de mise en couple a-t-il des effets sur l'anxiété et la néophobie de la descendance à l'âge adulte ?
- ii – Le rang de la portée a-t-il des effets sur l'anxiété et la néophobie de la descendance à l'âge adulte ?
- iii – Les niveaux d'anxiété et de néophobie observés chez la descendance peuvent-ils être reliés à la fréquence des soins maternels et paternels reçus durant la première semaine post-partum ?
- iv – Existents-ils d'autres facteurs (sexe de l'individu) ou covariables (sexe-ratio et nombre de jeunes de la portée) qui influencent le profil émotionnel de la descendance et ces facteurs affectent-ils différemment les individus suivant leur origine parentale ?

Modèle d'étude, matériel et approches expérimentales

1 La souris glaneuse, *Mus spicilegus*

L'espèce étudiée dans le cadre de cette thèse est la souris glaneuse, *Mus spicilegus* (Sokolov et al., 1998). La position taxonomique de cette espèce est détaillée dans l'Encadré 4.

La souris glaneuse est une espèce endémique d'Europe centrale et orientale. Sa répartition géographique s'étend de la pointe est de l'Autriche jusqu'à l'Ukraine et dans sa partie méridionale, de la Serbie à la Bulgarie, avec une sous-population isolée qui serait établie du Monténégro à la Grèce (Figure 4). Elle est inféodée aux milieux ouverts tels que les prairies steppiques et

Encadré 4 - Position taxonomique de *Mus spicilegus* (Petenyi, 1882)

Classe : Mammifères
Sous-classe : Euthériens
Ordre : Rongeurs
Famille : Muridés
Sous-famille : Murinés
Genre : *Mus*

les zones agricoles. La souris glaneuse est remarquable sur plusieurs points : elle est une des rares espèces du genre *Mus* à présenter un système d'appariement monogame et présente un comportement unique, la construction de tumuli édifiés en automne à l'aide de terre et de débris végétaux. Ce comportement lui a d'ailleurs valu son nom latin qui signifie littéralement glaneuse (Fieffé-Lacroix, 1809). Ce phénomène de construction est à l'origine du cycle de vie remarquable de cette espèce.



FIGURE 4 – Répartition géographique de *Mus spicilegus*. Carte issue du site de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (2013), basée sur les travaux de Coroiu et al. 2008.

Les individus utilisés comme modèle dans cette thèse sont issus de Hongrie près de Gyöngyös (Figure 4). La méthode de capture des souris est précisée dans la partie *Note éthique* du Chapitre 1.

La souris glaneuse a été la première espèce du genre *Mus* à avoir été décrite comme monogame (Patris & Baudoin, 1998).

La monogamie sociale se caractérise par la présence de traits comportementaux spécifiques (Kleiman, 1977) comme

- i – la préférence sociale et sexuelle pour le partenaire,
- ii – une grande agressivité des adultes envers d'autres individus non familiers,
- iii – un fort investissement paternel dans l'élevage de la progéniture.

Nous verrons dans les sections suivantes que la souris glaneuse répond à ces critères et que ses particularités nous offre l'opportunité d'étudier des thématiques peu abordées jusqu'à maintenant dans la recherche sur le vieillissement.

En conditions naturelles, la durée de vie de la souris glaneuse est inférieure à 12 mois (Milishnikov et al., 1998; Tong, 2012). Les adultes ne survivant pas à l'hiver, les souris ne connaîtront qu'une courte période de reproduction de 4-5 mois (Sokolov et al., 1998). En conditions protégées de laboratoire, la souris glaneuse peut néanmoins atteindre 24 mois (Lafaille et al., 2014).

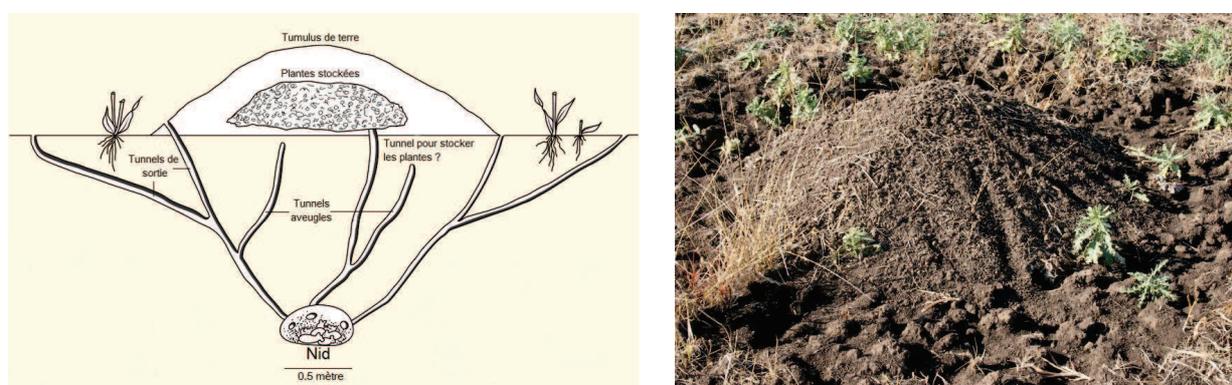
1.1 Le tumulus

Les juvéniles nés à la fin de l'été et au début de l'automne se rassemblent en petits groupes et débutent la construction du tumulus (Figure 5). Chaque groupe est composé d'individus génétiquement proches provenant parfois d'une même portée mais le plus souvent issus de portées de mères apparentées (Garza et al., 1997). À l'exception d'occasionnels adultes, les individus qui s'établissent dans le tumulus sont tous des juvéniles (Garza et al., 1997; Simeonovska-Nikolova, 2007; Poteaux et al., 2008). Le nombre d'individus recensés dans ces constructions varie suivant les études (en moyenne une dizaine) mais un tumulus peut abriter jusqu'à 23 individus (voir Tong 2012 pour un tableau comparatif). Le tumulus a une structure relativement stéréotypée et sa construction se déroule suivant une séquence temporelle précise (Holt et al. 2009) : après avoir collecté et entassé des graines et autres débris végétaux dans un endroit choisi, les juvéniles les recouvrent de terre. Un réseau de tunnels est alors creusé sous le tumulus formé, le sol excavé étant poussé sur le tumulus. Des

ENCADRÉ 5 - Monogamie sociale vs monogamie stricte

La *monogamie sociale* est définie comme la formation d'un couple social stable au delà de l'accouplement qui peut durer pendant une partie ou pendant toute la durée d'une saison de reproduction, voire plusieurs saisons ou toute une vie. Dans la plupart des cas, les deux sexes prodiguent des soins parentaux. Ce type de monogamie n'implique pas systématiquement une *monogamie stricte* (ou *génétique*) définie comme une relation exclusive entre les deux partenaires. Dans ce cas, la progéniture élevée est le fruit des deux partenaires du couple. L'avancée des techniques moléculaires dans les années 1980 a permis de dissocier clairement ces deux facettes de la monogamie en dévoilant, notamment chez des oiseaux monogames, un taux important de paternités hors-couples.

tuiles de terre argileuse sont ensuite déposées au sommet de la structure. Enfin, une à deux chambres servant de nid viennent compléter le réseau de tunnels. La construction du tumulus qui mesure en moyenne de 1 à 2 mètres de diamètre est généralement achevée au bout de 14-21 jours (Sokolov et al., 1998). Des études récentes ont montrées qu'en conditions de laboratoire les résidents du tumulus ne participent pas de façon égale à la construction. Dans un groupe de six souris, seuls deux individus transportent 80% du matériel de construction au cours des quatre jours de test (Serra et al., 2012). De plus, il semble exister une spécialisation des tâches durant ce comportement de construction collective : les différents matériaux de construction ne sont pas transportés par les mêmes individus (Hurtado et al., 2013).



(a) Illustration d'un tumulus type (Tong & Hoekstra, 2012).

(b) Vue extérieure d'un tumulus (Hongrie).

FIGURE 5 – Tumulus de *Mus spicilegus*. Amas de diverses plantes (principalement : *Amaranthus* spp., *Chenopodium* spp. et *Setaria* spp.) recouvert de terre et parcouru par un réseau de tunnels menant à un nid. Le nombre d'entrées menant au tumulus peut varier de quelques uns à une cinquantaine et est corrélé positivement au volume du tumulus pouvant représenter jusqu'à 400 000 fois celui d'une souris (Hölzl et al., 2009).

À l'heure actuelle, la fonction du tumulus est encore ouverte à discussion. Plusieurs hypothèses non exclusives sont envisagées. Le tumulus pourrait servir de réservoir de nourriture pour passer l'hiver (Sokolov et al., 1998) bien que des études ne montrent aucun recoupement entre les variétés des graines utilisées pour construire le tumulus et celles retrouvées dans les fèces (Szenczi et al., 2011) ou reportent l'absence de tunnels reliant le nid aux zones renfermant la nourriture (Canady et al., 2009; Szenczi et al., 2011). Il aurait également des propriétés isolantes empêchant le froid et l'humidité d'atteindre le nid. En effet, pour une même profondeur, le sol situé sous le tumulus est plus chaud et plus sec que le sol environnant (Szenczi et al., 2011). Enfin, le tumulus pourrait réduire le risque de prédation. Cette hypothèse reste très spéculative car peu de traces d'excavation de prédateurs sont recensées (Szenczi et al., 2011).

1.2 Le tumulus, source de fractionnement des cohortes et d'expérience sociale différente

Bien que de nombreux points d'ombres demeurent sur la construction et les fonctions du tumulus, celui-ci a néanmoins un impact important sur le cycle de vie de *Mus spicilegus*. Après avoir édifié le tumulus, les individus d'un même groupe vont cohabiter pendant toute la saison hivernale sans se reproduire. À la sortie de l'hiver, la quasi totalité des souris quittent le tumulus. La dispersion et la reproduction qui suivront n'ont lieu chez ces individus qu'à l'âge de **6-8 mois**, beaucoup plus tardivement que celles de leurs descendants nés en été qui se dérouleront dès **2-3 mois** (Sokolov et al., 1998; Gouat et al., 2003b).

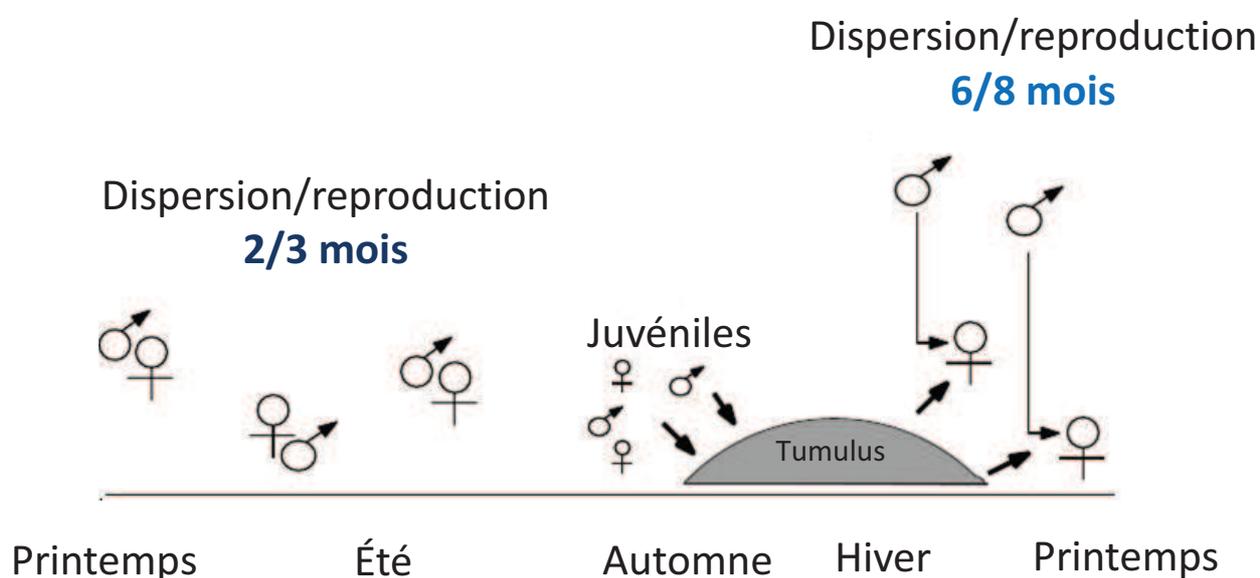


FIGURE 6 – Cycle de vie de *Mus spicilegus*. Les juvéniles nés en fin d'été, début d'automne retardent leur dispersion et leur reproduction jusqu'à l'âge de 6/8 mois alors que leur descendants se reproduiront dès 2/3 mois.

Les patterns de dispersion des deux cohortes semblent différents : à la sortie du tumulus, il semble que les femelles soient moins enclines à disperser sur une grande distance que les mâles alors qu'en été, les femelles semblent disperser à une distance similaire à celles des mâles (Simeonovska-Nikolova et al., 2000; Gouat et al., 2003b). La vie hivernale au sein du tumulus entraîne également une différence d'expérience sociale. Contrairement aux jeunes souris nées durant l'été, celles nées en début d'automne vont cohabiter de longs mois en groupe avec des congénères. Cette longue cohabitation pourrait avoir des impacts sur l'organisation spatiale et le système reproducteur des individus hivernants. Au printemps, une étude de terrain

consistant en la capture-recapture de souris glaneuses a montré que, sur le site étudié, plus de la moitié des femelles capturées formaient des associations spatiales composées de deux à trois femelles avec ou sans mâles suggérant une possible polygynie (Gouat et al., 2003b). La cohabitation sociale durant l'hiver associée à d'autres caractéristiques de la population étudiée comme une forte densité et un sexe-ratio biaisé en faveur des femelles, pourraient mener les femelles à être plus tolérantes entre elles et favoriser des associations de type polygyne durant le printemps (Gouat et al., 2003b).

1.3 Agressivité

En conditions naturelles, aucune agressivité n'est observée entre les souris provenant d'un même tumulus (Sokolov et al., 1998). En conditions de laboratoire, les souris juvéniles expriment très peu de comportements agonistiques et sont autant sociables envers des congénères familiers qu'inconnus. Une fois l'âge adulte atteint, les individus des deux sexes deviennent très agressifs envers un congénère inconnu de même sexe ou de sexe opposé (Patris et al., 2002; Szenczi et al., 2012). À titre de comparaison, le niveau d'agressivité des souris glaneuses exprimé envers un congénère étranger est supérieur à celui observé chez la souris polygame *M. musculus* (Szenczi et al., 2012). Aucune étude n'a à ce jour comparé le niveau d'agressivité entre jeunes adultes (2-3 mois) et adultes plus âgés (6 mois) mâles et femelles.

1.4 Comportements socio-sexuels

Chez la souris glaneuse, il a été montré que les femelles présentent une préférence sociale et sexuelle pour leur partenaire. Contrairement aux femelles *Mus musculus domesticus*, les femelles *Mus spicilegus* en œstrus, expérimentées sexuellement ou non, préfèrent s'accoupler à leur partenaire qu'à un mâle étranger (Patris & Baudoin, 1998). En conditions semi-naturelles, les associations entre mâles et femelles semblent stables durant, au moins, les 80 premiers jours de vie reproductive (Baudoin et al., 2005). Toutefois aucune étude n'a encore quantifié une éventuelle préférence du mâle pour sa partenaire sur une période reflétant la durée de vie reproductive de ces souris en milieu naturel.

Certains résultats laissent suggérer que les comportements agonistiques et l'absence de familiarité sont nécessaires à l'initiation de la reproduction. Dans la nature, les souris habitant dans un même tumulus ne se reproduisent pas entre elles (Garza et al., 1997). Cette absence de reproduction est une conséquence directe du regroupement entre individus dans le tumulus et n'est pas déclenchée par des facteurs environnementaux tels que le raccourcissement de la photopériode ou la diminution de la température (Gouat et al., 2003a). Les couples dont le mâle et la femelle sont familiers depuis la période juvénile ont un succès très faible

de reproduction. Seule la remise en couple avec un nouveau partenaire suivie d'importants comportements agonistiques déclenche l'accouplement (Busquet et al., 2009).

Au cours de la vie reproductive des couples, les comportements sexuels vont fortement s'amoinrir. Après une période où elles sont relativement agressives envers les mâles, les femelles deviennent très réceptives, répondent positivement aux sollicitations sexuelles du mâle et l'activité sexuelle du couple est intense. Le quotient de lordose correspondant au pourcentage de montes avec lordose en fonction du nombre totales de montes est proche de 80% et le nombre d'éjaculations moyen est supérieur à 7. L'activité sexuelle va ensuite diminuer au cours des reproductions post-partum : le quotient de lordose chute à 20% et le mâle n'effectuera plus qu'une seule monte avec éjaculation (Féron & Gouat, 2007).

1.5 Performances reproductrices

En conditions naturelles, une femelle peut avoir jusqu'à 4 à 5 portées durant la saison de reproduction, chacune d'elles comprenant de 4 à 11 nouveau-nés avec une moyenne de 7 nouveau-nés par portée (Sokolov et al., 1998). L'étendue et le nombre moyen de jeunes par portée est relativement similaire en conditions de laboratoire. Cette accumulation élevée de portées sur une si courte période de reproduction est possible grâce à la présence d'œstrus post-partum qui vont néanmoins faire subir aux femelles les coûts de la gestation et de lactation simultanément.

Certains facteurs peuvent affecter le succès reproducteur des femelles. Le retrait du mâle ou la présence d'un mâle peu paternel (qui passe peu de temps au nid) augmente la durée de la gestation post-partum de plusieurs jours (Féron & Gouat, 2007). La présence d'un mâle, qui plus est très paternel, permettrait aux femelles de surmonter plus facilement les coûts liés à la reproduction et pourrait permettre au couple d'avoir une portée supplémentaire lors de sa vie reproductive. De même, au sein d'un trio formé de deux femelles et un mâle, le succès reproducteur des femelles est nettement plus faible que dans une situation de couple, celui des mâles demeurant identique dans les deux situations (Gouat & Féron, 2005). La monogamie semble être une solution avantageuse pour les femelles et non préjudiciable pour les mâles, tout au moins en conditions de laboratoire.

1.6 Comportements parentaux

Les souris glaneuses mâles expriment un fort investissement paternel dans l'élevage de la progéniture, autre trait comportemental caractéristique de la monogamie (Kleiman, 1977).

En comparaison des mâles *Mus mus domesticus*, les mâles *Mus spicilegus* passent plus de temps à couvrir les jeunes durant leur première semaine de vie, présentent aussi un comportement de "retrieval" plus efficace, ramenant les nouveau-nés fréquemment et rapidement au nid et alternent plus souvent la protection des nouveau-nés avec leur femelle (Patris & Baudoin, 2000). Le comportement de retrieval est un comportement parental largement étudié chez les rongeurs et montre l'intérêt des parents envers les nouveau-nés et leur réactivité à les rapporter dans le nid (voir Encadré 6 pour une description détaillée). Hormis le comportement spécifique de retrieval, les études portant sur les comportements parentaux chez la souris glaneuse se limitent au relevé d'indices généraux comme le temps passé au nid ou le temps à couvrir les petits et aucune étude n'a encore décrit finement les comportements parentaux comme par exemple les différentes postures d'allaitement des femelles ou de recouvrement des mâles.

ENCADRÉ 6 - le comportement de "retrieval"

Le comportement de récupération des jeunes ou comportement de "retrieval" est largement répandu chez les mammifères et consiste à rapporter les jeunes dans le nid. En début de vie, les nouveau-nés sont en général transportés involontairement hors du nid par la mère (jeunes restant agrippés aux mamelles). Chez les espèces altricielles, ce comportement est crucial lors la première semaine de vie car les jeunes sont dépendants des parents pour la chaleur et la nourriture. Tout jeune resté trop longtemps hors du nid aura par conséquent de forts risques de mourir d'inanition ou d'hypothermie et en milieu naturel, sera fortement exposé à la prédation. Alors que certaines études suggèrent que ce comportement requière un feedback acoustique des nouveau-nés (Hahn & Lavooy, 2005), d'autres travaux ont montré que les signaux acoustiques et également visuels ne seraient pas essentiels pour déclencher le comportement de retrieval et que seuls les indices olfactifs émanant des jeunes suffiraient à initier ce comportement chez la mère (Smotherman et al., 1974).

2 Dispositifs d'évaluation des comportements anxieux

Durant cette thèse, nous avons employé différents dispositifs expérimentaux afin d'estimer le profil émotionnel des individus. Nous avons basé notre analyse sur les comportements défensifs caractéristiques des rongeurs déclenchés dans des situations anxiogènes. L'anxiété n'étant pas un phénomène unitaire (anxiété d'état ou anxiété de trait appelée aussi néophobie, Belzung et al. 1994 ; anxiété non sociale ou anxiété sociale Liu & Smith 2009), nous avons choisi d'utiliser une batterie de tests afin de rendre compte de manière plus précise des changements des niveaux d'anxiété liés au vieillissement.

2.1 Les tests de l'open field et de l'elevated plus maze

Les test de l'open field (OF, Hall 1934) et de l'elevated plus maze (EPM, Pellow et al. 1985) exploitent l'aversion naturelle des rongeurs pour les espaces ouverts. Lors de l'exploration de nouveaux milieux, les rongeurs ont généralement tendance à être en contact ou à proximité des discontinuités physiques de

l'environnement. Cette caractéristique comportementale est appelée thigmotaxie. Les individus qui ont un haut niveau d'**anxiété** expriment un haut niveau de thigmotaxie et sont plus fréquemment près des parois verticales des dispositifs. L'environnement procuré par ces dispositifs est entièrement nouveau pour l'animal mais contient des zones plus ou moins aversives. L'OF que nous avons employé consiste en une arène circulaire de 42 cm de diamètre entourée de hautes parois verticales et comporte une zone protégée correspondant à la périphérie du dispositif. L'EPM possède une configuration plus complexe en forme de croix orthogonale surélevée à 40 cm du sol. La zone protégée est formée par deux bras opposés longs de 30 cm qui disposent de hautes parois verticales (bras fermés). Bien que l'utilisation de l'EPM comme test d'évaluation de l'anxiété soit largement acceptée, certains travaux rapportent une absence de sensibilité aux variations de l'anxiété dans l'OF (Saudou et al., 1994) et recommande de limiter son utilisation à l'évaluation de l'activité motrice des animaux.

2.2 Le test d'exploration d'un nouvel objet

Contrairement à l'OF et l'EPM qui impliquent une *exposition forcée* de l'animal, le test d'exploration d'un nouvel objet (NO) consiste en une *exploration libre* et est basé sur un conflit d'approche-évitement envers un stimulus nouveau lorsque l'animal est dans un environnement familier. Nous avons choisi de disposer un nouvel objet facilement manipulable (balle légère) par les souris à l'intérieur de leur cage. Ce test évalue donc la **néophobie** *per se* (peur de la nouveauté) de l'individu (appelée également anxiété de trait). Bien que les réactions anxieuses semblent inclure des caractéristiques néophobiques (Bourin et al., 2007) et que beaucoup de travaux ne font pas de dichotomie, nous avons choisi de faire la distinction entre ces deux traits car des travaux suggèrent la mise en jeu de bases neurologiques distinctes (Belzung et al., 1994). Comme nous le verrons dans le chapitre 1, l'anxiété et la néophobie peuvent néanmoins suivre la même évolution lors du processus de vieillissement.

2.3 Le test d'interactions sociales

Le test d'interactions sociales (File & Hyde, 1978) est basé sur la tendance qu'ont deux souris non familières à engager un certain nombre de contacts sociaux lorsqu'elles sont confrontées l'une à l'autre dans une arène qui peut être familière ou non. Afin de stimuler les interactions entre les congénères, les souris sont isolées une semaine avant la date du test (Patris et al., 2002) et sont habituées pendant 5 minutes au dispositif avant la rencontre (File & Seth, 2003). Le test d'interactions sociales peut fournir des indications de l'état d'anxiété des individus via des mesures telles que le temps d'interactions actives (Andersen et al.,

1999), le temps à explorer le congénère à distance (Maldonado & Navarro, 2001) ou à exprimer une posture d'immobilité tonique rigide (Shoji & Mizoguchi, 2011). Nous avons sélectionné ces deux dernières mesures car un fort niveau d'agressivité des individus (caractéristique de notre modèle biologique) rend moins fiable le temps passé en interactions sociales actives comme mesure de l'anxiété (File & Seth, 2003). Avant de réaliser ce test, nous avons pris soin de limiter les écarts de masse corporelle et l'apparement génétique au sein des paires, deux facteurs pouvant affecter la nature des interactions entre congénères. Comme le comportement d'une souris influence celui de l'autre, les paires sont traitées comme une seule unité lors des analyses statistiques.

3 Approches expérimentales

Au cours de cette thèse nous avons employé aussi bien des mesures transversales que longitudinales afin de mesurer l'évolution des différents caractères avec l'âge.

3.1 Approche transversale

Dans les chapitres 1 et 2, nous avons utilisé une *approche transversale* afin d'étudier les effets du vieillissement sur les comportements anxieux et néophobes ainsi que les comportements sociaux lors de confrontations entre congénères. Nous avons donc travaillé sur 4 classes d'âge d'individus qui n'ont été testés qu'une seule fois. L'utilisation de cette méthode s'est révélée évidente de part la nature des tests choisis. En effet, les tests d'évaluation utilisés (open field, elevated plus maze, tests d'exploration d'un nouvel objet, test d'interactions sociales) sont basés sur l'exposition de l'individu face à la nouveauté (physique ou sociale) et à ses capacités à répondre à celle-ci à court terme. Les réactions comportementales des individus dès la seconde exposition ne seraient donc plus basées sur la nouveauté et dépendront très probablement de l'expérience antérieure de l'individu dans le dispositif. Il a par exemple été montré que les issues des combats pouvaient affecter les comportements des individus au cours de futures confrontations mais aussi leur niveau d'activité et d'anxiété dans d'autres dispositifs (Trainor et al., 2011; Kudryavtseva et al., 2014). Nous avons donc préféré dans cette partie multiplier différents types de tests et employer une approche transversale ce qui nous a permis de conduire les tests en un temps plus réduit et d'inclure les individus dans d'autres expériences juste après la session de test. L'approche transversale comporte cependant un inconvénient majeur : l'existence possible d'un effet cohorte, c'est à dire des différences phénotypiques persistantes entre des groupes d'individus nés à différentes périodes. Ce point sera abordé dans la partie Discussion du manuscrit.

3.2 Approche transversale séquentielle

Pour l'étude de l'évolution des caractères liés à la reproduction nous avons employé une *approche transversale séquentielle* (combinaison de mesures longitudinales et transversales, appelée aussi approche mixte). Nous avons testé deux groupes d'individus d'âge différent à plusieurs moments de leur période de reproduction (2 ou 3 fois suivant les tests). L'étude des caractères à plusieurs moments de la vie reproductive des individus permet une description plus précise (prise en compte possible de l'expérience antérieure) et évite les effets cohortes. Cependant, elle conduit à une perte indubitable d'individus exclus des groupes expérimentaux, car morts, diagnostiqués malades ou ayant un trouble moteur réduisant de ce fait les effectifs finaux (N = 8 en fin d'étude). L'utilisation d'une approche mixte est particulièrement pertinente pour l'étude des conséquences comportementales du vieillissement chez la souris glaneuse qui présente naturellement deux groupes d'individus qui débudent leur reproduction à deux âges différents.

Une description détaillée des individus ainsi que des méthodes et des dispositifs propres aux différentes expériences est développée dans les parties "Matériel et méthodes" de chaque chapitre.

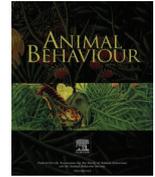
Chapitre 1

Effet de l'âge sur les comportements exploratoires en situation anxiogène



Contents lists available at ScienceDirect

Animal Behaviour

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anbehav

U-shaped relationship between ageing and risk-taking behaviour in a wild-type rodent



Marie Lafaille*, Christophe Féron

Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée, Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Villetaneuse, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 March 2014
 Initial acceptance 12 May 2014
 Final acceptance 4 August 2014
 Published online
 MS. number: 14-00251R

Keywords:

anxiety
 dispersal
 elevated plus-maze
 exploration
Mus spicilegus
 neophobia
 open field

Coping efficiently with novelty is essential for survival. Although ageing is a universal process, its impact on exploration, gathering information and assessing potential risks in novel and stressful situations is still not well understood. In the mound-building mouse, *Mus spicilegus*, the dispersal process involves two age classes (2-month-old and overwintered 6-month-old individuals). We compared exploration and risk-taking behaviour of four age groups of these mice in both sexes: young and overwintered dispersers and two older groups (12-month-old and 24-month-old animals) to investigate long-term age-related effects. Responses of these animals to novelty and anxiogenic situations were tested by three different tests: open field, elevated plus-maze and novel object exploration test. As expected, 2-month-old individuals displayed a low level of freezing and a high exploration of aversive places and of a novel object. This risk-taking profile may enable young individuals to disperse efficiently. At 6 months old, although no change was found in males, females already showed signs of anxiety, indicating a sex difference in anxiety development in this species. When 12 months old, both sexes were risk-averse and displayed strong emotional responses. We thus conclude that ageing processes lead to an increase in anxiety in the mound-building mouse. Against all expectations, 24-month-old females and males showed a similar profile to 2-month-old individuals revealing that ageing and anxiety may present a U-shaped relationship. Because the relationship between ageing and anxiety may be nonlinear, a multiple-point approach might be systematically applied in ageing research.

© 2014 The Association for the Study of Animal Behaviour. Published by Elsevier Ltd.

Ageing is an ineluctable, irreversible and universal process of generalized physical alterations (Masoro & Austad, 2011). With increases in life expectancy in human populations, there is a growing interest in understanding the changes that occur with ageing. In addition to motor impairment (Emborg et al., 1998; Gage, Dunnett, & Bjorklund, 1984), a decline in cognitive (Glisky, 2007; Rowe & Kahn, 1997; Zyzak, Otto, Eichenbaum, & Gallagher, 1995) and reproductive functions (Rödel et al., 2004; Tardif et al., 2008), a growing number of studies indicate that ageing also involves emotional changes. In changing and unpredictable environments, acquiring and assessing information is essential even though this might be risky, even fatal. Exposure to novelty may be an anxiogenic challenge for some individuals and age-related changes might affect the ability to cope with these situations.

In humans, the high prevalence of anxiety disorders in the elderly is still the subject of a controversial debate (for a review see Wolitzky-Taylor, Castriotta, Lenze, Stanley, & Craske, 2010). In rats,

Rattus norvegicus, and mice, *Mus musculus*, which are by far the most commonly used models in pharmacological anxiety research, ageing affects the behaviour of individuals exposed to novelty-induced stress. When individuals are exposed to anxiogenic situations the tendency to explore and take risks progressively declines from adolescence to adulthood. For instance, preadult rodents show heightened exploratory and risk-taking behaviour in novel environments (Doremus, Varlinskaya, & Spear, 2004; Macrì, Adriani, Chiarotti, & Laviola, 2002) and a low level of neophobia in the presence of novel objects (Douglas, Varlinskaya, & Spear, 2003; Laviola, Adriani, Rea, Aloe, & Alleva, 2004). Additionally, behavioural responses to novelty may be affected by advanced ageing but the findings are contradictory. On the one hand, most studies dealing with age-related emotional behaviours have reported that middle-aged and old rats (Boguszewski & Zagrodzka, 2002; Darwish, Kornyi, Nyakas, & Almeida, 2001; Frussa-Filho, Otoboni, Uema, & S-Rocha, 1991; Imhof, Coelho, Schmitt, Morato, & Carobrez, 1993; Miyagawa et al., 1998; Nagahara & Handa, 1997) and mice (Lamberty & Gower, 1992; Malatynska et al., 2012) show a decrease in exploratory behaviour and an increase in anxiety, limiting risk taking, compared with younger adults. On the other hand, Rowe, Spreekeester, Meaney, Quirion, and Rochford (1998)

* Correspondence: M. Lafaille, Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée, Université Paris 13, Avenue JB Clément, 93430 Villetaneuse, France.
 E-mail address: lafaille@leec.univ-paris13.fr (M. Lafaille).

reported that noncognitively impaired older rats show anxiety levels similar to those of younger rats in the elevated plus-maze. Other authors concluded that old rats are less anxious than young ones with middle-aged rats exhibiting intermediate levels of anxiety (Gupta, Jing, Collie, Zhang, & Liu, 2012; Pisarska, Mulchahey, Welge, Geraciotti, & Kasckow, 2000; Torras-Garcia, Costa-Miserachs, Coll-Andreu, & Portell-Corts, 2005).

Mice are one of the most frequently used animal models to study anxiety-related behaviours (Bourin, Petit-Demoulière, Dhonnchadha, & Hascet, 2007; Hohoff, 2009). Although most studies use laboratory mice strains, some authors have questioned the use of these poorly genetically diversified rodents to study the complex process of ageing and have proposed that wild counterparts should be used (for a review see Harper, 2008). Wild-type rodents also provide an opportunity to improve our knowledge about laboratory species (Beach, 1950) for which a Darwinian-oriented approach, which takes into account factors shaping behavioural traits, helps to interpret age-related behavioural profiles in an ecological context (see preface in Alleva, Lipp, Nadel, Fasolo, & Ricceri, 1995). It has been suggested that the high risk taking and novelty seeking observed in young adults may have an adaptive function related to the dispersal process. These risky behaviours may facilitate learning about novel aspects of the environment, thus helping young adults to disperse away from their family unit and gain independence (Byrom & Krebs, 1999; Koopman, Cypher, & Scrivner, 2000; Spear, 2000). In birds, dispersal correlates with exploration in novel environments under laboratory conditions, such that the most exploratory animals disperse sooner and further than others (Dingemans, Both, Noordwijk, Rutten, & Drent, 2003).

In the mound-building mouse, *M. spicilegus*, the dispersal process involves two age classes. Mice born from March to September typically disperse at an age of 2 months whereas animals born later delay dispersal. In early autumn, groups of juveniles build mounds composed of vegetable material and earth (Poteaux, Busquet, Gouat, Katona, & Baudoin, 2008). These young mice remain inside this protected area during winter without reproducing and leave the shelter of the mound to disperse and reproduce in spring when 6 months old (Gouat, Katona, & Poteaux, 2003). This particular life history provides an opportunity to investigate the effects of ageing on exploratory and risk-taking behaviour in two distinct age classes that disperse. If dispersal patterns are associated with responsiveness to novel environments, we would expect similar results in the two age groups.

In the wild, adult mound-building mice usually do not survive the winter (Canady, Mooansky, & Stanko, 2009) and no individuals over 12 months of age were recorded in a study using capture–recapture (Tong, 2012). However, mound-building mice can easily reach an age of 24 months when born and bred under laboratory conditions (P. Gouat, personal communication). Thus we also tested the consequences of advanced ageing on anxiety-like behaviour in novel or changing anxiogenic environments. In accordance with the findings of the majority of studies in ageing research, we predicted that 12-month-old mice would show a higher level of anxiety and neophobia than the 2- and 6-month-old individuals and that mice of the oldest age class (24 months old) would be the most anxious and neophobic individuals. The relatively good physical condition of old mice allowed us to investigate the effects of ageing while limiting the impact from physical and motor impairment that could potentially affect the evaluation of their emotional state. Animals were tested in three standardized behavioural exploration-based tests derived from classic psychobiological tests (Belzung & Le Pape, 1994; Handley & Mithani, 1984; Walsh & Cummins, 1976): the open field and the elevated plus-maze tests

to assess activity and anxiety and the novel object exploration test to evaluate neophobic responses (Belzung & Le Pape, 1994).

METHODS

Animals and Housing Conditions

Subjects were 103 *M. spicilegus* derived from a stock of 80 mice caught in Hungary in October 1999 and bred for 15 generations. New wild individuals (fewer than 10) were added every 4–5 years to our breeding stock. From postnatal day 35, animals were housed in same-sex sibling groups of two to five individuals in standard polycarbonate cages (26 × 14 cm and 16 cm high, Iffa Credo, Lyon, France) with wood-shavings (Special Diet Services, Witham, Essex, U.K.) and cotton balls provided as nesting material. Food (type M20, Special Diet Services) and water were supplied ad libitum. Animals were kept under laboratory conditions (20 ± 2 °C) with a 14:10 h light:dark cycle. For acclimatization, the animals were transferred from the breeding stock to the experimental room 1 week prior to the start of testing. This room had the same temperature and light conditions as the room housing the breeding stock. For the experiments, four age groups were considered: 2-month-old individuals (12 females, mean age of 2.49 ± 0.04 months; 12 males, mean age of 2.47 ± 0.03 months); 6-month-old individuals (12 females, mean age of 6.16 ± 0.17 months; 12 males, mean age 6.19 ± 0.17 months); 12-month-old individuals (12 females, mean age of 12.67 ± 0.06 months; 12 males, mean age of 12.73 ± 0.05 months); and 24-month-old individuals (15 females, mean age of 24.4 ± 0.06 months; 16 males, mean age of 24.37 ± 0.05 months). Although very old, these mice did not show any signs of apparent senescence such as motor disabilities or poor body condition (e.g. excessive kyphosis and hair loss).

Apparatuses

The behavioural tests used were open field (OF), elevated plus-maze (EPM) and novel object exploration test (NO) performed once for each animal according to the following schedule: OF—animals were isolated in a standard cage—1 day break—EPM—1 day break—NO. The same settings and sizes of the apparatuses were used for all four age groups. Tests were conducted during the first 6 h of the dark phase, corresponding to the beginning of the activity period of *M. spicilegus*. All tests were video recorded for further analysis (EthoLog 2.2.5 software, Ottoni, 2000). For OF and EPM tests, mice were gently caught in their home cage, transported to and carefully deposited in the apparatus using a plastic box (7 × 7 cm and 15 cm high). All equipment was cleaned after each trial with a solution of Cleansinald (Johnson Diversey).

Open field test

The open field was a white circular arena made of low-density polyethylene (42 cm in diameter, 50 cm height) virtually divided into two equal-area zones: a peripheral zone and a central zone (24.75 cm in diameter). Mice were placed individually into the centre and left to explore for 5 min. The time spent in the central zone and the distance covered within the whole arena was recorded using the software EthoVision XT7 (Noldus IT, Wageningen, The Netherlands). Freezing (absence of movements of the body or vibrissae except for movements required for respiration) and defecation (number of faecal pellets) were recorded.

Elevated plus-maze test

The elevated plus-maze comprised two opposite open arms (30 × 5 cm surrounded by a 0.2 cm high border) and two closed

arms (30 × 5 cm, surrounded by 30 cm high walls) elevated 40 cm above the floor by a stable construction of plastic tubes. The maze, made of nonporous plastic, had black walls with white runways. The junction area (platform) between the four arms measured 10 × 10 cm. A closed box with holes (5 cm in diameter) on each side, made of clear Plexiglas, was put on the central platform in order to prevent jumps at the beginning of the trial. The whole apparatus was surrounded by 50 cm high walls to prevent escape by falling or jumping. Mice were placed in the central box and were free to explore the apparatus for 7 min. The time spent in the open arms of the maze was recorded and the percentage of entries in the open arms (100 × open/(open + closed)) was calculated. The number of entries in the closed arms was also recorded. An entry was defined as both of the subject's forepaws entering an arm, and an arm exit as two forepaws leaving the arm. If a mouse fell off or jumped to the floor, it was carefully put back in its home cage, using the plastic box, and it was observed in order to detect potential injuries or abnormal behaviour. To limit stress, the mouse was retested at least 30 min after it had been caught. In the 24-month-old age group, one female and two males fell off an open arm twice; they were excluded from the analyses because the repeated manipulation of these wild-type animals was judged to be too stressful. No mice were harmed after falling. Mice that fell were replaced onto the central area as at the beginning of the test and the trial continued.

Novel object exploration test

A light white ball made of celluloid (3 cm in diameter, 2.8 g) was carefully placed in the part of the home cage opposite the nest and the behaviour of the animal was recorded for the subsequent 5 min. We recorded the latency to approach the object (directing the nose to the object at a distance of up to 5 cm) and the time spent sniffing the object. We also measured the time spent manipulating the object (climbing, moving, biting, gnawing the object).

Statistical Analysis

Because of the small sample size and the non-normal distribution of data, we performed nonparametric statistics with the R software v.2.13 (R Core Team, 2013). All statistical analyses were carried out separately for males and females. Because differences in environmental conditions, such as the cage stocking density (in this study, two to five individuals per cage) might potentially affect the exploratory behaviour (see Arakawa, 2005), all analyses were performed by tests that included a stratification by the number of individuals per cage. Kruskal–Wallis tests were used to compare anxiety and neophobia-like behavioural differences between the four age groups followed by post hoc pairwise Mann–Whitney *U* tests. The statistical significance of the results was assessed based on *P* values for the Kruskal–Wallis tests and *P'* values were adjusted for multiple comparisons using Holm's sequential Bonferroni adjustment (Holm, 1979). Data are expressed as mean ± SE.

Ethical Note

Mound-building mice were captured in Gyöngyös (Hungary) where they are common (least concern status, IUCN). They live in agricultural fields and the risk of mound destruction by ploughing during autumn or spring is close to 80%. Mounds were found at three sites, separated by 3, 5 and up to 8 km, respectively. The position of each site was determined by GPS (site 1: 47°44.359'N, 19°53.814'E; site 2: 47°45.164'N, 19°53.423'E; site 3: 47°42.447'N, 20°03.327'E). A total of five mounds per site were excavated (*N* = 15) and all the mice from each mound were captured. Mice were found in 10 of the 15 mounds (2/5 on site 1, 4/5 on site 2

and 4/5 on site 3); a total of 80 individuals were captured. The density of the mounds for this geographical area was high (26 mounds/100 square metres). Therefore removing mice would have had no major effect on the local population dynamics.

Mounds were excavated in a way to ensure collection of all mice. First, circular flexible plastic walls were placed around the mound in a 1.5 m radius to encompass all of the burrow entrance holes and Sherman traps (3310G) were placed along the walls. We marked each entry of the mound with wooden sticks. Then the soil was carefully removed from the mound by following galleries. Animals attempting to escape were either caught in traps or, if necessary, caught by hand (mice were gently pushed along walls and grabbed by the tail). The excavation process did not induce higher predation risk because all mice of a mound were caught. The animals were transported to the Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée (Villetaneuse, France) by car (journey of 12 h) in standard polycarbonate cages (26 × 14 cm and 16 cm high, Iffa Credo, Lyon, France) with wood-shavings (Special Diet Services, Witham, Essex, UK), cotton balls, food (type M20, Special Diet Services), fresh apples and carrots. All mice from one mound were transported in the same cage if the number of mice did not exceed 10; otherwise we divided the mice into two groups. No animal was harmed during transport or presented signs of physical and behavioural distress (prostrated posture, low reactivity during handling or dirty fur) afterwards (mice were examined daily). The temperature was similar to the outdoor temperature (15 ± 2 °C) but because of the cotton provided, the temperature inside the nest was higher. A relatively low temperature (between 10 and 15 °C) reinforces social tolerance in *M. spicilegus*.

In the laboratory, reproductive pairs were placed in a polycarbonate cage (43 × 27 cm and 20 cm high) with fresh bedding and cotton. Food (type M20, Special Diet Services) and water were provided ad libitum. Animals were kept under observation for at least 1 h after pairing and observations were made at various stages during the following dark period. Young mice were weaned at 28 days old, corresponding to the mean interdelivery duration in this species (Féron & Gouat, 2007). Siblings were put together (in cages measuring 26 × 14 cm and 16 cm high) in same-sex groups from 35 days of age. Mice were weighed twice before weaning to ensure healthy growth and at least once more before leaving the breeding room for the experimental room. They were handled every 3 weeks for cage cleaning and for a detailed physical examination. No manipulation exceeded 2 min and was performed within a plastic box (7 × 7 cm and 15 cm high). All cages were inspected at least five times a week to check body condition and to make sure fresh food and water were available.

The housing conditions in the experimental room were the same as for the breeding stock room. Additionally to the standard routine, mice were meticulously observed in their home cage after each test and weighed 3 days after the experimental session.

All experimental procedures were approved by the Regional Ethics Committee in Animal Experiment No. 3 of Ile-de-France (Ce5/2010/078). All the mice used were born and bred under laboratory conditions. We used the minimum number needed for statistical analysis. Mice were kept in same-sex sibling groups until the first test day. They were then physically isolated from their social partners for 1 week but without visual, olfactory and auditory deprivation. No signs of physical or behavioural distress such as prostrated posture, low reactivity during handling or dirty fur (welfare endpoints) were observed during this short-term isolation period and no important loss of weight was noted after the experiments. Indeed, mice tended to gain weight during this period (2-month-old individuals, mean + 11.2% (from -7.1% to 21.2%); 6-month-old individuals, mean + 9.8% (from -5.3% to 17.9%); 12-month-old individuals, mean + 5.3% (from -6.6 to 10.9%); 24-

month-old individuals, mean + 3.6% (from -5.9 to 8.2%). This isolation period, which promotes sexual activation in this species (Féron & Gheusi, 2003), was needed for further experiments on reproduction, which were carried out on the mice after the present study. Under natural conditions, dispersal involves a short period of social isolation. This procedure of social isolation before pairing has already been approved by the ASAB Ethics Committee (Patris & Baudoin, 1998). After isolation, mice were paired with a sexual partner and kept in the experimental room.

RESULTS

Open field Test

For the distance covered in the open field test, females ($H_3 = 10.65, P = 0.01$; Fig. 1a) and males ($H_3 = 9.29, P = 0.027$; Fig. 1b) showed a U-shaped relationship across age groups. Post hoc comparisons revealed that, in both sexes, old mice (24-month-old) covered a larger distance than the 12-month-old individuals and young males (2-month-old mice) tended to cover a larger distance than 12-month-old animals ($P = 0.057$). The time spent freezing showed an inverted U-shaped relationship that differed significantly between the age groups in females ($H_3 = 15.07, P < 0.001$; Fig. 1c) and in males ($H_3 = 10.62, P = 0.01$; Fig. 1d). Twelve-month-old females showed longer freezing than 2-month-old and 24-month-old individuals. In males, 12-month-old individuals showed more freezing than 2-month-old mice, and these males showed a tendency to freeze more than the 24-month-old ones ($P = 0.061$). The time spent in the central area (on average for the four age groups: females: 69.73 ± 3.09 s; males: 76.85 ± 3.91 s) and the number of faecal pellets (females: 2.77 ± 0.37 ; males:

2.67 ± 0.36) did not differ significantly between age groups in either sex ($P > 0.10$; Table 1).

Elevated Plus-maze Test

The time spent in the open arms differed significantly between the age groups with a clear U-shaped relationship in females ($H_3 = 17.54, P < 0.001$; Fig. 2a) but not in males ($H_3 = 4.96, P = 0.18$; Fig. 2b). Post hoc comparisons showed that the younger (2-month-old) and the older (24-month-old) females spent more time in the open arms than the middle-aged females. Also, the percentage of entries in the open arms differed significantly between the age groups in females ($H_3 = 8.13, P = 0.039$; 2-month-old: 27.90 ± 2.72 ; 6-month-old: 25.49 ± 2.50 ; 12-month-old: 32.19 ± 4.60 ; 24-month-old: 34.93 ± 2.89) and in males ($H_3 = 8.47, P = 0.033$; 2-month-old: 25.44 ± 4.07 ; 6-month-old: 29.88 ± 2.81 ; 12-month-old: 34.74 ± 4.63 ; 24-month-old: 28.1 ± 2.57). In females, 24-month-old mice entered the open arms of the elevated plus-maze more frequently than the 6-month-old mice. In males, post hoc comparisons failed to find any significant difference. No age differences were found with respect to the number of entries in the closed arms (on average for the four age groups: females: $10.49 \pm 0.39, P > 0.10$; males: $11 \pm 0.50, P > 0.10$; Table 1).

Novel Object Exploration Test

The latency to approach the novel object differed significantly between the age groups (females: $H_3 = 12.32, P = 0.004$; Fig. 3a; males: $H_3 = 9.33, P = 0.02$; Fig. 3b) with an inverted U-shaped relationship. Old females (24-month-old) approached the object faster than 12-month-old ones, and in males, 2-month-old, 6-

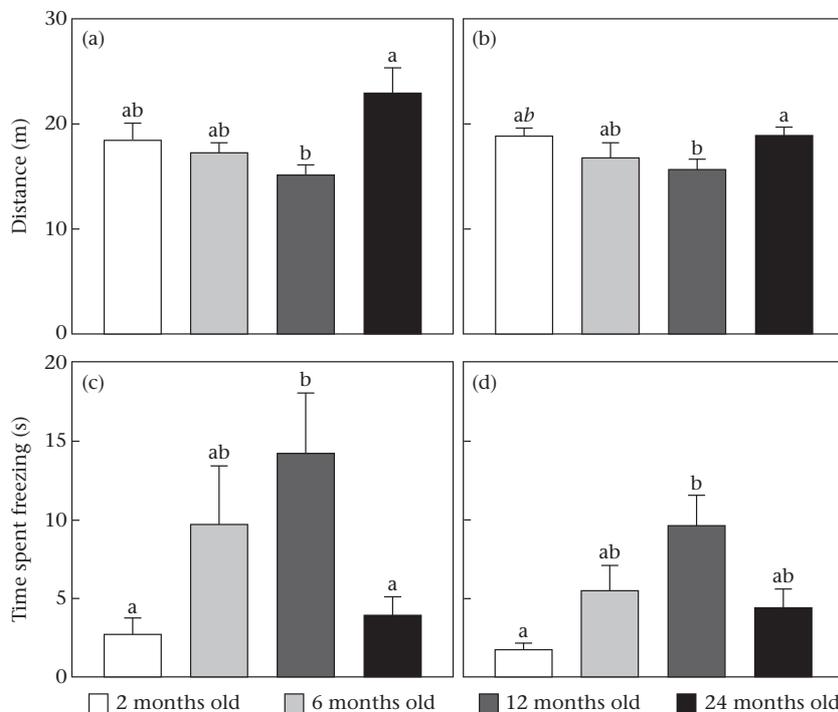


Figure 1. Age-related effects on (a, b) distance covered and (c, d) time spent freezing in the open field in (a, c) females and (b, d) males. Presented values are the means + SE for 2-month-old (females: $N = 12$; males: $N = 12$), 6-month-old (females: $N = 12$; males: $N = 12$), 12-month-old (females: $N = 12$; males: $N = 12$) and 24-month-old (females: $N = 15$; males: $N = 16$) individuals. Significant differences with post hoc comparisons are shown by different letters (Holm's sequential Bonferroni adjustment). Tendencies are shown by italic letters.

Table 1
Effects of age in the battery of anxiety and neophobia tests in females and males (mean ± SEM)

Tests	Measures	Females				P	Males				P
		2 months	6 months	12 months	24 months		Kruskal–Wallis test	2 months	6 months	12 months	
OF	D	18.4±1.6	17.2±1.0	15.1±1.0§	22.6±2.3	0.01	19.0±0.7	16.8±1.5	15.7±1.0**§	18.9±0.8	0.027
	TF	2.7±1.0	9.7±3.3	14.2±3.8†§	3.9±1.1	<0.001	1.7±0.5	5.5±1.7	9.7±1.9†	4.4±1.2	0.01
	TCZ	61.9±6.8	76.8±5.8	69.9±6.1	70.3±5.8	0.23	70.7±6.5	65.0±6.8	82.1±10.6	86.7±6.6	0.22
	FP	1.8±0.5	2.9±0.9	3.2±0.7	3.1±0.7	0.54	2.3±0.6	2.3±0.8	2.3±0.6	3.4±0.8	0.72
EPM	TOA	62.7±9.1	30.2±5.7†**	32.7±5.2†**	62.7±7.6	<0.001	49.3±9.4	59.4±11.6	40.1±8.5	73.8±10.7	0.18
	EOA	27.9±2.7	25.5±2.5§	32.2±4.6	36.7±2.7	0.039	25.5±3.8	29.9±2.8	34.7±4.6	38.1±2.7	0.033
	NCA	11.7±0.9	10.1±0.7	9.8±0.9	10.4±0.6	0.55	11.9±1.2	11.6±0.8	9.9±1.1	10.6±0.88	0.69
NO	APPL	24.0±5.2	54.5±11.5†	98.8±23.6†§	37.3±10.4	0.004	24.7±5.2	21.3±5.3	52.4±7.8††§	28.1±6.5	0.02
	ST	52.6±25.4	40.1±18.3	29.6±11.8§	55.2±25.3	0.01	55.9±24.4	41.0±18.5	25.1±21.2†§	54.6±29.6	0.008
	MT	28.9±5.9	7.5±3.6†§	5.4±2.1†**	30.3±6.5	<0.001	31.8±5.6	22.0±5.4	12.7±4.8	40.5±12.7	0.079

OF, open field; D, distance (m); TF, time freezing (s); TCZ, time in central zone in the open field (s); FP, faecal pellets; EPM, elevated plus-maze; TOA, time in the open arms (s); EOA, percentage of entries in the open arms; NCA, number of entries in the closed arms (s); NO, novel object exploration; APPL, approach latency of the object (s); ST, sniffing time (s); MT, manipulation time (s).

† $P < 0.05$ compared with 2 months.
 * $P = 0.06$ compared with 2 months.
 ‡ $P < 0.05$ compared with 6 months.
 § $P < 0.05$ compared with 24 months.
 ** $P < 0.01$ compared with 24 months.

month-old and 24-month-old individuals were faster than 12-month-old ones. An age effect was also found with respect to the time spent sniffing the object (females: $H_3 = 10.21$, $P = 0.013$; Fig. 3c; males: $H_3 = 11.71$, $P = 0.008$; Fig. 3d). Old females (24-month-old) spent more time sniffing than 12-month-old animals. In males, the duration of sniffing was longer in the young (2-month-old) and old individuals (24-month-old) than 12-month-old ones. In females ($H_3 = 20.46$, $P < 0.001$; Fig. 3e), but not in males ($H_3 = 6.78$, $P = 0.079$, Fig. 3f), the duration of manipulation differed significantly between the age groups and presented a clear U-shaped relationship. Young (2-month-old) and old (24-month-old) females manipulated the object longer than did the 6-month-old and the 12-month-old ones (Table 1).

DISCUSSION

The results of our study clearly show that ageing substantially affects exploratory and risk-taking behaviour of female and male mound-building mice when exposed to novel and potentially risky situations. Overall, young (2-month-old) and very old (24-month-old) females exhibited a higher level of exploration and risk taking in response to novelty than middle-aged ones. In males, 2-month-

old, 6-month-old and 24-month-old individuals displayed a high level of exploration and risk taking as compared to 12-month-old individuals.

In support of our first prediction, 2-month-old females and males, representing the young dispersers under natural conditions, showed a high level of risk taking and exploratory behaviour. Such behaviour may promote information gathering in novel environments or in the presence of novel stimuli and might facilitate efficient dispersal during the late spring/summer period when the population density is high (Simeonovska-Nikolova, 2007).

At 6 months, females showed increased anxiety and neophobia-like behaviours compared with younger females, whereas no clear change was apparent in males. Similar results have been reported in humans: women suffer from generalized anxiety disorders earlier than men (Simon et al., 2006; Steiner et al., 2005). If the emotional profiles follow the same developmental pattern as under the conditions of our study, the increase in anxiety and neophobia-like behaviours in 6-month-old female *M. spicilegus* would restrict their ability to disperse and to explore new environments in early spring. Nondispersal should in principle not be adaptive in this monogamous species which shows high levels of intolerance and sex-specific aggression among adult females (Patris, Gouat, Jacquot,

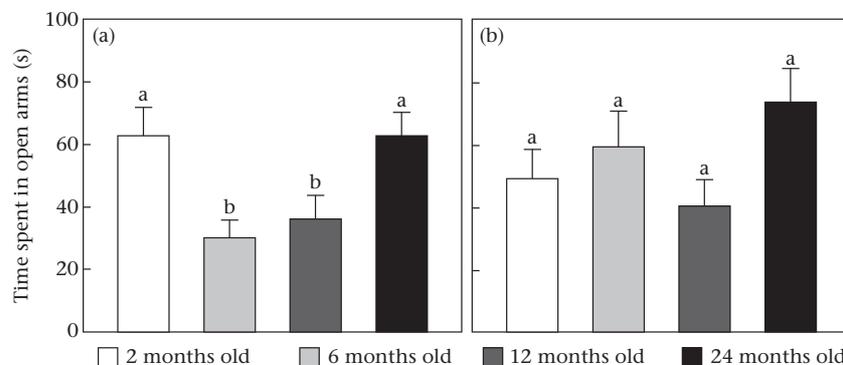


Figure 2. Age-related effects on the time spent in the open arms of the elevated plus-maze in (a) females and (b) males. Presented values are the means + SE for 2-month-old (females: $N = 12$; males: $N = 12$), 6-month-old (females: $N = 12$; males: $N = 12$), 12-month-old (females: $N = 12$; males: $N = 12$) and 24-month-old (females: $N = 14$; males: $N = 14$) individuals. Significant differences with post hoc comparisons are shown by different letters (Holm’s sequential Bonferroni adjustment).

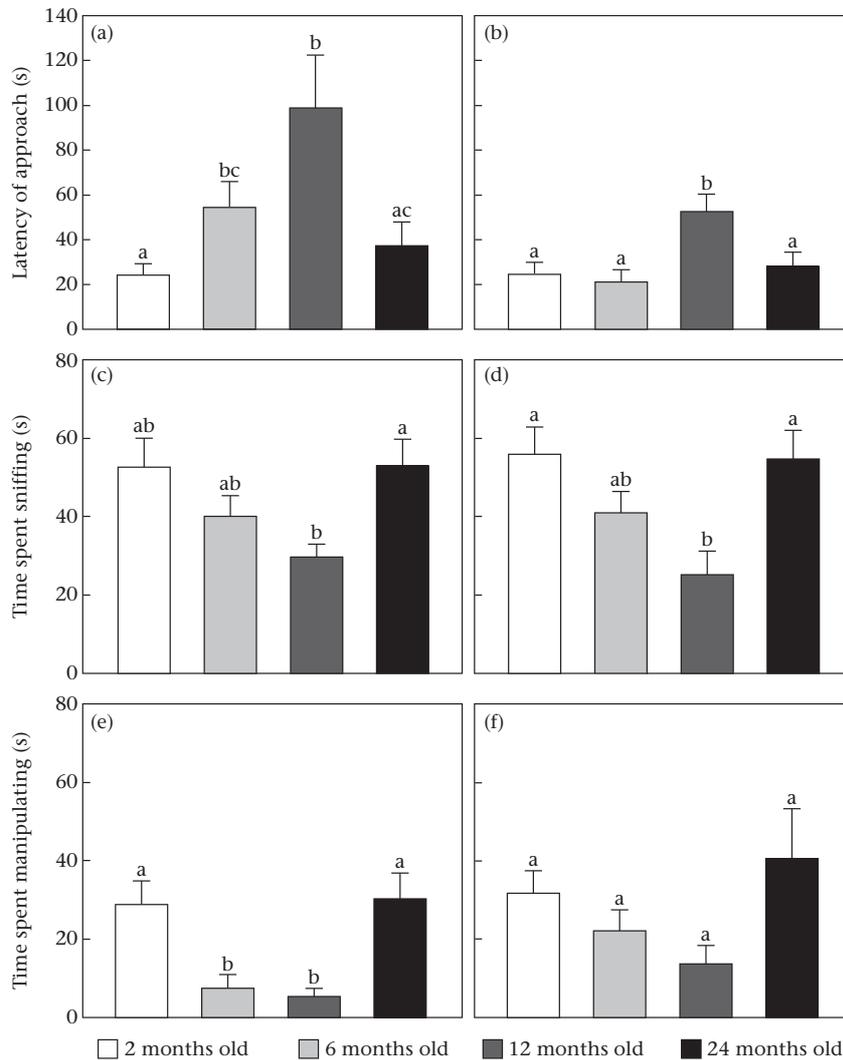


Figure 3. Age-related effects on (a, b) the latency to approach the novel object, (c, d) the time spent sniffing and (e, f) the time spent manipulating the object in (a, c, e) females and (b, d, f) males. Presented values are the means + SE for 2-month-old (females: $N = 12$; males: $N = 12$), 6-month-old (females: $N = 12$; males: $N = 12$), 12-month-old (females: $N = 12$; males: $N = 12$) and 24-month-old (females: $N = 15$; males: $N = 16$) individuals. Significant differences with post hoc comparisons are shown by different letters (Holm's sequential Bonferroni adjustment).

Christophe, & Baudoin, 2002; Simeonovska-Nikolova, 2003). However, genetic and field data have previously shown that the overwintered female mice disperse less than the males (Poteaux et al., 2008) and thus females usually stay in the vicinity of the mound (Garza et al., 1997; Poteaux et al., 2008). This pattern of philopatry would be explained by a higher tolerance among females resulting from their cohabitation during several months in the mound (Gouat & Féron, 2005). Field studies on males revealed that 6-month-old individuals do not stay in the vicinity of the mound but disperse from the overwintering area (Poteaux et al., 2008; Tong, 2012). The high exploratory and risk-taking behaviour of these males is thus suitable for dispersal, and therefore field data match our laboratory study.

When 12 months old, both sexes showed a clear increase in anxiety and neophobia. This result corroborates previous findings on rodents, indicating that ageing increases the level of anxiety and neophobia, restricting their exploration and risk taking in exploration-based tests (Boguszewski & Zagrodzka, 2002;

Malatynska et al., 2012). In the open field test, 12-month-old individuals displayed higher freeze responses than the other three age groups. They also showed a decrease in the distance covered in the whole arena (horizontal exploration), which is an indirect measure of emotionality. This decrease in horizontal exploration might be explained by a loss of motor capacity in 12-month-old mice; however, 24-month-old mice appeared not to be impaired by such deficits and could easily cover a distance similar to that of young individuals in the open field test. Furthermore, 12-month-old mice entered the closed arms of the elevated plus-maze at similar frequencies to other age groups, and this behaviour can be considered a suitable measure of locomotor activity (Hogg, 1996). Thus, we can assume that no overall age-related decline in locomotor activity affected the behaviour of the animals during our test procedures. This concurs with other studies on laboratory mice suggesting that motor incapacitation is not systematic in aged mice (Malatynska et al., 2012; Yin et al., 2010). Since Hall (1934), ambulation and defecation, which are generally negatively

correlated, have been the most commonly used measures of emotionality in open field tests. Although ageing did not affect the defecation rate during our tests we cannot completely rule out the possibility of a potential impact of ageing on the parasympathetic nervous system, which could alter the process of defecation. A more reliable measure would be to correct the number of faecal pellets deposited during the open field test by a home cage defecation score. Surprisingly, we did not find age class differences in the use of the central area of the open field test, although this test is frequently considered to assess anxiety (An et al., 2011; Falco, McDonald, Bachus, & Smith, 2014). However, some authors criticize the validity of this measure and propose to limit the use of the open field test to assess exploratory activity (Ennaceur, Michalikova, & Chazot, 2006).

Females and males at 24 months had a surprisingly high level of exploratory and risk-taking behaviours compared with those of the middle-aged individuals. In accordance with this result, previous studies on male rats described a similar decrease in anxiety with increasing age, with old individuals spending more time in, or entering more often, the open arms of the elevated plus-maze (Pisarska et al., 2000; Torras-García et al., 2005). However, it is worth noting that the authors reported a progressive decrease in anxiety between the ages of 3 and 24 months. The development of anxiety-like behaviour has a markedly different profile in *M. spicilegus*. Regarding the increase in the anxiety and neophilia-like behaviours from 2 to 12 months of age, it might be expected that 24-month-old individuals would have had a higher, or at least a similar, level of anxiety and neophobia than 12-month-old individuals. However, the respective responses of the animals clearly decreased (from 2 to 12 months of age) and then increased again at an age of 24 months, and thus the oldest mice showed a risk profile similar to 2-month-old individuals. To our knowledge, we describe here a previously unreported U-shaped relation between ageing and risk-taking/anxiety-like behaviours. At present, we do not know the precise proximate and ultimate causes of this behavioural profile in 24-month-old individuals but two hypotheses can be proposed. (1) In laboratory rats, it has been reported that highly anxious individuals, with a low willingness to explore novel environments, have a reduced life span (Cavigelli & McClintock, 2003). According to this hypothesis, the high level of exploratory and risk-taking behaviours observed in the 24-month-old *M. spicilegus* could have just resulted from less anxious individuals having outlived more anxious ones under the conditions of this study. However, this was obviously not the case, because the mortality rate of the mice randomly chosen to constitute the 24-month-old age group was very low (2/22 in females, 2/17 in males). (2) The high level of risk taking of the 24-month-old mice might be due to cognitive impairment; reduced function at the level of the central cholinergic inhibitory neural pathways is also an associated condition (Laviola, Adriani, Terranova, & Gerra, 1999). Indeed, some neurodegenerative diseases in humans are associated with behavioural problems such as a reduced sense of danger and hyperactivity (Langford-Smith et al., 2011) and in mouse models for neurodegenerative diseases, such as Alzheimer, an increased impulsivity profile (Adriani et al., 2006) and behavioural disinhibition (Ognibene et al., 2005) have been reported. In addition to the high proportion of their time spent in the most risky parts of the elevated plus-maze and manipulating the novel object, the large distance covered by these old mice during the 5 min open field test might be interpreted as hyperactivity in stressful situations.

Conclusions

Our study clearly shows that exploratory and risk-taking behaviour under anxiogenic situations is high in both young and

very old mice compared with those of middle age. To the best of our knowledge, this is the first report showing this age-related behavioural profile in a wild-type rodent species. In females, the tests used in our study revealed an anxiety-like profile from an age of 6 months. This result found in female mice shares similarities with the early appearance of anxiety disorders in women. If the introduction of wild-type rodents in ageing research is an interesting concept, a multiple age point approach seems necessary to achieve a clear and nonmisleading assessment of ageing effects on the ability to cope with stressful situations.

Acknowledgments

We express many thanks to Heiko G. Rödel for helpful discussion and polishing the English. We thank Patrick Gouat for valuable comments on the manuscript. Sincere thanks to two referees for their help in improving this paper. We are grateful to Simone Demouiron and Sonia Varela for excellent animal care and for their valuable advice. This study was supported by the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MESR, France).

References

- Adriani, W., Ognibene, E., Heuland, E., Ghirardi, O., Caprioli, A., & Laviola, G. (2006). Motor impulsivity in app-swe mice: a model of Alzheimer's disease. *Behavioural Pharmacology*, *17*, 25–533.
- Alleva, E., Lipp, H.-P., Nadel, L., Fasolo, A., & Ricceri, L. (1995). *Behavioral brain research in naturalistic and semi-naturalistic settings*. Dordrecht, Germany: Kluwer Academic.
- An, X.-L., Zou, J.-X., Wu, R.-Y., Yang, Y., Tai, F.-D., Zeng, S.-Y., et al. (2011). Strain and sex differences in anxiety-like and social behaviors in c57bl/6j and balb/cj mice. *Experimental Animals*, *60*, 111–123.
- Arakawa, H. (2005). Age dependent effects of space limitation and social tension on open-field behavior in male rats. *Physiology and Behavior*, *84*, 429–436.
- Beach, F. A. (1950). The snark was a boojum. *American Psychologist*, *5*, 115.
- Belzung, C., & Le Pape, G. (1994). Comparison of different behavioral test situations used in psychopharmacology for measurement of anxiety. *Physiology and Behavior*, *56*, 623–628.
- Boguszewski, P., & Zagrodzka, J. (2002). Emotional changes related to age in rats—a behavioral analysis. *Behavioural Brain Research*, *133*, 323–332.
- Bourin, M., Petit-Demoulière, B., Dhonnchadha, B. N., & Hascet, M. (2007). Animal models of anxiety in mice. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, *21*, 567–574.
- Byrom, A. E., & Krebs, C. J. (1999). Natal dispersal of juvenile arctic ground squirrels in the boreal forest. *Canadian Journal of Zoology*, *77*, 1048–1059.
- Canady, A., Mooansky, L., & Stanko, M. (2009). First knowledge of winter ecology of the mound-building mouse (*Mus spicilegus* Pettfenyi, 1882) from Slovakia. *Acta Zoologica Bulgarica*, *61*, 79–86.
- Cavigelli, S. A., & McClintock, M. K. (2003). Fear of novelty in infant rats predicts adult corticosterone dynamics and an early death. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*, 16131–16136.
- Darwish, M., Kornyi, L., Nyakas, C., & Almeida, O. F. (2001). Exposure to a novel stimulus reduces anxiety level in adult and aging rats. *Physiology and Behavior*, *72*, 403–407.
- Dingemans, N. J., Both, C., Van Noordwijk, A. J., Rutten, A. L., & Drent, P. J. (2003). Natal dispersal and personalities in great tits (*Parus major*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *270*(1516), 741–747.
- Doremus, T. L., Varlinskaya, E. I., & Spear, L. P. (2004). Age-related differences in elevated plus maze behavior between adolescent and adult rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1021*, 427–430.
- Douglas, L. A., Varlinskaya, E. I., & Spear, L. P. (2003). Novel-object place conditioning in adolescent and adult male and female rats: effects of social isolation. *Physiology and Behavior*, *80*, 317–325.
- Emborg, M. E., Ma, S. Y., Mufson, E. J., Levey, A. I., Taylor, M. D., Brown, W. D., et al. (1998). Age-related declines in nigral neuronal function correlate with motor impairments in rhesus monkeys. *Journal of Comparative Neurology*, *401*, 253–265.
- Ennaceur, A., Michalikova, S., & Chazot, P. L. (2006). Models of anxiety: responses of rats to novelty in an open space and an enclosed space. *Behavioural Brain Research*, *171*, 26–49.
- Falco, A. M., McDonald, C. G., Bachus, S. E., & Smith, R. F. (2014). Developmental alterations in locomotor and anxiety-like behavior as a function of d1 and d2 mRNA expression. *Behavioural Brain Research*, *260*, 25–33.
- Féron, C., & Gheusi, G. (2003). Social regulation of reproduction in the female mound-builder mouse (*Mus spicilegus*). *Physiology and Behavior*, *78*, 717–722.
- Féron, C., & Gouat, P. (2007). Paternal care in the mound-building mouse reduces inter-litter intervals. *Reproduction, Fertility, and Development*, *19*, 425–429.
- Frussa-Filho, R., Otoboni, J. R., Uema, F. T., & S-Rocha, L. C. (1991). Evaluation of memory and anxiety in rats observed in the elevated plus-maze: effects of

- age and isolation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 24, 725–728.
- Gage, F. H., Dunnett, S. B., & Bjrkklund, A. (1984). Spatial learning and motor deficits in aged rats. *Neurobiology of Aging*, 5, 43–48.
- Garza, J. C., Dallas, J., Duryadi, D., Gerasimov, S., Croset, H., & Boursot, P. (1997). Social structure of the mound-building mouse *Mus spicilegus* revealed by genetic analysis with microsatellites. *Molecular Ecology*, 6, 1009–1017.
- Glisky, E. L. (2007). Changes in cognitive function in human aging. In D. R. Riddle (Ed.), *Brain aging: Models, methods and mechanisms* (pp. 4–21). New York: CRC Press.
- Gouat, P., & Féron, C. (2005). Deficit in reproduction in polygynously mated females of the monogamous mound-building mouse *Mus spicilegus*. *Reproduction, Fertility, and Development*, 17, 617–623.
- Gouat, P., Katona, K., & Poteaux, C. (2003). Is the socio-spatial distribution of mound-building mice, *Mus spicilegus*, compatible with a monogamous mating system? *Mammalia*, 67, 15–24.
- Gupta, N., Jing, Y., Collie, N. D., Zhang, H., & Liu, P. (2012). Ageing alters behavioural function and brain arginine metabolism in male Sprague-Dawley rats. *Neuroscience*, 226, 178–196.
- Hall, C. (1934). Emotional behavior in the rat. i. defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*, 18, 385–403.
- Handley, S. L., & Mithani, S. (1984). Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of fear-motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 327, 1–5.
- Harper, J. M. (2008). Wild-derived mouse stocks: an underappreciated tool for aging research. *Age*, 30, 135–145.
- Hogg, S. (1996). A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 54, 21–30.
- Hohoff, C. (2009). Anxiety in mice and men: a comparison. *Journal of Neural Transmission*, 116, 679–687.
- Holm, S. (1979). A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, 6, 65–70.
- Imhof, J. T., Coelho, Z. M., Schmitt, M. L., Morato, G. S., & Carobrez, A. P. (1993). Influence of gender and age on performance of rats in the elevated plus maze apparatus. *Behavioural Brain Research*, 56, 177–180.
- Koopman, M. E., Cypher, B. L., & Scrivner, J. H. (2000). Dispersal patterns of San Joaquin kit foxes (*Vulpes macrotis mutica*). *Journal of Mammalogy*, 81, 213–222.
- Lamberty, Y., & Gower, A. J. (1992). Age-related changes in spontaneous behavior and learning in nmri mice from middle to old age. *Physiology and Behavior*, 51, 81–88.
- Langford-Smith, A., Langford-Smith, K. J., Jones, S. A., Wynn, R. F., Wraith, J. E., et al. (2011). Female mucopolysaccharidosis IIIA mice exhibit hyperactivity and a reduced sense of danger in the open field test. *PLoS One*, 6, e25717.
- Laviola, G., Adriani, W., Rea, M., Aloe, L., & Alleva, E. (2004). Social withdrawal, neophobia, and stereotyped behavior in developing rats exposed to neonatal asphyxia. *Psychopharmacology*, 175, 196–205.
- Laviola, G., Adriani, W., Terranova, M. L., & Gerra, G. (1999). Psychobiological risk factors for vulnerability to psychostimulants in human adolescents and animal models. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 23, 993–1010.
- Macri, S., Adriani, W., Chiarotti, F., & Laviola, G. (2002). Risk taking during exploration of a plus-maze is greater in adolescent than in juvenile or adult mice. *Animal Behaviour*, 64, 541–546.
- Malatynska, E., Steinbusch, H. W. M., Redkozubova, O., Bolkunov, A., Kubatiev, A., Yeritsyan, N. B., et al. (2012). Anhedonic-like traits and lack of affective deficits in 18-month-old c57bl/6 mice: implications for modeling elderly depression. *Experimental Gerontology*, 47, 552–564.
- Masoro, E. J., & Austad, S. N. (2011). *Handbook of the biology of aging*. London, U.K.: Elsevier. <http://www.sciencedirect.com/science/book/9780123786388>.
- Miyagawa, H., Hasegawa, M., Fukuta, T., Amano, M., Yamada, K., & Nabeshima, T. (1998). Dissociation of impairment between spatial memory, and motor function and emotional behavior in aged rats. *Behavioural Brain Research*, 91, 73–81.
- Nagahara, A. H., & Handa, R. J. (1997). Age-related changes in c-fos mRNA induction after open field exposure in the rat brain. *Neurobiology of Aging*, 18, 45–55.
- Ognibene, E., Middei, S., Daniele, S., Adriani, W., Ghirardi, O., Caprioli, A., et al. (2005). Aspects of spatial memory and behavioral disinhibition in tg2576 transgenic mice as a model of Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research*, 156, 225–232.
- Otoni, E. B. (2000). Etholog 2.2 – a toll for transcription and timing of behaviour observation sessions. *Behavior Research Methods, Instruments & Computers*, 32, 446–449.
- Patris, B., & Baudoin, C. (1998). Female sexual preferences differ in *Mus spicilegus* and *Mus musculus domesticus*: the role of familiarization and sexual experience. *Animal Behaviour*, 56, 1465–1470.
- Patris, B., Gouat, P., Jacquot, C., Christophe, N., & Baudoin, C. (2002). Agonistic and sociable behaviors in the mound-building mice, *Mus spicilegus*: a comparative study with *Mus musculus domesticus*. *Aggressive Behavior*, 28, 75–84.
- Pisarska, M., Mulchahey, J. J., Welge, J. A., Geraciotti, T., Jr., & Kasckow, J. W. (2000). Age-related alterations in emotional behaviors and amygdalar corticotropin-releasing factor (crf) and crf-binding protein expression in aged Fischer 344 rats. *Brain Research*, 877, 184–190.
- Poteaux, C., Busquet, N., Gouat, P., Katona, K., & Baudoin, C. (2008). Socio-genetic structure of mound-building mice, *Mus spicilegus*, in autumn and early spring. *Biological Journal of the Linnean Society*, 93, 689–699.
- R Core Team. (2013). *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Rödel, H., Bora, A., Kaiser, J., Kaetzke, P., Khaschei, M., & von Holst, D. (2004). Density-dependent reproduction in the European rabbit: a consequence of individual response and age-dependent reproductive performance. *Oikos*, 104, 529–539.
- Rowe, J. W., & Kahn, R. L. (1997). Successful aging. *Gerontologist*, 37, 433–440.
- Rowe, W. B., Spreckmeester, E., Meaney, M. J., Quirion, R., & Rochford, J. (1998). Reactivity to novelty in cognitively-impaired and cognitively-unimpaired aged rats and young rats. *Neuroscience*, 83, 669–680.
- Simeonovska-Nikolova, D. M. (2003). Social relationships and social structure of the mound-building mouse (*Mus spicilegus*) in intraspecific cage groups. *Acta Ethologica*, 6, 39–45.
- Simeonovska-Nikolova, D. M. (2007). Spatial organization of the mound-building mouse, *Mus spicilegus*, in the region of northern Bulgaria. *Acta Zoologica Sinica*, 53, 22–28.
- Simon, N. M., Zalta, A. K., Worthington, J. J., 3rd, Hoge, E. A., Christian, K. M., Stevens, J. C., et al. (2006). Preliminary support for gender differences in response to uoxetine for generalized anxiety disorder. *Depression and Anxiety*, 23, 373–376.
- Spear, L. P. (2000). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 417–463.
- Steiner, M., Allgulander, C., Ravindran, A., Kosar, H., Burt, T., & Austin, C. (2005). Gender differences in clinical presentation and response to sertraline treatment of generalized anxiety disorder. *Human Psychopharmacology*, 20, 3–13.
- Tardif, S. D., Araujo, A., Arruda, M. F., French, J. A., Sousa, M. B. C., & Yamamoto, M. E. (2008). Reproduction and aging in marmosets and tamarins. In S. Atsalis, S. W. Margulis, & P. R. Hof (Eds.), *Primate reproductive aging* (pp. 29–48). Basel, Germany: Karger.
- Tong, W. (2012). *Causes and consequences of cooperative construction in the mice Mus spicilegus and Peromyscus polionotus* (Unpublished doctoral thesis). Cambridge, MA, U.S.A.: Harvard University.
- Torras-Garcia, M., Costa-Miserachs, D., Coll-Andreu, M., & Portell-Corts, I. (2005). Decreased anxiety levels related to aging. *Experimental Brain Research*, 164, 177–184.
- Walsh, R. N., & Cummins, R. A. (1976). The open field test: a critical review. *Psychological Bulletin*, 83, 482.
- Wolitzky-Taylor, K. B., Castriotta, N., Lenze, E. J., Stanley, M. A., & Craske, M. G. (2010). Anxiety disorders in older adults: a comprehensive review. *Depression and Anxiety*, 27, 190–211.
- Yin, F., Dumont, M., Banerjee, R., Ma, Y., Li, H., Lin, M. T., et al. (2010). Behavioral deficits and progressive neuropathology in progranulin-deficient mice: a mouse model of frontotemporal dementia. *FASEB Journal*, 24, 4639–4647.
- Zyzak, D. R., Otto, T., Eichenbaum, H., & Gallagher, M. (1995). Cognitive decline associated with normal aging in rats: a neuropsychological approach. *Learning and Memory*, 2, 1–16.

Chapitre 2

Effets de l'âge sur les interactions sociales

Effects of age on agonistic behavior and social anxiety in a wild-type rodent

Marie Lafaille and Christophe Féron

Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité

Author Note

Marie Lafaille and Christophe Féron, Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée, Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Villetaneuse, France.

This research was supported by the Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche.

Correspondence concerning this article should be addressed to Marie Lafaille, Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée, Université Paris 13, 99 avenue Jean-Baptiste Clément, 93430 Villetaneuse, France. Phone: +33(0)664661700, Fax: +33(0)149403975. E-mail: lafaille@leec.univ-paris13.fr

Ethology, submitted

Abstract

For most animals the way in which they interact with conspecifics may affect their fitness and even their survival. Physical, physiological and emotional age-related changes could however affect social interactions and especially the intensity of aggressive behavior between competitors. Here we studied effects of age on social behavior in a socially intolerant species, and in order to interpret potential age-related changes in agonistic behavior with changes in anxiety profile, we chose a species whose risk-taking behavior is affected with aging. The mound building mouse, *Mus spicilegus*, is a monogamous wild-type rodent which naturally exhibits high aggressive behavior towards conspecifics and, by its particular life cycle, two cohorts of 3-month-old and 6-month-old animals have to face to competitors during the breeding season. We performed social interaction tests in both sexes in these two cohorts in order to detect potential changes in social behavior with age. To study long-term effect of aging on agonistic behavior, we also tested 1-year-old and 2-year-old individuals. Our results showed strong age effects on social behavior, particularly on highly aggressive behavior, and social anxiety. As expected, young mice were more aggressive than old ones indicating their high competitive performance. The diminution of aggressiveness seemed nevertheless to occur at an earlier age in females. Although aged animals rarely engaged in fights, they however displayed as many threats as young ones. When 1-year-old, mice showed obvious signs of social anxiety. These low risk-takers in non-social tests seem to be also particularly stressed during a social confrontation. Two-year-old individuals showed a significant decrease in freezing behavior indicating a U-shaped relationship between age and social anxiety. Our results strongly suggest that the relationship between agonistic and anxiety-like behavior within a social context differs according to the age of the individuals.

Keywords: aggressiveness, age-related effects, monogamy, *Mus spicilegus*, social interaction test

Agonistic behavior plays a crucial role in regulating and obtaining the access to resources like food, shelters and mates in mammals (Nie et al. 2012; Smale et al. 1995) and in many others species (Bergman & Moore 2003; DiMarco & Hanlon 1997; Ladich 1997; Renton 2004). A large variety of factors influence the development and/or the expression of agonistic behavior. In addition to its genetic background and with a strong dependence of early experience (e.g. maternal environment) (Maxson & Canastar 2003), agonistic behavior can be modulated by intrinsic factors: physiological and physical features of the individual (Book et al. 2001); previous social experience (Lehner et al. 2011) and by diverse extrinsic factors (e.g. opponent characteristics) (delBarco Trillo et al. 2011).

The aging process involves important physiological, physical and behavioral changes. In the house mouse (*Mus musculus*), males become more aggressive and competitive after reaching adolescence (Terranova et al. 1998) while fighting is relatively infrequent and less violent in non-lactating females (Clipperton Allen et al. 2010; Ogawa et al. 2004). At advanced ages, individuals usually undergo generalized physical alterations like the loss of muscle mass (Barton-Davis et al. 1998), hormonal changes (Guan et al. 2011; Obregón & Ramirez 1997) and show enhanced anxiety levels (Chen et al. 2007) that could also affect their agonistic behavior. Stress responses to anxiogenic situations are generally age dependent in laboratory strains of mice (Lamberty & Gower 1992; Malatynska et al. 2012). This age-anxiety relationship is mostly investigated through classical non-social tests (elevated plus maze, open-field, novel object tests), while social contexts, especially confrontations between unfamiliar partners, may also represent particularly stressful events and concern individuals of different age-classes. Although aging process has the potential to significantly affect social interactions, notably through different anxiety levels according to the age of the individuals, age-related effects on agonistic behavior have not received much experimental consideration. We thus aim to study effect of aging on social behavior in a socially intolerant species. But additionally, in order to be able to interpret potential age-related changes in agonistic behavior with changes in anxiety profile, we chose a species whose risk-taking behavior is affected with aging.

The mound-building mouse, *Mus spicilegus*, a monogamous rodent species from Eastern Europe, is describe as a socially intolerant species. Contrary to young males and females (under 60 days old) which are tolerant toward unfamiliar individuals (Szenczi et al. 2012; Busquet et al. 2009), adult mice of both

sexes display markedly high levels of aggression towards strangers (Patris et al. 2002; Simeonovska-Nikolova 2003; Suchomelova et al. 1998). This selective aggression toward unfamiliar conspecifics has been suggested to play an important role in mate guarding and thus in the maintenance of monogamous pair bonds (Carter et al. 1995). Under natural conditions, this small rodent shows a high seasonality in dispersal and reproduction. During autumn, juveniles construct large mounds with vegetable materials and soil (Sokolov et al. 1998). While the adults die during winter (Gouat et al. 2003), the juveniles remain inside the mound without reproducing. They disperse and reproduce in next spring when aged about 6 months (Milishnikov et al. 1998). By summer, mice born in spring disperse and reproduce when they are around 3 months old. They settle in burrow of simple design (Sokolov et al. 1998) and start a short breeding season not exceeding 4 months (Milishnikov et al. 1998). In the field, the longevity of *Mus spicilegus* does not exceed 12 months (Tong 2012).

Despite this short lifespan in the field, the mound-building mouse can easily reach 24 months of age under laboratory conditions (Lafaille & Féron 2014). This long lifespan under controlled conditions gave us the opportunity to study effects of advanced age on social interactions. Aging and risk-taking behavior presents a U-shaped relationship in this species (Lafaille & Féron 2014). Young (2-3 month-old) and very old (24 month-old) individuals show a similar low level of anxiety when tested in open field, elevated plus-maze and novel object exploration tests. At the opposite, one year old individuals are risk-averse and show strong emotional responses.

The present study aims to investigate the effects of age on social behavior expressed toward an unfamiliar partner by male and female *M. spicilegus*. Because 3 and the 6-month old mice have to cope in the field with similar challenges (dispersal and reproduction), we expected similar profiles in these two age classes for both sexes with a high level of aggressiveness and a low level of anxiety-like behavior. We hypothesize a progressive decrease of aggression with increasing age to one year-old, accompanied by an increase of freezing behavior reflecting an increase of social anxiety. Following the hypothesis that the highest levels of agonistic behavior concern individuals belonging to age-classes corresponding to the most risk-takers, 2-year-old individuals would therefore display a high level of aggressiveness. At the opposite,

if young adults and 2-year-old individuals strongly differ in aggressiveness, the connection between agonistic behavior and anxiety would not be implicit.

Material and methods

Animals and housing conditions

The experimental animals were 102 *Mus spicilegus* (52 males and 50 females) derived from a stock of 80 wild individuals (15th generation) caught in Hungary at different locations in 1999 and 2004. Starting at an age of 35 days, animals were housed in same-sex sibling groups of 2 to 5 individuals in standard polycarbonate cages (26 x 14 x 16 cm) with wood-shavings and cotton balls provided as nesting material. Food (type M20, Special Diet Services, Witham, Essex, UK) and water were supplied *ad libitum*. Animals were kept under laboratory conditions ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) with a 14:10 h light: dark cycle (dark phase begun at noon).

Four age classes were considered: 3-month-old individuals, thereafter called 3m/o (12 females with a mean age ($\pm SE$) of 2.73 ± 0.04 months and 12 males with an age of 2.71 ± 0.03 months); 6-month-old individuals called 6m/o (12 females with an age of 6.39 ± 0.17 months and 12 males with an age of 6.42 ± 0.17 months); one-year-old individuals called 1y/o (12 females with an age of 12.90 ± 0.06 months and 12 males with an age of 12.96 ± 0.05 months) and 2-year-old individuals called 2y/o (15 females with an age of 24.63 ± 0.06 months and 16 males with age of 24.60 ± 0.05 months). One week before the start of the experiments, we selected individuals for confrontation tests and then isolated them to stimulate social interactions (Niesink & van Ree 1982; Patris et al. 2002). To this end, pairs were formed consisting of unfamiliar, unrelated (no grandparents shared) and weight-matched individuals (difference <10%). Animals were marked with a small cut of guard hair to facilitate their identification during the tests. To minimize the influence of age-related physical incapacitation on performance, old mice with visible defects such as motor incapacitation, obvious visual troubles (opaque cornea, closed eyes) or excessive kyphosis and hair loss were not included in the experiments.

Social interaction test

The social interaction test provides a frequently used, standard paradigm to study general social behavior and consists in allowing two unfamiliar subjects freely exploring each other in a neutral environment (File & Seth 2003). We formed 6 male-male and 6 female-female pairs for the 3m/o, 6m/o and 1y/o age classes and 8 male-male and 7 female-female pairs for the 2y/o age class. We tested age-matched and sex-matched dyads to eliminate the confounding factor of age differences and of sexual motivation which could contaminate our analysis of social interactions. A single session per dyad was performed. A pair was treated as a unit for the behavioral analysis. Encounters took place in a neutral polycarbonate cage (45 x 25 x 25 cm) divided into two halves by a partition wall made of nontransparent polypropylene. Mice were left undisturbed in the apparatus for a 5 minute-period of habituation. Then, the partition was removed and mice were free to interact during 10 minutes.

We scored 4 categories of behavior using video-recordings of the trials: agonistic behavior, social investigation, exploration from a distance and freezing behavior (see “Tableau 1” for detailed description).

“*Agonistic behavior*” - We noted the occurrence of “attacks” (charge, thrust, chasing and fighting), the time spent in “threats” (offensive upright posture, sideways offensive posture, tail rattle and aggressive grooming), the latency of first agonistic behavior and the occurrence of “fleeing behavior” (running away from approaching or chasing partner, ricochet: fast undirected jumps).

“*Social investigation*” - We recorded the latency of the first non-agonistic “social investigation” and the total duration of these behaviors such as approach, nose, follow, sniff: sniffing the head and anogenital regions of the partner, investigate: sniffing the body or the tail of the partner, groom, crawl over/under).

“*Exploration from a distance*” - We recorded the time spent to explore the other individual from a distance of 5 cm minimum (attend, circle, head orient, stretched attention).

“*Freezing*” - We noted the time spent freezing (absence of movements of the body or vibrissae except for movements required for respiration).

These two last categories of behaviors were used as indicators of anxiety (Maldonado & Navarro 2001; Shoji & Mizoguchi 2011).

A detailed description of all elements can be found in (Rodríguez-Arias et al. 1998) and are indexed in the Table 1. Time and occurrence variables were scored using the event-recording software JWatcher version 1.0 (Blumstein et al. 2000).

Statistical analysis

Because of the moderate sample sizes and the non-normal distribution of measured parameters, we performed non-parametric statistics using R, version 2.13.0 (R Core Team 2013). All statistical analyses were carried out separately for males and females. Kruskal-Wallis test were used to compare social behaviors differences among the four age classes followed by post hoc pairwise Mann-Whitney U-tests. The statistical significance of the results was assessed based on p-values for Kruskal-Wallis tests and p'-values were adjusted for multiple comparisons using Holm's sequential Bonferroni adjustment (after Holm 1979). Data are presented as mean \pm SE.

Ethical note

All the experimental procedures were approved by an Ethic committee (Regional Ethics Committee in Animal Experiment No. 3 of Ile-de-France: Ce5/2010/078). Tests were immediately stopped if an animal showed bleeding wounds or whether chases lasted more than 60 consecutive seconds. Of the 51 encounters, none was suspended. The number of mice used was restricted to the minimum needed for statistical analysis. Animals were kept in same-sex sibling groups and were isolated only during the period of the experiments. Animals were thereafter paired with a sexual partner and kept for future experiments.

Results

Agonistic behavior

The numbers of attacks differed significantly among the four age classes in males (Kruskal-Wallis test: $H_3 = 12.26$, $N = 26$, $p = 0.001$) and in females ($H_3 = 14.17$, $N = 25$, $p < 0.001$) revealing a constant decrease with increasing age (Figure 1). The 1y/o and the 2y/o males and females displayed less

attacks than the 3m/o ones and, in females, the 6m/o mice tended also to attack less unfamiliar individuals than the 3m/o ones ($N = 12$, $p' = 0.064$).

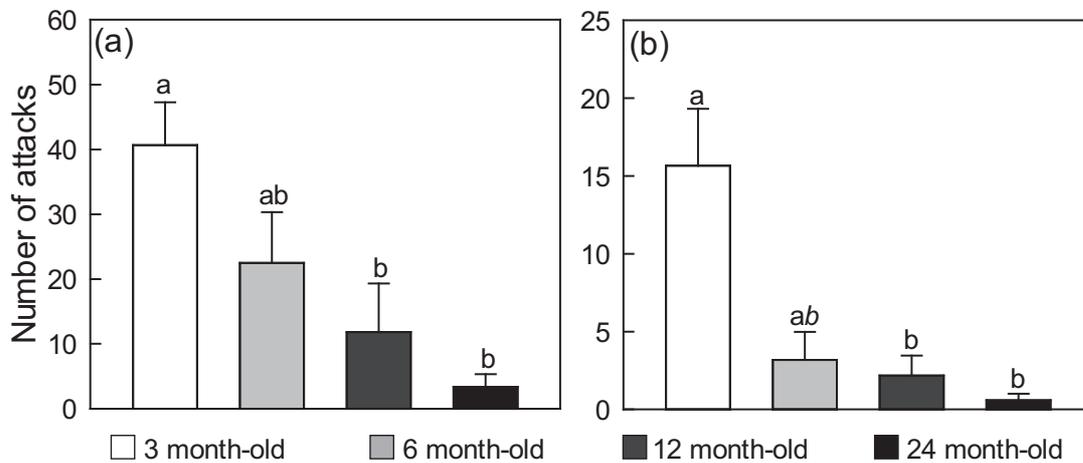


Figure 1: Age-related effects on the number of attacks in (a) males and in (b) females. Presented values are the means \pm SE for 3m/o (males; females: $N=6$), 6m/o (males; females: $N=6$), 1y/o (males; females: $N=6$) and 2y/o (males: $N=8$; females: $N=7$) individuals. Significant differences after post-hoc comparisons are shown by different letters. Tendencies ($0.05 < p < 0.1$) are shown by italic letters.

The latency to the first agonistic behavior did not significantly differ among the four age classes in males ($H_3 = 5.18$, $N = 26$, $p > 0.10$; on average for the four age classes: 49.64 ± 4.51 s). However, a significant difference was apparent in females (3m/o: 39.34 ± 8.26 s; 6m/o: 71.15 ± 9.98 s; 1y/o: 112.75 ± 13.50 s; 2y/o: 48.55 ± 14.46 s; $H_3 = 11.33$, $N = 25$, $p = 0.003$) in which 1y/o individuals exhibited their first agonistic behavior later than 3m/o ones ($N = 12$, $p' = 0.013$).

The time spent to display threats did not differ significantly among age classes in males as well as in females (on average for the four age classes in males: 68.95 ± 10.58 , $N = 26$, $p > 0.10$; s; in females: 37.37 ± 5.04 s, $N = 25$, $p > 0.10$).

The occurrence of defensive fleeing behavior significantly differed among the four age classes in males (3m/o: 45.02 ± 4.25 ; 6m/o: 37.78 ± 9.99 ; 1y/o: 69.88 ± 10.33 ; 2y/o: 46.82 ± 7.30 , $H_3 = 15.14$, $N = 26$, $p < 0.001$;) and in females (3m/o: 39.34 ± 8.26 ; 6m/o: 71.15 ± 9.98 ; 1y/o: 112.75 ± 13.50 ; 2y/o: 48.55 ± 14.46 ; $H_3 = 13.34$, $N = 25$, $p < 0.001$). In both sexes, the occurrence of fleeing decreased with increasing age. The 1y/o males performed less fleeing behavior than the 3m/o ($N = 12$, $p' = 0.043$) and the 2y/o males

less than the 3m/o and 6m/o ones ($N = 14, p' = 0.014$ and $N = 14, p' = 0.043$ respectively). In females, the 1y/o and the 2y/o mice displayed less fleeing behavior than the 3m/o ones ($N = 12, p' = 0.046, N = 13, p' = 0.049$ respectively).

Social investigation

The time spent in social investigation differed among age classes in males ($H_3 = 13.12, N = 25, p = 0.001$) but not in females ($H_3 = 5.00, N = 25, p > 0.10$) (Figure 2). With increasing age, males performed progressively more social investigations during the test. The 2y/o individuals spent significantly more time to investigate unfamiliar conspecifics than the 3m/o ones and also tended to display more often these behaviors than the 6m/o ones ($N = 14, p' = 0.059$).

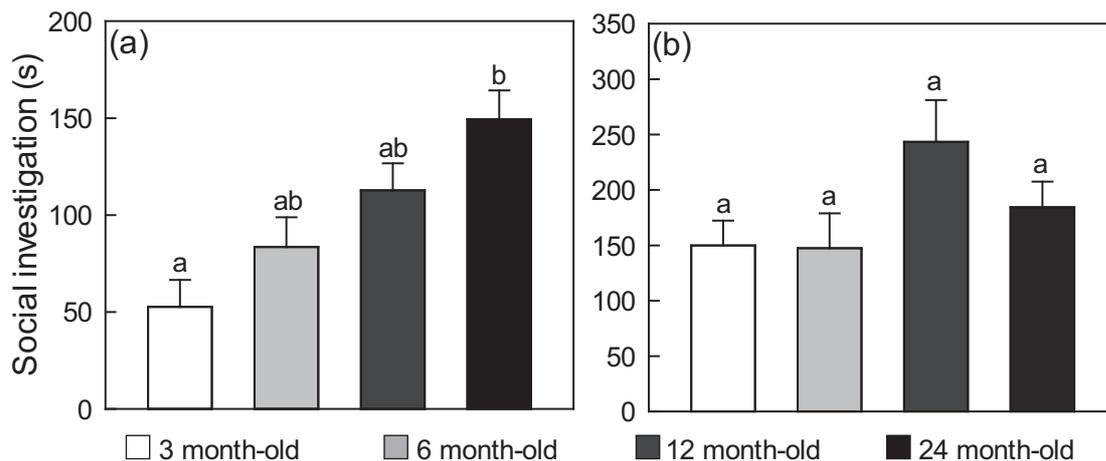


Figure 2: Age-related effects on the time spent display social investigation in (a) males and in (b) females. Presented values are the means \pm SE for 3m/o (males; females: $N=6$), 6m/o (males; females: $N=6$), 1y/o (males; females: $N=6$) and 2y/o (males: $N=8$; females: $N=7$) individuals. Significant differences after post-hoc comparisons are shown by different letters.

Aging also impact the latency to exhibit the first social investigation in males (3m/o: 42.25 ± 10.45 s; 6m/o: 32.81 ± 9.89 s; 1y/o: 53.70 ± 11.59 s; 2y/o: 16.54 ± 5.51 s; $H_3 = 7.99, N = 26, p = 0.039$) and in females (3m/o: 16.80 ± 5.06 s; 6m/o: 60.89 ± 23.80 s; 1y/o: 67.34 ± 19.85 s; 2y/o: 10.27 ± 3.50 s; $H_3 = 11.83, N = 25, p = 0.002$). The 2y/o males and females performed their first non-agonistic social investigation significantly earlier than the 1y/o ones ($N = 26, p' = 0.022$ and $N = 25, p' = 0.007$ respectively).

Exploration from a distance

The time spent in social exploration from a distance decreased with age in males ($H_3 = 15.11$, $N = 26$, $p < 0.001$) as well as in females ($H_3 = 15.74$, $N = 25$, $p < 0.001$). Two y/o males and females collected less information from a distance compared to the three others age classes (Figure 3).

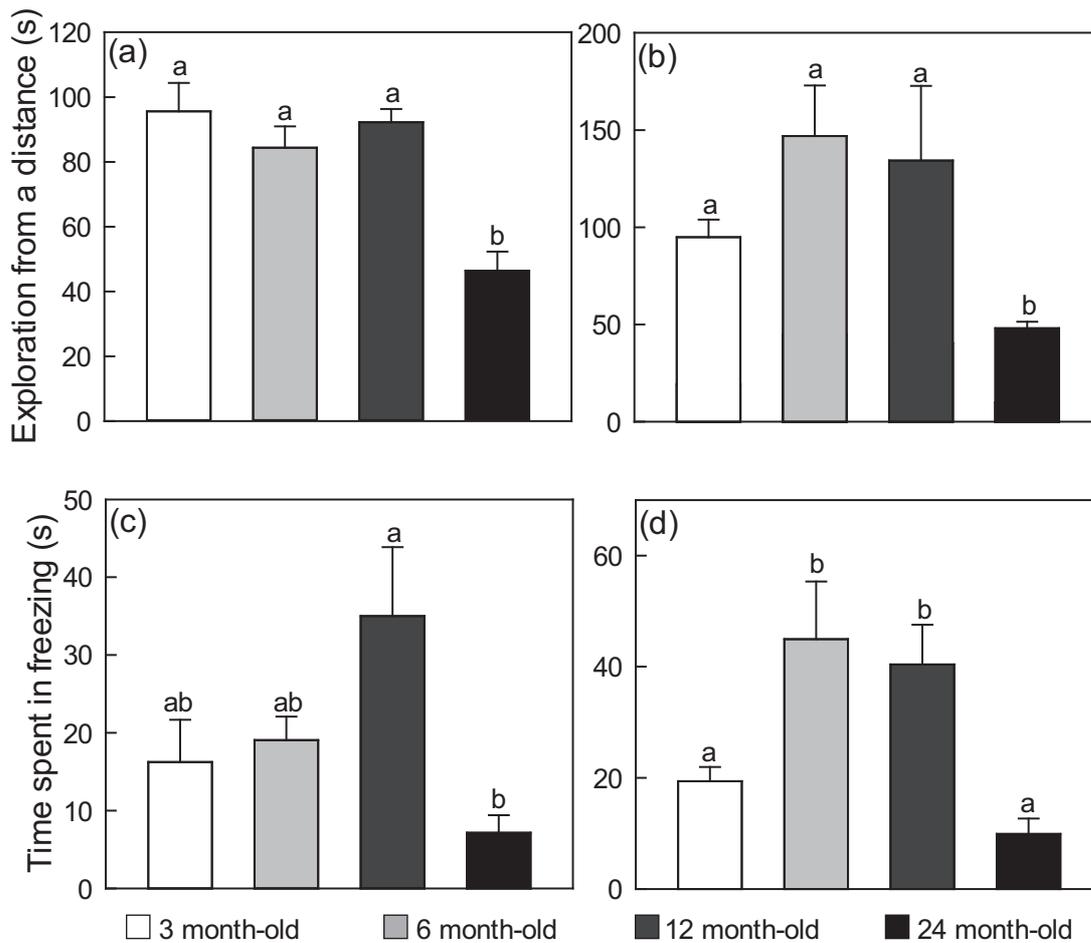


Figure 3: Age-related effects on the time spent (a, b) exploring partner and (c, d) freezing in (a, c) males and in (b, d) females. Presented values are the means +SE for 3m/o (males; females: N=6), 6m/o (males; females: N=6), 1y/o (males; females: N=6) and 2y/o (males: N=8; females: N=7) individuals. Significant differences after post-hoc comparisons are shown by different letters.

Freezing behavior

The time spent freezing differed significantly among the four age classes in males ($H_3 = 11.88$, $N = 26$, $p < 0.032$) as well as in females ($H_3 = 18.22$, $N = 25$, $p < 0.001$) (Figure 3). Two-year-old males

and females showed less freezing behavior than 1y/o individuals. However, an inverted U-shape relationship between freezing responses and age existed in females. The females of intermediate ages (6m/o and 1y/o) displayed more freezing behavior than the 3m/o and the 2y/o ones. And in addition, 3m/o females tended to freeze more than the 2y/o ones.

Discussion

Our results clearly revealed that, from an age of 3 months to 2 years, agonistic behavior decreases with age in male and female mound-building mice. As expected, 3m/o and 6m/o males showed similar profiles in social interactions with an unfamiliar partner. They exhibited a high number of attacks resulting in high fleeing responses during confrontations. This high aggressiveness and intolerance towards male conspecifics may help the young males to efficiently protect resources, mate guard during the breeding season and so help them to ensure paternity. Similar decreases with aging in agonistic behavior were found in laboratory male rats (Takahashi & Lore 1982) and laboratory male house mice *Mus musculus* (Engellenner et al. 1986) but others shown that old male rats were as prone as young to engage in fights against a male intruder (Blanchard et al. 1988; Blanchard et al. 1984). We suggest that in males, the decrease of the number of attacks towards conspecifics could be explained by a diminution of testosterone levels that accompanied normal aging processes in male mammals (Clark & Galef 2001; Lipshultz et al. 2009; Matsumoto 2002). Furthermore, the very long period of socialization in stable groups in the 1y/o and 2y/o age classes might also cause or partially contribute to the age-related decrease of aggressiveness in males. Such effects of socialization have been shown in laboratory rats (*Rattus norvegicus*), where individuals raised in stable social groups were more unwilling to display aggressive behaviors towards unfamiliar conspecifics (Blanchard et al. 1984; Wongwitdecha & Marsden 1995).

We also observed that 3-month-old females were highly aggressive toward strangers but their aggressiveness seemed to decrease from 6 months of age. In *M. spicilegus* females, agonistic behavior is important in order to reject competing females which could settle with their male, leading to a share of paternal care and available food. Competing females could also try to displace the resident female and kill unrelated pups. Under laboratory conditions, it has been previously shown that polygynously mated mound-

building mouse females have a low reproductive success (Gouat & Féron 2005). Field studies have however revealed that trios of a male and two females can be found in early spring when 6m/o mice leave the mounds (Gouat et al. 2003) but this kind of associations seems rarer in summer when 3m/o mice start to reproduce (Simeonovska-Nikolova 2007). Gouat et al. (2003) suggested that the long period of cohabitation inside the mounds may help to develop strong social bonds between females making them more tolerant towards each other. Under laboratory conditions, the long term and stable cohabitation with same sex conspecifics (5 months for the 6m/o females) would not only lead to improve social tolerance toward familiar partners but also toward unfamiliar conspecifics reducing the aggressiveness in females from the age of 6 months. Female mound-building mice would then be more sensitive to socialization effects than males.

Even if aged individuals displayed less attacks, they threatened unfamiliar conspecifics as much as young mice did. Thus, aging does not entirely inhibit the original aggressive profile of male and female *M. spicilegus* and affects differently these two categories of agonistic behaviors, (i.e. attacks and threats). Threat behavior, seen as an attempt to intimidate the opponent, could be expected to be less energetically costly and implies a lower risk of injuries than attacks. We hypothesize that generalized physical deterioration caused by aging (Perrini et al. 2010) could thus push old mice to save their energy for threats. Aging would then influence tactical decision in offensive agonistic behavior and old mice could limit the use of severe forms of contact during the interactions.

Along with the decrease of aggressiveness, a progressive age-related increase of social investigation was observed in males. Indeed, old individuals spent more time in social investigation than young individuals. We believe that the decline of aggressive behavior in males would not result just from a decrease of interest for the social partner as they seemed to become more socially tolerant with age. However, contradictory results have been reported in male rats. When old (20m/o) and very old male rats (30m/o) encounter an unfamiliar opponent in an unfamiliar arena, they spend less time to sniff, follow or groom the opponent than young adults (Andersen et al. 1999; Salchner et al. 2004). These findings suggest that different age-related effects may be species specific and/or related with the selection of laboratory animal strains with of low level aggressiveness. Indeed, contrary to *M. spicilegus*, laboratory rat strains rarely exhibit aggressive behavior and their social interactions during encounters are mainly affiliative and

peaceful (Andersen et al. 1999; Boguszewski & Zagrodzka 2002). Contrary to males, females *M. spicilegus* did not show any changes in the time spent in social investigation with increasing age, demonstrating that the behavioral consequences of aging on social interactions can be sex-specific.

Our experiments seem to confirm that aging is associated with emotional changes. We observed that 1-year-old male and female mound-building mice exhibited significant increase in freezing response suggesting that aging affects the level of anxiety in social situations. The high anxiety level of these old animals already described in elevated-plus-maze, open-field and novel object tests (Lafaille & Féron 2014), therefore seems to be effective also in a social context. Similar effects of aging on social behavior have been found in male laboratory rats, where 2-year-old individuals exhibited more immobility than 3 month-old ones when encountering unfamiliar conspecifics (Shoji & Mizoguchi 2011). Old rats and mice also showed increased anxiety-like behaviors in novel environments (Boguszewski & Zagrodzka 2002; Darwish et al. 2001; Malatynska et al. 2012). In contrary to 1y/o individuals, 2y/o male and female *M. spicilegus* did not show pronounced freezing behavior, they spent few time to explore the other individual from a distance without contact, and they quickly engaged in non-agonistic social investigation. These results suggest that 2y/o mice were very little affected by anxiety in social situations. Hence, freezing behavior expressed during social interaction tests presents an inverted U-shaped curve from young adulthood to 2y/o in *M. spicilegus*. Similar effects of aging on anxiety and neophobia-like behaviors expressed under physically stressful environments have been recently found in this species (Lafaille & Féron 2014). But to the best of our knowledge, this is the first report showing reverse age-related behavioral profiles during social confrontations. We hypothesize that mice which were group-housed for 2 years could be highly sensitive to the separation from their social group and they may have a high social motivation and need to social support in novel environment, even towards unfamiliar individuals. This might explain the occurrence of such risky behaviors. This notion is also supported by examples of other species. After social separation, Japanese quails (*Coturnix japonica*) artificially selected for their high social reinstatement behavior actively search for any conspecifics whatever the level of familiarity (Schweitzer et al. 2009). Alternatively, this high level of risk-taking behavior observed in the mound-building mouse might underlie age-related cognitive impairments. This is supported by results obtained in transgenic mouse models of

Alzheimer's disease, where 18m/o male showed social disinhibition coinciding with changes in basal synaptic activity in the prefrontal cortex (Bories et al. 2012). We propose that such kind of disinhibition could have also affected 2y/o individuals of our study.

We observed that 3m/o and 2y/o mound-building mice exhibited both low level of anxiety but completely differed in their aggressive responses. Likewise, 1y/o and 2y/o females were not both aggressive but shown extremes in anxiety-like behaviors. The link between aggression and emotional regulation is still unclear. Several studies on mice have shown a relationship between anxiety and aggressive responses but with opposite-direction correlations (Nehrenberg et al. 2009; Nyberg et al. 2003). Others authors failed to find a correlation between anxiety and aggression in wild-type rats (de Boer et al. 2003) and genetic studies on transgenic mice have shown that these two behavioral traits can be altered independently (Wersinger et al. 2002). Although the initial aim of this study was not to establish such correlation, it suggests that age can affect anxiety and aggression independently.

In conclusion, our findings obtained in the mound building mouse suggest that aging strongly affects agonistic and more generally the social behavior during encounters with unfamiliar conspecifics. Clearly, old male and female mice were less prone to engage in attacks although they displayed as many threats as young ones. This decrease of aggressiveness was however not associated all with a disinterest in the social partner. The anxiety levels of the animals encountering unfamiliar partners globally increase from 3-month to 1-year old but clearly decrease in 2-year-old individuals. Given the aggressive and emotional profiles in the 3m/o and the 2y/o mice, our study indicates that aggressive responses and social anxiety could be alter in different ways according to age.

References

- Andersen, M. B., Zimmer, J. & Sams-Dodd, F. 1999: Specific behavioral effects related to age and cerebral ischemia in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* **62**, 673–682.
- Barton-Davis, E. R., Shoturma, D. I., Musaro, A., Rosenthal, N. & Sweeney, H. L. 1998: Viral mediated expression of insulin-like growth factor i blocks the aging-related loss of skeletal muscle function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95**, 15603–15607.
- Barton-Davis, E. R., Shoturma, D. I., Musaro, A., Rosenthal, N. & Sweeney, H. L. 1998: Viral mediated expression of insulin-like growth factor i blocks the aging-related loss of skeletal muscle function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **95**, 15603–15607.
- Bergman, D. A. & Moore, P. A. 2003: Field observations of intraspecific agonistic behavior of two crayfish species, *Orconectes rusticus* and *Orconectes virilis*, in different habitats. *The Biological Bulletin* **205**, 26–35.
- Blanchard, R. J., Flannelly, K. J. & Blanchard, D. C. 1988: Life-span studies of dominance and aggression in established colonies of laboratory rats. *Physiology and Behavior* **43**, 1–7.
- Blanchard, R. J., Flannelly, K. J., Layng, M. & Blanchard, D. C. 1984: The effects of age and strain on aggression in male rats. *Physiology and Behavior* **33**, 857–861.
- Blumstein, D. T., Evans, C. S., Daniel, J. C. 2000: JWatcher: An Introductory User's Guide. Available at: <http://www.jwatcher.ucla.edu/>
- Boguszewski, P. & Zagrodzka, J. 2002: Emotional changes related to age in rats—a behavioral analysis. *Behavioural Brain Research* **133**, 323–332.
- Book, A. S., Starzyk, K. B. & Quinsey, V. L. 2001: The relationship between testosterone and aggression: a meta-analysis. *Aggression and Violent Behavior* **6**, 579–599.
- Bories, C., Guitton, M. J., Julien, C., Tremblay, C., Vandal, M., Msaïd, M., De Koninck, Y. & Calon, F. 2012: Sex-dependent alterations in social behaviour and cortical synaptic activity coincide at different ages in a model of Alzheimer's disease. *PloS one* **7**, e46111.
- Busquet N., Leveille Nizerolle C. & Féron C. 2009: What Triggers Reproductive Life? Effects of adolescent cohabitation, social novelty and aggression in a monogamous mouse. *E7thology* **115**, 87-95.
- Carter C. S., DeVries A. C. & Getz L. L. 1995: Physiological substrates of mammalian monogamy: the prairie vole model. *Neurosciences & Biobehavioral Reviews* **19**, 303–314.
- Chen, G.-H., Wang, C., Yangcheng, H.-Y., Liu, R.-Y. & Zhou, J.-N. 2007: Age-related changes in anxiety are task-specific in the senescence-accelerated prone mouse 8. *Physiology and Behavior* **91**, 644–651.
- Clark, M. M. & Galef, B. G. 2001: Age-related changes in paternal responses of gerbils parallel changes in their testosterone concentrations. *Developmental Psychobiology* **39**, 179–187.
- Clipperton Allen, A. E., Cragg, C. L., Wood, A. J., Pfaff, D. W. & Choleris, E. 2010: Agonistic behavior in males and females: effects of an estrogen receptor beta agonist in gonadectomized and gonadally intact mice. *Psychoneuroendocrinology* **35**, 1008–1022.
- Darwish, M., Korányi, L., Nyakas, C. & Almeida, O. F. 2001: Exposure to a novel stimulus reduces anxiety level in adult and aging rats. *Physiology and Behavior* **72**, 403–407.
- de Boer, S. F., van der Vegt, B. J., & Koolhaas, J. M. 2003: Individual variation in aggression of feral rodent strains: a standard for the genetics of aggression and violence? *Behavior Genetics* **33**, 485–501.
- delBarco Trillo, J., McPhee, M. E. & Johnston, R. E. 2011: Syrian hamster males below an age threshold do not elicit aggression from

- unfamiliar adult males. *Aggressive Behavior* **37**, 91–97. DiMarco, F. P. &
- Hanlon, R. T. 1997: Agonistic behavior in the squid *Loligo plei* (*Ioliginidae*, *teuthoidea*): fighting tactics and the effects of size and resource value. *Ethology* **103**, 89–108.
- Engelken, W. J., Burrig, R. G. & Donovick, P. J. 1986: Lead, age and aggression in male mice. *Physiology and Behavior* **36**, 823–828.
- Féron, C. & Gouat, P. 2007: Paternal care in the mound-building mouse reduces inter-litter intervals. *Reproduction, Fertility and Development* **19**, 425–429.
- File, S. E., & Seth, P. 2003: A review of 25 years of the social interaction test. *European Journal of Pharmacology* **463**, 35–53.
- Gouat, P. & Féron, C. 2005: Deficit in reproduction in polygynously mated females of the monogamous mound-building mouse *Mus spicilegus*. *Reproduction, Fertility and Development* **17**, 617–623.
- Gouat, P., Katona, K. & Poteaux, C. 2003: Is the socio-spatial distribution of mound-building mice, *Mus spicilegus*, compatible with a monogamous mating system? *Mammalia* **67**, 15–24.
- Guan, D., Zhou, F., Ge, Z.-Y., Lu, W.-H., Yuan, D., Liang, X.-W., Zhou, S.-J., Li, Z.-G. & Gu, Y.-Q. 2011: Serum testosterone reduction and metabolism in aging male rats: correlation and mechanism. *Zhonghua Nan Ke Xue* **17**, 579–585.
- Holm, S. 1979: A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics* **6**, 65–70.
- Ladich, F. 1997: Agonistic behaviour and significance of sounds in vocalizing fish. *Marine & Freshwater Behaviour and Physiology* **29**, 87–108.
- Lafaille, M. & Féron, C. 2014: U-shaped relationship between ageing and risk-taking behaviour in a wild-type rodent. *Animal Behaviour* **97**, 45–52.
- Lamberty, Y. & Gower, A. J. 1992: Age-related changes in spontaneous behavior and learning in nmri mice from middle to old age. *Physiology and Behavior* **51**, 81–88.
- Lehner, S. R., Rutte, C. & Taborsky, M. 2011: Rats benefit from winner and loser effects. *Ethology* **117**, 949–960.
- Lipshultz, L. I., Howards, S. S. & Niederberger, C. S. 2009: *Infertility in the Male*. Cambridge University Press.
- Malatynska, E., Steinbusch, H. W. M., Redkozubova, O., Bolkunov, A., Kubatiev, A., Yeritsyan, N. B., Vignisse, J., Bachurin, S. & Strekalova, T. 2012: Anhedonic-like traits and lack of affective deficits in 18-month-old c57bl/6 mice: Implications for modeling elderly depression. *Experimental Gerontology* **47**, 552–564.
- Maldonado, E. & Navarro, J. F. 2001: Mdma ("ecstasy") exhibits an anxiogenic-like activity in social encounters between male mice. *Pharmacological Research* **44**, 27–31. <http://dx.doi.org/10.1006/phrs.2001.0824>
- Matsumoto, A. M. 2002: Andropause clinical implications of the decline in serum testosterone levels with aging in men. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* **57**, M76–M99.
- Maxson, S. C. & Canastar, A. 2003: Conceptual and methodological issues in the genetics of mouse agonistic behavior. *Hormones and Behavior* **44**, 258–262.
- Milishnikov, A. N., Rafiev, A. N. & Muntianu, A. I. 1998: Genotypic variability in populations of the mound-builder mouse *Mus spicilegus* pet., 1882, at various life cycle stages. *Genetika* **34**, 947–952.
- Nehrenberg, D. L., Rodriguiz, R. M., Cyr, M., Zhang, X., Lauder, J. M., Garipey, J. L., & Wetsel, W. C. 2009: An anxiety-like phenotype in mice selectively bred for aggression. *Behavioral Brain Research* **201**, 179–191.
- Nie, Y., Swaisgood, R. R., Zhang, Z., Liu, X. & Wei, F. 2012: Reproductive competition and fecal testosterone in wild male giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **66**, 721–730.
- Niesink, R. J. & van Ree, J. M. 1982: Short-term isolation increases social interactions of male rats: a parametric analysis. *Physiology and Behavior* **29**, 819–825.

- Nyberg, J. M., Vekovischeva, O., & Sandnabba, N. K. 2003: Anxiety profiles of mice selectively bred for intermale aggression. *Behavior Genetics* **33**, 503–511.
- Obregón, E. B. & Ramirez, O. 1997: Ageing and testicular function in *Octodon degus*. *Andrologia* **29**, 319–326.
- Ogawa, S., Choleris, E. & Pfaff, D. 2004: Genetic influences on aggressive behaviors and arousability in animals. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1036**, 257–266.
- Patris, B., Gouat, P., Jacquot, C., Christophe, N. & Baudoin, C. 2002: Agonistic and sociable behaviors in the mound-building mice, *Mus spicilegus*: A comparative study with *Mus musculus domesticus*. *Aggressive Behavior* **28**, 75–84.
- Perrini, S., Laviola, L., Carreira, M.C., Cignarelli, A., Natalicchio, A. & Giorgino, F. 2010: The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and osteoporosis. *Society of Endocrinology* **205**, 201–210.
- R Core Team 2013: R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Renton, K. 2004: Agonistic interactions of nesting and nonbreeding macaws. *The Condor* **106**, 354–362.
- Rodríguez-Arias, M., Miñarro, J., Aguilar, M. A., Pinazo, J. & Simón, V. M. 1998: Effects of risperidone and SCH 23390 on isolation-induced aggression in male mice. *European Neuropsychopharmacology* **8**, 95–103.
- Salchner, P., Lubec, G. & Singewald, N. 2004: Decreased social interaction in aged rats may not reflect changes in anxiety-related behaviour. *Behavioural Brain Research* **151**, 1–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2003.07.002>
- Schweitzer, C., Poindron, P. & Arnould, C. 2009: Social motivation affects the display of individual discrimination in young and adult Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Developmental Psychobiology* **51**, 311–321.
- Shoji, H. & Mizoguchi, K. 2011: Aging-related changes in the effects of social isolation on social behavior in rats. *Physiology and Behavior* **102**, 58–62.
- Simeonovska-Nikolova, D. M. 2003: Social relationships and social structure of the mound-building mouse (*Mus spicilegus*) in intraspecific cage groups. *Acta Ethologica* **6**, 39–45.
- Simeonovska-Nikolova, D. M. 2007: Spatial organization of the mound-building mouse, *Mus spicilegus*, in the region of northern Bulgaria. *Acta Zoologica Sinica* **53**, 22–28.
- Smale, L., Holekamp, K. E., Weldele, M., Frank, L. G. & Glickman, S. E. 1995: Competition and cooperation between litter-mates in the spotted hyaena, *Crocuta crocuta*. *Animal Behaviour* **50**, 671–682.
- Sokolov, V., Kotenkova, E. & Michailenko, A. 1998: *Mus spicilegus*. *Mammalian Species* **592**, 1–6.
- Suchomelova, E., Munclinger, P. & Frynta, D. 1998: New evidence of pseudosexual behaviour and female aggression in mice: neutral cage interactions in *Mus spicilegus* and *Mus spretus* (rodentia: Muridae). *Folia Zoologica* **41**, 241–247.
- Szenczi, P., Bánszegi, O., Groó, Z. & Altbäcker, V. 2012: Development of the social behavior of two mice species with contrasting social systems. *Aggressive Behavior* **38**, 288–297.
- Takahashi, L. K. & Lore, R. K. 1982: Intermale and maternal aggression in adult rats tested at different ages. *Physiology and Behavior* **29**, 1013–1018.
- Terranova, M. L., Laviola, G., de Acetis, L. & Alleva, E. 1998: A description of the ontogeny of mouse agonistic behavior. *Journal of Comparative Psychology* **112**, 3–12.
- Tong, W. 2012: Causes and consequences of cooperative construction in the mice *Mus spicilegus* and *Peromyscus polionotus*. PhD thesis. Harvard University, Cambridge, Massachusetts.
- Wersinger, S. R., Ginns, E. I., O'Carroll, A. M., Lolait, S. J., & Young, W. S. III. 2002: Vasopressin V1b receptor knockout reduces aggressive behavior in male mice. *Molecular Psychiatry* **7**, 975–984.

Wongwitdecha, N. & Marsden, C. A. 1995:
Isolation rearing prevents the reinforcing
properties of amphetamine in a conditioned
place preference paradigm. *European Journal
of Pharmacology* **279**, 99–103.

TABLEAU 1 – Éthogramme détaillé des comportements sociaux relevés durant le test d'interactions sociales

Catégorie	Comportement	Description
COMPORTEMENTS AGONISTIQUES		
Attaque	Pousser	Mouvement rapide vers l'avant avec la tête ou la partie antérieure du corps durant lequel l'animal semble vouloir mordre le congénère
	Charger	Courir rapidement vers le congénère
	Pourchasser	Poursuivre le congénère en fuite
	Combat	Attraper agressivement le partenaire et enchaîner différents comportements comme boxer, mordre, lutter
Menace	Posture haute offensive	- Posture bipédique orientée vers le congénère, l'animal présente généralement sa région ventrale au congénère, caractérisée par des yeux plissés et des oreilles aplaties
	Posture latérale offensive	- Posture tripédique orientée vers les pattes antérieures du congénère, à proximité de ce dernier qui est levé avec les yeux plissés et les oreilles aplaties
	Vibration de la queue Toilettage agressif	- Frémissement latéral rapide de la queue - Toilettage vigoureux du congénère immobile à l'aide des dents et des pattes avant, généralement à niveau de la tête
Défense	Fuite	- Courir pour échapper à congénère qui s'approche
	Ricochet	- Suite de mouvements rapides non-dirigés composée de sauts et de rebonds sur les parois sur dispositif
INVESTIGATION SOCIALE		
	Approche	- Marcher vers le congénère, avec l'attention dirigée vers ce dernier
	Contact naso-nasal	- Les deux congénères sont assez proches pour que leur truffes se touchent, généralement le première prise d'information directe
	Suivre	- Se déplacer en direction du congénère alors que celui-ci marche dans le dispositif
	Flairer	- Flairer la tête ou la région ano-génitale du congénère
	Investiguer	- Flairer le corps (hors tête et région ano-génitale) et la queue du congénère
	Toilettage	Toiletter le corps du congénère, toute région corporelle confondue, en utilisant la bouche
	Se glisser au dessus/en dessous	- Un animal à les pattes antérieures placées sur le congénère alors que ce dernier glisse sa tête et la partie antérieur de son corps sous l'autre animal
INDICES ÉMOTIONNELS		
Exploration à distance	Attention	- Attention dirigée vers le congénère à distance
	Encercler	- Mouvement d'approche et de retrait circulaire à distance
	Tête orientée	- Tête tournée vers le congénère
	Attention étirée	- Comme le comportement d'attention mais le corps ainsi que la région cervicale sont étirés
Freezing		- Posture caractérisée par l'absence de tout mouvement exceptés ceux requis pour la respiration

Chapitre 3

Effets de l'âge sur l'initiation de la reproduction et les performances reproductrices

Efficiency of delayed reproduction in *Mus spicilegus*

Marie Lafaille^A, Patrick Gouat^A and Christophe Féron^{A,B}

^ALaboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée, Sorbonne Paris Cité, Université Paris Nord, F-93430 Villetaneuse, France.

^BCorresponding author. Email: cferon@leec.univ-paris13.fr

Abstract. To cope with seasonally varying ecological constraints, some mammals temporally suppress breeding or delay their first reproduction. In field conditions, mound-building mice (*Mus spicilegus*) born in spring begin to reproduce when 2–3 months old, whereas individuals born at the end of summer delay their first reproduction for 6–8 months until the following spring. In order to test age effects on reproductive performance in *M. spicilegus*, sexually naïve mice were paired when 2–3 months old or at 6–8 months of age, and surveyed for reproduction. We show here that under laboratory conditions the aging of these mice does not impair their reproductive efficiency. Thus, the hypothesis of a lower reproductive potential in these relatively aged females seems to be contradicted. More surprisingly, the latency from pairing to the first reproduction was greater in the 2–3-month-old adults than in the delayed reproducers (6–8-month-old mice). Mound-building mice that are old enough to have overwintered do not suffer significant reproductive declines, but appear to reproduce as well and more quickly than younger first-time breeders.

Additional keywords: aged-related-changes, first-time breeders, litter size, wild-type rodent.

Received 2 May 2013, accepted 13 December 2013, published online 15 January 2014

Introduction

In the absence of reproductive costs, iteroparous mammals should mature at the earliest possible age and then reproduce as often as possible (Roff 1992). However, reproduction in mammals is affected by different constraints, which can be divided into physiological or ecological costs (Reznick 1992). Gestation and lactation requiring high energy allocation (Gittleman and Thompson 1988; Speakman 2008) constitute the most common physiological costs. Conversely, ecological and climatic conditions affect the energy available to females, and the costs of acquiring this energy are considerable (i.e. predation risk and intra- and/or inter-specific competition; Hoffman *et al.* 2008; Díaz *et al.* 2010). Consequently, breeding success and subsequent survival are affected.

To cope with these varying ecological costs, some females can temporally suppress breeding or delay their first reproduction (Ylönen and Ronkainen 1994; Koskela and Ylönen 1995; Eccard and Ylönen 2001; Bian *et al.* 2005; Rödel *et al.* 2005). Delaying the first reproduction involves reproductive costs that, in multivoltine species, correspond to producing fewer litters or clutches and increasing the risk of dying without reproducing. Such delay may have substantial consequences on fitness (Oli *et al.* 2002; Rödel *et al.* 2009). Compared with young sexually mature individuals that live under favourable environmental conditions, for which the only challenge would be to reproduce quickly and efficiently, females with delayed reproduction may wait for suitable ecological conditions and maximise the number or the quality of the young produced during the

remaining life-time. However, younger females may bear a cost of reproduction that would make reproduction more difficult when getting on in age.

Negative effects of aging on reproduction have been shown in several mammalian species (Boonstra 1994; Rödel *et al.* 2004). In house mice, old mothers (51 weeks old) took more time to reproduce after pairing, produced fewer litters, had a lower litter size at birth and had higher pup mortality compared with younger (10 weeks old) mothers (Tarin *et al.* 2003). Although most of the individuals that naturally delay their first reproduction cannot be considered as senescent individuals when they start to reproduce, reproductive performance may be affected by the delay in age at first reproduction. For example, the probability of reproductive failure increased markedly in pre-industrial Finnish women when age at first reproduction was delayed beyond 30 years (Liu and Lummaa 2011). In short-lived species, reproductive delays covering a large part of the lifespan would then particularly affect overall reproductive performance. One can consequently assume that under the same favourable reproductive conditions, delayed reproducers, which are becoming quite old, would reproduce less efficiently than younger sexually mature individuals. This assumption is based on a decrease in physiological efficiency caused by aging (Descamps *et al.* 2009) and related to the senescence hypothesis (Kirkwood and Austad 2000; Weladji *et al.* 2002). In contrast, the terminal investment hypothesis predicts that reproductive effort increases towards the end of the lifespan when the number of offspring the mother can expect to

rear in the future is low (Trivers 1972; Pianka and Parker 1975; Clutton-Brock 1984; Evans 1990). As a consequence, delayed reproducers would then come through this reproductive effort and consequently reproduce more (or at least equally) efficiently than non-delayed reproducers.

We conducted a study of mound-building mice (*Mus spicilegus*), a monogamous mouse of Central and Eastern Europe (Patris and Baudoin 1998, 2000; Dobson and Baudoin 2002; Baudoin *et al.* 2005) in which individuals born in late summer and early autumn exhibit remarkable delayed reproduction (Milishnikov *et al.* 1998; Sokolov *et al.* 1998; Gouat *et al.* 2003b). Only juveniles survive throughout winter, whereas adult individuals die. Juveniles survive under mounds built in autumn, often in large groups encompassing individuals from several litters (Garza *et al.* 1997; Poteaux *et al.* 2008). No reproduction occurs inside the mounds (Gouat *et al.* 2003a). These overwintered mice breed in the spring at 6–8 months of age after dispersing from the mound (Sokolov *et al.* 1998). Reproduction is then triggered by encounters with unfamiliar partners (Busquet *et al.* 2009). Animals born in spring and early summer exhibit an even shorter reproductive life. They reach sexual maturity and reproduce when 2–3 months of age, corresponding to early summer for those born at the beginning of the breeding season. These individuals end their reproductive life in autumn.

On average, the period of reproduction does not exceed 4 months for an individual female (Milishnikov *et al.* 1998). Mice born in spring and summer are especially affected by this short reproductive time. To increase their chance of having descendants that will overwinter, these mice could then adopt a strategy consisting of reproducing as early as possible and at a sustained rate despite high physiological costs. Conversely, overwintered animals, which potentially benefit from having a few months more (spring period) to reproduce, are relatively old when starting to reproduce (6–8 months). Thus, such older mice may adaptively spread out their reproductive effort throughout the whole breeding season.

Lower reproductive performances in delayed reproducers would suggest that these mice are physiologically affected by aging and, consequently, the senescence hypothesis may apply. Reproduction is very costly for these mice, especially during post partum reproduction when concurrency between lactation and gestation exists and leads the females to spread out their energy expenditure by delaying delivery to an unusual extent (Féron and Gouat 2007). To cope with the high physiological cost of successive reproductions, delayed reproducers could compensate for this cost by increasing inter-litter intervals and/or by avoiding post partum pregnancies. Therefore, an increase in the inter-delivery duration and/or a decrease in litter size or weight could be expected in delayed reproducers.

Breeding data collected over 13 generations of *M. spicilegus* born and reared in our laboratory (i.e. under similar conditions and without major environmental constraints, such as predation or competition) provided us with the opportunity to compare the reproductive performances of couples paired at different ages, corresponding to non-delayed reproducers (80–110 days old at pairing) and delayed reproducers (6–8 months old at pairing).

Materials and methods

Animals and breeding conditions

Animals used in the present study derived from a stock of 80 *M. spicilegus* collected in Gyöngyös (Hungary) in 1999. Mice were raised at the Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée (Paris, France) over 13 generations. They were kept under constant conditions (20 ± 1°C, relative humidity 50%, light–dark cycle 14–10 h with the dark phase beginning at 1300 hours). Food (Type M20 mouse pellets; Special Diet Services, Witham, Essex, UK) and water were provided *ad libitum*. Aspen wood shavings and cotton were provided as bedding material. Mice are weaned at 28 days of age and transferred to polycarbonate cages (26 × 14 × 16 cm, L × W × H) with a maximum of five individuals per cage. From 35 days of age, mice were kept in same-sex sibling groups until used for experiments.

Reproduction

One week before pairing, mice were placed in individual cages in order to lower sexual inhibition due to female cohabitation (Féron and Gheusi 2003). Unrelated and unfamiliar mates were paired in polycarbonate cages (38 × 24 × 20 cm). Data were collected in animals during routine protocols of reproduction inside the breeding stock. Since the beginning of the isolation period females were weighed weekly to detect pregnancy (Gouat *et al.* 2003b) using a precision scale (± 0.02 g). Later, females were checked on every working day. The number of pups was recorded at birth and 21 days later (± 1 day). Because data were collected only on working days, pups born over the weekend were counted on the following Monday and their date of birth was evaluated according to developmental characteristics (birth: blood-red skin colour; Day 1: lighter red skin colour, milk visible in stomach; Day 2: lighter (pale pink) skin colour, ears flat against head).

Aged related groups

From the third to 13th generation, 213 couples were paired for reproduction. Data from the two first generations were not used. Within these couples, we used a subset of approximately 20% of each generation corresponding to a selection based on an age criterion in order to form two different groups. One group corresponded to animals paired for reproduction (couples) when the male and female were both between 80 and 110 days old, hereafter called 'non-delayed reproducers' ($n = 26$), and the other group corresponded to animals paired for reproduction when the male and female were both between 180 and 240 days old (6–8-month-old adults), corresponding to the age of first reproduction of overwintering individuals and hereafter called 'delayed reproducers' ($n = 22$).

Data analysis

For each couple, latency from pairing to first delivery was recorded. Some pairs did not reproduce and were defined as non-reproducers. These couples were paired for at least 49 days before the experiment was stopped (individuals were then isolated for 1–2 weeks to ascertain that females did not gain weight indicating a pregnancy). The date of stopping was noted as the last day of the survey of non-reproducers. The global proportion

of reproducers was then established in the two groups (non-delayed and delayed reproducers) by counting the proportion of pairs that reproduced whatever the duration of the survey period. These two proportions were compared using Pearson's Chi-squared test.

A Cox proportional hazards model (Cox 1972; Cox and Snell 1989; Fox 2008) was used to test the effect of the group factor (i.e. non-delayed and delayed reproducers) and covariates (male and female body mass at pairing; generation number) on the probability of pairs giving birth across time. Pairs that did not reproduce were included in the survival analysis and considered as right censored at the last day of the survey. A stepwise model selection procedure was used to find which model best explained the recorded differences in latency from pairing to first delivery. More specifically, the selection of the variables for the model was based on a forward and backward search technique. In the first step, a model including the group factor (non-delayed and delayed reproducers) and the different covariates was built. Significant interactions between the covariates and with the group factor were checked. We then removed the different covariates from the global model step-by-step to test in each step whether each removal improved the likelihood and revealed significant coefficients or interactions among the remaining active factor or covariates. The models with a significant likelihood ratio test ($P < 0.05$) and for which the factor or the covariates had significant coefficients ($P < 0.05$) were selected.

The assumption of proportional hazards was ascertained using tests and graphical diagnostics based on the scaled Schoenfeld residuals. Diagnostics for non-linearity in the relationship between the log hazard and the covariates were performed graphically by plotting the Martingale residuals.

The number of young weaned (at 28 days of age) and the inter-delivery latencies were recorded up to the third litter. For many of these litters the weight of the litter at 21 days of age was available in our breeding data. A pup average weight was then calculated by dividing this weight by the number of pups. The number of young weaned, average pup weight and inter-delivery durations were compared using permutation tests stratified by generation number. Exact P -values were computed for each comparison.

Because the latency from pairing to the first delivery could also be affected by the age of the sexual partners within each of the two groups, new Cox proportional hazards models were built in which the 80–110-day-old individuals (non-delayed reproducers) and the 180–240-day-old individuals (delayed reproducers) were tested separately. In each of these age groups, the age of the female and the male at pairing were then tested as predictors of first delivery.

All statistical tests were two-tailed and significance was assumed for $P < 0.05$. Statistical analyses were performed using R version 2.13 (R Development Core Team 2012). Data are presented as the mean \pm s.e.m.

Results

The global proportion of reproducers differed by 21% (but not significantly) between the two groups (65% (17/26) vs 86%

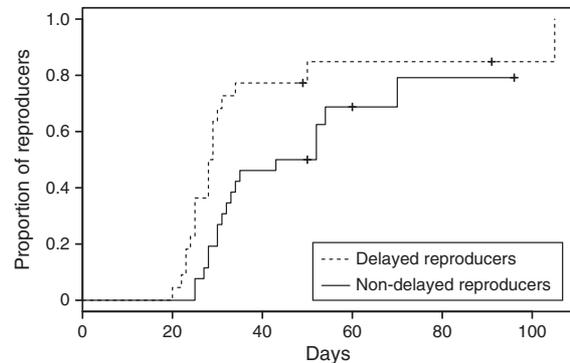


Fig. 1. Kaplan–Meier survival curves showing the significantly different evolution of the proportion of pairs reproducing from the pairing date (Day 0) to the end of the survey. Non-delayed reproducers ($n = 26$) were paired at 80–110 days of age. Delayed reproducers were paired at 6–8 months of age ($n = 22$). Crosses indicate the end of the survey (censorship) of individuals that did not reproduce (they were excluded to calculate the next points of the survival curves).

(19/22) in non-delayed and delayed reproducers, respectively; Pearson's Chi-squared test: $\chi^2 = 2.797$, $P = 0.180$). When looking more precisely at the probability of reproducing over time, taking into account the duration of survey of the different pairs, a greater proportion of the 6–8-month-old pairs started reproducing quicker than the 2–3-month-old pairs (Fig. 1). The best Cox model selected with our stepwise model selection procedure included only the group factor (non-delayed and delayed reproducers; hazard ratio (HR) 1.494; 95% confidence interval (CI) 1.07–2.09; group factor coefficient $P = 0.019$; likelihood ratio test $P = 0.020$). Models including male and/or female weight 14.9 ± 2.9 and 13.0 ± 1.4 g for male and female non-delayed reproducers, respectively; 16.1 ± 2.1 and 13.4 ± 1.6 g for male and female delayed reproducers, respectively) and/or the generation of the individuals revealed no significant effect for either of these covariates ($P > 0.1$) or any significant interaction ($P > 0.1$). Approximately 75% of delayed reproducer pairs had their first litter by 30 days after pairing. At this time, fewer than 50% of the young adult pairs had reproduced. These observations indicate that the delayed reproducers are inclined to reproduce first more quickly than non-delayed reproducers.

Within each group, according to Cox proportional hazards regression analyses, the age of the female and the age of the male at pairing were not significantly related to the latency from pairing to first delivery. This delivery did not occur later in the youngest non-delayed reproducers, which could be regarded as less sexually mature than older individuals (age of male at pairing: HR 1.03, 95% CI 0.97–1.09, coefficient $P = 0.347$; age of female at pairing: HR 1.00, 95% CI 0.93–1.07, coefficient $P = 0.956$; likelihood ratio test $P = 0.536$). Among the delayed reproducers, the older individuals did not have their first litter later than the younger ones (age of male at pairing: HR 0.99, 95% CI 0.97–1.03, coefficient $P = 0.966$; age of female at pairing: HR 0.99, 95% CI 0.96–1.02, coefficient $P = 0.595$; likelihood ratio test $P = 0.847$).

Table 1. Reproductive performance of non-delayed and delayed reproducers

Data are the mean (\pm s.e.m.) number of weaned pups in the first three litters, weight of pups at 21 days of age and inter-delivery duration, with *n* values in parentheses. *P*-values were obtained with permutation tests

	Non-delayed reproducers	Delayed reproducers	<i>P</i> -value
First litter			
No. weaned pups	6.6 \pm 1.3 (17)	6.5 \pm 1.2 (19)	0.999
Pup weight on Day 21 (g)	6.32 \pm 0.79 (11)	6.35 \pm 0.54 (14)	0.928
1st Inter-delivery duration (days)	27.8 \pm 6.3 (16)	27.4 \pm 1.9 (18)	0.976
Second litter			
No. weaned pups	8.0 \pm 1.6 (16)	8.1 \pm 1.4 (18)	0.628
Pup weight on Day 21 (g)	6.37 \pm 1.04 (10)	6.56 \pm 0.61 (14)	0.575
2nd Inter-delivery duration (days)	31.6 \pm 10.6 (16)	28.4 \pm 5.6 (18)	0.476
Third litter			
No. weaned pups	7.6 \pm 3.1 (16)	8.3 \pm 1.7 (18)	0.673
Pup weight on Day 21 (g)	6.48 \pm 0.72 (9)	6.35 \pm 0.58 (12)	0.685

Once the pairs started to reproduce, the non-delayed and delayed reproducers did not differ in their inter-delivery duration (Table 1). Except for two pairs (one from each of the non-delayed and delayed reproducers groups) that did not give birth to three litters, the other pairs delivered three times with a mean inter-litter duration of 27–31 days. For each of the three litters, the number of young weaned was similar between the two groups. No significant differences existed even when pooling the number of young produced and considering all pairs that reproduced at least once (total number of young weaned: 21.23 \pm 5.66 and 22.00 \pm 4.89 for non-delayed and delayed reproducers, respectively; *P* = 0.689, permutation test). Likewise, pups of non-delayed and delayed reproducers did not significantly differ in weight at 21 days of age.

Discussion

In *M. spicilegus*, animals paired at 6–8 months of age did not reproduce less efficiently than younger mice. The number of young produced, the weight of the pups at 21 days of age and the inter-delivery duration of these relatively old individuals did not differ from those of 80–110-day-old adults. According to our results and based on these parameters of reproductive performance, the senescence hypothesis clearly does not apply to delayed reproduction in mound-building mice. Our results strongly suggest that the relatively advanced age of 6–8 months does not impair the ability of mice born at the end of summer or at the beginning of autumn and starting to reproduce during next spring to sustain the physiological cost of three consequent reproductions. They would be able to reproduce as well as mice born in spring and starting to reproduce when 3 months of age. Because the high energy requirement related to post partum gestation leads *M. spicilegus* females to spread out their energy expenditure by delaying delivery to an unusual extent (27–31 days; Féron and Gouat 2007), we hypothesised that aged females will have more difficulties in coping with gestation and

lactation energy requirements. Notwithstanding, if the cost of reproduction (and especially of post partum reproduction) is more difficult to bear by aged mice, no effect of aging on the inter-delivery durations was observed. However, more detailed analyses or studies under seminatural conditions would help to clarify whether this sustained rate of reproduction involves reproductive efforts that would affect mothers' survival, especially when environmental conditions are more constraining than those in our laboratory. Under laboratory conditions, mound-building mice may live up to more than 4 years and are still able to reproduce at 1 year of age (C. Féron and P. Gouat, unpubl. data), whereas their lifespan does not exceed 1 year in nature (Milishnikov *et al.* 1998). In the field, the duration of the cold period may delay dispersion from the mound, a first step before reproduction. Moreover, laboratory studies have revealed that the reproduction of mound-building mice, despite food being available *ad libitum*, is impacted by artificial winter conditions (Gouat *et al.* 2003b). This observation suggests that, in the field, overwintering females have to rebuild their energy reserves before being able to initiate reproduction, as shown for other small mammal species (Rödel *et al.* 2005; Haapakoski *et al.* 2012).

The difference between the two age classes mainly rests on the triggering of reproduction. Delayed reproducers reproduce more promptly than non-delayed reproducers. Most of the delayed reproducers (near 80%) have their first litter within 30 days after pairing. The duration of gestation is 20 days when females do not have to sustain the concurrent energy cost of lactation (Féron and Gouat 2007). The fecund mating of these couples would then occur in the first 10 days after pairing. Half the non-delayed reproducers (i.e. couples aged 80–110 days at pairing) also reproduced within 30 days, but others took more time to have their first litter.

Born in late spring or summer, mound-building mice can start to reproduce as soon as they become sexually mature, and will have several litters before they die during the subsequent autumn or winter. Because their reproductive life is particularly short, it is amazing that some of these mice take such a long time to reproduce. Mound-building mice are particularly aggressive towards unfamiliar partners (Patris *et al.* 2002). Under laboratory conditions, considerable agonistic behaviour is generally displayed by the male and female during the first 2 days of cohabitation. Aside from the fact that male proximity is necessary to induce female sexual receptivity (Féron and Gheusi 2003), this aggressive phase seems to improve the probability of reproduction of the sexual partners (Busquet *et al.* 2009).

The high variability in the latency of the first reproduction observed among non-delayed reproducers may be explained, in part, though high differences in social behaviour expressed by the animals during their first days of pairing. In the field, overwintering female mice facing a shortage of males are able to share a male with another female, although with a high cost of polygyny (Gouat and Féron 2005). Because of the usual social intolerance of females (Patris *et al.* 2002), this result suggests that these old females are able to accept compromise in order to reproduce. Thus, we hypothesise that, being less selective, delayed reproducers are more prompt to reproduce with an imposed sexual partner.

In conclusion, mound-building mice that are old enough to have overwintered do not suffer significant reproductive declines, but appear to reproduce as well and more quickly than younger first-time breeders.

References

- Baudoin, C., Busquet, N., Dobson, F. S., Gheusi, G., Feron, C., Durand, J. L., Heth, G., Patris, B., and Todrank, J. (2005). Male–female associations and female olfactory neurogenesis with pair bonding in *Mus spicilegus*. *Biol. J. Linn. Soc. Lond.* **84**, 323–334. doi:10.1111/J.1095-8312.2005.00437.X
- Bian, J. H., Wu, Y., and Liu, J. K. (2005). Breeding behavior under temporal risk of predation in male root voles (*Microtus oeconomus*). *J. Mammal.* **86**, 953–960. doi:10.1644/1545-1542(2005)86[953:BBUTRO]2.0.CO;2
- Boonstra, R. (1994). Population cycles in microtines: the senescence hypothesis. *Evol. Ecol.* **8**, 196–219. doi:10.1007/BF01238250
- Busquet, N., Leveille Nizerolle, C., and Feron, C. (2009). What triggers reproductive life? Effects of adolescent cohabitation, social novelty and aggression in a monogamous mouse. *Ethology* **115**, 87–95. doi:10.1111/J.1439-0310.2008.01586.X
- Clutton-Brock, T. H. (1984). Reproductive effort and terminal investment in iteroparous animals. *Am. Nat.* **123**, 212–229. doi:10.1086/284198
- Cox, D. R. (1972). Regression models and life-tables. *J. R. Stat. Soc. B* **34**, 187–220.
- Cox, D. R., and Snell, E. J. (1989). 'Analysis of binary data, Volume 32, Monographs on Statistics and Applied Probability.' (Chapman and Hall: London.)
- Descamps, S., Boutin, S., McAdam, A. G., Berteaux, D., and Gaillard, J. M. (2009). Survival costs of reproduction vary with age in north american red squirrels. *Proc. Biol. Sci.* **276**, 1129–1135. doi:10.1098/RSPB.2008.1401
- Diaz, M., Torre, I., and Arrizabalaga, A. (2010). Relative roles of density and rainfall on the short-term regulation of mediterranean wood mouse *Apodemus sylvaticus* populations. *Acta Theriol. (Warsz.)* **55**, 251–260. doi:10.4098/J.AT.0001-7051.046.2009
- Dobson, F. S., and Baudoin, C. (2002). Experimental tests of spatial association and kinship in monogamous mice (*Mus spicilegus*) and polygynous mice (*Mus musculus domesticus*). *Can. J. Zool.* **80**, 980–986. doi:10.1139/Z02-055
- Eccard, J. A., and Ylönen, H. (2001). Initiation of breeding after winter in bank voles: effects of food and population density. *Can. J. Zool.* **79**, 1743–1753. doi:10.1139/Z01-133
- Evans, R. M. (1990). The relationship between parental input and investment. *Anim. Behav.* **39**, 797–798. doi:10.1016/S0003-3472(05)80391-4
- Féron, C., and Gheusi, G. (2003). Social regulation of reproduction in the female mound-builder mouse (*Mus spicilegus*). *Physiol. Behav.* **78**, 717–722. doi:10.1016/S0031-9384(03)00044-1
- Féron, C., and Gouat, P. (2007). Paternal care in the mound-building mouse reduces inter-litter intervals. *Reprod. Fertil. Dev.* **19**, 425–429. doi:10.1071/RD06150
- Fox, J. (2008). 'Applied regression analysis and generalized linear models, second edition.' (Sage Publications: Thousand Oaks.)
- Garza, J. C., Dallas, J., Duryadi, D., Gerasimov, S., Croset, H., and Boursot, P. (1997). Social structure of the mound-building mouse *Mus spicilegus* revealed by genetic analysis with microsatellites. *Mol. Ecol.* **6**, 1009–1017. doi:10.1046/J.1365-294X.1997.00278.X
- Gittleman, J. L., and Thompson, S. D. (1988). Energy allocation in mammalian reproduction. *Am. Zool.* **28**, 863–875.
- Gouat, P., and Feron, C. (2005). Deficit in reproduction in polygynously mated females of the monogamous mound-building mouse *Mus spicilegus*. *Reprod. Fertil. Dev.* **17**, 617–623. doi:10.1071/RD05042
- Gouat, P., Katona, K., and Poteaux, C. (2003a). Is the socio-spatial distribution of mound-building mice, *Mus spicilegus*, compatible with a monogamous mating system? *Mammalia* **67**, 15–24. doi:10.1515/MAMM.2003.67.1.15
- Gouat, P., Feron, C., and Demouron, S. (2003b). Seasonal reproduction and delayed sexual maturity in mound-building mice *Mus spicilegus*. *Reprod. Fertil. Dev.* **15**, 187–195. doi:10.1071/RD02105
- Haapakoski, M., Sundell, J., and Ylönen, H. (2012). Predation risk and food: opposite effects on overwintering survival and onset of breeding in a boreal rodent. *J. Anim. Ecol.* **81**, 1183–1192. doi:10.1111/J.1365-2656.2012.02005.X
- Hoffman, C. L., Ruiz-Lambides, A. V., Davila, E., Maldonado, E., Gerald, M. S., and Maestripieri, D. (2008). Sex differences in survival costs of reproduction in a promiscuous primate. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **62**, 1711–1718. doi:10.1007/S00265-008-0599-Z
- Kirkwood, T. B. L., and Austad, S. N. (2000). Why do we age? *Nature* **408**, 233–238. doi:10.1038/35041682
- Koskela, E., and Ylönen, E. (1995). Suppressed breeding in the field vole *Microtus agrestis*: an adaptation to cyclically fluctuating predation risk. *Behav. Ecol.* **6**, 311–315. doi:10.1093/BEHECO/6.3.311
- Liu, J., and Lummaa, V. (2011). Age at first reproduction and probability of reproductive failure in women. *Evol. Hum. Behav.* **32**, 433–443. doi:10.1016/J.EVOLHUMBEHAV.2010.10.007
- Milishnikov, A. N., Rafiev, A. N., and Muntianu, A. I. (1998). Genotypic variability in populations of the mound-builder mouse *Mus spicilegus* pet., 1882, at various life cycle stages. *Genetika* **34**, 947–952.
- Oli, M. K., Hepp, G. R., and Kennamer, R. A. (2002). Fitness consequences of delayed maturity in female wood ducks. *Evol. Ecol. Res.* **4**, 563–576.
- Patris, B., and Baudoin, C. (1998). Female sexual preferences differ in *Mus spicilegus* and *Mus musculus domesticus*: the role of familiarization and sexual experience. *Anim. Behav.* **56**, 1465–1470. doi:10.1006/ANBE.1998.0919
- Patris, B., and Baudoin, C. (2000). A comparative study of parental care between two rodent species: implications for the mating system of the mound-building mouse *Mus spicilegus*. *Behav. Processes* **51**, 35–43. doi:10.1016/S0376-6357(00)00117-0
- Patris, B., Gouat, P., Jacquot, C., Christophe, N., and Baudoin, C. (2002). Agonistic and sociable behaviors in the mound-building mice, *Mus spicilegus*: a comparative study with *Mus musculus domesticus*. *Aggress. Behav.* **28**, 75–84. doi:10.1002/AB.90007
- Pianka, E. R., and Parker, W. S. (1975). Age-specific reproductive tactics. *Am. Nat.* **109**, 453–464. doi:10.1086/283013
- Poteaux, C., Busquet, N., Gouat, P., Katona, K., and Baudoin, C. (2008). Socio-genetic structure of mound-building mice, *Mus spicilegus*, in autumn and early spring. *Biol. J. Linn. Soc. Lond.* **93**, 689–699. doi:10.1111/J.1095-8312.2007.00944.X
- Reznick, D. (1992). Measuring reproductive costs: response to partridge. *Trends Ecol. Evol.* **7**, 134. doi:10.1016/0169-5347(92)90150-A
- R Development Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Available at <http://www.R-project.org/>
- Rödel, H. G., Bora, A., Kaiser, J., Kaetzke, P., Khaschei, M., and von Holst, D. (2004). Density-dependent reproduction in the European rabbit: a consequence of individual response and age-dependent reproductive performance. *Oikos* **104**, 529–539. doi:10.1111/J.0030-1299.2004.12691.X
- Rödel, H. G., Bora, A., Kaetzke, P., Khaschei, M., Hutzelmeyer, H. D., Zapka, M., and von Holst, D. (2005). Timing of breeding and reproductive performance of female European rabbits in response to winter temperature and body mass. *Can. J. Zool.* **83**, 935–942. doi:10.1139/Z05-084
- Rödel, H. G., von Holst, D., and Kraus, C. (2009). Family legacies: short- and long-term fitness consequences of early-life conditions in female

- European rabbits. *J. Anim. Ecol.* **78**, 789–797. doi:10.1111/J.1365-2656.2009.01537.X
- Roff, D. A. (1992). 'The Evolution of Life Histories. Theory and Analysis.' (Chapman & Hall: New York.)
- Sokolov, V. E., Kotenkova, E. V., and Michailenko, A. G. (1998). *Mus spicilegus*. *Mamm. Species* **592**, 1–6. doi:10.2307/3504484
- Speakman, J. R. (2008). The physiological costs of reproduction in small mammals. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.* **363**, 375–398. doi:10.1098/RSTB.2007.2145
- Tarín, J. J., Gomez-Piquer, V., Manzanedo, C., Minarro, J., Hermenegildo, C., and Cano, A. (2003). Long-term effects of delayed motherhood in mice on postnatal development and behavioural traits of offspring. *Hum. Reprod.* **18**, 1580–1587. doi:10.1093/HUMREP/DEG349
- Trivers, R. (1972). Parental investment and sexual selection. In 'Sexual Selection and the Descent of Man 1871–1971'. (Ed. B. Campbell.) pp. 136–179. (Aldine Press: Chicago.)
- Weladji, R. B., Mysterud, A., Holand, O., and Lenvik, D. (2002). Age-related reproductive effort in reindeer (*Rangifer tarandus*): evidence of senescence. *Oecologia* **131**, 79–82. doi:10.1007/S00442-001-0864-6
- Ylönen, H., and Ronkainen, H. (1994). Breeding suppression in the bank vole as antipredatory adaptation in a predictable environment. *Evol. Ecol.* **8**, 658–666. doi:10.1007/BF01237848

Chapitre 4

Effets de l'âge de première reproduction et de la durée de vie reproductive du couple sur la préférence olfactive du mâle pour sa partenaire

Renforcement de la préférence olfactive du mâle pour sa partenaire au cours de la vie reproductive du couple chez une espèce monogame

Résumé

L'une des principales caractéristiques de la monogamie est l'établissement de liens sociaux étroits et durables entre les partenaires d'un couple. Si dans ce cadre, le lien unissant la femelle au mâle est fréquemment démontré expérimentalement, les études qui relatent un lien du mâle pour sa partenaire sont plus rares. Chez la souris glaneuse (*Mus spicilegus*), les couples monogames se forment à deux âges distincts (3 mois ou 6 mois). L'importante activité sexuelle du premier événement reproducteur se réduit très fortement lors des accouplements suivants du fait d'une baisse de la réceptivité sexuelle des femelles. La motivation des mâles à porter leur intérêt sur une femelle étrangère pourrait alors s'accroître au cours de la vie reproductive des couples. L'objectif de cette étude est d'examiner si l'âge, exploré à deux niveaux, âge de mise en couple et durée de vie reproductive, pourrait être un facteur modulant le lien des mâles envers leur partenaire. Grâce à un test de double choix olfactif, nous avons montré que, quel que soit leur âge à la mise en couple, les mâles ont toujours une préférence olfactive pour l'odeur de leur partenaire quand celle-ci est présentée simultanément à une odeur de femelle étrangère et que cette préférence s'accroît au fil de la vie reproductive. Ce résultat laisse suggérer que la force du lien des mâles envers leur partenaire s'intensifie et/ou que la motivation sexuelle des mâles diminue au fil de leur vie reproductive.

Mots-clefs : lien entre partenaires, *Mus spicilegus*, vieillissement, test de choix olfactif, monogamie, odeurs sociales

1 Introduction

Chez les mammifères, la polygamie est le système d'appariement le plus répandu (Yahner, 2011). Occasionnellement, toutefois, les pressions de sélection favorisent un système d'appariement monogame qui se caractérise notamment par des liens sociaux forts entre les membres d'un couple reproducteur (Gubernick, 1994). Ces liens sociaux généralement exclusifs n'empêchent toutefois pas que chez les rares mammifères où ils existent (Kleiman, 1977), la monogamie ne puisse être qualifiée que de sociale (Reichard & Boesch, 2003; Cohas & Allainé, 2009). En effet, de nombreux travaux chez les rongeurs mais également chez les oiseaux monogames, ont montré qu'il n'était pas rare que des mâles s'engagent dans quelques voire de multiples accouplements/fécondations hors couples (Neodorf, 2004; Solomon et al., 2004; McGuire & Getz, 2010; Streatfeild et al., 2011). Récemment, d'importantes recherches sur les rongeurs monogames comme le campagnol des prairies (*Microtus ochrogaster*) ont permis de mieux comprendre les mécanismes neurobiologiques impliqués dans l'émergence de comportements traduisant l'existence de liens sociaux étroits entre partenaires (voir pour revue Young et al. 2011). Néanmoins, la recherche d'éventuels facteurs pouvant moduler ce lien a reçu peu de considération expérimentale.

La souris glaneuse (*Mus spicilegus*) est un rongeur d'Europe centrale et orientale. Tant sur le terrain qu'en laboratoire, des travaux suggèrent fortement que cette souris soit monogame (Patris & Baudoin, 1998, 2000; Dobson & Baudoin, 2002; Simeonovska-Nikolova, 2007). En effet, cette espèce manifeste une forte agressivité envers tout congénère non familial (Patris et al., 2002) et les femelles montrent une préférence sociale et sexuelle pour leur partenaire suggérant l'existence d'un lien social fort et exclusif (Patris & Baudoin, 1998). Une étude réalisée en conditions semi-naturelles a également montré que les associations entre mâles et femelles semblaient stables durant au moins les 80 premiers jours de vie reproductive (Baudoin et al., 2005).

Durant la période de reproduction, qui peut s'étendre jusqu'à 4 mois en conditions naturelles (Milishnikov et al., 1998), les comportements reproducteurs des couples vont fortement s'amoinrir. Dans les jours suivant la formation du couple, une activité sexuelle très intense mène à la première reproduction. À ce stade, les femelles sont hautement réceptives et répondent très positivement aux sollicitations sexuelles du mâle (Féron & Gouat, 2007). L'activité sexuelle va cependant significativement diminuer au cours des reproductions post-partum successives pour se réduire à une seule monte (Féron & Gouat, 2007). Nous posons l'hypothèse, qu'après plusieurs événements reproducteurs avec la même partenaire, la motivation sexuelle des mâles pourrait dépasser leur motivation à demeurer avec leur partenaire et ils seraient alors prêts à risquer l'affrontement généralement agonistique avec une femelle étrangère.

En conditions naturelles, les couples de *M. spicilegus* se forment à deux âges distincts. Les individus nés à la fin de l'été et au début de l'automne retardent notablement leur vie reproductive. Lorsqu'ils sont encore juvéniles, ces individus se rassemblent et construisent un abri (Poteaux et al., 2008) dans lequel ils passent l'hiver sans se reproduire (Gouat et al., 2003a). Au début du printemps suivant, ils quittent cet abri, dispersent et débutent alors leur reproduction âgés de 6-8 mois (Gouat et al., 2003b). Durant cette période de l'année, seuls ces individus assurent la reproduction car les adultes de l'année précédente n'ont pas survécu à l'hiver (Milishnikov et al., 1998). La longévité de ces souris ne dépasse donc pas un an en conditions naturelles (Tong, 2012). Les jeunes issus de ces couples relativement âgés se reproduisent quant eux de mars à septembre dès qu'ils atteignent leur maturité sexuelle vers l'âge de 3 mois. L'âge de formation des couples et de première reproduction étant très différent entre ces cohortes, il pourrait affecter le lien social entre les partenaires et moduler/diversifier la structure sociale monogame généralement décrite chez cette espèce.

L'objectif de cette étude est d'étudier les effets de la durée de vie reproductive et donc l'expérience socio-sexuelle des mâles *M. spicilegus* sur l'intérêt qu'ils portent pour des femelles étrangères et d'évaluer si des différences de profils d'intérêt existent entre la cohorte de 3 mois et celle de 6 mois. Chez les rongeurs, la recherche et le choix du partenaire s'effectuent généralement par le biais des odeurs corporelles (Johnston, 2003). Il a déjà été montré que la souris glaneuse est capable d'extraire efficacement des informations à partir d'odeurs corporelles de congénères (Gouat et al., 1998; Busquet & Baudoin, 2005; Colombelli-Negrel & Gouat, 2006). Pour évaluer l'intérêt des mâles en couple pour des femelles étrangères, ces derniers ont été soumis à des tests de double choix olfactif confrontant des odeurs de femelles étrangères et l'odeur familiale (partenaire et jeunes présents au nid). Le test de double choix olfactif n'évalue pas directement le choix d'un partenaire sexuel mais estime un choix apparent par le biais de l'expression d'un intérêt social et sexuel. Des études antérieures ont toutefois révélé que les préférences exprimées par les animaux dans les tests de choix olfactifs étaient cohérentes avec les préférences relatives à l'accouplement et donnaient des indications fiables sur au moins les composantes appétitives du choix du partenaire chez la souris (Krackow & Matuschak, 1991; Lenington et al., 1992; Ehman & Scott, 2001).

2 Matériel et méthodes

2.1 Animaux et conditions d'élevage

Les animaux utilisés dans cette expérience sont issus d'un stock de 80 individus collectés à Gyöngyös (Hongrie) en 1999. Les souris ont été maintenues et élevées au Laboratoire d'Éthologie Expérimental et

Comparée (Villetaneuse, France) pendant 15 générations. L'introduction de quelques individus (moins d'une dizaine) capturés sur le même site est réalisée tous les trois/quatre ans. A partir du 35^e jour postnatal, les animaux sont hébergés en groupe de 2 à 5 individus entre apparentés de même sexe dans des cages standard de polycarbonate (26 x 14 x 16 cm, Iffa Credo, Lyon, France) dans lesquelles sont disposés de la litière végétale (Special Diet Services, Witham, Essex, UK) et des boules de coton comme matériel de construction. La nourriture (type M20, Special Diet Services, Witham, Essex, UK) et l'eau sont disponibles *ad libitum*. Les animaux sont acclimatés durant deux semaines dans la salle d'expérimentation sous une température de 20 ±2°C et un cycle jour/nuit de 14h/10h.

2.2 Procédure expérimentale

Quarante-huit animaux ont été sélectionnés aléatoirement afin de former 24 couples à deux âges différents, 3 mois (mean ±SD ; femelles : 82 ±3.9 j, mâles : 81.4 ±3.5) et 6 mois (femelles : 194 ±31.9 j, mâles : 195.2 ±30.3). Chaque couple est constitué d'un mâle et d'une femelle non-apparentés (aucun grand-parent en commun) et sexuellement inexpérimentés. Ils sont hébergés dans une cage (28 x 41.5 cm et 15 cm de haut) avec de la nourriture et de l'eau *ad libitum* et des boules de coton comme matériel de construction. Les couples sont maintenus au maximum jusqu'au sevrage de leur 4^e portée.

Le test de double choix a lieu pendant la première moitié de la phase nocturne, période d'activité de *M. spicilegus*. La salle d'expérimentation présente les mêmes conditions de température et d'éclairage que la salle d'élevage. Afin d'évaluer si la durée de vie commune et de l'expérience socio-sexuelle qui lui est associée affecte l'intérêt du mâle pour une femelle étrangère, le test de double choix olfactif se déroule à trois moments de la vie reproductive des couples : 7 jours après la 1^{re}, la 2^e et la 4^e mise bas (P1, P2, et P4, soit 3 sessions de test).

Le coton servant à la construction du nid a été choisi comme stimulus olfactif. En utilisant le matériel qui constitue le nid, seuls les indices olfactifs sont testés et nous évitons tout facteur confondant qui proviendrait des interactions directes entre animaux. Le coton utilisé a été mis à disposition des souris au minimum une semaine avant les tests afin de permettre à leur odeur corporelle de s'y intégrer. Le coton est recueilli au début de chaque expérience (2.8 g ±0.1) et gardé dans des boîtes de Petri jusqu'à ce qu'il soit disposé dans le dispositif.

Au cours de chaque sessions de test, chaque mâle est soumis à 3 types de sources odorantes : une *odeur neutre*, l'*odeur familiale* et l'*odeur d'une femelle étrangère*. L'odeur neutre provient d'un coton propre (sorti

du sac). L'odeur familiale est issue du nid du couple et comprend donc l'odeur de la partenaire et des jeunes présents au nid. Au moment du test, la partenaire du mâle est non réceptive sexuellement (l'unique monte post-partum a eu lieu avant le 7^e jour post-partum chez tous les couples, données non présentées). Enfin l'odeur de la femelle étrangère provient du nid d'une femelle qui est non familière, non apparentée (pas de grand-parents en commun) et de même âge que le mâle et sa partenaire. Elle est sexuellement inexpérimentée et, la présence d'un mâle étant nécessaire pour déclencher l'œstrus chez cette espèce (Féron & Gheusi, 2003), elle est aussi considérée comme non réceptive sexuellement. L'identité de la femelle étrangère est différente pour les 3 tests de choix (P1, P2 et P4). Afin de pouvoir prélever du coton ne contenant que leur odeur, les femelles étrangères utilisées pour les tests sont hébergées seules dans une cage (26 x 14 x 16 cm, Iffa Credo, Lyon, France) avec eau et nourriture disponibles *ad libitum*.

Les deux stimuli olfactifs présentés simultanément sont disposés dans deux boîtes (3.5 cm de diamètre) percées sur leur dessus (15 trous d'environ 1 mm de diamètre) et fixées à un support qui leste l'ensemble évitant ainsi que les animaux ne déplacent le dispositif. Les deux boîtes sont espacées de 10 cm et séparées par une cloison qui permet de manipuler aisément le dispositif. Les mâles sont placés dans la cage de test pour une période d'acclimatation de 3 minutes. Le sol de la cage (cage en polycarbonate, 26 x 14 et 16 cm de haut, Iffa Credo, Lyon, France) est recouvert d'une fine couche de sciure (10 g \pm 0.1) pour limiter l'enfouissement du dispositif par les animaux. Une plaque de plexiglas percée de plusieurs trous est disposée sur la cage afin d'éviter la fuite des souris et permettre les observations.

La procédure expérimentale consiste en deux phases : une phase de pré-exposition et une phase test (Figure 7). Chaque phase dure 5 minutes et commence au premier mouvement de l'animal. La *phase de pré-exposition* consiste à présenter simultanément aux mâles l'odeur de la femelle étrangère et l'odeur neutre (contrôle). Cette phase permet de :

1. évaluer l'intérêt spontané du mâle pour l'odeur d'une femelle étrangère,
2. familiariser le mâle avec l'odeur de la femelle étrangère (éliminer l'effet de nouveauté),
3. détecter une éventuelle détérioration importante des capacités olfactives des mâles âgés (pré-requis pour évaluer l'évolution de l'intérêt olfactif des mâles).

Nous supposons que l'odeur neutre devrait être moins attractive pour les souris que l'odeur d'un congénère, et si les individus ne souffrent pas de troubles olfactifs sévères devraient donc présenter une préférence nette en faveur de l'odeur de la femelle étrangère. Trois minutes après cette première étape, la *phase test* est réalisée. Elle consiste à présenter simultanément aux mâles l'odeur de la femelle étrangère, stimulus désormais familier,

et l'*odeur familiale*. La position des deux stimuli (droite et gauche) est alternée entre les deux phases d'un test.

Le déroulement des tests est filmé puis analysé grâce à un logiciel (JWatcher, v. 1.0 ; Blumstein & Evans 2000). Pour les deux étapes de la procédure, le temps d'investigation des stimuli odorants est relevé (tête orientée à au moins 1 cm du dispositif) et le *pourcentage de temps à flairer l'odeur de la femelle étrangère* est calculé. Les animaux testés sont replacés après les tests dans leur cage d'origine et le dispositif est nettoyé à l'aide de solution de Cleansinald (Johnson Diversey).

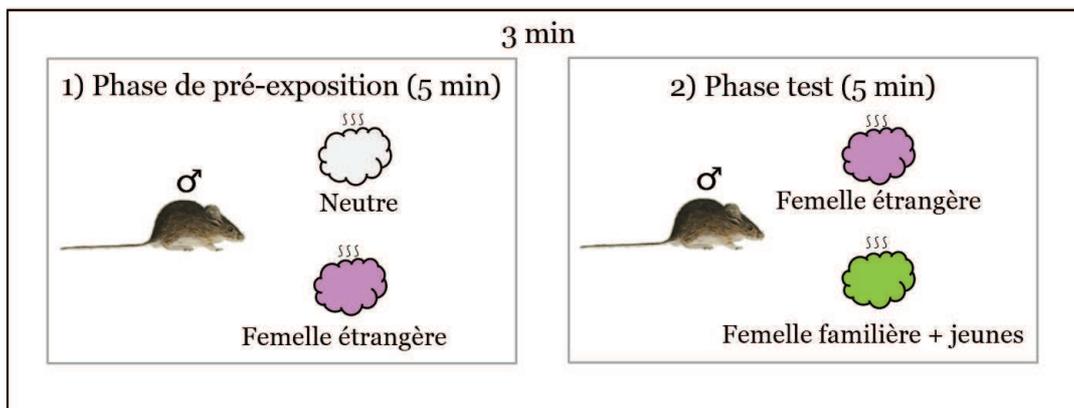


FIGURE 7 – Schéma expérimental du test de double choix olfactif. Après 3 minutes d'acclimatation dans la cage de test, les mâles sont soumis à deux phases de test successives de 5 minutes chacune. Le coton servant à la construction du nid (pour les odeurs sociales) et du coton propre (pour l'odeur neutre) ont été choisis comme stimulus olfactif. Pour chaque phase, le pourcentage de temps à flairer l'odeur de la femelle étrangère est calculé. Les mâles sont ensuite replacés avec leur partenaire. Les tests de choix sont réalisés en début, milieu et fin de vie reproductive des mâles et l'identité des femelles étrangères est différente durant ces trois sessions.

2.3 Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R version 3.0.2 (R Development Core Team, 2012). Afin de tester les effets de l'âge de mise en couple (facteur à deux niveaux) et de l'expérience socio-sexuelle (facteurs à 3 niveaux) sur l'intérêt du mâle pour une femelle étrangère (pourcentage de temps à flairer l'odeur de la femelle étrangère), nous avons réalisé des modèles linéaires mixtes (LMM) grâce au package Lme4 (Bates, 2005). L'interaction entre les deux facteurs a également été analysée. L'absence de colinéarité entre les variables explicatives (fonction vif.m) a été vérifiée. L'identité des couples (n = 21) a été intégrée comme facteur aléatoire. Nous avons utilisé une procédure d'élimination descendante (backward elimination) afin de réduire progressivement le nombre de variables et de conserver le modèle minimal (le

modèle initial est le modèle complet et, à chaque étape une variable qui mène à la plus petite diminution de l'ajustement du modèle, c'est-à-dire la moins significative, est exclue). Les comparaisons post-hoc ont été réalisées grâce à des LMM entre les groupes respectifs. Enfin, pour connaître la préférence des mâles pour l'une des deux sources odorantes présentées lors de la phase de pré-exposition et la phase test, nous avons réalisé des tests de Friedman sur les pourcentages de temps à flairer les deux stimuli.

2.4 Note éthique

Compte tenu du stress important lié aux manipulations chez les animaux de type sauvage et à la présence de nouveau-nés lors des sessions de tests, l'utilisation d'odeurs a été préférée à celle d'animaux comme stimuli olfactifs. Les animaux testés sont séparés de leur famille respective seulement durant la durée des tests et sont replacés dans leur cage d'origine immédiatement après. Les animaux sont déposés dans la cage de test à l'aide d'une boîte en plastique (7 x 7 x 15 cm) utilisée pour les manipulations routinières. Le coton retiré des nids est remplacé par une quantité équivalente après les tests. Seul le nombre minimum de femelles étrangères sélectionnées pour les tests est utilisé. Elles sont gardées un mois en isolement mais sans privation sociale visuelle, olfactive et auditive. Leur aspect corporel général (posture prostrée, faible réactivité lors des manipulations ou pelage en mauvais état) et leur poids sont relevés régulièrement au cours de leur période d'isolement. Puisque les souris isolées ne peuvent servir à d'autres expériences ou retourner dans le stock d'élevage pour des raisons sanitaires, elles sont euthanasiées à la fin du mois d'isolement (isoflurane puis dioxyde de carbone). Ces procédures expérimentales ont été approuvées par un comité d'éthique (Comité régional d'éthique en expérimentation animale No. 3 d'Ile-de-France : Ce5/2010/078).

3 Résultats

Sur les 12 couples formés à l'âge de 3 mois, 11 se sont reproduits une fois, 10 deux fois et 9 sont arrivés jusqu'à la quatrième portée. Pour les couples formés à 6 mois, 11 se sont reproduits une et deux fois et 9 ont atteint la quatrième portée. Tous les mâles ont flairé les deux stimuli présentés lors de chaque phase de test. Les temps de flairage sont résumés dans le tableau 2 (voir Annexes page 85).

Lors de la phase de pré-exposition, l'intérêt du mâle pour l'odeur d'une femelle étrangère présentée simultanément à une odeur neutre est stable au fil de la vie reproductive ($\chi^2 = 0.33$, $p = 0.85$) et n'est pas affectée par l'âge de mise en couple des mâles ($\chi^2 = 0.13$, $p = 0.72$). L'interaction entre ces deux facteurs est

également non significative ($\chi^2 = 0.89$, $p = 0.64$). Globalement, les mâles ont une préférence olfactive pour l'odeur de la femelle étrangère ($79\% \pm 1.1$ SE) lorsqu'elle est présentée simultanément à une odeur neutre ($F(1,59) = 469.9$, $p < 0.001$; Figure 8a).

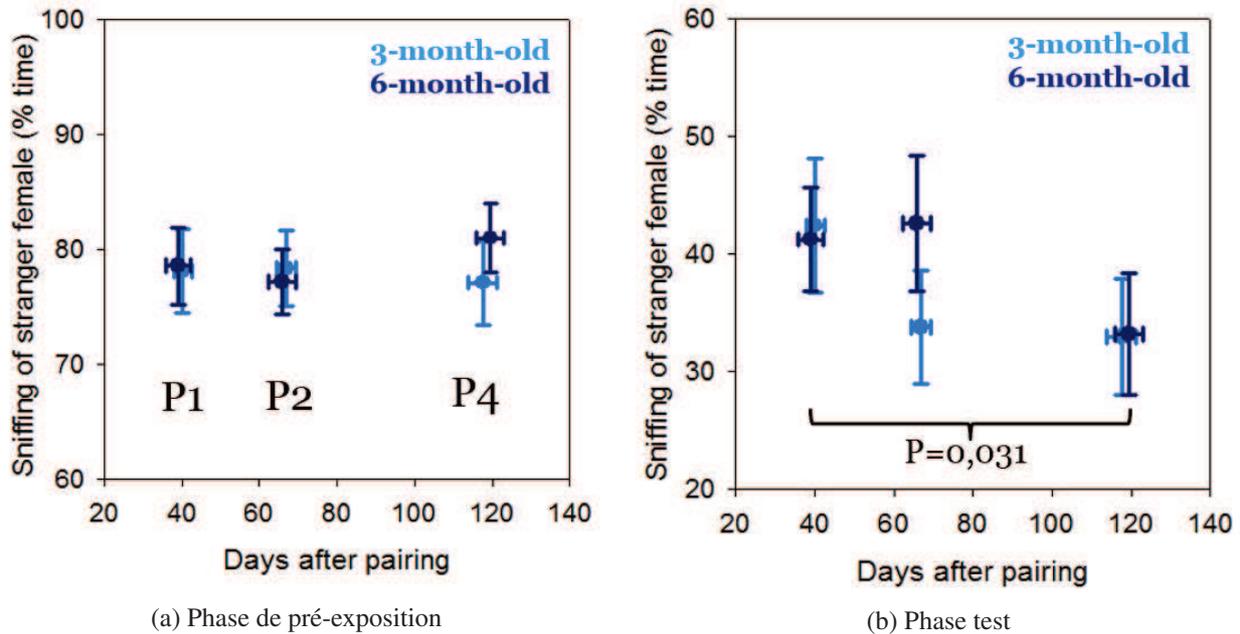


FIGURE 8 – Pourcentage de temps que les mâles passent à flairer l'odeur de la femelle étrangère pendant les trois sessions de tests (P1, P2 et P4) lors de la phase de pré-exposition (a) et la phase test (b). L'odeur de la femelle étrangère est présentée simultanément à une odeur neutre lors de la phase de pré-exposition et à l'odeur familiale lors de la phase test. Les pourcentages de temps de flairage des mâles mis en couple à 3 mois apparaissent en bleu clair et ceux des mâles mis en couple à 6 mois en bleu foncé. Les trois sessions de test sont réalisées au 7^e jour après la mise-bas de la 1^{re} (P1), de la 2^e (P2) et de la 4^e portée (P4).

Lors de la phase test, l'intérêt du mâle pour l'odeur d'une femelle étrangère est significativement réduite au cours de la durée de vie reproductive ($\chi^2 = 6.29$, $p = 0.043$; Figure 8b). Les mâles ont moins d'intérêt pour l'odeur d'une femelle étrangère en fin de vie qu'en début de vie reproductive (P1 vs P4 : $\chi^2 = 4.67$, $p = 0.031$; P1 vs P2 : $\chi^2 = 1.20$, $p = 0.27$; P4 vs P2 : $\chi^2 = 1.87$, $p = 0.17$). Quelle que soit la durée de vie commune avec leur partenaire, la préférence olfactive des mâles est toujours en faveur de l'odeur familiale lorsqu'elle est présentée simultanément à l'odeur de la femelle étrangère (P1 : $58\% \pm 0.04$ SE, $F(1,20) = 5.36$, $p = 0.031$, P2 : $62\% \pm 0.4$ SE, $F(1,18) = 9.21$, $p = 0.007$ et P4 : $67\% \pm 0.3$ SE, $F(1,16) = 23.91$, $p < 0.001$). L'âge de mise en couple n'a cependant pas d'effet sur l'intérêt du mâle pour l'odeur d'une femelle étrangère ($\chi^2 = 0.05$, $p = 0.83$) et l'interaction entre les deux facteurs n'apparaît pas significative ($\chi^2 = 3.72$, $p = 0.16$).

4 Discussion

Cette étude dévoile que :

1. les mâles *M. spicilegus* expriment une préférence olfactive pour l'odeur familiale lorsqu'elle est présentée simultanément à l'odeur d'une femelle étrangère,
2. l'intérêt du mâle pour les odeurs de femelles étrangères diminue au profit de l'odeur familiale au fil de la vie reproductive du mâle,
3. les mâles âgés ne semblent pas souffrir de déficits olfactifs sévères empêchant la discrimination des stimuli odorants. Une étude antérieure appuie ce résultat (Colombelli-Negrel & Gouat, 2006).

Les mâles ont une préférence pour l'odeur familiale qui correspond notamment à l'odeur de leur partenaire par rapport à celle de femelles étrangères quel que soit leur âge à la mise en couple ou leur durée de vie reproductive commune avec leur partenaire. Chez le campagnol des prairies, il a également été montré que les mâles expriment une préférence pour leur partenaire (Nair & Young, 2006). Notre étude est cependant la première à décrire une préférence olfactive du mâle *M. spicilegus* pour des odeurs associées à leur partenaire sexuelle et à montrer que cette préférence se maintient également sur une période d'environ 4 mois après la mise en couple, correspondant à la durée de la vie reproductive de ces animaux en conditions naturelles (Milishnikov et al., 1998). Les femelles *M. spicilegus* expriment également une forte préférence pour leur partenaire familial. Si des femelles en couple sont mises en contact avec un mâle non familial, peu d'entre elles acceptent de se reproduire avec celui-ci (Patris & Baudoin, 1998). Si une expérience de mise en contact direct similaire est envisageable en plaçant des mâles préalablement en couple avec une femelle sexuellement réceptive, une telle situation ne correspondrait néanmoins que peu à ce à quoi un mâle pourrait être confronté en situation naturelle. L'œstrus des femelles de cette espèce étant généralement conditionné à l'interaction préalable avec un mâle (Féron & Gheusi, 2003) il est en effet peu probable qu'un mâle soit confronté *in situ* à une femelle en œstrus qui ne soit déjà courtisée par un mâle. Notre procédure tente davantage de mimer une situation dans laquelle un mâle apparié est confronté à une odeur déposée dans l'environnement par une femelle étrangère, cette dernière pouvant alors éventuellement le motiver à la rejoindre.

La préférence olfactive des mâles pour l'odeur familiale s'accroît au fil de la vie reproductive du couple. Ce résultat pourrait résulter de plusieurs processus possiblement synergiques. La force du lien qui unit les mâles à leur femelle pourrait, d'une part s'intensifier au fil de la vie commune des partenaires et, d'autre part, la motivation sexuelle des mâles pourrait globalement se réduire au cours du temps. Néanmoins, il est peu probable que la diminution de l'intérêt des mâles pour les femelles étrangères proviennent d'un désintérêt pour la source olfactive en elle-même par le biais par exemple d'un phénomène d'habituation. En effet, les

odeurs présentées au cours des 3 sessions de test (P1, P2 et P4) proviennent de trois femelles différentes et les résultats obtenus lors de la phase de pré-exposition, montrent que l'intérêt spontané des mâles pour l'odeur des femelles étrangères est stable au cours de la vie reproductive.

L'augmentation de la préférence du mâle pour sa partenaire pourrait être expliquée grâce aux mécanismes neuronaux sous-jacents à la formation des liens sociaux. Chez le campagnol des prairies, il a été montré que l'arginine vasopressine (AVP) était impliquée dans la formation du lien que le mâle développe pour sa femelle (Winslow, 1993). Lors de chaque accouplement l'AVP est relâchée dans le cerveau (Morales et al., 2004) et active des récepteurs neuronaux impliqués dans la sensation de plaisir et de récompense (Brandon, 2010) mais aussi d'autres récepteurs impliqués dans la mémoire, l'apprentissage, la thermorégulation et le toilettage qui sont des aspects importants de l'affiliation entre partenaires (souvenir du partenaire, comportement de blotissement pour la thermorégulation, allotoilettage...) (Winslow, 1993). Si un tel mécanisme existe chez la souris glaneuse, les copulations post-partum, même réduites, pourraient être à l'origine du renforcement de la préférence du mâle pour sa partenaire. L'oxytocine pourrait être aussi une candidate potentielle mais son rôle dans la formation du partenaire est peu étudié chez le mâle (Cho et al., 1999; Liu et al., 2001) et son action semble spécifique aux femelles (Insel et al., 1995). Il a été également proposé que les liens sociaux soient régis par un système "bi-dimensionnel". La formation et la maintenance des liens entre partenaires seraient sous le contrôle de circuits neuronaux distincts, impliquant d'une part des mécanismes de récompense lors de la formation des liens sociaux et d'autre part des mécanismes aversifs de détresse sociale qui assureraient leur maintien (Nair & Young, 2006).

L'odeur familiale présentée aux mâles est issue du coton formant le nid du couple. En plus de l'odeur de la femelle familière, l'odeur de la portée présente dans le nid au moment des tests compose également le stimulus olfactif. L'attractivité de l'odeur des nouveau-nés sur les femelles est bien connue chez certaines espèces de mammifères comme par exemple, la brebis (Lévy, 2005) mais peu d'études portent sur les rongeurs. On sait toutefois que chez le rat de laboratoire (*Rattus norvegicus*), les mères sont attirées par des indices olfactifs (composé phéromonal) provenant des nouveau-nés (Brouette-Lahlou et al., 1991). L'attrait du mâle pour les odeurs corporelles des nouveau-nés existe-telle aussi ? Nous ne pouvons pas écarter un possible effet de l'odeur des jeunes qui renforcerait la préférence olfactive de l'odeur familiale exprimée par les mâles. Nos résultats pourraient en effet différer de ceux obtenus si l'odeur familiale était remplacée pour l'odeur de la partenaire seule. Toutefois, notre situation expérimentale coïncide avec celle trouvée en conditions naturelles lors de la saison de reproduction durant laquelle la présence des jeunes dans le nid est quasi-permanente.

Si les mâles *M. spicilegus* expriment une préférence croissante pour leur partenaire pouvant limiter les copulations hors couples, d'autres mécanismes pourraient appuyer ce phénomène. De nombreux travaux antérieurs ont montré que les souris glaneuses mâles et femelles sont fortement agressives envers les congénères non familiers (Patris et al., 2002; Simeonovska-Nikolova, 2003; Szenczi et al., 2012). En conditions de laboratoire, la réunion d'un mâle et d'une femelle est suivie de forts comportements agonistiques (Busquet et al., 2009) qui peuvent durer jusqu'à 5 jours (Simeonovska-Nikolova & Lomlieva, 2012). Une période de familiarisation est nécessaire pour voir émerger une tolérance sociale entre les deux individus qui vont par la suite former un couple (Patris & Baudoin, 1998). Cette période de familiarisation nécessaire à la formation des couples et qui repousse les premiers comportements reproducteurs pourrait, en conditions naturelles, limiter les copulations extra-conjugales. Finalement, compte tenu des coûts (énergie, stress) liés au début de reproduction, il semble peu avantageux pour les mâles de se reproduire avec une femelle étrangère. Cette situation pourrait être néanmoins favorisée si la partenaire du mâle abandonne le nid, pour cause de mortalité par exemple. À l'heure actuelle, aucune donnée n'est disponible concernant la proportion de couples reformés chez la souris glaneuse. Des études conduites sur le terrain ont cependant révélé la présence de mâles et femelles adultes seuls lors de la saison de reproduction (Simeonovska-Nikolova, 2007). Si ces animaux correspondent à des individus précédemment appariés, ce constat laisserait penser que, tout comme chez le campagnol des prairies, les individus survivants reformeraient rarement de nouveaux couples (Sue Carter et al., 1995; Young et al., 2011).

4.1 Annexes

TABLEAU 2 – Temps de flairage (s) des mâles suivant leur âge et leur durée de vie reproductive lors de la phase de pré-exposition et la phase test (moyenne \pm SEM). Phase de pré-exposition : odeur neutre (N) vs odeur de femelle étrangère (E) ; Phase test : odeur familiale (F) vs odeur de femelle étrangère (E) ; P1, P2, P4 : début, milieu et fin de vie reproductive. À P1, N = 11 pour les deux classes d'âge, à P2 N = 10 pour la classe d'âge de 3 mois et N = 11 pour la classe d'âge de 6 mois et à P4 N = 9 pour les deux classes d'âge.

	Phase de pré-exposition				Phase test			
	3 mois		6 mois		3 mois		6 mois	
	N	E	N	E	F	E	F	E
P1	13.7 \pm 2.9	47.2 \pm 3.5	16.6 \pm 3.7	54.0 \pm 6.2	31.1 \pm 4.0	25.1 \pm 4.9	23.8 \pm 3.0	16.7 \pm 3.3
P2	7.9 \pm 0.8	32.4 \pm 4.0	7.8 \pm 1.0	30.3 \pm 5.0	28.4 \pm 2.6	14.4 \pm 2.1	18.9 \pm 4.2	14.5 \pm 3.5
P4	7.1 \pm 1.3	26.2 \pm 4.2	6.9 \pm 1.2	31.1 \pm 4.1	27.8 \pm 4.0	13.1 \pm 2.3	29.3 \pm 4.3	15.3 \pm 3.0

(*Mus spicilegus*) and polygynous mice (*Mus musculus domesticus*). *Canadian Journal of Zoology* **80**, 980–986.

Bibliographie

- Bates, D., 2005. Fitting linear mixed models in R. *R news* **5**, 27–30.
- Baudoin, C., Busquet, N., Dobson, F. S., Gheusi, G., Féron, C., Durand, J.-L., Heth, G., Patris, B., & Todrank, J., 2005. Male–female associations and female olfactory neurogenesis with pair bonding in *Mus spicilegus*. *Biological Journal of the Linnean Society* **84**, 323–334.
- Blumstein, D. T. & Evans, C. S. and Daniel, J. C., 2000. *JWatcher: An Introductory User's Guide*.
- Brandon, M., 2010. *Monogamy: The untold story*. ABC-CLIO.
- Brouette-Lahlou, I., Amouroux, R., Chastrette, F., Cosnier, J., Stoffelsma, J., & Vernet-Maury, E., 1991. Dodecyl propionate, attractant from rat pup preputial gland: characterization and identification. *Journal of Chemical Ecology* **17**, 1343–1354.
- Busquet, N. & Baudoin, C., 2005. Odour similarities as a basis for discriminating degrees of kinship in rodents: evidence from *Mus spicilegus*. *Animal Behaviour* **70**, 997–1002.
- Busquet, N., Leveille Nizerolle, C., & Féron, C., 2009. What triggers reproductive life? Effects of adolescent cohabitation, social novelty and aggression in a monogamous mouse. *Ethology* **115**, 87–95.
- Cho, M. M., DeVries, A. C., Williams, J. R., & Carter, C. S., 1999. The effects of oxytocin and vasopressin on partner preferences in male and female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behavioral Neuroscience* **113**, 1071.
- Cohas, A. & Allainé, D., 2009. Social structure influences extra-pair paternity in socially monogamous mammals. *Biology Letters* **5**, 313–316.
- Colombelli-Negrel, D. & Gouat, P., 2006. Male and female mound-building mice, *Mus spicilegus*, discriminate dietary and individual odours of conspecifics. *Animal Behaviour* **72**, 577–583.
- Dobson, F. S. & Baudoin, C., 2002. Experimental tests of spatial association and kinship in monogamous mice
- Ehman, K. & Scott, M., 2001. Urinary odour preferences of mhc congenic female mice, *Mus domesticus*: implications for kin recognition and detection of parasitized males. *Animal Behaviour* **62**, 781–789.
- Féron, C. & Gheusi, G., 2003. Social regulation of reproduction in the female mound-builder mouse (*Mus spicilegus*). *Physiology & Behavior* **78**, 717–722.
- Féron, C. & Gouat, P., 2007. Paternal care in the mound-building mouse reduces inter-litter intervals. *Reproduction Fertility And Development* **19**, 425–429.
- Gouat, P., Féron, C., & Demouron, S., 2003a. Seasonal reproduction and delayed sexual maturity in mound-building mice *Mus spicilegus*. *Reproduction, Fertility, and Development* **15**, 187–195.

- Gouat, P., Katona, K., & Poteaux, C., 2003b. Is the socio-spatial distribution of mound-building mice, *Mus spicilegus*, compatible with a monogamous mating system? *Mammalia* **67**, 15–24.
- Gouat, P., Patris, B., & Lalande, C., 1998. Conspecific and heterospecific behavioural discrimination of individual odours by mound-building mice. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Serie III, Sciences de la Vie* **321**, 571–575.
- Gubernick, D., 1994. Biparental care and male-female relations in mammals. In S. Parmigiani & F. S. vom Saal, editors, *Infanticide and Parental Care*, chapter 18, pages 427–463. Chur, Switzerland: Harwood Academic Publishers.
- Insel, T. R., Preston, S., & Winslow, J. T., 1995. Mating in the monogamous male: behavioral consequences. *Physiology & Behavior* **57**, 615–627.
- Johnston, R. E., 2003. Chemical communication in rodents: from pheromones to individual recognition. *Journal of Mammalogy* **84**, 1141–1162.
- Kleiman, D. G., 1977. Monogamy in mammals. *Quarterly Review of Biology* **52**, 39–69.
- Krackow, S. & Matuschak, B., 1991. Mate choice for non-siblings in wild house mice: evidence from a choice test and a reproductive test. *Ethology* **88**, 99–108.
- Lenington, S., Coopersmith, C., & Williams, J., 1992. Genetic basis of mating preferences in wild house mice. *American Zoologist* **32**, 40–47.
- Lévy, F. & Fleming, A. S., 2005. The neurobiology of maternal behaviors in mammals. In P. J. Marshall & N. A. Fox, editors, *The Development of Social Engagement*, chapter 8. Oxford University Press.
- Liu, Y., Curtis, J. T., & Wang, Z., 2001. Vasopressin in the lateral septum regulates pair bond formation in male prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behavioral Neuroscience* **115**, 910.
- McGuire, B. & Getz, L. L., 2010. Alternative male reproductive tactics in a natural population of prairie voles *Microtus ochrogaster*. *Acta Theriologica* **55**, 261–270.
- Milishnikov, A. N., Rafiev, A. N., & Muntianu, A. I., 1998. Genotypic variability in populations of the mound-builder mouse *Mus spicilegus* pet., 1882, at various life cycle stages. *Genetika* **34**, 947–952.
- Morales, J., Cole, C., Neumann, I. D., Langraf, R., & Young, I. J., 2004. Vasopressin release in the ventral pallidum during mating in the monogamous male prairie vole. *Society for Neuroscience Abstracts* **214**, 1.
- Nair, H. P. & Young, L. J., 2006. Vasopressin and pair-bond formation: genes to brain to behavior. *Physiology* **21**, 146–152.
- Neodorf, D. L., 2004. Extrajair paternity in birds: understanding variation among species. *The Auk* **121**, 302–307.
- Patris, B. & Baudoin, C., 1998. Female sexual preferences differ in *Mus spicilegus* and *Mus musculus domesticus*: the role of familiarization and sexual experience. *Animal Behaviour* **56**, 1465–1470.
- Patris, B. & Baudoin, C., 2000. A comparative study of parental care between two rodent species: implications for the mating system of the mound-building mouse, *Mus spicilegus*. *Behavioral Processes* **51**, 35–43.
- Patris, B., Gouat, P., Jacquot, C., Christophe, N., & Baudoin, C., 2002. Agonistic and sociable behaviors in the mound-building mice, *Mus spicilegus*: a comparative study with *Mus musculus domesticus*. *Aggressive Behavior* **28**, 75–84.
- Poteaux, C., Busquet, N., Gouat, P., Katona, K., & Baudoin, C., 2008. Socio-genetic structure of mound-building mice, *Mus spicilegus*, in autumn and early spring. *Biological Journal of the Linnean Society* **93**, 689–699.
- R Development Core Team, 2012. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- Reichard, U. H. & Boesch, C., 2003. *Monogamy: Mating Strategies and Partnerships in Birds, Humans and Other Mammals*. Cambridge University Press.
- Simeonovska-Nikolova, D. & Lomlieva, M., 2012. Socio-sexual behavior of female mound-building mice, *Mus spicilegus*, in a forced-pairing experiment. *Natural & Mathematical Science* pages 1–5.
- Simeonovska-Nikolova, D. M., 2003. Social relationships and social structure of the mound-building mouse (*Mus spicilegus*) in intraspecific cage groups. *Acta Ethologica* **6**, 39–45.
- Simeonovska-Nikolova, D. M., 2007. Spatial organization of the mound-building mouse, *Mus spicilegus*, in the region of northern bulgaria. *Acta Zoologica Sinica* **53**, 22–28.
- Solomon, N. G., Keane, B., Knoch, L. R., & Hogan, P. J., 2004. Multiple paternity in socially monogamous prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Canadian Journal of Zoology* **82**, 1667–1671.
- Streatfeild, C. A., Mabry, K. E., Keane, B., Crist, T. O., & Solomon, N. G., 2011. Intraspecific variability in the social and genetic mating systems of prairie voles, *Microtus ochrogaster*. *Animal Behaviour* **82**, 1387–1398.

- Sue Carter, C., Courtney Devries, A., & Getz, L. L., 1995. Physiological substrates of mammalian monogamy: the prairie vole model. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **19**, 303–314.
- Szenczi, P., Bánszegi, O., Groó, Z., & Altbäcker, V., 2012. Development of the social behavior of two mice species with contrasting social systems. *Aggressive Behavior* **38**, 288–297.
- Tong, W., 2012. *Causes and consequences of cooperative construction in the mice Mus spicilegus and Peromyscus polionotus*. Ph.D. thesis, Harvard University, Cambridge, Massachusetts.
- Winslow, J. T., 1993. A role of central vasopressin in pair bonding in monogamous prairie voles. *Nature* **365**, 7.
- Yahner, R. H., 2011. *Wildlife behavior and conservation*. Springer.
- Young, K. A., Gobrogge, K. L., Liu, Y., & Wang, Z., 2011. The neurobiology of pair bonding: insights from a socially monogamous rodent. *Frontiers in Neuroendocrinology* **32**, 53–69.

Chapitre 5

Effets de l'âge de première reproduction et de la durée de vie reproductive sur les comportements parentaux

Effets de l'âge sur l'effort parental, le succès reproducteur et la sénescence reproductrice chez un rongeur monogame

Résumé

De nombreuses espèces montrent des changements dans la reproduction au cours du processus de vieillissement pouvant être expliqués par deux phénomènes non-exclusifs. L'hypothèse de contrainte prédit que les parents âgés devraient augmenter leur effort reproducteur quand les individus ont peu à gagner à réserver des ressources pour une reproduction future. La sénescence peut cependant induire une diminution de succès reproducteur en fin de vie due au déclin des conditions physiques. Chez la souris glaneuse, une précédente étude a montré que les couples qui débutent leur reproduction à 6 mois présentent un succès reproducteur similaire aux jeunes individus reproducteurs de 3 mois. Ce résultat pourrait découler d'un effort reproducteur équivalent entre les couples jeunes et âgés ou impliquer une augmentation de l'effort reproducteur qui serait masqué par les conséquences délétères de la sénescence. L'objectif de cette étude est d'examiner les effets de l'âge sur l'effort reproducteur en examinant les comportements maternels et paternels de parents multipares mis en couple à 3 mois ou à 6 mois lors de leur 2^e et de leur 4^e portée. Nos résultats dévoilent que, pour atteindre un succès reproducteur équivalent, les couples de 3 mois et 6 mois présentent des stratégies parentales différentes qui évoluent peu au fil des portées successives. Comparativement aux jeunes couples, les couples de 6 mois sont plus présents au nid, laissent moins les jeunes seuls et allaitent ou recouvrent plus souvent leur progéniture ce qui suggère une augmentation de l'effort reproducteur des parents les plus âgés. Cependant, il apparaît que l'effort parental des couples âgés ne s'accompagne pas d'une hausse de la qualité des soins. Les couples âgés n'expriment pas plus, voire expriment moins de postures arquées ou des comportements de léchage/toilettage qui sont sources de stimulations pour les jeunes. En fin de vie reproductive, les parents mis en couple à 6 mois produisent des nouveau-nés plus petits que les jeunes couples à la même période, suggérant une sénescence plus précoce chez les couples qui débutent leur reproduction tardivement. Cette différence n'est plus visible dès le 7^e jour post-partum, probablement grâce aux soins combinés des deux parents.

Mots-clefs : comportements maternels, comportements paternels, vieillissement, effort reproducteur, taille de la portée, vie reproductive, test de récupération des jeunes

1 Introduction

Chez tout organisme, l'énergie disponible est limitée et doit être partagée entre plusieurs fonctions biologiques telles que la maintenance, la croissance et la reproduction (Roff, 1992; Stearns, 1992). Produire et élever des jeunes implique une dépense énergétique élevée de la part des femelles mammifères (Clutton-Brock, 1991; Thompson, 1992). La lactation, par exemple, entraîne une augmentation de l'énergie requise pouvant atteindre 200% des dépenses énergétiques de base (voir pour revue Sikes & Ylönen, 1998) à laquelle s'ajoute le coût de la gestation et des investissements temporels et énergétiques substantiels dans les comportements parentaux comme nourrir, garder au chaud ou lécher/toiletter les jeunes (Hill, 1992). Chez certaines espèces comme les rongeurs, la concomitance de la lactation et de la gestation découlant des accouplements post-partum (Gilbert, 1984; Johnson et al., 2001) alourdit également le coût des événements reproducteurs successifs.

Bien qu'extrêmement exigeantes, les contraintes énergétiques de la reproduction peuvent être amoindries en les répartissant entre plusieurs individus. Chez certaines espèces de rongeurs comme la souris domestique, l'élevage communautaire combiné à la synchronisation partielle des mises bas, diminuerait les demandes énergétiques des femelles (König, 2006) et améliorerait leur succès reproducteur (König, 1993, 1994). L'investissement du père dans les soins parentaux permet également d'alléger efficacement les coûts de la reproduction pour les femelles. Chez les espèces monogames, les comportements paternels sont généralement une composante importante pouvant jusqu'à expliquer l'origine du maintien d'un tel système d'appariement chez certains animaux (Gubernick & Teferi, 2000; Wright, 2006). L'implication du père dans les soins apportés aux jeunes permet à la femelle d'augmenter le succès reproducteur du couple en ayant par exemple, un nombre de descendants plus élevé (Gubernick & Teferi, 2000; Wright, 2006) ou des descendants de meilleure qualité (Hunt & Simmons, 2000). Bien que plus rarement étudiés, les comportements paternels peuvent également impliquer des coûts énergétiques importants pour les mâles. Par exemple, chez les campagnols des prairies (*Microtus orchrogaster*), les pères qui prodiguent une quantité importante de soins aux jeunes subissent une baisse importante de leur réserve énergétique et ce, même en conditions de laboratoire où la nourriture est disponible *ad libitum* (Campbell et al., 2009). Certaines des différences observables dans la manifestation des soins parentaux, maternels et paternels, pourraient relever de stratégies guidées par une gestion optimale de l'énergie que les parents peuvent allouer à la reproduction.

Les individus peuvent également repousser leur période de reproduction si les coûts d'une reproduction immédiate en termes de survie, de futurs événements reproducteurs ou de croissance somatique dépassent

les bénéfiques (Tavecchia et al., 2001; Oli et al., 2002). Ce délai de l'âge de première reproduction pourra par exemple, permettent aux individus de faire face à des contraintes écologiques (i.e disponibilité en ressources alimentaires) mais impliquera néanmoins des coûts (i.e mort avant la reproduction, moins d'énergie à allouer à la reproduction notamment en fin de vie).

La souris glaneuse (*Mus spicilegus*) est un rongeur endémique d'Europe centrale et orientale inféodé aux zones agricoles. Cette espèce est connue pour présenter un système d'appariement monogame (Patris & Baudoin, 1998) et des soins paternels importants (Patris & Baudoin, 2000). Cet investissement paternel permet notamment aux femelles d'accroître leur succès reproducteur en diminuant l'intervalle entre les portées (Féron & Gouat, 2007). Chez cette souris, la reproduction est assurée par deux cohortes qui initient leur vie reproductive à des âges différents (Milishnikov et al., 1998). Les juvéniles nés à la fin de l'été et au début de l'automne retardent leur reproduction de plusieurs mois. Durant l'hiver, ils vont cohabiter dans un tumulus (Poteaux et al., 2008) entre individus apparentés (Garza et al., 1997) sans se reproduire. Les adultes ne survivront pas au delà de la période hivernale (Garza et al., 1997; Simeonovska-Nikolova, 2007; Poteaux et al., 2008). C'est au début du printemps, lorsque les conditions environnementales sont redevenues favorables, que ces individus alors âgés de 6 à 8 mois, vont disperser et débiter leur vie reproductive (Gouat et al., 2003b). Les descendants de ces couples âgés vont quant à eux initier leur reproduction dès l'âge de 3 mois à partir de la fin du printemps (Sokolov et al., 1998; Gouat et al., 2003a). Les couples termineront au plus tard leur vie reproductive au début de l'automne après une vie reproductive d'environ 4 mois (Milishnikov et al., 1998). Durant cette courte période, les femelles vont présenter des œstrus post-partum qui vont permettre aux couples de produire jusqu'à 4/5 portées (Sokolov et al., 1998).

Une précédente étude a montré qu'en conditions standardisées, les couples formés à 6 mois présentaient, lors des 3 premières portées, un succès reproducteur (survie et masse corporelle de la descendance au sevrage) équivalent aux individus qui débutaient leur reproduction vers 3 mois (Lafaille et al., 2014). Ce résultat pourrait découler de plusieurs situations. Soit les parents de 3 et 6 mois ont adopté des stratégies parentales semblables (même allocation énergétique à la reproduction) avec des coûts reproductifs similaires ce qui a mené à un output reproductif équivalent. Soit les couples de 6 mois ont fourni un effort parental plus important mais leur âge avancé ne leur permettant pas de supporter des coûts reproductifs élevés, leur succès reproducteur n'a pas dépassé celui des jeunes couples. Il y existerait donc une relation compensatoire entre la réduction des ressources liée à l'âge (sénescence) et l'investissement de ces ressources dans la reproduction (effort reproducteur). Cette augmentation de l'effort reproducteur pourrait se traduire par une augmentation de la quantité mais aussi de la qualité des soins prodigués aux jeunes qui influencerait directement leur survie et

leur développement. La taille de la portée pourrait également influencer les stratégies comportementales des individus et avoir des conséquences différentes, notamment lors des portées populeuses, sur l'effort parental chez les couples de 3 mois et de 6 mois.

L'objectif de cette étude est donc de réaliser une description fine des comportements parentaux de la souris glaneuse afin de préciser si des animaux dont l'âge de première reproduction a été retardée adoptent des stratégies comportementales similaires ou distinctes des jeunes adultes pour atteindre des performances reproductrices égales. Les comportements parentaux de couples formés à l'âge de 3 et de 6 mois seront comparés d'une part en début de vie reproductive (2^e portée) et d'autre part en fin de vie reproductive (4^e portée) afin de révéler quelle stratégie comportementale est développée par les parents âgés pour maintenir leur succès reproducteur. Ce dernier sera appréhendé par la masse corporelle et le nombre de jeunes produits.

2 Matériel et méthodes

2.1 Animaux et conditions d'élevage

Les animaux utilisés dans cette expérience sont issus d'un stock de 80 individus collectés à Gyöngyös (Hongrie) en 1999. Les souris ont été maintenues et élevées au Laboratoire d'Éthologie Expérimental et Comparée (Villetaneuse, France) pendant 15 générations. L'introduction de quelques individus (moins d'une dizaine) capturés sur le même site est réalisée tous les trois/quatre ans. A partir du 35^e jour postnatal, les animaux sont hébergés en groupe de 2 à 5 individus entre apparentés de même sexe dans des cages standard en polycarbonate (26 x 14 x 16 cm, Iffa Credo, Lyon, France) dans lesquelles sont disposés de la litière végétale (Special Diet Services, Witham, Essex, UK) et des boules de coton comme matériel de construction. La nourriture (type M20, Special Diet Services, Witham, Essex, UK) et l'eau sont disponibles *ad libitum*. Les animaux sont acclimatés durant deux semaines dans la salle d'expérimentation sous une température de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ et un cycle jour/nuit de 14h/10h.

2.2 Suivi des comportements parentaux

2.2.1 Formation des couples

Nous avons formé 24 couples assignés de façon aléatoire à deux groupes de 12 individus d'âge différents : 3 mois et 6 mois. Afin de limiter la consanguinité, chaque couple est formé d'un mâle et d'une femelle non-apparentés (aucun grand-parent en commun) et nous avons également limité les différences de masse

corporelle importantes entre partenaires. Les mâles et les femelles ont été isolés une semaine avant la mise en couple afin de promouvoir l'activation sexuelle (Féron & Gheusi, 2003). Ils sont ensuite mis en couple (à la fin de la phase diurne) dans une cage (28 x 41.5 cm et 15 cm de haut) avec de la nourriture et de l'eau *ad libitum*. Du coton est fourni aux couples pour la construction du nid mais en quantité limitée (1.5 grammes) afin de faciliter les observations des comportements parentaux. Cette quantité est toutefois suffisante pour que les jeunes demeurent recouverts lors de la sortie du nid des parents. Le poids des individus est relevé une fois par semaine afin de surveiller la prise de poids et l'aspect général de chaque souris et de détecter une éventuelle gestation. Si aucune gestation n'est détectée 6 semaines après la mise en couple, les partenaires sont séparés et hébergés individuellement pendant une semaine. Après avoir vérifié l'absence de gestation, les individus sont remis en couple avec un autre partenaire non-apparenté. S'il est impossible de reformer des couples entre individus non-apparentés, les deux anciens partenaires sont remis en couple une seconde fois. Tout couple qui ne s'est pas reproduit durant la seconde tentative, est considéré comme non-reproducteur. Sur les 12 couples formés à l'âge de 3 mois, 11 ont débuté leur reproduction avec le premier partenaire imposé et 1 couple ne s'est pas reproduit lors de la seconde tentative. Sur les 12 couples formés à l'âge de 6 mois, 8 ont débuté leur reproduction avec le premier partenaire imposé. Sur les 4 couples qui ont été reformés une seconde fois, 3 se sont reproduits avec le second partenaire imposé. Au final, nous avons pu suivre les comportements parentaux de 11 couples de 3 mois et 11 couples de 6 mois. Les âges et les poids de ces individus lors des mises en couple efficaces sont détaillés dans le Tableau 3.

TABLEAU 3 – Âge (j) et poids (g) des couples reproducteurs lors de la mise en couple (moyenne \pm écart-type)

	Couples "3 mois"		Couples "6 mois"	
	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles
Âge (j)	82 \pm 3.9 (11)	81.4 \pm 3.5 (11)	194.1 \pm 31.9 (11)	195.2 \pm 30.3 (11)
Poids (g)	14 \pm 1.5 (11)	14.3 \pm 0.9 (11)	13.8 \pm 1.8 (11)	18.1 \pm 2 (11)

2.2.2 Observations des comportements maternels et paternels

Les comportements parentaux ont été relevés à deux périodes de la vie reproductive des couples, lors de la 2^e portée (P2) et de la 4^e portée (P4). Nous avons exclu une analyse des comportements lors de la 1^{re} portée (bien que tous les couples aient prodigué des soins lors de la 1^{re} portée) afin d'exclure la situation particulière

TABLEAU 4 – Éthogramme détaillé des comportements et postures maternels et paternels relevés durant l'observation des soins parentaux (Liu et al., 1997).

Catégorie	Comportement	Description
Occupation du nid	Présence au nid	- Le parent d'intérêt est dans le nid (intégralité du corps).
	Absence simultanée	- Les parents sont tous les deux absents simultanément du nid.
Postures d'allaitement	Allaitement	- La femelle est en posture d'allaitement et allaite au moins un de ses nouveau-nés (toutes postures confondues).
	Posture arquée	- La femelle est immobile au dessus des petits, le dos arqué, les pattes avant et arrière tendues, la tête inclinée vers le bas, le tronc et les membres sont bilatéralement symétriques et une grande majorité voire la totalité des petits sont attachés à ses mamelles. Cette posture permet un meilleur accès aux mamelles, les jeunes peuvent se mouvoir sous la mère.
	Posture simple	- La femelle est au dessus des petits, relativement immobile, bilatéralement symétrique, la tête non inclinée vers le bas, dans une posture relativement basse. Les pattes avant et/ou arrières peuvent être tendues ou la mère peut être allongée à plat sur les petits sans les membres tendus. Regroupe aussi l'ensemble des postures d'allaitement non classifiables comme posture arquée ou passive.
	Posture passive	- La femelle est étendue sur le côté avec généralement plus d'un petit attaché aux tétines. Posture plus relaxée que les deux précédentes, l'apport de chaleur et la disponibilité des mamelles est plus faible.
Postures paternelles	Recouvrement	- Le mâle couvre au moins un de ses nouveau-nés toutes postures confondues.
	Posture simple	- Le mâle adopte une posture similaire à la posture simple de la femelle.
	Posture arquée	- Le mâle adopte une posture similaire à la posture arquée de la femelle.
Autres soins parentaux	Léchage/toilettage	- Léchage/toilettage de toute partie du corps des nouveau-nés .

correspondant à l'inexpérience parentale. La taille des portées n'a pas été standardisée. Toutes les mises bas ont eu lieu durant les 10 premières heures de la phase diurne (22h00-8h00). Le jour de la mise bas est désigné comme le premier jour post-partum (J1). Les comportements parentaux sont observés pendant une période de 10 secondes toutes les 2 minutes pendant 2 heures (une heure durant la phase diurne, 10h30-11h30 et une heure durant la phase nocturne, 13h30-14h30) aux 1^{er}, 3^e, 5^e et 7^e jours post-partum. Un total de 240 relevés est donc obtenu en P2 et en P4 pour chaque couple. Un score de "1" ou "0" est attribué aux comportements suivant leur survenue durant la période d'observation de 10 secondes. L'ensemble des comportements relevés est listé et détaillé dans le Tableau 4.

2.2.3 Test de récupération des jeunes (Pup retrieval test)

Le test se déroule lors du 4^e jour post-natal en P2 et P4. Lors de la seconde partie de la phase diurne, les couples testés sont retirés de leur cage et placés dans une cage standard avec de la litière propre et de l'eau. Trois nouveau-nés sont choisis aléatoirement et disposés dans le coin de la cage d'origine opposé au nid. Après une minute, le mâle ou la femelle sont aléatoirement replacés au centre de la cage d'origine, tête orientée vers le nid. La latence (en secondes) à établir le contact avec un des nouveau-nés et les latences à rapporter le premier, le deuxième et le troisième nouveau-né après contact sont mesurées. Le temps nécessaire à rapporter les trois nouveau-nés après contact est calculé. Le test prend fin après 15 minutes (900 secondes) ou quand le parent a rapporté les trois nouveau-nés au nid. Une latence de 900 secondes est assignée à tout comportement non observé. Si les trois nouveau-nés ne sont pas rapportés par le premier parent testé et si la taille de la portée le permet, ils sont replacés dans le nid et trois autres nouveau-nés sont choisis pour le test du second parent. Ainsi, les jeunes ne sont pas isolés du nid plus de 16 minutes.

2.2.4 Succès reproducteur

Les 2^e et 4^e portées de chaque couple sont pesées et le nombre de jeunes qui les composent est relevé à J1 (mesure indirecte de la fécondité des femelles), J7 et J21 (sevrage). Ces mesures sont réalisées aux mêmes horaires (en phase nocturne, après la session d'observation). Une vérification supplémentaire du nombre de jeunes présents dans la portée est faite à J4 (lors du test de récupération des jeunes). Le poids de chaque nouveau-né est estimé en divisant le poids de la portée par le nombre total de nouveau-nés. Le nombre de jeunes atteignant l'âge du sevrage (J21) est également relevé lors des 1^{re} et 3^e portées .

2.3 Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R version 3.0.2 (R Development Core Team, 2012). Afin d'intégrer les différents facteurs et covariables susceptibles d'influencer les comportements parentaux et la masse corporelle des jeunes, nous avons eu recours à des modèles linéaires généralisés mixtes (GLMM, comportements parentaux) et modèles linéaires mixtes (LMM, masse corporelle des jeunes) et employé le package Lme4 (Bates, 2005). Pour les comportements parentaux, une loi de Poisson a été appliquée avec une fonction de lien "log" ou "identity" suivant la distribution des données. Pour la masse corporelle des jeunes, la validité des modèles linéaires mixtes a été vérifiée en contrôlant la normalité de la distribution des résidus (approche graphique, test de Shapiro) et l'homogénéité des variances (représentation des valeurs ajustées).

tées en fonction des résidus du modèle, Faraway 2006). Nous avons testé la présence éventuelle d'un problème de colinéarité entre les variables explicatives en examinant le facteur d'inflation de la variance (fonction $vif.m$). Un facteur d'inflation inférieur à 4 est fixé pour indiquer l'absence de colinéarité. Bien que les mâles mis en couple à 6 mois aient une masse corporelle significativement plus élevée que les mâles mis en couple à 3 mois (voir le Tableau 3), l'âge de mise en couple et la masse corporelle des mâles n'apparaissent pas colinéaires et peuvent être intégrés ensemble dans les modèles. L'identité des couples ($n = 21$) et une identité aléatoire pour chaque individu (prise en compte de la sur-dispersion, $n = 37$) ont été utilisées comme facteurs aléatoires. Nous avons utilisé une procédure d'élimination descendante (backward elimination) afin de réduire progressivement le nombre de variables et de conserver le modèle minimal (le modèle initial est le modèle complet et, à chaque étape, une variable qui mène à la plus petite diminution de l'ajustement du modèle c'est-à-dire la moins significative est exclue). Pour les covariables significatives, un pseudo R^2 (noté R^2N) est calculé en utilisant la méthode de Nagelkerke (1991). Les comparaisons post-hoc ont été réalisées grâce à des GLMM/LMM entre les groupes respectifs. Deux couples ont été retirés de ces analyses pour cause de cannibalisme lors de la mise bas de la quatrième portée (couples de 3 mois, $P2 N = 10$; $P4, N = 8$; couples de 6 mois : $P2 N = 11$; $P4, N = 8$).

Nous avons testé les effets de l'âge de mise en couple (facteur à deux niveaux), les effets de la durée de vie reproductive (facteurs à deux niveaux) et l'interaction entre ces deux facteurs sur l'occurrence des comportements maternels et paternels observés. Nous avons inclus également le nombre de jeunes présents dans la portée et la masse corporelle de la mère ou du père à la mise en couple comme covariables dans le modèle. Les interactions entre le nombre de jeunes et l'âge de mise en couple mais aussi le nombre de jeunes et la durée de vie reproductive ont été analysées. Pour la variable "absence du nid" qui reflète l'absence simultanée des deux parents hors du nid, la masse corporelle des deux parents a été incluse dans le modèle. Nous avons également testé les effets de l'âge de mise en couple et la durée de vie reproductive sur l'évolution de la masse corporelle des jeunes durant les trois premières semaines de vie (J1, J7 et J21) en incluant les mêmes covariables et interactions que précédemment.

Nous avons examiné les effets de la vie reproductive sur le nombre de jeunes sevrés au sein de chaque classe d'âge afin de déterminer si le nombre de jeunes sevrés varie au fil des portées. Pour cela nous avons réalisé un test de Friedman au sein de chaque classe d'âge ($k = 4$ portées) et conservé seulement les individus s'étant reproduits 4 fois. Afin d'analyser les effets de l'âge de mise en couple sur le nombre de jeunes, nous avons réalisé des tests de permutations entre le nombre de jeunes sevrés lors de la 1^{re}, 2^e, 3^e et 4^e portée séparément puis sur l'ensemble de la vie reproductive des couples (les 4 portées cumulées). Ce test a été stratifié par la

masse corporelle des femelles à la mise en couple. Nous avons pour cela formé trois catégories de masse corporelle (masse corporelle des femelles en grammes : [11,13[; [13,15[; [15,17]). Pour ces deux analyses, les couples qui ont présenté un comportement de cannibalisme en P4 ont été intégrés.

Pour le test de récupération des jeunes, la proportion des individus considérés comme rapportants (qui ont rapporté les 3 jeunes écartés du nid) dans les deux classes d'âge a été comparée grâce au test exact de Fisher. Des modèles marginaux de Wei, Lin, & Weissfeld (1989) (méthode basée sur des analyses de survie à événements récurrents) ont été utilisés afin de tester l'effet de l'âge de mise en couple (facteur à deux niveaux), la durée de vie reproductive (facteurs à deux niveaux) et la masse corporelle du parent sur la probabilité de récupérer les 3 nouveau-nés au cours du temps. L'interaction entre les deux facteurs d'intérêt (âge de mise en couple et durée de vie reproductive) a également été analysée. L'identité du couple a été intégrée dans le modèle comme cluster et l'ordre de récupération des nouveau-nés (1, 2 ou 3) comme strate. Pour ces analyses, les couples qui ont présenté un comportement de cannibalisme ont été intégrés. Cependant des couples ont dû être exclus de l'expérience car le nombre de jeunes dans la portée était inférieure à 3 (couples de 3 mois, P2 N = 10 ; P4, N = 8 ; couples de 6 mois : P2 N = 10 ; P4, N = 9).

3 Résultats

3.1 Comportements parentaux

Seules les variables prédictives ayant un effet significatif ($p < 0.05$) ou à tendance significative ($p < 0.08$) sur les comportements parentaux sont présentées dans la partie Résultats.

3.1.1 Occupation au nid

Les parents mis en couple à 6 mois sont moins absents du nid simultanément, laissant moins souvent les jeunes seuls ($\chi^2 = 6.99$, $p = 0.008$). Les jeunes issus d'une grande portée sont également laissés seuls plus souvent ($\chi^2 = 5.23$, $p = 0.022$, $R^2_N = 0.119$, Figure 9). La présence au nid des femelles durant la première semaine post-partum dépend du nombre de jeunes présents dans la portée, plus celui-ci est élevé, moins les femelles sont présentes au nid ($\chi^2 = 13.07$, $p < 0.001$, $R^2_N = 0.236$, Figure 10a). Les femelles mise en couple à 6 mois tendent à passer plus de temps au nid que les femelles mises en couple à 3 mois ($\chi^2 = 3.67$, $p = 0.055$). Chez les mâles, la présence au nid dépend de l'âge auquel ils ont été placés en couple (Figure 11a). Les mâles mis en couple à 6 mois sont plus présents au nid que ceux mis en couple à 3 mois ($\chi^2 = 7.25$, $p = 0.007$).

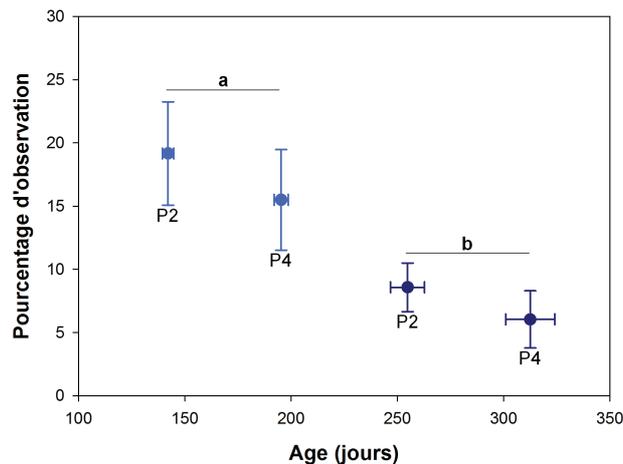


FIGURE 9 – Pourcentages (moyenne \pm SEM) du nombre d'observations où les mâles et les femelles sont **absents simultanément** du nid en fonction de leur âge. Les couples formés à 3 mois sont représentés en bleu clair et les couples formés à 6 mois en bleu foncé. Les données sont représentées séparément pour la 2^e portée (P2, début de vie reproductive) et la 4^e portée (P4, fin de vie reproductive.)

3.1.2 Postures d'allaitement

Lorsque les femelles sont dans le nid, elles sont observées dans 83% (± 0.98 SE) des cas dans une posture où au moins un jeune est accroché aux mamelles. Globalement, les femelles mises en couple à 6 mois allaitent plus souvent leurs jeunes que les femelles mises en couples à 3 mois ($\chi^2 = 7.98$, $p = 0.005$; 3 mois : 55.3% ± 0.6 ; 6 mois : 65.6% ± 0.6) et, quel que soit leur âge, les femelles sont plus rarement observées à allaiter leurs jeunes quand la taille de la portée est importante ($\chi^2 = 10.33$, $p = 0.001$, $R^2_N = 0.145$).

Parmi les trois types de postures d'allaitement, la posture simple est la plus fréquemment observée (79% ± 1.1 SE), suivie de la posture arquée (14% ± 1.1 SE). Comme la posture simple est la posture majoritairement exprimée par les femelles, les variables prédictives influençant la fréquence d'observation de cette posture sont les mêmes que celles influençant la présence au nid. Ainsi, les femelles mises en couple à 6 mois sont plus souvent observées en posture simple que les femelles mises en couple à 3 mois ($\chi^2 = 12.21$, $p < 0.001$, Figure 10b) et les femelles sont moins souvent observées dans cette posture quand la taille de la portée est grande ($\chi^2 = 10.42$, $p < 0.001$, $R^2_N = 0.181$).

La posture arquée tend à être influencée par l'âge de mise en couple. Les femelles de 3 mois ont tendance à adopter cette posture plus fréquemment que celles mises en couple à 6 mois ($\chi^2 = 3.13$, $p = 0.078$, Figure 10c). Les femelles les plus légères adoptent également cette posture plus fréquemment ($\chi^2 = 5.36$, $p = 0.021$, $R^2_N = 0.137$).

Pour la posture d'allaitement passive, les analyses révèlent que les femelles de 6 mois tendent à exprimer plus

souvent cette posture ($\chi^2 = 3.04$ $p = 0.076$; occurrence des observations pour les femelles mises en couple à 3 mois : 5.89 ± 21.53 ; et les femelles mises à 6 mois : 8.68 ± 21.79) et, que, quel que soit leur âge, les femelles tendent à adopter plus souvent cette posture quand les portées sont très petites ($\chi^2 = 3.25$ $p = 0.072$). Les femelles présentant une faible masse corporelle à la mise en couple expriment moins souvent cette posture ($\chi^2 = 7.22$, $p = 0.007$), néanmoins cette relation est très faible ($R^2_N = 0.079$).

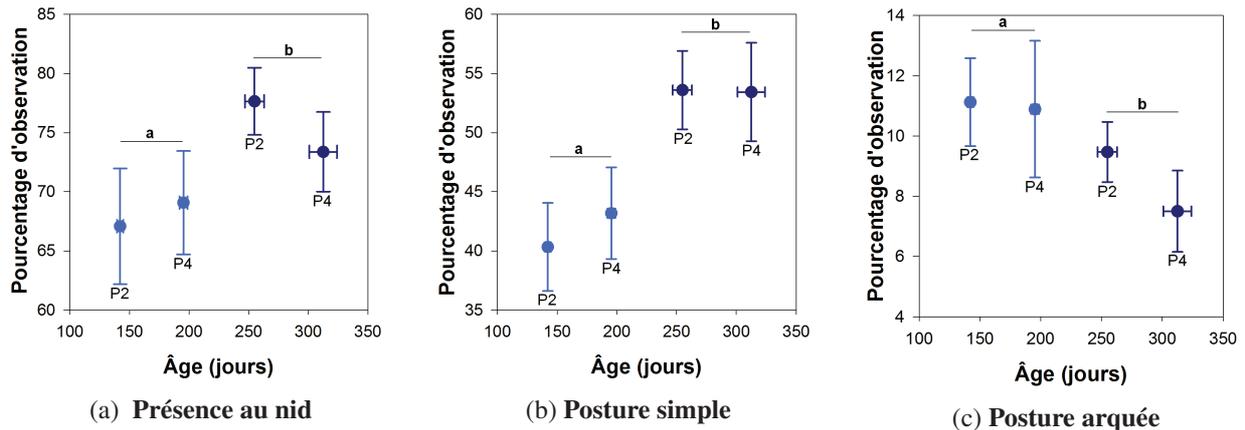


FIGURE 10 – Pourcentages (moyenne \pm SEM) du nombre d’observations où les femelles sont présentes au nid (a) et adoptent des postures d’allaitement simples (b) ou arquées (c) en fonction de leur âge. Les femelles mises en couple à 3 mois sont représentées en bleu clair et les femelles mises en couple à 6 mois en bleu foncé. Les données sont représentées séparément pour la 2^e portée (P2, début de vie reproductive) et la 4^e portée (P4, fin de vie reproductive)

3.1.3 Postures paternelles

Lorsque les mâles sont dans le nid, ils recouvrent au moins un jeune dans 88% (± 1.3 SE) des observations. Quelle que soit la posture adoptée, les mâles mis en couple à 6 mois recouvrent plus fréquemment les jeunes que les mâles mis en couple à 3 mois ($\chi^2 = 9.21$, $p = 0.002$; 3 mois : $51.4\% \pm 4.2$; 6 mois : $65.7\% \pm 4.2$).

La posture de recouvrement simple est plus fréquemment observée (70.4% , ± 2 SE) que la posture arquée. Les mâles mis en couple à 6 mois expriment plus souvent la posture de recouvrement simple que les autres mâles ($\chi^2 = 7.38$, $p = 0.008$, Figure 11b).

La posture de recouvrement arquée n’est cependant pas affectée par l’âge de mise en couple mais uniquement par le nombre de jeunes présents dans la portée; plus la portée est importante, plus les mâles vont adopter cette posture ($\chi^2 = 8.17$, $p = 0.004$, $R^2_N = 0.19$).

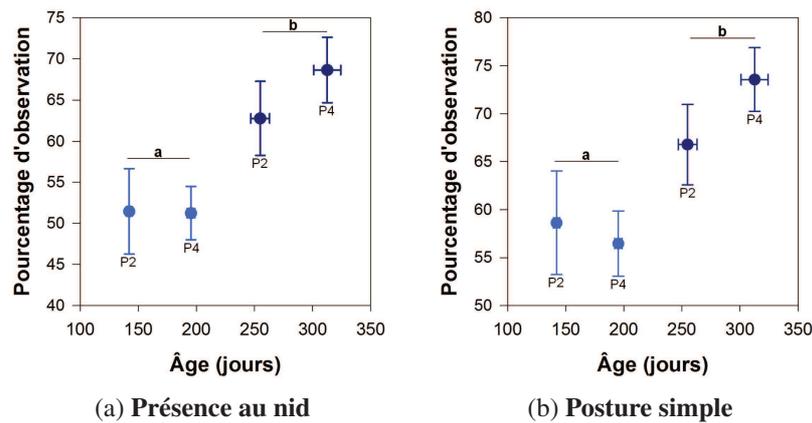


FIGURE 11 – Pourcentages (moyenne \pm SEM) du nombre d'observations où les mâles sont présents au nid (a) et adoptent des postures d'allaitement simples (b) en fonction de leur âge. Les mâles mis en couple à 3 mois sont représentés en bleu clair et les mâles mis en couple à 6 mois en bleu foncé. Les données sont représentées séparément pour la 2^e portée (P2, début de vie reproductive) et la 4^e portée (P4, fin de vie reproductive)

3.1.4 Comportement de léchage/toilettage

Chez les femelles, une interaction existe entre les facteurs "durée de vie reproductive" et "classe d'âge" révélant que le comportement de léchage/toilettage est affecté différemment au cours des différentes portées chez les deux classes d'âge (Figure 12). Alors que chez les femelles mises en couple à 3 mois ce comportement n'évolue pas entre la seconde et la quatrième portée ($\chi^2 = 1.37$, $p = 0.2$), il diminue significativement chez les femelles mises en couple à 6 mois ($\chi^2 = 4.96$, $p = 0.026$). Au final, les femelles mises en couple à 6 mois expriment significativement moins de léchage/toilettage que les jeunes femelles en fin de vie reproductive ($\chi^2 = 17.23$, $p < 0.001$).

Chez les mâles, le comportement de léchage/toilettage des jeunes est affecté par la taille de la portée. Les mâles expriment plus ce comportement quand le nombre de jeunes est élevé ($\chi^2 = 17.17$, $p < 0.001$, $R^2_N = 0.31$).

3.2 Test de récupération des jeunes

3.2.1 Femelles

La proportion de femelles qui récupèrent les 3 nouveau-nés au cours du test ne diffère pas significativement entre les deux classes d'âge en P2 ($p = 0.47$; 3 mois : 10/10; 6 mois : 8/10) et en P4 ($p = 0.47$; 3 mois : 8/8; 6 mois : 7/9). Cette proportion ne varie pas non plus entre le début (P2) et la fin de vie reproductive (P4) chez les femelles mises en couple à 3 mois ($p = 0.99$) et celles mises en couples à 6 mois ($p = 0.99$). Il existe

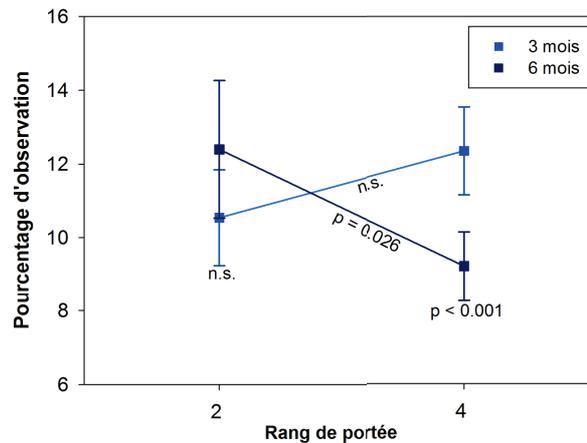


FIGURE 12 – Pourcentages (moyenne \pm SEM) du nombre d’observations où les femelles sont engagées dans le **comportement de léchage/toilettage** en fonction de leur âge. Les femelles mises en couple à 3 mois sont représentées en bleu clair et les femelles mises en couple à 6 mois en bleu foncé. Les données sont représentées séparément pour la 2^e portée (P2, début de vie reproductive) et la 4^e portée (P4, fin de vie reproductive).

néanmoins une interaction significative entre l’âge de mise en couple et le numéro de la portée sur l’évolution de la probabilité de récupération des jeunes chez les femelles lors des 15 minutes de test (risque instantané (ou hazard ratio, HR) 3.42 ; 95% intervalle de confiance (IC) 1.21 - 9.66, coefficient $p = 0.02$, Wald test $p < 0.001$). En début de vie reproductive (2^e portée), les femelles mises en couple à 3 mois récupèrent plus rapidement les jeunes que les femelles mises en couple à 6 mois (HR 0.22 ; 95% intervalle de confiance (IC) 0.08 - 0.58, coefficient $p = 0.002$, Wald test $p = 0.002$, Figure 13a). Cette différence disparaît néanmoins en fin de vie reproductive (4^e portée) (HR 0.74 ; 95% intervalle de confiance (IC) 0.41 - 1.31, coefficient $p = 0.30$, Wald test $p = 0.30$, Figure 13b). De plus, les femelles mises en couple à 3 mois récupèrent plus rapidement les jeunes en début (P2) qu’en fin (P4) de vie reproductive (HR 0.29 ; 95% intervalle de confiance (IC) 0.12 - 0.74, coefficient $p = 0.01$, Wald test $p = 0.01$) . Aucun changement au cours de la vie reproductive n’est cependant trouvé chez les femelles mises en couple à 6 mois (HR 1.14 ; 95% intervalle de confiance (IC) 0.60 - 2.19, coefficient $p = 0.69$, Wald test $p = 0.69$). La masse corporelle n’a aucun effet significatif sur le comportement de récupération des jeunes chez les femelles ($p > 0.1$).

3.2.2 Mâles

La proportion de mâles qui récupèrent les 3 nouveau-nés ne varie pas entre les deux classes d’âge en P2 ($p = 0.66$; 3 mois : 6/10 ; 6 mois : 4/10) et en P4 ($p = 0.64$; 3 mois : 3/8 ; 6 mois : 5/9). Cette proportion ne varie pas non plus entre le début (P2) et la fin de vie reproductive (P4) chez les mâles mis en couple à 3

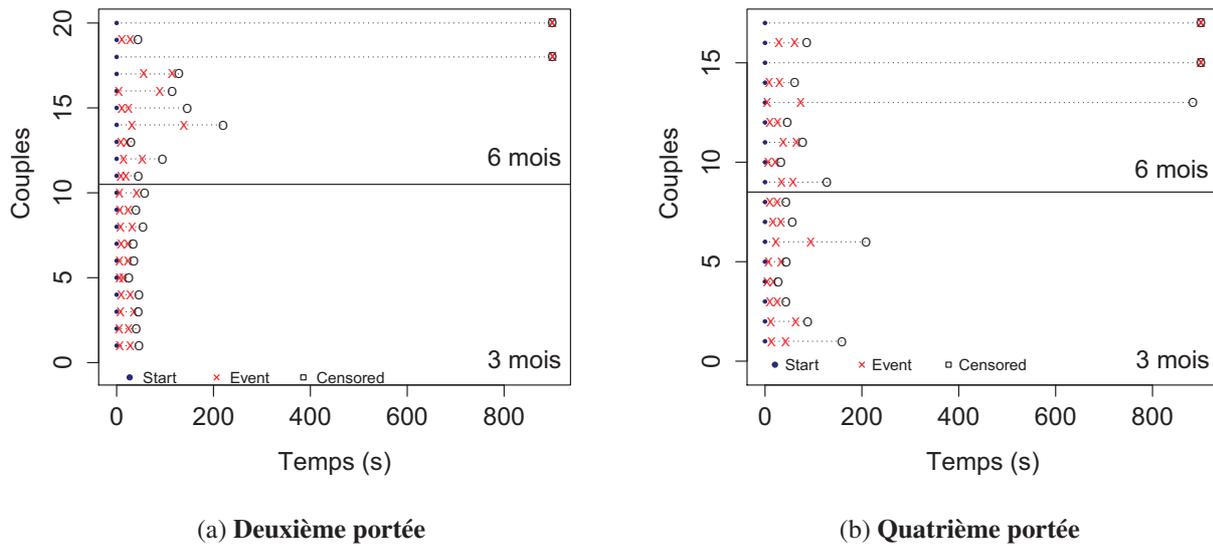


FIGURE 13 – Comportement de récupération des 3 nouveau-nés manifesté par les femelles lors des 15 minutes de test suivant leur âge de mise en couple. Les deux croix rouges et le cercle blanc représentent les récupérations successives du 1^{er}, 2^e et 3^e nouveau-né. (Représentations graphiques, Martínez et al. 2009).

mois ($p = 0.64$) et ceux mis en couples à 6 mois ($p = 0.66$). Chez les mâles, aucun facteur ni covariable n’a d’effet significatif sur l’évolution de la probabilité de ramassage des jeunes lors des 15 minutes de test ($p > 0.1$; durée de vie reproductive $p > 0.06$, Figures 14a et 14b).

3.2.3 Succès reproducteur

Le nombre de jeunes sevrés n’est pas significativement différent entre les 4 portées chez les deux classes d’âge (test de Friedman, couples de 3 mois : $\chi^2 = 6.38$, $df = 3$, $p = 0.12$; couples de 6 mois : $\chi^2 = 0.84$, $df = 3$, $p = 0.82$). Le nombre de jeunes sevrés ne diffère pas non plus entre les deux classes d’âge quelle que soit la portée ou en considérant le nombre de jeunes produits lors des 4 premières portées cumulées (voir le Tableau 5).

En J1, le poids des nouveau-nés dépend du nombre de nouveau-nés dans la portée. Plus la portée est grande, plus les jeunes ont une masse corporelle faible ($\chi^2 = 21.57$, $p < 0.001$, $R^2_N = 0.23$). Il existe une interaction entre l’âge de mise en couple et le numéro de portée : alors que la masse corporelle des nouveau-nés issus des couples formés à 3 mois ne diffère pas au cours de la vie reproductive ($\chi^2 = 0.41$, $p = 0.52$) , les couples formés à 6 mois engendrent des nouveau-nés plus petits en fin qu’en début de leur vie reproductive ($\chi^2 = 4.60$, $p = 0.032$). Ces nouveau-nés ont également une masse corporelle plus faible que les jeunes issus

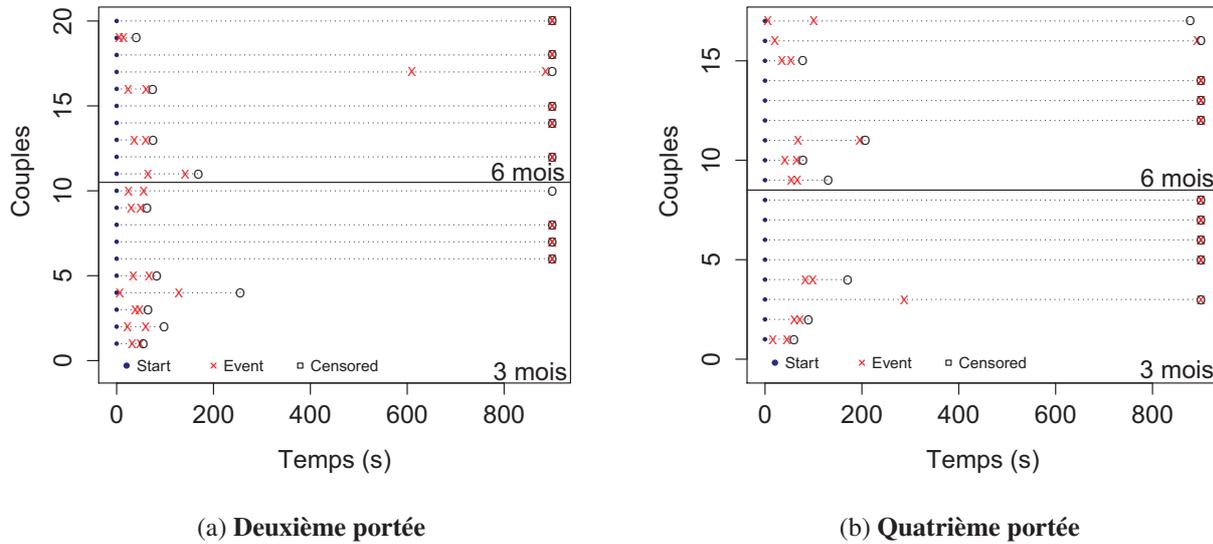


FIGURE 14 – Comportement de récupération des 3 nouveau-nés lors manifesté par les mâles lors des 15 minutes de test suivant leur âge de mise en couple. Les deux croix rouges et le cercle blanc représentent les les récupérations successives du 1^{er}, 2^e et 3^e nouveau-né. (Martínez et al., 2009)

des couples formés à 3 mois (3mois P2 : $\chi^2 = 3.42$, $P = 0.055$; 3 mois P4 : $\chi^2 = 4.82$, $P = 0.040$, voir le Tableau 6). En J7, seul le nombre de jeunes présents dans la portée affecte toujours la masse corporelle des jeunes ($\chi^2 = 25.77$, $P < 0.001$, $R^2_N = 0.34$). En J21, aucune variable prédictive n’influence la masse corporelle des jeunes.

TABLEAU 5 – Nombre de jeunes sevrés des couples de 3 mois et 6 mois. Le nombre de jeunes par portée est le nombre de jeunes vivants au 21^e jour post-partum. Le nombre de jeunes sevrés durant la vie reproductive des couples correspond à la somme des jeunes sevrés lors des 4 portées (de P1 à P4). L’effectif pour chaque groupe est donné entre parenthèse. Les p-values sont obtenues à partir de tests de permutations stratifiés par la masse corporelle des femelles à la mise en couple (voir texte pour détails). Les moyennes sont données avec l’écart-type (moyenne \pm écart-type).

		3 mois	6 mois	P-value
Nombre de jeunes	P1	6.0 \pm 1.4 (11)	5.6 \pm 2.2 (11)	0.64
	P2	7.5 \pm 2.1 (10)	7.1 \pm 2.5 (11)	0.78
	P3	7.7 \pm 2.1 (9)	6.2 \pm 3.3 (10)	0.22
	P4	6.4 \pm 2.9 (9)	6.4 \pm 2.6 (9)	0.93
Vie reproductive		24.18 \pm 10.19 (11)	24.64 \pm 6.56 (11)	0.81

TABLEAU 6 – Masse corporelle des jeunes des couples de 3 mois et 6 mois aux 1^{er} (J1), 7^e (J7) et 21^e jours post-partum durant la 2^e (P2) et la 4^e (P4) portée. La masse corporelle de chaque jeune est estimée en divisant le poids de la portée par le nombre total de jeunes. L'effectif pour chaque groupe est donné entre parenthèse. Voir texte pour résultats des LMM. Les moyennes sont données avec l'écart-type (moyenne \pm écart-type)

		3 mois	6 mois
P2	J1	1.31 \pm 0.16 (11)	1.35 \pm 0.15 (11)
	J7	2.87 \pm 0.39 (11)	3.07 \pm 0.54 (11)
	J21	5.82 \pm 0.82 (11)	6.12 \pm 0.78 (11)
P4	J1	1.30 \pm 0.11 (8)	1.17 \pm 0.12 (8)
	J7	2.78 \pm 0.51 (8)	3.02 \pm 0.4 (8)
	J21	5.65 \pm 1.14 (8)	5.59 \pm 0.36 (8)

3.3 Discussion

3.3.1 Succès reproducteur

La masse corporelle et le nombre de jeunes atteignant le sevrage (21^e jour post-partum) est semblable lors des 4 premières portées pour les couples formés à 3 mois ou à 6 mois. Ce résultat concorde avec l'étude précédente réalisée sur les 3 premières portées des couples de souris glaneuses (Lafaille et al., 2014). En conditions de laboratoire, les couples débutant leur vie reproductive à 6 mois n'ont donc pas un succès reproducteur inférieur aux jeunes couples. Le nombre de jeunes sevrés est constant au cours de la vie reproductive des couples de 3 et 6 mois (les 1^{res} portées sont légèrement moins peuplées mais la différence n'est pas significative).

3.3.2 Effets de l'âge de mise en couple sur les comportements parentaux

Les résultats de cette étude montrent néanmoins clairement que l'âge de mise en couple et donc l'âge de première reproduction influence les comportements parentaux prodigués par les femelles et les mâles *M. spicilegus*. Globalement, les couples formés à l'âge de 6 mois sont plus présents au nid, les femelles allaitent plus souvent leur progéniture et les mâles recouvrent également plus souvent les jeunes. En se concentrant sur ces variables, il semble à première vue que les individus mis en couple à 6 mois augmentent leur effort parental. Nos résultats convergent avec ceux retrouvés par Cameron et al. (2000) qui ont également reporté que les juments les plus âgées étaient davantage en contact avec leur jeune durant les 20 premiers jours de vie. Chez la gerbille de Mongolie (*Meriones unguiculatus*), les femelles mises en couple tardivement passent

également plus de temps à nourrir leur progéniture que les jeunes femelles (Clark et al., 2002). Après un âge où ils sont peu réceptifs aux jeunes, les mâles gerbilles semblent devenir plus paternels avec l'âge ce qui serait en partie expliqué par une diminution du taux de testostérone (Clark & Galef, 1999, 2001). Cette relation entre l'effort paternel et la testostérone a aussi été montré chez de nombreuses espèces d'oiseaux (Raouf et al., 1997; Lynn et al., 2009). L'augmentation de l'effort paternel chez les souris glaneuses âgées pourrait être une conséquence proximale de la diminution de taux de testostérone qui accompagne le processus de vieillissement chez les mammifères (Lipshultz et al., 2009).

La différence de comportement maternel entre les deux classes d'âges pourrait être un effet direct de l'âge maternel ou une conséquence de différences dans certaines caractéristiques comportementales non liées aux soins maternels mais qui pourraient avoir une incidence sur la façon dont les femelles s'occupent de leur progéniture. Le profil émotionnel des femelles a été analysé avant la mise en couple (voir Chapitre 1) et il est apparu que les femelles de 6 mois présentaient un niveau d'anxiété et de néophobie supérieure aux femelles de 3 mois. Ces caractéristiques pourraient amener les femelles âgées à limiter les séparations avec leur progéniture, situations qui peuvent être source de stress important pour les mères (Aguggia et al., 2013). Toutefois cette hypothèse est peu probable car l'anxiété et la néophobie sont généralement connues pour davantage perturber les soins maternels tout particulièrement chez les femelles primipares (Alexander et al., 1993; Pittet et al., 2013). La différence de soins parentaux entre les couples jeunes et âgés pourrait aussi provenir d'une différence d'activité des individus, les plus jeunes pouvant s'engager dans des activités plus coûteuses en énergie. Cependant, les résultats des tests comportementaux réalisés avant la mise en couple ne révèlent pas de différence dans l'activité des souris et lors de l'observation des comportements parentaux, les jeunes couples ne sont pas plus observés à explorer leur environnement (catégorie qui regroupe : la locomotion, les comportements de redressements et d'agrippement à la grille supérieure de la cage, données non présentées).

En s'attardant sur d'autres traits comportementaux, l'âge de première reproduction semble affecter les comportements parentaux chez cette espèce de manière plus complexe. En effet, l'augmentation de l'effort reproducteur des couples âgés semble limitée à la présence au nid et aux postures simples et "passives" d'allaitement/recouvrement des parents. Par exemple, bien que les parents les plus âgés soient plus présents au nid, ils ne stimulent pas plus les jeunes par le biais de léchage/toilettage. De même, les mâles âgés n'adoptent pas plus de postures arquées alors qu'ils passent globalement plus de temps à recouvrir les jeunes. Chez les femelles, on observe même une diminution de l'effort maternel avec l'âge pour des comportements pouvant être énergiquement coûteux comme la posture arquée. De surcroît, les femelles de 6 mois tendent à adopter

plus souvent une posture d'allaitement passive que les jeunes femelles. Cette posture peut être jugée moins demandeuse en énergie mais n'est pas optimale pour l'allaitement et la thermorégulation des jeunes (Galler & Propert, 1982).

Ces observations peuvent nous laisser suggérer que les couples de 6 mois investissent de l'énergie dans des comportements basiques et vitaux pour la progéniture (chaleur, protection, nourriture) et délaissent les comportements plus coûteux, de meilleure qualité mais dont la réduction n'a pas d'impact *a priori* notables sur la survie des jeunes (hormis le comportement de léchage anogénital mais qui ne diffère pas entre les différents groupes, données non présentées). Finalement, les couples de *M. spicilegus* qui débutent leur vie reproductive tardivement présenteraient une stratégie comportementale différente des jeunes couples consistant à s'investir temporellement davantage dans les comportements parentaux mais en privilégiant ceux qui sont énergiquement les moins coûteux.

Le *test de retrieval* (comportement de récupération des jeunes) est couramment utilisé dans la littérature comme mesure du comportement maternel (voir Pardon et al. 2000; Champagne et al. 2007). Ce test permet de définir la réactivité des femelles face à des nouveau-nés hors du nid et est considéré comme un comportement hautement caractéristique des muridés (Cohen-Salmon et al., 1985). Dans notre étude, nous trouvons que 40% des femelles âgées de 6 mois échouent à récupérer les 3 nouveau-nés alors qu'elles semblent tout à fait capables d'élever des jeunes jusqu'au sevrage avec un taux de réussite similaire à celui des jeunes femelles. Ce résultat peut sans doute être expliqué par la nature du test qui, contrairement à l'observation des comportements parentaux, nécessite la manipulation des individus. Des études antérieures ont démontré l'absence de corrélation entre les soins maternels post-partum et la performance au test de récupération chez plusieurs espèces de rongeurs (Slotnick, 1967; Rowell, 1960; Champagne et al., 2007). La réactivité des femelles à récupérer des petits est bien une composante du comportement maternel mais ces précédentes études et la nôtre montrent clairement que cette mesure est un mauvais prédicateur des soins apportés par la mère durant la période post-partum. Les latences de récupération pourraient refléter davantage une réponse à la nouveauté et la réactivité des individus face au stress qui sont déclenchés par la nature perturbatrice de cette procédure (Fleming et al. 1989, mais voir Neumann et al., 2005 pour des résultats différents chez des souches de rates sélectionnées pour leur niveau d'anxiété). Cette hypothèse est tout à fait plausible au regard des résultats obtenus sur les changements des comportements anxieux au cours du vieillissement chez les souris glaneuses (voir Chapitre 1). D'autres hypothèses peuvent être mentionnées comme l'apparition de détériorations sensorielles au niveau visuel, auditif et olfactif au cours du vieillissement qui pourraient perturber la détection des nouveau-nés. Néanmoins, la vitesse de premier contact est similaire entre les

femelles d'âges différents ce qui rend cette explication peu probable.

3.3.3 Effets de la durée de vie reproductive sur les comportements parentaux

L'activité reproductrice préalable semble néanmoins avoir peu d'influence sur les comportements parentaux observés. L'absence d'effet de la parité sur les comportements maternels et paternels a également été reportée chez d'autres espèces de rongeurs (König & Markl, 1987; Wang & Novak, 1994). Les résultats concernant le comportement de léchage/toilettage et la posture d'allaitement arquée laissent néanmoins suggérer que les femelles qui ont commencé leur vie reproductive tardivement sont davantage affectées par les événements reproductifs successifs et diminuent leur investissement dans ces comportements en fin de vie reproductive. En revanche, aucun indice ne nous permet de relever un effet de l'activité reproductrice préalable chez les mâles qui ont débuté leur reproduction à 6 mois, possiblement car les coûts liés à la reproduction sont plus faible chez ce sexe. L'absence de résultats nets concernant les effet de la vie reproductive, peut laisser suggérer que l'expérience reproductive réelle de chaque femelle (le nombre total de jeunes cumulés au fil des portées) serait un meilleur indice que le numéro de portée pour rendre compte des coûts cumulatifs au cours des événements reproducteurs.

3.3.4 Effet de la taille de la portée

Outre l'âge, la taille de la portée affecte également la réponse comportementale des parents. Les femelles *M. spicilegus* réduisent leur présence au nid quand la taille de la portée est importante. Cette relation se retrouve également chez la souris *Mus m. domesticus* (Priestnall, 1972) et d'autres espèces de rongeurs comme le hamster doré, *Mesocricetus auratus*, (Guerra & Nunes, 2001) ou le rat, *Rattus norvegicus*, (Leigh & Hofer, 1973). Des études qui ne standardisent pas le nombre de nouveau-nés dans les portées, comme dans notre cas, ne retrouvent néanmoins pas systématiquement cette relation (Auclair et al., 2014). Ce résultat contraste avec les modèles proposés qui prédisent une augmentation de la dépense parentale en fonction de la taille de la portée (Clutton-Brock, 1991). Il peut toutefois être expliqué par plusieurs hypothèses non exclusives. En présence d'une portée importante, les femelles souffriraient de fatigue généralisée (Seitz, 1958) et des perturbations provoquées par les jeunes (Elwood & Broom, 1978) les obligeant à s'éloigner du nid. Les femelles produisent également plus de lait en présence d'une grande portée et devraient donc quitter le nid plus souvent pour se nourrir (Priestnall, 1972; Elwood & Broom, 1978). De plus, un nombre de jeunes élevé au sein d'une portée peut être bénéfique pour la thermorégulation des jeunes et pourrait permettre aux femelles de passer plus de temps loin du nid sans craindre une diminution importante de la température du nid (König

& Markl 1987 mais voir Webb et al. 1990). Enfin, les femelles qui ont de grandes portées connaîtraient une forte augmentation de leur propre température corporelle ce qui les pousserait à s'éloigner fréquemment du nid (Leon et al., 1978).

Seules les femelles semblent adapter leur temps de présence au nid selon la taille de la portée. Un effet similaire a été montré chez la gerbille de Mongolie (Elwood & Broom, 1978) et plusieurs espèces de campagnols dont le campagnol des prairies qui présente un système d'appariement monogame (McGuire & Bemis, 2007). Cette différence entre mâles et femelles pourraient être expliquée par le fait que, contrairement aux femelles, les mâles ont un investissement parental limité, ne font pas face aux demandes nutritionnelles et sont peut être moins sujets aux problèmes de thermorégulation (McGuire & Bemis, 2007).

Les mâles semblent cependant adapter certains éléments de leur comportement paternel au nombre de jeunes présents au nid. Ils manifestent davantage la posture arquée et le léchage/toilettage lorsque les portées sont populeuses. Chez les mâles, ces comportements pourraient être en grande partie induits par les jeunes via des stimuli tactiles (Stern, 1997) ce qui expliquerait la corrélation positive entre ce comportement et la taille de la portée.

Par ailleurs, il est intéressant de souligner que, bien que le nombre de jeunes présents dans les portées conditionne fortement la stratégie comportementale des parents, la taille de la portée a une influence similaire chez les couples de 3 mois et de 6 mois.

3.3.5 Développement pondéral de la descendance

Les femelles de 6 mois étant souvent observées en posture d'allaitement lors de la 1^{re} semaine post-partum, les jeunes issus de ces couples pourraient *a priori* bénéficier d'une plus grande quantité d'énergie que les jeunes issus des couples de 3 mois. Dans cette situation, on pourrait s'attendre à ce qu'une différence de masse corporelle en faveur des jeunes issus des couples de 6 mois soit constatée à la fin de la 1^{re} semaine post-partum voire au sevrage. Néanmoins aucune différence de masse corporelle n'est observée entre les jeunes des deux origines. Plusieurs hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer ce résultat. Les femelles âgées pourraient par exemple produire du lait en moindre quantité et moins nutritif que les jeunes femelles. Ce phénomène est par exemple observé chez les bovins, les femelles âgées produisant moins de lait (Nickerson, 1995). De plus, dans notre étude nous avons considéré une femelle comme allaitante lorsqu'au minimum un nouveau-né était observé accroché aux mamelles. Ce critère est donc loin de rendre compte de la quantité de lait ingéré par chaque nouveau-né. Il est donc probable que malgré la présence élevée des femelles de 6 mois, les jeunes ne s'alimentent pas tous davantage.

Nos résultats suggèrent également qu'un âge avancé lors de la conception diminue la masse corporelle de la descendance. En effet, les nouveau-nés issus de la 4^e portée des couples de 6 mois, alors âgés de 10 à 12 mois, présentent une masse corporelle significativement plus faible au 1^{er} jour post-partum que les autres jeunes. Ce résultat est en accord avec ceux trouvés chez l'humain (Lansac, 1995) ou encore chez les insectes, chez qui les femelles les plus âgées pondent des œufs plus petits que les jeunes femelles (Mousseau & Dingle, 1991). Il diverge cependant de celui trouvé chez la souris (*M. m. domesticus*) par Tarín et al. (2003), qui dévoile que les jeunes des femelles âgées ont un poids à J1 similaire à ceux des jeunes femelles. L'environnement fourni par l'utérus ou bien encore la qualité des oocytes des femelles âgées reproductrices pourraient être des facteurs majeurs expliquant ce phénomène (Wang & vom Saal, 2000; Selesniemi et al., 2011). Nous ne pouvons cependant pas écarter des possibles différences de comportement ou de physiologie alimentaire des femelles jeunes et âgées et donc des apports nutritionnels fournis aux souriceaux lors de la vie intra-utérine. La différence de masse corporelle chez les jeunes issus des parents les plus âgés disparaît toutefois à J7 peut être grâce à l'action conjointe d'un taux de nourrissage relativement important et de la présence accrue du père qui réduit les jeunes à l'exposition de la température ambiante dirigeant ainsi l'énergie acquise vers la croissance plutôt que le maintien de la température corporelle. La présence du père dans le nid lors de la période pré-sevrage pourrait contribuer au développement des jeunes comme cela a déjà été préalablement montré chez d'autres espèces de rongeurs monogames comme la souris de Californie (Dudley, 1974), la souris sauterelle du sud (McCarty & Southwick, 1977) ou la gerbille de Mongolie (Ostermeyer & Elwood, 1984).

3.3.6 Conclusion

Cette étude révèle que les mâles et les femelles *M. spicilegus* augmentent leur temps passé au nid, allaitent et recouvrent plus souvent les jeunes lorsqu'ils débutent leur vie reproductive tardivement à l'âge de 6 mois. L'augmentation de l'effort parental n'est cependant pas traduisible en une augmentation de la qualité des soins parentaux, particulièrement ceux qui sont connus pour engendrer des stimulations tactiles. Cette solution comportementale adoptée par les parents de 6 mois leur permet, dans nos conditions de laboratoire, d'égaliser le succès reproducteur des parents de 3 mois. De nombreux travaux portant sur les origines du développement du comportement chez les mammifères ont illustré comment les variations naturelles des soins maternels pouvaient influencer l'état émotionnel (Caldji et al., 1998; Francis et al., 2002), le comportement social (Starr-Phillips & Beery, 2014) et les capacités cognitives des jeunes (Liu et al., 2000). Les environnements précoces variés qu'ont connus les jeunes des couples d'âges différents pourront avoir des conséquences notables chez ces animaux une fois devenus adultes.

Bibliographie

- Aguggia, J. P., Suárez, M. M., & Rivarola, M. A., 2013. Early maternal separation: Neurobehavioral consequences in mother rats. *Behavioural Brain Research* **248**, 25–31.
- Alexander, G., Bradley, L. R., & Stevens, D., 1993. Effect of age and parity on maternal behaviour in single-bearing merino ewes. *Animal Production Science* **33**, 721–728.
- Auclair, Y., König, B., Ferrari, M., Perony, N., & Lindholm, A. K., 2014. Nest attendance of lactating females in a wild house mouse population: benefits associated with communal nesting. *Animal Behaviour* **92**, 143–149.
- Bates, D., 2005. Fitting linear mixed models in R. *R news* **5**, 27–30.
- Caldji, C., Tannenbaum, B., Sharma, S., Francis, D., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J., 1998. Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **95**, 5335–5340.
- Cameron, E. Z., Linklater, W. L., Stafford, K. J., & Minot, E. O., 2000. Aging and improving reproductive success in horses: declining residual reproductive value or just older and wiser? *Behavioral Ecology and Sociobiology* **47**, 243–249.
- Campbell, J. C., Laugero, K. D., Van Westerhuyzen, J. A., Hostetler, C. M., Cohen, J. D., & Bales, K. L., 2009. Costs of pair-bonding and paternal care in male prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Physiology & Behavior* **98**, 367–373.
- Champagne, F. A., Curley, J. P., Keverne, E. B., & Bateson, P. P., 2007. Natural variations in postpartum maternal care in inbred and outbred mice. *Physiology & Behavior* **91**, 325–334.
- Clark, M. M. & Galef, B. G., 1999. A testosterone-mediated trade-off between parental and sexual effort in male Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Journal of Comparative Psychology* **113**, 388.
- Clark, M. M. & Galef, B. G., 2001. Age-related changes in paternal responses of gerbils parallel changes in their testosterone concentrations. *Developmental Psychobiology* **39**, 179–187.
- Clark, M. M., Moghaddas, M., & Galef Jr, B. G., 2002. Age at first mating affects parental effort and fecundity of female Mongolian gerbils. *Animal Behaviour* **63**, 1129–1134.
- Clutton-Brock, T. H., 1991. *The evolution of parental care*. Princeton University Press.
- Cohen-Salmon, C., Carlier, M., Roubertoux, P., Jouhaneau, J., Semal, C., & Paillette, M., 1985. Differences in patterns of pup care in mice. V – pup ultrasonic emissions and pup care behavior. *Physiology & Behavior* **35**, 167–174.
- Dudley, D., 1974. Paternal behavior in the California mouse, *Peromyscus californicus*. *Behavioral Biology* **11**, 247–252.
- Elwood, R. & Broom, D., 1978. The influence of litter size and parental behaviour on the development of Mongolian gerbil pups. *Animal Behaviour* **26**, 438–454.
- Faraway, J. J., 2006. *Extending the linear model with R: generalized linear, mixed effects and nonparametric regression models*. CRC press.
- Féron, C. & Gheusi, G., 2003. Social regulation of reproduction in the female mound-builder mouse (*Mus spicilegus*). *Physiology & Behavior* **78**, 717–722.
- Féron, C. & Gouat, P., 2007. Paternal care in the mound-building mouse reduces inter-litter intervals. *Reproduction Fertility And Development* **19**, 425–429.
- Fleming, A. S., Cheung, U., Myhal, N., & Kessler, Z., 1989. Effects of maternal hormones on ‘timidity’ and attraction to pup-related odors in female rats. *Physiology & Behavior* **46**, 449–453.
- Francis, D. D., Diorio, J., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J., 2002. Environmental enrichment reverses the effects of maternal separation on stress reactivity. *The Journal of Neuroscience* **22**, 7840–7843.
- Galler, J. R. & Propert, K. J., 1982. Early maternal behaviors predictive of the survival of suckling rats with intergenerational malnutrition. *The Journal of Nutrition* **112**, 332–337.
- Garza, J. C., Dallas, J., Duryadi, D., Gerasimov, S., Croset, H., & Boursot, P., 1997. Social structure of the mound-building mouse *Mus spicilegus* revealed by genetic analysis with microsatellites. *Molecular Ecology* **6**, 1009–1017.

- Gilbert, A. N., 1984. Postpartum and lactational estrus: a comparative analysis in rodentia. *Journal of Comparative Psychology* **98**, 232.
- Gouat, P., Féron, C., & Demouron, S., 2003a. Seasonal reproduction and delayed sexual maturity in mound-building mice *Mus spicilegus*. *Reproduction, Fertility, and Development* **15**, 187–195.
- Gouat, P., Katona, K., & Poteaux, C., 2003b. Is the socio-spatial distribution of mound-building mice, *Mus spicilegus*, compatible with a monogamous mating system? *Mammalia* **67**, 15–24.
- Gubernick, D. J. & Teferi, T., 2000. Adaptive significance of male parental care in a monogamous mammal. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **267**, 147–150.
- Guerra, R. F. & Nunes, C. R. d. O., 2001. Effects of litter size on maternal care, body weight and infant development in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Behavioural Processes* **55**, 127–142.
- Hill, R., 1992. The altricial/precocial contrast in the thermal relations and energetics of small mammals. In T. Tomasi & T. Horton, editors, *Mammalian energetics: interdisciplinary views of metabolism and reproduction*, chapter 7, page 122. Ithaca, NY: Cornell University Press.
- Hunt, J. & Simmons, L., 2000. Maternal and paternal effects on offspring phenotype in the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Evolution* **54**, 936–941.
- Johnson, M., Thomson, S., & Speakman, J., 2001. Limits to sustained energy intake iii. effects of concurrent pregnancy and lactation in *Mus musculus*. *Journal of Experimental Biology* **204**, 1947–1956.
- König, B., 1993. Maternal investment of communally nursing female house mice (*Mus musculus domesticus*). *Behavioural Processes* **30**, 61–73.
- König, B., 1994. Components of lifetime reproductive success in communally and solitarily nursing house mice - a laboratory study. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **34**, 275–283.
- König, B., 2006. Non-offspring nursing in mammals: general implications from a case study on house mice. In P. Kappeler & C. van Schaik, editors, *Cooperation in Primates and Humans - Mechanisms and Evolutions*, chapter 11, pages 191–205. Berlin, Heidelberg: Springer - Verlag.
- König, B. & Markl, H., 1987. Maternal care in house mice. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **20**, 1–9.
- Lafaille, M., Gouat, P., & Féron, C., 2014. Efficiency of delayed reproduction in *Mus spicilegus*. *Reproduction, Fertility and Development* .
- Lansac, J., 1995. Delayed parenting. Is delayed childbearing a good thing? *Human Reproduction* **10**, 1033–5.
- Leigh, H. & Hofer, M., 1973. Behavioral and physiologic effects of littermate removal on the remaining single pup and mother during the pre-weaning period in rats. *Psychosomatic Medicine* **35**, 497–508.
- Leon, M., Croskerry, P. G., & Smith, G. K., 1978. Thermal control of mother-young contact in rats. *Physiology & Behavior* **21**, 793–811.
- Lipshultz, L. I., Howards, S. S., & Niederberger, C. S., 2009. *Infertility in the Male*. Cambridge University Press.
- Liu, D., Diorio, J., Day, J. C., Francis, D. D., & Meaney, M. J., 2000. Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nature Neuroscience* **3**, 799–806.
- Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A., Sharma, S., Pearson, D., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J., 1997. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* **277**, 1659–1662.
- Lynn, S. E., Prince, L. E., Schook, D. M., & Moore, I. T., 2009. Supplementary testosterone inhibits paternal care in a tropically breeding sparrow, *Zonotrichia capensis*. *Physiological and Biochemical Zoology* **82**, 699–708.
- Martínez, C., Ramírez, G., & Vásquez, M., 2009. Pruebas no paramétricas para comparar curvas de supervivencia de dos grupos que experimentan eventos recurrentes. propuestas. *Revista ingeniería UC* **16**, 3.
- McCarty, R. & Southwick, C. H., 1977. Paternal care and the development of behavior in the southern grasshopper mouse, (*Onychomys torridus*). *Behavioral Biology* **19**, 476–490.
- McGuire, B. & Bemis, W. E., 2007. Litter size influences maternal but not paternal care in three species of voles, as measured by nest attendance. *Journal of Mammalogy* **88**, 1420–1426.
- Milishnikov, A. N., Rafiev, A. N., & Muntianu, A. I., 1998. Genotypic variability in populations of the mound-builder mouse *Mus spicilegus* pet., 1882, at various life cycle stages. *Genetika* **34**, 947–952.
- Mousseau, T. A. & Dingle, H., 1991. Maternal effects in insect life histories. *Annual Review of Entomology* **36**, 511–534.

- Nagelkerke, N. J., 1991. A note on a general definition of the coefficient of determination. *Biometrika* **78**, 691–692.
- Neumann, I. D., Krömer, S. A., & Bosch, O. J., 2005. Effects of psycho-social stress during pregnancy on neuroendocrine and behavioural parameters in lactation depend on the genetically determined stress vulnerability. *Psychoneuroendocrinology* **30**, 791–806.
- Nickerson, S., 1995. Milk production: factors affecting milk composition. In F. Harding, editor, *Milk quality*, chapter 2, page 23. Springer.
- Oli, M. K., Hepp, G. R., & Kenamer, R. A., 2002. Fitness consequences of delayed maturity in female wood ducks. *Evolutionary Ecology Research* **4**, 563–576.
- Ostermeyer, M. C. & Elwood, R. W., 1984. Helpers (?) at the nest in the mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. *Behaviour* **91**, 61–77.
- Pardon, M.-C., Gérardin, P., Joubert, C., Pérez-Díaz, F., & Cohen-Salmon, C., 2000. Influence of prepartum chronic ultramild stress on maternal pup care behavior in mice. *Biological Psychiatry* **47**, 858–863.
- Patris, B. & Baudoin, C., 1998. Female sexual preferences differ in *Mus spicilegus* and *Mus musculus domesticus*: the role of familiarization and sexual experience. *Animal Behaviour* **56**, 1465–1470.
- Patris, B. & Baudoin, C., 2000. A comparative study of parental care between two rodent species: implications for the mating system of the mound-building mouse, *Mus spicilegus*. *Behavioral Processes* **51**, 35–43.
- Pittet, F., Coignard, M., Houdelier, C., Richard-Yris, M.-A., & Lumineau, S., 2013. Effects of maternal experience on fearfulness and maternal behaviour in a precocial bird. *Animal Behaviour* **85**, 797–805.
- Poteaux, C., Busquet, N., Gouat, P., Katona, K., & Baudoin, C., 2008. Socio-genetic structure of mound-building mice, *Mus spicilegus*, in autumn and early spring. *Biological Journal of the Linnean Society* **93**, 689–699.
- Priestnall, R., 1972. Effects of litter size on the behaviour of lactating female mice (*Mus musculus*). *Animal Behaviour* **20**, 386–394.
- R Development Core Team, 2012. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- Raouf, S. A., Parker, P. G., Ketterson, E. D., Nolan, V., & Ziegenfus, C., 1997. Testosterone affects reproductive success by influencing extra-pair fertilizations in male dark-eyed juncos (aves: *Junco hyemalis*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **264**, 1599–1603.
- Roff, D. A., 1992. *Evolution of Life Histories: Theory and Analysis*. Chapman and Hall, New-York.
- Rowell, T. E., 1960. On the retrieving of young and other behaviour in lactating golden hamsters. *Proceedings of the Zoological Society of London* **135**, 265–282.
- Seitz, P. F., 1958. The maternal instinct in animal subjects: I. *Psychosomatic Medicine* **20**, 215–226.
- Selesniemi, K., Lee, H.-J., Muhlhauser, A., & Tilly, J. L., 2011. Prevention of maternal aging-associated oocyte aneuploidy and meiotic spindle defects in mice by dietary and genetic strategies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**, 12319–12324.
- Sikes, R. S. & Ylönen, H., 1998. Considerations of optimal litter size in mammals. *Oikos* **83**, 452–465.
- Simeonovska-Nikolova, D. M., 2007. Spatial organization of the mound-building mouse, *Mus spicilegus*, in the region of northern bulgaria. *Acta Zoologica Sinica* **53**, 22–28.
- Slotnick, B. M., 1967. Disturbances of maternal behavior in the rat following lesions of the cingulate cortex. *Behaviour* **29**, 204–236.
- Sokolov, V., Kotenkova, E., & Michailenko, A., 1998. *Mus spicilegus*. *Mammalian Species* **592**, 1–6.
- Starr-Phillips, E. J. & Beery, A. K., 2014. Natural variation in maternal care shapes adult social behavior in rats. *Developmental Psychobiology* **56**, 1017–1026.
- Stearns, S. C., 1992. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press.
- Stern, J. M., 1997. Offspring-induced nurturance ; animal-human parallels. *Developmental Psychobiology* **31**, 19–37.
- Tarín, J. J., Gómez-Piquer, V., Manzanedo, C., Miñarro, J., Hermenegildo, C., & Cano, A., 2003. Long-term effects of delayed motherhood in mice on postnatal development and behavioural traits of offspring. *Human Reproduction* **18**, 1580–1587.
- Tavecchia, G., Pradel, R., Boy, V., Johnson, A. R., & Cézilly, F., 2001. Sex-and age-related variation in survival and cost of first reproduction in greater flamingos. *Ecology* **82**, 165–174.
- Thompson, S., 1992. Energetics of gestation and lactation in small mammals: basal metabolic rate and limits of

- energy use. In T. Tomasi & T. Horton, editors, *Mammalian Energetics: Interdisciplinary Views of Metabolism and Reproduction*, chapter 10, page 213. Cornell University Press.
- Wang, M.-H. & vom Saal, F. S., 2000. Maternal age and traits in offspring. *Nature* **407**, 469–470.
- Wang, Z. & Novak, M. A., 1994. Parental care and litter development in primiparous and multiparous prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Journal of Mammalogy* pages 18–23.
- Webb, D., Fullenwider, J., McClure, P., Profeta, L., & Long, J., 1990. Geometry of maternal-offspring contact in two rodents. *Physiological Zoology* **63**, 821–844.
- Wei, L.-J., Lin, D. Y., & Weissfeld, L., 1989. Regression analysis of multivariate incomplete failure time data by modeling marginal distributions. *Journal of the American statistical association* **84**, 1065–1073.
- Wright, H. W. Y., 2006. Paternal den attendance is the best predictor of offspring survival in the socially monogamous bat-eared fox. *Animal Behaviour* **71**, 503–510.

Chapitre 6

Effets de l'âge des parents et des comportements parentaux sur le profil anxieux de la descendance

L'âge de première reproduction et l'accumulation d'événements reproducteurs augmente l'anxiété de la descendance à long-terme

Résumé

L'âge des parents et la qualité des soins qu'ils prodiguent durant la période postnatale ont des effets notables sur l'activité physiologique des systèmes impliqués dans les réponses au stress de la descendance. Chez la souris glaneuse, les individus nés en début de saison de reproduction forment des couples à 3 mois alors que les individus nés au début de l'automne ne débutent leur reproduction qu'au printemps à l'âge de 6/8 mois. Chaque couple va engendrer environ 4 portées durant sa vie reproductive et les soins parentaux vont être prodigués par les deux parents. Le but de cette étude est d'examiner les effets de l'âge des parents (3 mois vs 6 mois), les effets de la parité (2^e vs 4^e portée) mais aussi les effets des comportements maternels et paternels sur les comportements anxieux et néophobes des jeunes à l'âge adulte. Nos résultats montrent que les jeunes adultes les plus anxieux sont ceux issus des 4^e portées et que les individus les plus néophobes sont nés des parents de 6 mois. Plus les femelles ont exprimé un haut niveau de postures arquées et de comportement de léchage/toilettage, moins les jeunes adultes sont anxieux mais cette relation n'existe pas pour les soins paternels. Ces facteurs modulant l'ontogénèse des comportements liés à l'exploration en situations anxiogènes pourraient influencer les stratégies de dispersion en milieu naturel.

Mots-clefs : âge maternel avancé, âge paternel avancé, néophobie, *Mus spicilegus*, comportements parentaux, stimulations tactiles, sexe-ratio, monogamie

1 Introduction

Le développement du système nerveux résulte d'interactions complexes entre gènes et environnement (Rice & Barone Jr, 2000; Nithianantharajah & Hannan, 2006). Parmi les nombreux facteurs modulant le développement neuronal, certains peuvent l'affecter sur le long-terme en altérant l'activité physiologique des systèmes impliqués dans les fonctions cognitives et dans les réponses au stress et affecter en conséquence le développement comportemental (Chapillon et al., 2002).

L'âge des parents est un facteur majeur dans la production de variabilité au sein de la descendance. Chez l'Homme, il a été montré que les individus nés de mère, de père ou de couples âgés présentaient des taux accrus de troubles psychiatriques souvent associés à des troubles anxieux (Cosoff & Julian Hafner, 1998; Leyfer et al., 2006) tels que l'autisme (Kolevzon et al., 2007; Reichenberg et al., 2006), la schizophrénie (Torrey et al., 2009) et les troubles bipolaires (Frans et al., 2008; Menezes et al., 2010). Les effets de l'âge parental sur les profils comportementaux de la descendance ont également été relevés chez des rongeurs de laboratoire. Toutefois c'est essentiellement à travers l'âge du père que ces effets sont étudiés. Par exemple, comparativement aux descendants nés de jeunes pères, les descendants de pères âgés montrent à l'âge adulte, un bas niveau d'exploration (Smith et al., 2009) et des comportements anxieux dans des nouveaux environnements (Foldi et al., 2010; Sampino et al., 2014). Chez les principaux modèles d'étude utilisés pour aborder l'effet du vieillissement sur les traits de la descendance, les investigations se limitent principalement à l'étude des jeunes nés de parents primipares. L'expérience reproductive antérieure est rarement prise en compte, très certainement pour limiter les effets confondants entre âge et parité. Bien que des études antérieures aient montré que l'expérience maternelle (passage de la primiparité à la multiparité) influençait les traits comportementaux des jeunes (Elias et al., 1982) notamment leur réponse face à une situation stressante (Furchtgott & Lazar, 1969), l'impact d'une longue expérience reproductive chez les parents multipares sur les traits comportementaux des descendants n'a reçu que peu de considération expérimentale.

Les interactions mère-jeune peuvent également intervenir, via des effets épigénétiques, dans le développement comportemental et altérer durablement les réponses émotionnelles des descendants. Chez le rat, il a été montré que des soins parentaux spécifiques prodigués par les femelles durant la période précoce influençaient la réactivité face au stress de la descendance (Liu et al., 1997; Champagne & Meaney, 2001). À l'âge adulte, les jeunes rats nés de mère qui prodiguent un niveau faible de comportement de léchage/toiletage et de posture d'allaitement arquée (LG-ABN) expriment une forte anxiété comparativement à ceux nés de femelles plus maternelles (Caldji et al., 1998). La variabilité interindividuelle de ces comportements maternels se

retrouvent naturellement dans une population donnée (Champagne et al., 2007) et n'est pas dépendante de caractéristiques propre à la portée (i.e sexe-ratio ou taille de la portée) (Champagne et al., 2003). Bien que de telles variations naturelles existent également chez la souris et peuvent avoir des effets transgénérationnels sur la réactivité face au stress des descendants (Zaharia et al., 1996), l'impact de l'expérience postnatale est encore peu étudiée à ce jour chez ce modèle biologique.

Chez certaines espèces, le père s'implique fortement dans le soin aux jeunes. La contribution et l'importance des comportements paternels sur le développement neuronal et comportemental des jeunes commence à être connu chez de nombreuses espèces (Marler et al., 2005; Frazier et al., 2006; McGhee & Bell, 2014). Chez les rongeurs, l'évidence expérimentale du rôle des soins paternels est ordinairement issue de travaux de privation paternelle. Ces derniers ont montré que les jeunes privés totalement ou partiellement de comportements paternels présentent une forte réactivité face au stress et expriment un haut niveau d'anxiété dans de nouveaux environnements (Bredy et al., 2004; Jia et al., 2009). Néanmoins, sans passer par des procédures aussi extrêmes, la variabilité interindividuelle des comportements paternels pourrait, être à l'origine de différences comportementales liées à l'anxiété observées chez la descendance.

La souris glaneuse, *Mus spicilegus*, est un rongeur monogame endémique d'Europe centrale et orientale inféodé aux zones agricoles. En conditions naturelles, les jeunes souris glaneuses naissent de couples d'âges différents. En effet, chez cette espèce, la reproduction est assurée par deux cohortes qui initient leur vie reproductive à l'âge de 3 mois ou de 6/8 mois (Milishnikov et al., 1998). La vie reproductive de chaque couple dure environ 4 mois (Milishnikov et al., 1998) durant lesquels les couples pourront avoir jusqu'à 4 à 5 portées (Sokolov et al., 1998). Lors de l'élevage des jeunes, les deux parents vont prodiguer des soins parentaux (Patris & Baudoin, 1998, 2000). Hormis la lactation, le mâle *M. spicilegus* exprime des comportements parentaux similaires à ceux de la femelle comme le comportement de récupération des jeunes dans le nid, le recouvrement des jeunes (Patris & Baudoin, 2000) mais aussi le léchage et la posture arquée (voir Chapitre 5). En laboratoire, l'investissement paternel permet aux femelles d'accroître leur succès reproducteur en diminuant l'intervalle entre les portées (Féron & Gouat, 2007). Les caractéristiques écologiques de cette espèce en font donc un modèle pertinent pour l'étude de l'impact de l'âge des parents (3 mois ou 6/8 mois) et du rang de la portée (parité) sur les caractéristiques comportementales des jeunes placés dans une situation anxiogène. Ces caractéristiques pourraient, en effet, conférer aux jeunes individus des potentialités de dispersion diverses selon l'âge plus ou moins avancé des parents et selon l'expérience reproductive plus ou moins grande de ceux-ci. L'implication des deux parents dans les soins aux jeunes rend également ce modèle particulièrement intéressant au vu des conséquences notoires que ces soins parentaux peuvent généralement

avoir sur le développement des comportements anxieux de la descendance.

L'objectif de la présente étude est donc de relier les profils comportementaux de jeunes souris adultes placées dans des situations anxiogènes à diverses variables potentiellement impliquées dans l'ontogenèse de ces comportements. L'âge des parents lors de leur mise en couple (3 ou 6 mois) et le rang de la portée dont sont issus ces jeunes adultes (2^e ou 4^e portée) seront donc testés comme variables explicatives de ces différences comportementales. La variabilité dans l'expression des comportements maternels et paternels (léchage/toilettage, posture arquée d'allaitement ou de recouvrement des jeunes) sera également utilisée comme élément explicatif éventuel des différences comportementales observées chez les jeunes adultes.

2 Matériel et méthodes

2.1 Animaux et conditions d'élevage

Les animaux utilisés dans cette expérience sont issus de la génération F15 et F16 maintenues et élevées au Laboratoire d'Éthologie Expérimentale et Comparée (Villetaneuse, France) provenant d'un stock de 80 individus collectés à Gyöngyös (Hongrie) en 1999. L'introduction de quelques individus (moins d'une dizaine) capturés sur le même site est réalisée tous les trois/quatre ans. Les parents et leur descendance sont maintenus sous une température de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ et un cycle jour/nuit de 14h/10h avec de la nourriture (type M20, Special Diet Services, Witham, Essex, UK) et de l'eau disponibles *ad libitum*.

2.2 Conditions d'hébergement et formation des couples

Les individus utilisés pour former des couples sont hébergés à partir du sevrage en groupe de 2 à 5 individus apparentés de même sexe dans des cages standard en polycarbonate (26 x 14 x 16 cm, Iffa Credo, Lyon, France) dans lesquelles sont disposées de la litière végétale (Special Diet Services, Witham, Essex, UK) et des boules de coton comme matériel de construction.

Nous avons formé 12 couples âgés de 3 mois et 12 couples âgés de 6 mois à partir d'individus non-apparentés (aucun grand-parent en commun). Les mâles et les femelles ont été isolés une semaine avant la mise en couple afin de promouvoir l'activation sexuelle (Féron & Gheusi, 2003). Ils sont ensuite mis en couple (à la fin de la phase diurne) dans une cage (28 x 41.5 cm et 15 cm de haut) avec de la nourriture et de l'eau *ad libitum*. Une quantité limitée de coton (1.5 grammes) est fournie aux couples pour la construction du nid afin de faciliter les observations des comportements parentaux. Cette quantité est toutefois suffisante pour que le coton recouvre la portée lors de la sortie du nid des parents. Le poids des individus est relevé une

fois par semaine afin de surveiller le poids et l'aspect général de chaque souris et de détecter une éventuelle gestation. Si aucune gestation n'est détectée 6 semaines après la mise en couple, les partenaires sont séparés et hébergés individuellement pendant une semaine. Après avoir vérifié l'absence de gestation, les individus sont remis en couple avec un autre partenaire non-apparenté. S'il est impossible de reformer des couples entre individus non-apparentés, les deux anciens partenaires sont remis en couple une seconde fois. Tout couple qui ne s'est pas reproduit durant la seconde tentative, est considéré comme non-reproducteur. Sur les 12 couples formés à l'âge de 3 mois, 11 ont débuté la reproduction avec le premier partenaire imposé et 1 couple ne s'est pas reproduit lors de la seconde tentative. Sur les 12 couples formés à l'âge de 6 mois, 8 ont débuté la reproduction avec le premier partenaire imposé. Sur les 4 couples qui ont été reformés une seconde fois, 3 se sont reproduits avec le second partenaire imposé.

2.3 Suivi des comportements parentaux

Nous nous sommes concentrés sur les comportements impliquant une action motrice forte des parents connus pour avoir des effets sur le développement émotionnel de la descendance : le comportement de léchage/toilettage et la posture d'allaitement arquée des femelles (regroupés sous l'abréviation LG-ABN pour licking/grooming arched back nursing, Caldji et al. 1998) et le comportement de léchage/toilettage et la posture de recouvrement arquée des mâles (LG-ABP pour licking/grooming arched back posture).

Ces comportements parentaux ont été relevés à deux périodes de la vie reproductive des couples, lors de la 2^e portée (P2) et de la 4^e portée (P4). Parmi les couples de 3 mois, 10 ont atteint la 2^e portée et 9 la 4^e portée. Les couples de 6 mois ont été 11 à atteindre la 2^e portée et 9 la 4^e portée. Cependant, deux couples ont été retirés des analyses pour cause de cannibalisme lors de la mise bas de la quatrième portée (ce cannibalisme pouvant éventuellement influencer les comportements parentaux et la définition du sexe-ratio de ces portées devenait dès lors impossible). Les analyses seront donc effectuées sur les effectifs suivants : couples de 3 mois, P2 N=10 ; P4, N=8 ; couples de 6 mois : P2 N=11 ; P4, N=8. Nous avons exclu les individus issus de la 1^{re} portée de notre analyse (bien que tous les couples aient prodigué des soins lors de la 1^{re} portée) afin de limiter une forte variabilité interindividuelle et interportées liée à l'inexpérience parentale. La taille des portées n'a pas été standardisée. Toutes les mises bas ont eu lieu durant les 10 premières heures de la phase diurne (22h00-8h00). Le jour de la mise bas est désigné comme le premier jour post-partum (J1). Les comportements parentaux sont observés pendant une période de 10 secondes toutes les 2 minutes pendant 2 heures (une heure durant la phase diurne, 10h30-11h30 et une heure durant la phase nocturne, 13h30-14h30) aux 1^{er}, 3^e, 5^e et 7^e jours postnataux. Un total de 240 relevés est donc obtenu en P2 et en P4 pour chaque couple. Un score de "1"

ou "0" est attribué aux comportements suivant leur survenue durant la période d'observation de 10 secondes.

2.4 Descendance

Le sexe des nouveau-nés issus de la 2^e portée et de la 4^e portée est déterminé une semaine après leur naissance. Au 28^e jour post-partum, les jeunes sont sevrés et l'ensemble de la portée est hébergée dans une cage standard (26 x 14 x 16 cm, Iffa Credo, Lyon, France). Au 35^e jour post-partum, les mâles et les femelles sont séparés et hébergés en groupe de 2 à 5 individus dans une cage standard (26 x 14 x 16 cm, Iffa Credo, Lyon, France). Si une portée ne contient qu'un individu mâle ou femelle, celui-ci est hébergé avec un individu non-apparenté de même âge et de même sexe. À l'âge adulte (environ 60 jours), deux mâles et deux femelles issus de la 2^e portée et de la 4^e portée sont sélectionnés aléatoirement et soumis à une batterie de tests permettant d'évaluer leur niveau d'anxiété et de néophobie. Le Tableau 7 répertorie les effectifs utilisés.

TABLEAU 7 – Nombre de descendants mâles et femelles testés dans la batterie de tests issus des couples de 3 mois et 6 mois lors de la 2^e et 4^e portée

	Parents "3 mois"		Parents "6 mois"	
2 ^e portée	19 males	19 females	21 males	21 females
4 ^e portée	12 males	15 females	15 males	15 females

2.5 Tests comportementaux

Les individus sont âgés de 60 ± 2 jours au début des tests. Les tests comportementaux utilisés pour évaluer l'anxiété et la néophobie des jeunes souris sont l'open field (OF), le labyrinthe en croix surélevé (EPM pour elevated plus maze) et le test d'exploration d'un nouvel objet (NO). Chaque individu est soumis une seule fois à chacun des tests suivant cet ordre : OF - isolement des individus dans une cage standard - jour sans test - EPM - jour sans test - NO. Les tests ont été réalisés durant les 6 premières heures de la phase nocturne correspondant au début de la phase d'activité de *M. spicilegus*. Le déroulement des tests a été enregistré pour des analyses vidéo ultérieures (JWatcher version 1.0, Blumstein & Evans 2000). Après chaque test, les dispositifs sont nettoyés à l'aide d'une solution à base de Cleansinald (Johnson Diversey).

2.5.1 Open field

L'open field consiste en une arène circulaire blanche (polyéthylène basse densité) de 42 cm de diamètre et 50 cm de haut divisée virtuellement en deux zones d'aires égales : une zone périphérique et une zone centrale (24.75 cm de diamètre). Les souris sont placées au centre du dispositif et libres de l'explorer durant 5 minutes. La distance parcourue dans l'ensemble de l'arène et le pourcentage de distance parcourue dans la zone centrale sont relevés à l'aide du logiciel Ethovision XT7 (Noldus IT, Wageningen, The Netherlands). Le temps passé en immobilité tonique rigide (freezing : absence de mouvement du corps ou des vibrisses à l'exception des mouvements respiratoires) est également noté.

2.5.2 Labyrinthe en croix surélevé

Le labyrinthe en croix surélevé comprend deux bras opposés ouverts (30 cm de long par 5 cm de large avec des bordures de 0.2 cm de haut) et deux bras opposés fermés (30 cm de long par 5 cm de large avec des parois de 30 cm de haut). L'ensemble de la structure est surélevée à 40 cm du sol. Les allées des bras sont blanches et les parois noires. L'aire de jonction des bras (plateforme centrale) forme un carré de 10 cm de côté. Une boîte close faite de Plexiglas transparent comportant des trous (5 cm de diamètre) sur chacune de ses faces et placée sur la plateforme centrale afin d'éviter que les souris ne sautent au début du test. L'ensemble du dispositif est entouré de murs de 50 cm de haut afin de prévenir toute fuite des animaux après un saut ou une chute. Au début du test, les souris sont placées dans la boîte centrale et sont libres d'explorer le labyrinthe durant 7 minutes. Le temps passé dans les bras ouverts et le nombre d'entrées (présence des deux pattes antérieures) dans les bras fermés sont relevés. Si une souris saute ou tombe au sol, elle est replacée dans sa cage d'origine et observée pour détecter tout traumatisme ou comportement anormal. Afin de limiter le stress, la souris est replacée dans le dispositif au moins 30 minutes après avoir été capturée. Aucun individu n'a été blessé après être tombé ou avoir sauté du labyrinthe. Les souris sont replacées au niveau de la plateforme centrale et le test continue.

2.5.3 Test d'exploration d'un nouvel objet

Une balle blanche légère en celluloïd (3 cm de diamètre, 2.8 g) est placée dans la partie de la cage opposée au nid et le comportement des souris est relevé durant 5 minutes. La latence d'approche du nouvel objet (nez dirigé vers l'objet à une distance de 5 cm) ainsi que la latence de première manipulation et le temps passé à manipuler l'objet (monter sur, déplacer, ronger l'objet) sont mesurés.

2.6 Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R version 3.0.2 (R Development Core Team, 2012). Des modèles linéaires mixtes (LMM) et des modèles linéaires généralisés mixtes (GLM, pour le temps de manipulation de l'objet) ont été réalisés afin d'étudier les effets des caractéristiques du couple, de la portée et des comportements parentaux sur l'anxiété et la néophobie de la descendance (package Lme4, Bates 2005). La validité des modèles linéaires mixtes a été vérifiée en contrôlant la normalité de la distribution des résidus (approche graphique, test de Shapiro) et l'homogénéité des variances (représentation des valeurs ajustées en fonction des résidus du modèle (Faraway, 2006)). Nous avons testé la présence éventuelle d'un problème de colinéarité (facteur d'inflation > 4) entre les variables explicatives en examinant le facteur d'inflation de la variance (fonction `vif.m`). Nous avons utilisé une procédure d'élimination descendante (backward elimination) afin de réduire progressivement le nombre de variables et de conserver le modèle minimal. Pour les covariables significatives, un pseudo R^2 (noté R^2N) est calculé en utilisant la méthode de Nagelkerke (1991). Pour les facteurs, la taille d'effet a été évalué grâce au d de Cohen (Cohen, 1992). Les comparaisons post-hoc ont été réalisées grâce à des GLMM/LMM entre les groupes respectifs. L'identité des couples ($n = 21$) a été utilisée comme facteur aléatoire.

Nous avons testé les effets de l'âge de la mise en couple (facteur à deux niveaux) et de le rang de la portée (facteurs à deux niveaux) et l'interaction entre ces deux facteurs sur le niveau d'anxiété et de néophobie de la descendance. Les comportements maternels et paternels (léchage/toilettage et posture arquée) et leur interaction avec l'âge de mise en couple et la durée de vie reproductive ont également été intégrés au modèle. Enfin, nous avons aussi inclus le sexe des jeunes, le sexe-ratio (proportion de femelles) et le nombre de jeunes de la portée comme facteur et covariables dans le modèle.

3 Résultats

Seuls les résultats significatifs ($p < 0.05$) ou à forte tendance significative ($p < 0.07$) sont décrits dans cette section.

3.1 Effet des soins parentaux

Dans le test de l'open-field, une relation significative est établie entre les comportements manifestés dans l'arène par les jeunes individus et le niveau de LG-ABN relevées chez leur mère. Les jeunes adultes issus des couples dont la mère a exprimé un niveau faible de LG-ABN explorent moins l'arène ($\chi^2 = 7.09$, $p = 0.008$,

$R^2_N = 0.22$, Figure 15a), tendent à moins explorer sa zone centrale ($\chi^2 = 3.76$, $p = 0.053$) et passent plus de temps en immobilité tonique rigide (freezing) ($\chi^2 = 4.83$, $p = 0.028$, $R^2_N = 0.08$). Dans le labyrinthe en croix surélevé, les jeunes individus dont la mère a exprimé un faible niveau de LG-ABN passent moins de temps dans les bras ouverts ($\chi^2 = 7.17$, $p = 0.007$, $R^2_N = 0.18$, Figure 15b) et entrent moins fréquemment dans les bras fermés ($\chi^2 = 24.79$, $p < 0.01$, $R^2_N = 0.23$) que les jeunes ayant reçus plus de LG-ABN. Par contre, les soins parentaux se révèlent n'avoir aucun effet significatif sur les comportements des jeunes individus dans le test d'exploration d'un nouvel objet. Les comportements paternels n'affectent significativement aucune des variables retenues pour l'évaluation comportementales des jeunes dans les 3 dispositifs de test.

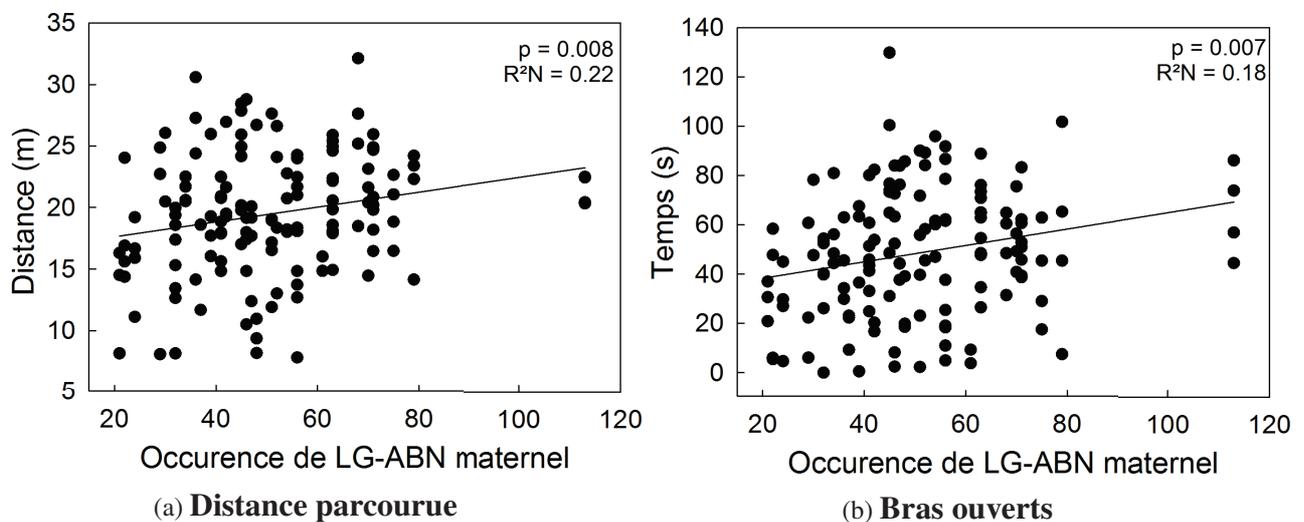


FIGURE 15 – Effets des comportements LG-ABN sur les comportements exploratoires et anxieux de la descendance Les points représentent les scores individuels (\pm SEM) de distance totale parcourue dans l'open-field (a) et de temps passé dans les bras ouverts de l'elevated-plus maze (b) ($N = 140$).

3.2 Effet de l'âge parental

L'âge des parents lors de la mise en couple n'affecte pas significativement les traits comportementaux des jeunes dans l'open-field. Ni la distance totale parcourue, ni le pourcentage de distance parcourue dans la zone centrale, ni le temps de freezing ne sont affectés par ce facteur. Il en est de même pour le test du labyrinthe en croix surélevé. Le temps passé dans les bras ouverts, le nombre d'entrées dans ces bras fermés ne diffèrent pas selon l'âge de mise en couple des parents. Par contre, dans le test d'exploration d'un nouvel objet, la latence et le temps de manipulation du nouvel objet sont affectés par l'âge des parents. Les jeunes nés de parents mis en couple à 6 mois mettent plus de temps à manipuler l'objet pour la première fois ($\chi^2 = 5.84$, $p = 0.016$, d

= 0.56, Figure 16a) et le manipulent moins lors du test ($\chi^2 = 7.85$, $p = 0.005$, $d = 0.52$, Figure 16b) que les descendants des couples de 3 mois.

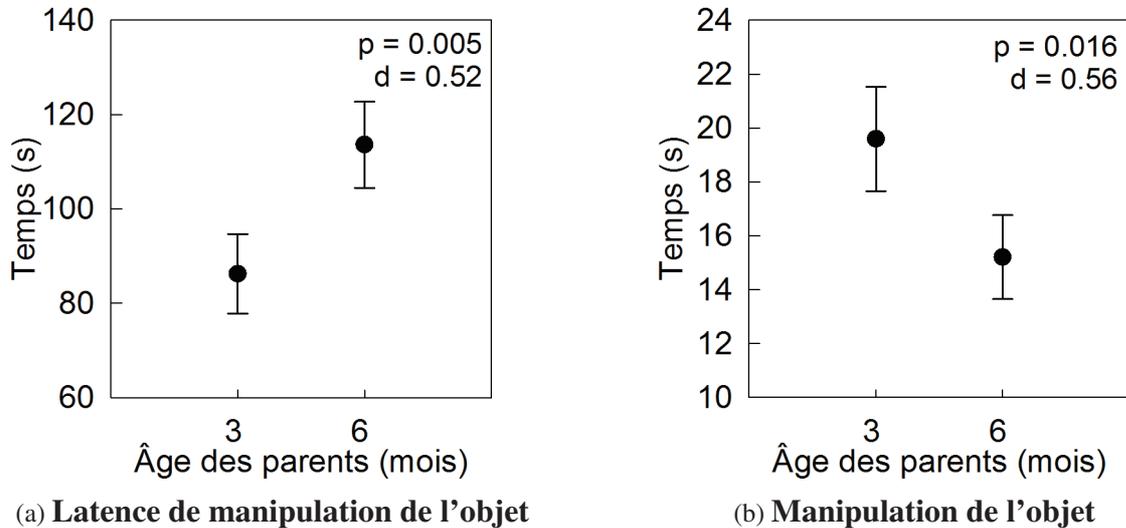


FIGURE 16 – Effets de l'âge de mise en couple des parents sur les comportements néophobes de la descendance. Les valeurs présentées sont les moyennes (\pm SEM) de la latence de manipulation (a) et du temps de manipulation (b) du nouvel objet des descendants nés de parents mis en couple à 3 mois ($N = 68$) et 6 mois ($N = 72$).

3.3 Effet du rang de la portée

Les jeunes issus de la 4^e portée explorent significativement moins l'ensemble du dispositif de l'open-field ($\chi^2 = 4.46$, $p = 0.035$, $d = 0.36$, Figure 17a) et sa zone centrale ($\chi^2 = 5.71$, $p = 0.017$, $d = 0.38$) que les jeunes issus de la 2^e portée. Il passent également plus de temps en immobilité tonique (freezing) ($\chi^2 = 35.58$, $p < 0.01$, $d = 0.49$, Figure 17b). Dans le labyrinthe en croix surélevé, les jeunes issus de la 4^e portée passent moins de temps dans les bras ouverts que ceux de la seconde portée ($\chi^2 = 6.11$, $p = 0.013$, $d = 0.39$, Figure 17c). Dans le test d'exploration d'un nouvel objet, il existe une interaction entre l'âge de mise en couple des parents et le rang de la portée, révélant que la latence d'approche de l'objet est affectée différemment au cours des portées chez les parents de 3 et 6 mois ($\chi^2 = 4.65$, $p = 0.03$). Seule une différence significative existe entre les jeunes issus des couples de 6 mois, ceux issus de la 4^e portée mettant plus de temps à approcher l'objet que ceux issus de la 2^e portée ($\chi^2 = 24.75$, $p < 0.001$, $d = 0.53$). Les jeunes issus des parents les plus âgés (parents de 6 mois lors de la 4^e portée) apparaissent être globalement ceux qui mettent plus de temps à approcher l'objet (comparaison avec les jeunes issus des parents de 3 mois, en P2 : $\chi^2 = 11.7$, $p < 0.001$, $d = 0.96$) et en P4 : $\chi^2 = 4.65$, $p = 0.031$, $d = 0.72$).

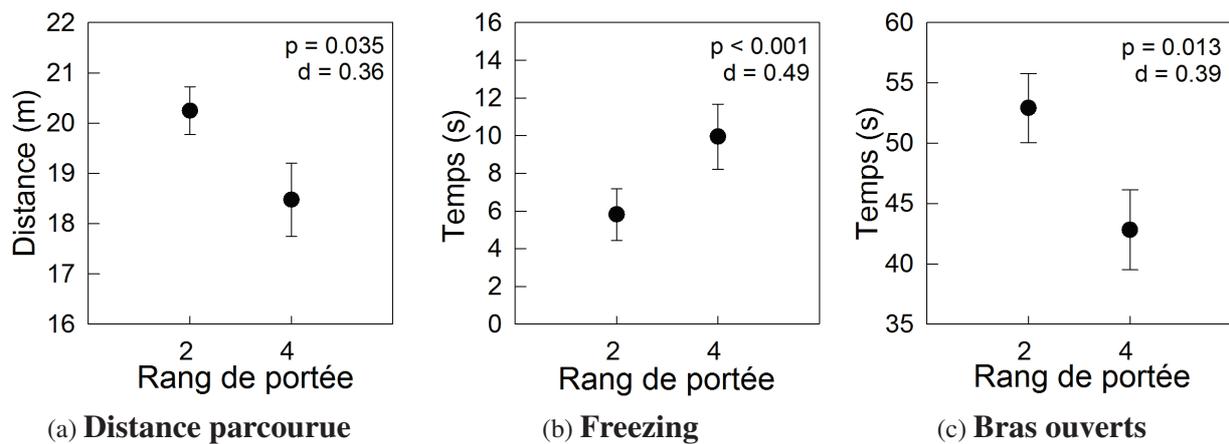


FIGURE 17 – Effet du rang de la portée sur les comportements exploratoires et anxieux de la descendance. Les valeurs présentées sont les moyennes (\pm SEM) de la distance totale parcourue (a) et du temps passé en freezing (b) dans l'open field et du temps passé dans les bras ouverts (c) de l'elevated plus maze des descendants issus de la 2^e (N = 80) et de la 4^e portée (N = 60) des couples.

3.4 Autres caractéristiques des portées

Le sexe-ratio de la portée dont sont issus les jeunes individus affecte leur activité dans l'open-field. Les portées qui comportent relativement plus de femelles que de mâles explorent significativement moins l'ensemble du dispositif ($\chi^2 = 4.84$, $p = 0.028$, $R^2_N = 0.12$). Le temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe est affecté par le sexe-ratio des portées. Les jeunes adultes qui passent moins de temps dans les bras ouverts sont ceux issus de portées comportant relativement plus de femelles que de mâles ($\chi^2 = 7.75$, $p = 0.005$, $R^2_N = 0.16$, Figure 18). Les jeunes issus de portées dont le sexe-ratio est biaisé en faveur des femelles ($\chi^2 = 8.73$, $p = 0.003$, $R^2_N = 0.11$) entrent également moins fréquemment dans les bras fermés. Les autres variables (sexe des jeunes, nombre de jeunes de la portée) n'affectent significativement aucune des variables retenues pour l'évaluation comportementales des jeunes dans les 3 dispositifs de test.

4 Discussion

Les résultats majeurs mis en évidence par cette étude montrent que l'anxiété de la descendance à l'âge adulte (1) est affectée par la variabilité naturelle des comportements LG-ABN manifestés par les mères, (2) semble, en revanche, peu sensible à la variabilité des comportements LG-ABP des pères (3) est affectée par la parité (expérience reproductrice antérieure) et l'âge de mise en couple des parents.

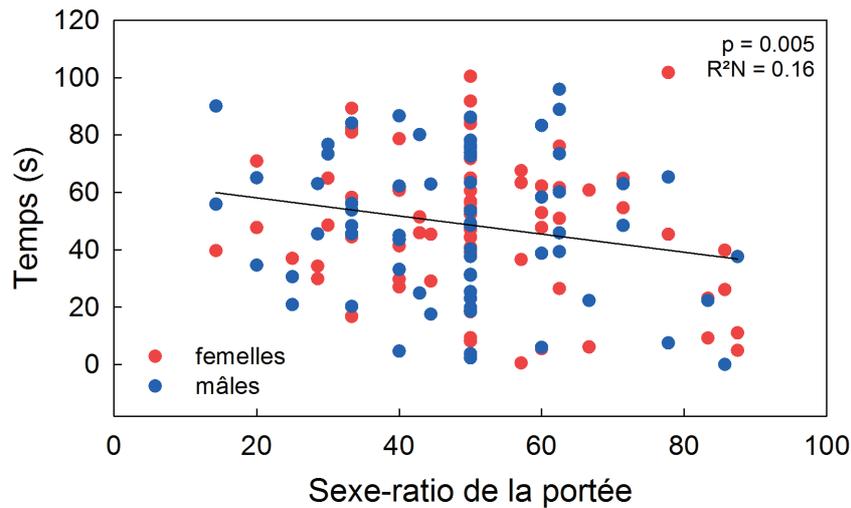


FIGURE 18 – Effets du sexe-ratio des portées sur les comportements anxieux de la descendance. Les points correspondent aux scores individuels (\pm SEM) de temps passé dans les bras ouverts de l’elevated-plus maze en fonction du sexe-ratio (pourcentage de femelles) des portées (N = 140).

4.1 Effet des soins maternels et paternels sur l’anxiété et la néophobie de la descendance

Les femelles *M. spicilegus* qui ont exprimé un haut niveau de LG-ABN durant la première semaine post-partum ont une descendance moins anxieuse à l’âge adulte que les femelles moins maternelles. En effet, les individus dont les mères manifestent fréquemment ces comportements tendent à explorer davantage la zone centrale de l’open-field et y manifestent moins de comportement d’immobilité tonique. Ils passent également plus de temps dans les bras ouverts du labyrinthe en croix. Ces résultats sont accord avec ceux retrouvés chez le rat qui montrent que les comportements de léchage/toilettage des mères durant la première semaine de vie influencent l’état émotionnel de la descendance (Caldji et al., 1998). Chez le rat, les stimulations tactiles engendrées par ces comportements (Gonzalez et al., 2001; Jutapakdeegul et al., 2003) seraient à l’origine de la modulation du développement neuronal et augmenteraient l’expression des récepteurs des glucocorticoïdes au niveau de l’hypocampe réduisant ainsi la réponse de l’axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (ou HPA) face à une situation de stress (Liu et al., 1997; Francis & Meaney, 1999). La relation entre les soins maternels reçus par les jeunes et leur réaction ultérieure face au stress a été également mis à jour chez deux souches de souris de laboratoire connues pour présenter des profils maternels opposés. Les souris B6 sont plus maternelles, moins anxieuses que les souris BALB (Priebe et al., 2005) et montrent également des niveaux plus bas de corticostérone face au stress et plus de récepteurs aux glucocorticoïdes (Prakash et al., 2006). Chez la souris glaneuse, le haut niveau de stimulations via les comportements de LG-ABN semble également influencer

l'activité (distance totale parcourue) dans l'open field. Chez le rat, Uriarte et al. (2007) ont également montré que les descendants issus de femelles qui exprimaient un haut niveau de LG-ABN étaient plus actifs dans l'open-field que les descendants nés de femelles moins maternelles.

En revanche, le comportement de léchage/toilettage et la posture de recouvrement arquée du mâle ne semblent pas influencer les comportements émotionnels de la descendance. À notre connaissance, il existe très peu d'études évaluant les effets de la variation naturelle des comportements paternels sur les comportements anxieux de la descendance. Chez les rongeurs, des travaux de déprivation ont montré que l'absence du père chez des rongeurs biparentaux conduisait à une augmentation de l'anxiété et une diminution de l'exploration de nouveaux environnements (Jia et al., 2009; McGraw & Young, 2010). Une étude récente chez les marmousets (*Callithrix geoffroyi*) indique que la variation naturelle des comportements paternels comme le léchage et toilettage n'entraîne pas une augmentation de la réactivité de l'HPA (Birnie et al., 2013). Il est envisageable que d'autres comportements paternels puissent moduler les comportements anxieux de la descendance. Chez la souris de Californie (*Peromyscus californicus*), le comportement de récupération du père est corrélé positivement à l'agressivité des jeunes mâles (i.e plus les jeunes mâles ont été récupérés hors du nid, plus vite ils attaquent un opposant) (Bester-Meredith & Marler, 2003; Frazier et al., 2006). Il est possible que les stimulations tactiles induites par la prise du jeune par le père (zone postérieure aux épaules) puissent engendrer des effets sur le comportement anxieux des jeunes à long terme.

Notre étude suggère que le sexe des parents prodiguant des soins aux jeunes puisse être un facteur important à prendre en compte afin de déterminer comment les comportements parentaux façonnent le développement neuronal, cognitif et émotionnel de la descendance. Chez la souris de Californie, il semble également qu'un tel mécanisme soit en jeu dans le développement de l'agressivité. Chez cette espèce, bien que les soins maternels (score composite : blottissement, allaitement, toilettage et présence au nid) soient associés au niveau d'agression des descendants des deux sexes dans un environnement neutre, les soins paternels (blottissement, toilettage et présence au nid) ne montrent pas d'association avec le comportement d'agression de la descendance (Bester-Meredith & Marler, 2003, 2007). Les résultats obtenus chez la souris glaneuse et la souris de Californie montrent un rôle différentiel des parents via des effets épigénétiques dans le développement comportemental de la descendance.

4.2 Effet du rang de la portée et de l'âge de mise en couple sur la néophobie et l'anxiété de la descendance

Nos résultats montrent que les différentes variables reflétant la réactivité émotionnelle des souris mesurées dans l'OF et l'EPM sont affectées par le rang de la portée des couples alors que celles mesurées dans le test de NO sont principalement affectées par l'âge de mise en couple des parents. Il est très probable que, de part leur différente nature (procédure forcée contre exploration libre), les tests de l'OF et de l'EPM se distinguent de celui du NO en mesurant différentes composantes de l'anxiété (Griebel et al., 1993) qui mettent en jeu des bases neurobiologiques distinctes (Belzung et al., 1994).

En accord avec les différents travaux menés chez différentes espèces, nos résultats indiquent que l'âge des parents affecte la réactivité face au stress chez la descendance. À l'âge adulte, les jeunes nés de couples de 6 mois sont plus néophobes que ceux des couples de 3 mois. Cette étude ne nous permet pas de distinguer les impacts liés à l'âge maternel et paternel, toutefois, plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce résultat. Le phénomène observé pourrait être en partie d'ordre génétique. En effet, il a été suggéré que chez les mâles, l'apparition et l'accumulation de mutations *de novo* dans la séquence ADN des cellules germinales au cours du vieillissement expliqueraient les changements comportementaux observés chez la descendance (Flatscher-Bader et al., 2011). Par ailleurs, des effets épigénétiques, via les stimulations tactiles parentales, pourraient également expliquer ce phénomène. Néanmoins, les parents de 6 mois n'expriment pas significativement moins de comportements de léchage/toilettage ni de posture arquée que les parents de 3 mois (que les comportements des mères et des pères soient considérés séparément ou non, données non présentées). D'autres sources de stimulations tactiles peuvent toutefois être envisagées. Les couples de 3 mois pourraient par exemple exprimer plus de comportements de "stepping" (les parents marchent doucement sur les petits), être globalement plus actifs dans le nid ou effectuer plus d'aller-retours de l'intérieur à l'extérieur du nid ce qui stimulerait davantage leur progéniture. D'autres comportements parentaux, non pris en compte durant cette étude, peuvent également intervenir dans le développement émotionnel des jeunes. Chez les primates, il a été montré que les jeunes qui ont fréquemment été rejetés par leur mère présentent une meilleure capacité à faire face à des situations stressantes (Schino et al., 2001). Il est envisageable que les parents de 3 mois rejettent plus leurs jeunes notamment au moment du sevrage, ce qui les aiderait à gagner leur indépendance et à être moins anxieux. De façon opposée, les parents de 6 mois pourraient être plus protecteurs durant la période d'élevage des jeunes. Chez l'espèce humaine, l'impact négatif d'une sur-protection sur le profil anxieux des enfants est bien connue (McLeod et al., 2007; Van den Bergh et al., 2008). De façon similaire, les

descendants des parents mis en couple à 6 mois pourraient être plus sensibles à la séparation sociale et être perturbés par le sevrage et/ou l'isolement social qui a lieu avant la batterie de tests.

À l'âge adulte, les jeunes nés à la fin de la vie reproductive des parents (4^e portée) sont plus anxieux que ceux nés en début de vie reproductive (2^e portée). Chez les animaux, très peu d'études portent sur l'effet de la parité sur les comportements émotionnels de la descendance mais il semble que, chez la souris domestique, les portées issues de femelles primipares soient plus anxieuses que les portées ultérieures (Elias et al., 1982). Néanmoins, à notre connaissance, aucune étude n'a évalué les comportements émotionnels des descendants de couples multipares à différents moments de la vie reproductive des parents. Chez l'Homme, les travaux étudiant l'effet de l'ordre de naissance sur les comportements anxieux de la descendance soulignent majoritairement une différence entre les aînés, caractérisés comme plus anxieux, et les autres enfants (Abdel-Khalek, 2002; Flowers et al., 2002) bien que des travaux plus anciens reportent que les derniers nés tendent à adopter des comportements anxieux face à des situations stressantes (Smart, 1963; Stagner, 1986).

L'accumulation d'événements reproducteurs (et la présence de reproduction post-partum) chez les rongeurs est énergiquement très coûteuse et l'énergie allouée dans les soins parentaux pourrait diminuer au cours de la vie reproductive. D'après nos résultats, nous n'observons pas un impact notable de l'accumulation des portées sur les stimulations tactiles fournies par les parents (voir les Annexes page 131) qui pourrait expliquer une différence d'anxiété entre les portées. Toutefois, la méthode d'observation utilisée (scans en début de période d'activité durant la 1^{re} semaine post-partum) donne une vue réduite de l'activité parentale. Le relevé des comportements parentaux lors de périodes plus propices à la mise en évidence d'une fatigue généralisée, comme par exemple en fin de période d'activité ou après la 1^{re} semaine post-partum aurait peut être pu montrer une diminution de l'allocation parentale lors de la 4^e portée. Il est également possible que les parents les plus expérimentés allouent prioritairement leur énergie dans les soins lors de la période critique à la survie des jeunes (1^{re} semaine post-partum) pour ensuite fortement diminuer leur investissement comme cela a été montré chez les juments (Cameron et al., 2000). Les jeunes des couples en fin de vie reproductive pourraient alors globalement avoir reçu moins de stimulations tactiles.

4.3 Effet du sexe-ratio de la portée sur l'anxiété de la descendance

Notre étude révèle que le sexe-ratio de la portée module l'anxiété des descendants. Malgré un effectif faible de portées au sexe-ratio fortement biaisé en faveur d'un des sexes, il apparaît nettement que plus le ratio de mâles est important, moins les portées sont anxieuses et plus elles sont actives. Ce résultat pourrait être expliqué par une exposition différentielle aux hormones androgènes gonadiques excrétées durant la vie

foetale. Divers travaux ont montré que le voisinage immédiat de foetus adjacents de sexe mâle augmentait les taux sanguins de testostérone chez les femelles (dites 2M, développement entre deux mâles) (vom Saal, 1981; Montano et al., 1995). Dans notre étude, plus les portées comportent de mâles, plus la probabilité de sélectionner un descendant qui s'est développé à proximité de deux mâles augmente. Ces différences d'environnements intra-utérins ont de nombreux impacts sur les comportements des descendants (Ryan & Vandenberg, 2002). Chez la souris, il a été montré que les mâles 2M recherchent plus la nouveauté que les mâles 0M (Palanza et al., 2001) et que les femelles 2M semblent moins anxieuses que les 0M (Hauser & Gandelman, 1983). Chez l'Homme, il semble également qu'une faible exposition à la testostérone *in utero* soit associée à des troubles anxieux à l'âge adulte (de Bruin et al., 2006).

Notre étude dévoile également que le sexe des individus n'affecte pas le niveau d'anxiété, de néophobie ou d'activité des descendants dans la batterie de tests réalisée. Chez les rongeurs, les travaux comparant l'anxiété des mâles et des femelles ne montrent pas de résultats unanimes et il semble que les résultats varient suivant l'espèce, le test et les variables utilisées (Palanza et al., 2001; Holmes et al., 2000). De même, la taille de la portée ne semble pas être un facteur déterminant dans le développement des comportements anxieux ni l'activité de la descendance.

4.4 Conclusion

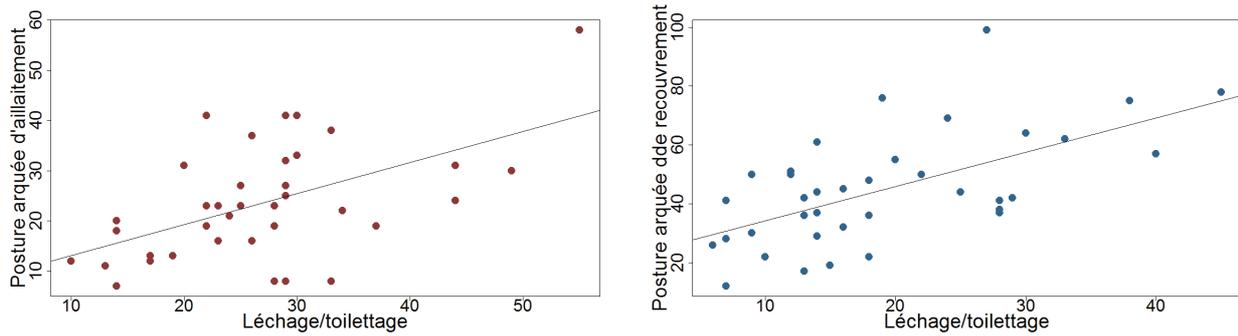
Nos résultats montrent que l'âge de mise en couple mais surtout la portée dont est issue la descendance semble affecter le développement émotionnel des jeunes à l'âge adulte. D'autres facteurs inhérents à la composition des portées comme le sexe-ratio semble également jouer un rôle important dans les capacités de la descendance à faire face à des situations stressantes. En conditions naturelles, l'âge des couples reproducteurs pourrait être une source de variabilité phénotypique non négligeable des populations animales et pourrait amener les descendants à adopter des stratégies différentes lors de processus écologiques qui nécessitent l'exploration de nouveaux milieux comme le processus de dispersion.

5 Annexes

5.1 Comportements parentaux

Chez les femelles et les mâles, la posture arquée et les comportements de léchage/toilettage sont corrélés positivement (Figure 19).

Chez les femelles, une interaction existe entre les facteurs "parité" et "âge" révélant que les comportements



(a) **Corrélation entre les postures arquées et les comportements de léchage/toilettage chez les femelles**

(b) **Corrélation entre les postures arquées et les comportements de léchage/toilettage chez les mâles**

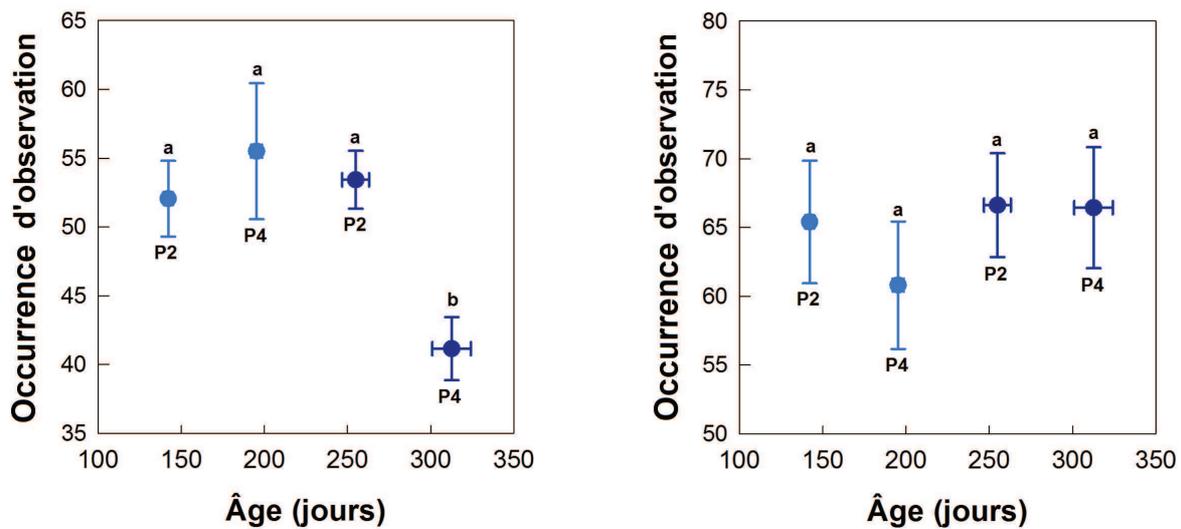
FIGURE 19 – Corrélation entre le nombre des postures arquées et le nombre de comportement de léchage/toilettage exprimés par les parents durant la première semaine post-partum. Ces corrélations ont été réalisées sur l'ensemble du jeu de données des femelles (N = 37) et des mâles (N = 37).

LG-ABN sont affectés différemment au cours des portées chez les deux classes d'âge ($\chi^2 = 5.45$, $p = 0.02$) (Figure 20a). Les femelles mise en couple à 6 mois expriment significativement moins ces comportements lors de la 4^e que de la 2^e portée ($\chi^2 = 5.58$, $p = 0.018$, $d = 0.86$) alors qu'aucune différence n'est observée chez les femelles mises en couples à 3 mois. Les autres comparaisons post-hoc ne dévoilent pas de différence significative ($p > 0.1$).

Chez les mâles, le nombre de nouveau-nés présents dans la portée affecte significativement les comportements LG-ABP ($\chi^2 = 17.3$, $p < 0.001$, $R^2_N = 0.44$). Plus la taille de la portée est grande, plus les mâles expriment ces comportements. En revanche, l'âge de mise en couple et le rang de portée n'affectent pas le niveau de LG-ABP (Figure 20b).

5.2 Facteurs modulant les comportements LG-ABN/ABP

Comme précédemment observé chez les rattes, les comportements de léchage/toilettage et la posture arquée sont corrélés positivement chez les souris glaneuses femelles mais aussi chez les mâles. Cependant, ces comportements sont modulés par des facteurs différents. Chez les femelles, il semble que les souris de 6 mois réduisent le niveau de LG-ABN en fin de vie reproductive sans doute pour des raisons énergétiques. Il est surtout intéressant de noter que l'expression des comportements LG-ABN n'est pas dépendante de caractéristiques inhérentes à la portée contrairement aux comportements LG-ABP des mâles qui sont fortement influencés par la taille de la portée. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés chez le rat qui montrent que les comportement de LG-ABN des femelles ne dépendent pas de la taille de la portée (Champagne et al., 2003) et celui trouvé chez la gerbille de Mongolie (*Meriones unguiculatus*) qui dévoile que les mâles expriment plus



(a) Léchage/toilettage et posture arquée cumulés des femelles

(b) Léchage/toilettage et posture arquée cumulés des mâles

FIGURE 20 – Nombre d’observations (moyenne ±SEM) où les femelles et les mâles adoptent une posture arquée ou expriment des comportements de léchage/toilettage (fréquences cumulées) en fonction de leur âge de mise en couple et de leur durée de vie reproductive. Les parents mis en couple à 3 mois sont représentés en bleu clair et les parents mis en couple à 6 mois en bleu foncé. Les comportements sont relevés en début (lors de la 2^e portée, P2) et fin de vie reproductive (lors de la 4^e portée, P4). Couples de 3 mois, P2 N = 10 ; P4, N = 8 ; couples de 6 mois : P2 N = 11 ; P4, N = 8.

de léchage/toilettage et de contact quand les portées sont grandes (Elwood & Broom, 1978). Chez les mâles, les comportements LG-ABP pourraient être directement déclenchés par les jeunes via des stimuli tactiles (Stern, 1997) ce qui expliquerait cette corrélation.

Bibliographie

- Abdel-Khalek, A. M., 2002. Age and sex differences for anxiety in relation to family size, birth order, and religiosity among kuwaiti adolescents. *Psychological Reports* **90**, 1031–1036.
- Bates, D., 2005. Fitting linear mixed models in R. *R news* **5**, 27–30.
- Belzung, C., Pineau, N., Beuzen, A., & Misslin, R., 1994. Pd135158, a cck-b antagonist, reduces “state,” but not “trait” anxiety in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **49**, 433–436.
- Bester-Meredith, J. K. & Marler, C. A., 2003. The association between male offspring aggression and paternal and maternal behavior of *Peromyscus* mice. *Ethology* **109**, 797–808.
- Bester-Meredith, J. K. & Marler, C. A., 2007. Social experience during development and female offspring aggression in *Peromyscus* mice. *Ethology* **113**, 889–900.
- Birnie, A. K., Taylor, J. H., Cavanaugh, J., & French, J. A., 2013. Quality of maternal and paternal care predicts later stress reactivity in the cooperatively-breeding marmoset (*Callithrix geoffroyi*). *Psychoneuroendocrinology* **38**, 3003–3014.
- Blumstein, D. T. & Evans, C. S. and Daniel, J. C., 2000. *JWatcher: An Introductory User's Guide*.
- Bredy, T. W., Lee, A. W., Meaney, M. J., & Brown, R. E., 2004. Effect of neonatal handling and paternal care on offspring cognitive development in the monogamous californian mouse *Peromyscus californicus*. *Hormones and Behavior* **46**, 30–38.
- Caldji, C., Tannenbaum, B., Sharma, S., Francis, D., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J., 1998. Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **95**, 5335–5340.
- Cameron, E. Z., Linklater, W. L., Stafford, K. J., & Minot, E. O., 2000. Aging and improving reproductive success in horses: declining residual reproductive value or just older and wiser? *Behavioral Ecology and Sociobiology* **47**, 243–249.
- Champagne, F. & Meaney, M. J., 2001. Like mother, like daughter: evidence for non-genomic transmission of parental behavior and stress responsivity. *Progress in Brain Research* **133**, 287–302.
- Champagne, F. A., Curley, J. P., Keverne, E. B., & Bateson, P. P., 2007. Natural variations in postpartum maternal care in inbred and outbred mice. *Physiology & Behavior* **91**, 325–334.
- Champagne, F. A., Francis, D. D., Mar, A., & Meaney, M. J., 2003. Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiology & Behavior* **79**, 359–371.
- Chapillon, P., Patin, V., Roy, V., Vincent, A., & Caston, J., 2002. Effects of pre-and postnatal stimulation on developmental, emotional, and cognitive aspects in rodents: a review. *Developmental Psychobiology* **41**, 373–387.
- Cohen, J., 1992. A power primer. *Psychological Bulletin* **112**, 155.
- Cosoff, S. J. & Julian Hafner, R., 1998. The prevalence of comorbid anxiety in schizophrenia, schizoaffective disorder and bipolar disorder. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry* **32**, 67–72.
- de Bruin, E. I., Verheij, F., Wiegman, T., & Ferdinand, R. F., 2006. Differences in finger length ratio between males with autism, pervasive developmental disorder–not otherwise specified, adhd, and anxiety disorders. *Developmental Medicine & Child Neurology* **48**, 962–965.
- Elias, J. W., Nau, K. L., Villescás, R. X., & Bell, R., 1982. The effects of parity on passive avoidance conditioning on three age groups of fischer 344 male rats. *Experimental Aging Research* **8**, 209–211.
- Elwood, R. & Broom, D., 1978. The influence of litter size and parental behaviour on the development of mongolian gerbil pups. *Animal Behaviour* **26**, 438–454.
- Faraway, J. J., 2006. *Extending the linear model with R: generalized linear, mixed effects and nonparametric regression models*. CRC press.
- Féron, C. & Gheusi, G., 2003. Social regulation of reproduction in the female mound-builder mouse (*Mus spicilegus*). *Physiology & Behavior* **78**, 717–722.
- Féron, C. & Gouat, P., 2007. Paternal care in the mound-building mouse reduces inter-litter intervals. *Reproduction Fertility And Development* **19**, 425–429.

- Flatscher-Bader, T., Foldi, C., Chong, S., Whitelaw, E., Moser, R., Burne, T., Eyles, D., & McGrath, J., 2011. Increased de novo copy number variants in the offspring of older males. *Translational Psychiatry* **1**, e34.
- Flowers, R. A., Brown, C., et al., 2002. Effects of sport context and birth order on state anxiety. *Journal of Sport Behavior* **25**, 41–56.
- Foldi, C. J., Eyles, D. W., McGrath, J. J., & Burne, T. H., 2010. Advanced paternal age is associated with alterations in discrete behavioural domains and cortical neuroanatomy of c57bl/6j mice. *European Journal of Neuroscience* **31**, 556–564.
- Francis, D. D. & Meaney, M. J., 1999. Maternal care and the development of stress responses. *Current Opinion in Neurobiology* **9**, 128–134.
- Frans, E. M., Sandin, S., Reichenberg, A., Lichtenstein, P., Långström, N., & Hultman, C. M., 2008. Advancing paternal age and bipolar disorder. *Archives of General Psychiatry* **65**, 1034–1040.
- Frazier, C. R., Trainor, B. C., Cravens, C. J., Whitney, T. K., & Marler, C. A., 2006. Paternal behavior influences development of aggression and vasopressin expression in male california mouse offspring. *Hormones and Behavior* **50**, 699–707.
- Furchtgott, E. & Lazar, J., 1969. Maternal parity and offspring behavior in the domestic mouse. *Developmental Psychology* **1**, 227.
- Gonzalez, A., Lovic, V., Ward, G. R., Wainwright, P. E., & Fleming, A. S., 2001. Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Developmental Psychobiology* **38**, 11–32.
- Griebel, G., Belzung, C., Misslin, R., & Vogel, E., 1993. The free-exploratory paradigm: an effective method for measuring neophobic behaviour in mice and testing potential neophobia-reducing drugs. *Behavioural Pharmacology* **4**, 637–644.
- Hauser, H. & Gandelman, R., 1983. Contiguity to males in utero affects avoidance responding in adult female mice. *Science* **220**, 437–438.
- Holmes, A., Parmigiani, S., Ferrari, P., Palanza, P., & Rodgers, R., 2000. Behavioral profile of wild mice in the elevated plus-maze test for anxiety. *Physiology & Behavior* **71**, 509–516.
- Jia, R., Tai, F., An, S., Zhang, X., & Broders, H., 2009. Effects of neonatal paternal deprivation or early deprivation on anxiety and social behaviors of the adults in mandarin voles. *Behavioural Processes* **82**, 271–278.
- Jutapakdeegul, N., Casalotti, S. O., Govitrapong, P., & Kotchabhakdi, N., 2003. Postnatal touch stimulation acutely alters corticosterone levels and glucocorticoid receptor gene expression in the neonatal rat. *Developmental Neuroscience* **25**, 26–33.
- Kolevzon, A., Gross, R., & Reichenberg, A., 2007. Prenatal and perinatal risk factors for autism: a review and integration of findings. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine* **161**, 326–333.
- Leyfer, O. T., Folstein, S. E., Bacalman, S., Davis, N. O., Dinh, E., Morgan, J., Tager-Flusberg, H., & Lainhart, J. E., 2006. Comorbid psychiatric disorders in children with autism: interview development and rates of disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders* **36**, 849–861.
- Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A., Sharma, S., Pearson, D., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J., 1997. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* **277**, 1659–1662.
- Marler, C., Trainor, B. C., & Davis, E., 2005. Paternal behavior and offspring aggression. *Current Directions in Psychological Science* **14**, 163–166.
- McGhee, K. E. & Bell, A. M., 2014. Paternal care in a fish: epigenetics and fitness enhancing effects on offspring anxiety. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **281**, 20141146.
- McGraw, L. A. & Young, L. J., 2010. The prairie vole: an emerging model organism for understanding the social brain. *Trends in Neurosciences* **33**, 103–109.
- McLeod, B. D., Wood, J. J., & Weisz, J. R., 2007. Examining the association between parenting and childhood anxiety: a meta-analysis. *Clinical Psychology Review* **27**, 155–172.
- Menezes, P., Lewis, G., Rasmussen, F., Zammit, S., Sipsos, A., Harrison, G., Tynelius, P., & Gunnell, D., 2010. Paternal and maternal ages at conception and risk of bipolar affective disorder in their offspring. *Psychological Medicine* **40**, 477–485.
- Milishnikov, A. N., Rafiev, A. N., & Muntianu, A. I., 1998. Genotypic variability in populations of the mound-builder mouse *Mus spicilegus* pet., 1882, at various life cycle stages. *Genetika* **34**, 947–952.
- Montano, M., Welshons, W., & Vom Saal, F., 1995. Free estradiol in serum and brain uptake of estradiol during fetal and neonatal sexual differentiation in female rats. *Biology of Reproduction* **53**, 1198–1207.

- Nagelkerke, N. J., 1991. A note on a general definition of the coefficient of determination. *Biometrika* **78**, 691–692.
- Nithianantharajah, J. & Hannan, A. J., 2006. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience* **7**, 697–709.
- Palanza, P., Morley-Fletcher, S., & Laviola, G., 2001. Novelty seeking in periadolescent mice: sex differences and influence of intrauterine position. *Physiology & Behavior* **72**, 255–262.
- Patris, B. & Baudoin, C., 1998. Female sexual preferences differ in *Mus spicilegus* and *Mus musculus domesticus*: the role of familiarization and sexual experience. *Animal Behaviour* **56**, 1465–1470.
- Patris, B. & Baudoin, C., 2000. A comparative study of parental care between two rodent species: implications for the mating system of the mound-building mouse, *Mus spicilegus*. *Behavioral Processes* **51**, 35–43.
- Prakash, P., Merali, Z., Kolajova, M., Tannenbaum, B. M., & Anisman, H., 2006. Maternal factors and monoamine changes in stress-resilient and susceptible mice: cross-fostering effects. *Brain Research* **1111**, 122–133.
- Priebe, K., Brake, W. G., Romeo, R. D., Sisti, H. M., Mueller, A., McEwen, B. S., & Francis, D. D., 2005. Maternal influences on adult stress and anxiety-like behavior in c57bl/6j and balb/cj mice: a cross-fostering study. *Developmental Psychobiology* **47**, 398–407.
- R Development Core Team, 2012. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- Reichenberg, A., Gross, R., Weiser, M., Bresnahan, M., Silverman, J., Harlap, S., Rabinowitz, J., Shulman, C., Malaspina, D., Lubin, G., et al., 2006. Advancing paternal age and autism. *Archives of General Psychiatry* **63**, 1026–1032.
- Rice, D. & Barone Jr, S., 2000. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environmental Health Perspectives* **108**, 511.
- Ryan, B. C. & Vandenbergh, J. G., 2002. Intrauterine position effects. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **26**, 665–678.
- Sampino, S., Juszcak, G., Zacchini, F., Swiergiel, A., Modlinski, J., Loi, P., & Ptak, G., 2014. Grand-paternal age and the development of autism-like symptoms in mice progeny. *Translational Psychiatry* **4**, e386.
- Schino, G., Speranza, L., & Troisi, A., 2001. Early maternal rejection and later social anxiety in juvenile and adult Japanese macaques. *Developmental Psychobiology* **38**, 186–190.
- Smart, R. G., 1963. Alcoholism, birth order, and family size. *The Journal of Abnormal and Social Psychology* **66**, 17.
- Smith, R. G., Kember, R. L., Mill, J., Fernandes, C., Schalkwyk, L. C., Buxbaum, J. D., & Reichenberg, A., 2009. Advancing paternal age is associated with deficits in social and exploratory behaviors in the offspring: a mouse model. *PLoS One* **4**, e8456.
- Sokolov, V., Kotenkova, E., & Michailenko, A., 1998. *Mus spicilegus*. *Mammalian Species* **592**, 1–6.
- Stagner, B. H., 1986. The viability of birth order studies in substance abuse research. *Substance Use & Misuse* **21**, 377–384.
- Stern, J. M., 1997. Offspring-induced nurturance; animal-human parallels. *Developmental Psychobiology* **31**, 19–37.
- Torrey, E. F., Buka, S., Cannon, T. D., Goldstein, J. M., Seidman, L. J., Liu, T., Hadley, T., Rosso, I. M., Bearden, C., & Yolken, R. H., 2009. Paternal age as a risk factor for schizophrenia: how important is it? *Schizophrenia Research* **114**, 1–5.
- Uriarte, N., Breigeiron, M. K., Benetti, F., Rosa, X. F., & Lucion, A. B., 2007. Effects of maternal care on the development, emotionality, and reproductive functions in male and female rats. *Developmental Psychobiology* **49**, 451–462.
- Van den Bergh, B. R., Van Calster, B., Pinna Puissant, S., & Van Huffel, S., 2008. Self-reported symptoms of depressed mood, trait anxiety and aggressive behavior in post-pubertal adolescents: associations with diurnal cortisol profiles. *Hormones and Behavior* **54**, 253–257.
- vom Saal, F. S., 1981. Variation in phenotype due to random intrauterine positioning of male and female fetuses in rodents. *Journal of Reproduction and Fertility* **62**, 633–650.
- Zaharia, M. D., Kulczycki, J., Shanks, N., Meaney, M. J., & Anisman, H., 1996. The effects of early postnatal stimulation on morris water-maze acquisition in adult mice: genetic and maternal factors. *Psychopharmacology* **128**, 227–239.

Discussion générale et perspectives

TABLEAU 8 – Synthèse des résultats

Chapitre	Effet de l'âge sur...	Résultats majeurs
1	l'anxiété/ l'exploration	<ul style="list-style-type: none"> – Relation non linéaire (courbe en U inversé) entre vieillissement et anxiété – Apparition plus précoce de l'anxiété chez les femelles – Évolution similaire des indices d'anxiété et de néophobie
2	les interactions sociales	<ul style="list-style-type: none"> – Diminution des comportements agressifs avec l'âge – Relation non linéaire entre vieillissement et anxiété en situation sociale – Changement indépendant de l'agressivité et de l'anxiété sociale au cours du vieillissement
3	l'initiation de l'accouplement et le succès reproducteur	<ul style="list-style-type: none"> – Diminution de la latence du 1^{er} accouplement chez les couples qui ont retardé leur âge de première reproduction – Succès reproducteur similaire lors des 3 premières portées entre les couples jeunes et âgés (nombre et poids des jeunes au sevrage)
4	les comportements parentaux	<ul style="list-style-type: none"> – Succès reproducteur similaire lors des 4 premières portées entre les couples jeunes et âgés (nombre et poids des jeunes au sevrage) – Augmentation de la quantité de soins (présence au nid, fréquence d'allaitement et de recouvrement) chez les couples âgés mais non de la qualité (comportements sources de stimulations tactiles) – Augmentation de l'effort parental avec l'âge chez les deux sexes – Début de sénescence plus rapide chez les individus qui retardent leur âge de première reproduction : production de jeunes plus petits à la naissance mais écart effacé probablement grâce à l'effort des parents âgés –
5	la préférence pour la partenaire	<ul style="list-style-type: none"> – Accentuation de la préférence du mâle pour l'odeur de sa partenaire (vs l'odeur d'une femelle étrangère) au fil de la vie reproductive du couple – Pas d'effet de l'âge de mise en couple sur la préférence olfactive des mâles
6	l'anxiété/l'exploration de la descendance	<ul style="list-style-type: none"> – Augmentation de l'anxiété des descendants à l'âge adulte avec le rang de la portée (parité) – Augmentation de la néophobie des descendants à l'âge adulte avec l'âge de mise en couples des parents – Corrélation positive entre la quantité des comportements de léchage/toilettage et de postures arquées des mères (mais non des pères) avec l'anxiété et l'activité de la descendance à l'âge adulte – Niveau d'anxiété plus élevé chez les descendants issus de portées comprenant un sexe-ratio biaisé en faveur des femelles

Le vieillissement, processus irréversible et universel, entraîne inéluctablement des modifications physiologiques dont la nature est très diverse (hormonale, musculaire, neurodégénérative...) qui peuvent avoir des répercussions sur le plan comportemental. Le comportement étant une interface d'ajustement entre les animaux et leur milieu, tout changement comportemental associé au vieillissement pourra avoir des conséquences directes sur la survie et la fitness des individus. L'objectif de cette thèse est double : (1) contribuer à la recherche sur le vieillissement en abordant des thématiques d'actualités comme l'augmentation du nombre de personnes âgées au niveau mondial, la préoccupation d'une hausse des troubles émotionnels ou du recul de l'âge de procréation et (2) prendre en considération les traits d'histoire de vie de notre modèle d'étude qui cumule les avantages d'être pleinement approprié à la recherche sur le vieillissement (modèle murin) et *a priori* plus adapté pour étudier un phénomène aussi complexe et multifactoriel que le vieillissement (modèle de type sauvage). L'ensemble des résultats recueillis durant ce travail de thèse a permis de mettre en évidence des conséquences émotionnelles et sociales notables au cours du vieillissement chez notre modèle biologique, la souris glaneuse.

1 Relation non-linéaire entre vieillissement et anxiété

Compte tenu de la prévalence élevée des troubles anxieux dans les populations humaines et chez les personnes âgées, de nombreux travaux se sont intéressés depuis quelques décennies à étudier les effets du vieillissement sur les comportements anxieux chez le rat et la souris de laboratoire. La majorité des études rapportent une augmentation de l'anxiété au cours du processus du vieillissement (Darwish et al., 2001; Boguszewski & Zagrodzka, 2002; Malatynska et al., 2012) mais d'autres études mentionnent une relation inverse (Pisarska et al., 2000; Torras-Garcia et al., 2005). Quels que soit les résultats obtenus, il est intéressant de noter que toutes ces études s'accordent sur un point : la relation entre le vieillissement et les comportements anxieux est linéaire. Notre étude montre clairement que des indices comportementaux de l'anxiété, reflets de changements physiologiques importants, peuvent suivre une évolution non-linéaire et décrire une courbe en U inversé au cours du vieillissement. Chez la souris glaneuse, les comportements liés à l'anxiété augmentent à 6 mois pour les femelles et à 1 an pour les mâles puis diminuent fortement chez les individus de 2 ans qui présentent alors un profil similaire aux jeunes adultes.

L'une des questions qui découle de cette observation est pourquoi les souris très âgées (2 ans) n'expriment pas de comportements anxieux et néophobes dans la batterie de tests utilisée ? Des changements neuronaux et plus particulièrement des atteintes au niveau des zones cérébrales qui rentrent en jeu dans la détection des

menaces (voir Figure 21) pourraient être à l'origine d'un tel phénomène. Les souris âgées de 2 ans pourraient être incapables d'exprimer certains comportements indicatifs de réponse émotionnelle. Par exemple, des lésions au niveau de l'hippocampe, zone cérébrale qui s'altère durant le vieillissement, peuvent induire une incapacité à exprimer le comportement de freezing chez les rats de laboratoire (Gewirtz et al., 2000). Dans ce cas, une diminution du comportement de freezing n'indiquerait pas une réelle diminution de l'anxiété mais juste une incapacité à exprimer ce comportement spécifique. D'autres comportements comme les postures étirées (SAP pour stretched attend postures, qui suivent une courbe en U inversé, données non présentées) sont également étroitement liés à l'hippocampe (McNaughton, 1997). Ces postures sont exprimées lors de la collecte d'informations dans des situations potentiellement menaçantes et permettent aux individus de mettre en place une stratégie comportementale adaptée (Blanchard & Blanchard, 1989). Certaines modifications au niveau de l'hippocampe pourraient altérer l'expression de ces comportements et perturber l'estimation

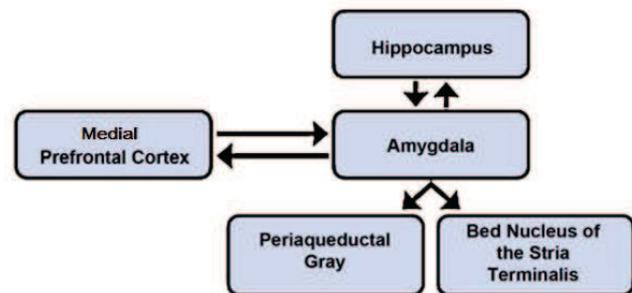


FIGURE 21 – Modèle hypothétique des systèmes neuronaux impliqués dans la détection des menaces et la régulation des réponses comportementales et biologiques exprimées dans des situations menaçantes. L'amygdale joue un rôle central dans ce système en déterminant si les environnements sont perçus comme dangereux ou non et son activité est régulée par l'hippocampe et le cortex médian préfrontal. Les réponses physiologiques et comportementales en situation menaçante dépendent d'autres régions cérébrales comme le noyau des stria terminalis qui coordonne les réponses motrices et autonomes et la substance grise périaqueductale qui coordonne les réactions défensives stéréotypées comme l'immobilité et la panique. Tiré de O'Donovan et al. 2013.

du risque chez les souris âgées. En outre, chez l'humain, des maladies neurodégénératives peuvent s'accompagner d'une prise de risque excessive couplée à de l'hyperactivité (Langford-Smith et al., 2011), deux traits comportementaux retrouvés chez nos souris âgées de 2 ans.

Cette relation non-linéaire entre vieillissement et réponses émotionnelles concerne aussi bien l'anxiété (et la néophobie) exprimée par les individus dans des situations physiques anxiogènes que l'anxiété sociale manifestée lors de la confrontation avec un congénère inconnu. Cette similarité dans les patterns laissent suggérer que nos indices d'anxiété utilisés dans les différents tests représentent un même aspect de l'anxiété ou différents aspects affectés de manière analogue par le vieillissement.

L'existence d'une relation non-linéaire entre le vieillissement et les comportements liés à l'anxiété suggère l'importance d'employer une approche multipoints lors de l'étude des effets de l'âge sur certains traits comportementaux, notamment lorsque ces effets ne sont pas caractérisés chez le modèle biologique utilisé. Cette étude est la première à examiner les conséquences de l'âge sur les comportements anxieux de la souris

glaneuse et il nous est apparu essentiel de travailler sur 4 classes d'âges définies en fonction des traits d'histoire de vie caractéristiques de l'espèce et de sa capacité à se maintenir dans un environnement contrôlé.

2 Différences comportementales, émotionnelles et sociales, entre les souris de 3 mois et de 6 mois

L'une des motivations de cette thèse était de choisir un modèle biologique pertinent pour étudier les effets de l'âge sur les comportements exploratoires et sociaux. Le cycle de vie spécifique de la souris glaneuse chez qui deux cohortes dispersent et se reproduisent à 3 mois ou à 6 mois nous permet d'intégrer les traits d'histoire de vie de l'espèce dans l'étude des conséquences comportementales du vieillissement. Nos résultats ont montré que ces deux classes d'âge diffèrent sur de nombreux traits comportementaux comme leur niveau d'anxiété et de prise de risque dans des situations anxiogènes, leur latence d'initiation de première reproduction et leurs comportements parentaux. Il est également apparu que les descendants de ces deux groupes d'individus présentaient des niveaux différents de néophobie.

2.1 Comportements liés à l'anxiété

Afin d'évaluer le niveau d'anxiété et de néophobie des mâles et des femelles âgés de 3 mois ou de 6 mois, nous les avons soumis à des tests classiques basés sur l'exploration d'environnements plus ou moins aversifs ou d'un nouveau stimulus placé dans l'environnement familier des individus. Ces différents tests nous ont permis de mettre en évidence une augmentation de l'anxiété plus précoce chez les femelles. En effet, alors que les mâles de 3 mois et 6 mois ont un profil similaire, les femelles de 6 mois passent plus de temps en posture d'immobilité tonique (freezing) et moins de temps à explorer les bras ouverts de l'elevated plus maze et à manipuler le nouvel objet que les femelles de 3 mois. Ce niveau élevé d'anxiété des femelles de 6 mois se retrouve également lors de situations sociales lorsqu'elles sont confrontées à une femelle inconnue et pourrait être une des causes de leur faible niveau d'agressivité. Chez l'humain, des travaux reportent également une apparition plus précoce de l'anxiété chez les femmes (Steiner et al., 2005; Simon et al., 2006) avec un risque d'apparition des troubles anxieux qui s'accroît rapidement avant la ménopause pour atteindre une prévalence deux fois plus élevée que chez les hommes vers 50 ans (Faravelli et al., 2013).

2.2 Initiation de l'accouplement

Dans le chapitre 3, nous avons mis en évidence que les souris mises en couple tardivement (180/240 jours) se reproduisent plus vite que les jeunes individus (80 /110 jours) dans des conditions de laboratoire où le choix du partenaire est contraint. Les femelles âgées semblent donc accepter plus facilement de se reproduire avec un mâle imposé. Ce constat pourrait être expliqué par une réduction de l'exigence des femelles qui, par conséquent, auraient un seuil de sélection relativement bas par rapport aux jeunes femelles et se reproduiraient plus rapidement avec des mâles imposés quelle que soit leur qualité. Ce résultat concorde avec les modèles théoriques qui prédisent qu'un individu âgé (avec une faible valeur reproductive résiduelle) devrait fortement s'investir dans une reproduction immédiate et être moins exigeant (Roff, 1992).

Chez les organismes à courte espérance de vie et/ou à courte vie reproductive, trouver un partenaire et initier rapidement la reproduction est déterminant afin de maximiser le succès reproducteur sur une courte période. En conditions naturelles, la période de reproduction de la souris glaneuse n'excède pas 4 mois et nous pouvons penser que la sélection naturelle favorise fortement les individus capables de se reproduire rapidement. Il est étonnant que 35% des jeunes couples formés échouent à se reproduire avec un partenaire imposé et que, chez ceux ayant réussi, les montes fécondes ont lieu une fois sur deux plus de 10 jours après la mise en couple. Ce résultat n'est pourtant pas exceptionnel chez cette espèce et d'autres études ont reporté le faible taux de succès de reproduction des couples formés entre 80 et 120 jours (Féron & Gouat, 2007; Busquet et al., 2009). La maturité sexuelle des individus est généralement atteinte vers 60 jours (Busquet et al., 2009), il est donc peu probable qu'au moment de la mise en couple les partenaires ne soient pas encore sexuellement matures. Le système d'appariement de type monogame de la souris glaneuse pourrait quant à lui apporter des éléments de réponse. En conditions naturelles, il semble que les individus ne connaîtront qu'un seul partenaire au cours de leur vie (Simeonovska-Nikolova, 2007). Bien qu'il soit *a priori* avantageux pour ces souris de se reproduire rapidement, le choix d'un partenaire de bonne qualité apparaît également essentiel. Les jeunes femelles pourraient donc être exigeantes au point de retarder leur première reproduction voire d'éviter de se reproduire avec un mâle qui ne correspond à leurs attentes.

2.3 Comportements parentaux

En conditions de laboratoire, les souris qui ont été mises en couple à 3 mois ou plus tardivement (6 mois) présentent un succès reproducteur similaire malgré une différence nette au niveau de leurs stratégies parentales. L'hypothèse de restriction proposé par Williams (1966) prédit une augmentation de l'effort reproducteur

avec l'âge. Plusieurs de nos résultats suggèrent fortement que les souris glaneuses mâles et femelles qui débutent plus tardivement leur vie reproductive augmentent leur effort reproducteur. Les parents âgés passent en effet plus de temps dans le nid, allaitement et recouvrent plus souvent les jeunes. Ces indices, bien que très généraux, sont couramment utilisés dans la littérature pour rendre compte de l'effort parental des rongeurs concernant la protection des jeunes, l'apport de chaleur et de nourriture qui sont trois aspects essentiels pour les jeunes d'espèces nidicoles durant leur première semaine de vie.

Le test de retrieval (comportement de récupération des jeunes situés hors du nid) est également un test couramment utilisé dans l'étude des comportements parentaux chez les rongeurs. Nous observons que les souris glaneuses femelles de 3 mois, bien que plus rapides à récupérer des jeunes en début qu'en fin de vie reproductive, rapportent systématiquement les 3 nouveau-nés qui ont été placés hors du nid. Ce n'est en revanche pas le cas des femelles de 6 mois, dont 2 d'entre elles ne reportent aucun des nouveaux-nés en début et en fin de vie reproductive. Bien qu'aucune différence significative ne soit révélée statistiquement avec les effectifs testés, les conséquences d'un tel manquement pourraient impliquer une diminution importante du succès reproducteur pour ces femelles. Toutefois comme nous l'avons signalé dans le Chapitre 5, ce test n'apparaît pas être un bon prédicateur des soins que vont percevoir les jeunes durant leur première semaine de vie et les latences de récupération des jeunes reflèteraient davantage la réactivité des femelles à récupérer leurs petits dans des situations stressantes provoquées par la nature du test. Dans cette perspective, il n'est pas étonnant de retrouver une différence de réactivité entre les femelles de 3 mois et de 6 mois similaire à celle observée lors des tests d'évaluation de l'anxiété.

En plus des indices couramment utilisés dans la littérature, nous avons conduit une observation plus fine des soins prodigués par les deux parents. L'étude détaillée des comportements maternels et paternels nous a permis de constater que l'augmentation de l'effort parental observé chez les parents mis en couple à 6 mois ne concerne pas tous les soins parentaux. En effet, les couples âgés n'expriment pas plus, voire expriment moins, des postures arquées ou des comportement de léchage/toilettage qui apportent des stimulations tactiles aux jeunes. Ces comportements sont importants dans le développement des jeunes, toutefois un taux plus bas de stimulations n'affecte pas de façon immédiate la survie des jeunes¹. Les couples âgés semblent donc augmenter la quantité des soins mais non leur qualité. L'adoption plus fréquente d'une posture passive d'allaitement chez les femelles de 6 mois laisse suggérer que l'augmentation de l'effort reproducteur n'est pas sans coût pour ces femelles.

1. hors léchage anogénital qui stimule le réflexe de miction et facilite la production d'urine chez les nouveau-nés (Gubernick & Alberts, 1983)

2.4 Comportements néophobes de la descendance

Dans le Chapitre 6, nos résultats dévoilent que les descendants nés des couples formés à 6 mois sont plus néophobes que ceux nés des couples formés à 3 mois. Ce résultat est en accord avec plusieurs travaux chez l'Homme et les rongeurs de laboratoire qui montrent que l'âge des parents à la conception est déterminant dans le développement émotionnel de la descendance (Torrey et al., 2009; Sampino et al., 2014). Les comportements de léchage/toilettage et les postures arquées prodigués par la mère (LG/ABN) et le père (LG/ABP) ne sont pas corrélés aux indices de néophobie relevés dans le test d'exploration du nouvel objet (latence d'approche et de manipulation de l'objet, temps de manipulation de l'objet) ce qui laisse suggérer que d'autres facteurs sont en jeu. Les résultats obtenus dans le Chapitre 1, montrent que les femelles de 6 mois sont plus néophobes et anxieuses que les femelles de 3 mois (les femelles de ces deux classes d'âges étant les mères des descendants testés). Chez les rattes (Francis & Meaney, 1999) et les femmes (Field, 1998), il a été montré que le niveau d'anxiété des mères modifie l'attitude de ces dernières envers leurs nouveau-nés. Il est donc envisageable de penser que la forte réactivité face au stress des mères âgées ait pu modifier leur réponse maternelle envers les jeunes de façon subtile sans que cela ne transparaisse dans l'observation des comportements maternels. En plus d'effets épigénétiques engendrés par les stimulations tactiles, l'apparition et l'accumulation de mutations *de novo* dans la séquence ADN des cellules germinales chez les individus âgés pourraient également expliquer les changements comportementaux observés chez la descendance (Flatscher-Bader et al., 2011).

3 Effets de la durée de vie reproductive sur la préférence pour la partenaire, les comportements parentaux et les comportements anxieux de la descendance

En plus d'étudier les effets de l'âge de mise en couple sur les comportements liés à la reproduction et le développement des jeunes, nous avons abordé le vieillissement sous un autre angle, en nous intéressant à l'évolution de ces traits comportementaux en fonction du rang de la portée (ou parité). Nous avons donc employé une approche longitudinale en nous focalisant sur deux périodes de la vie reproductive des couples, la 2^e (P2) et la 4^e portée (P4) qui correspondent au début et à la fin de la vie reproductive des souris en conditions naturelles.

Nos résultats montrent que le rang de la portée a peu d'effet sur les comportements maternels et paternels de parents multipares mais que les couples de 3 mois et les couples de 6 mois présentent des styles parentaux

distincts. Ces observations laissent suggérer que cette différence de styles parentaux concerne toutes les portées. Le développement des jeunes est quant à lui fortement influencé par le rang de la portée. Les jeunes nés de 4^e portées sont plus anxieux que ceux issus des 2^e portées et, par exemple, passent plus de temps en immobilité tonique rigide et parcourent moins de distance dans l'open field ou explorent moins les bras ouverts de l'elevated plus maze.

Les stimulations tactiles induites par les postures arquées et le comportement de léchage/toilettage sont connues pour influencer l'anxiété des descendants chez le rat. À l'âge adulte, les jeunes rats nés d'une mère qui prodigue un niveau faible de comportement de léchage/toilettage et de posture d'allaitement arquée (LG-ABN) expriment une forte anxiété comparativement à ceux nés d'une femelle plus maternelle (Caldji et al., 1998). Dans notre étude, les modèles linéaires dévoilent que les mêmes effets sont observables chez la souris glaneuse sans toutefois montrer une relation entre le niveau de LG-APN des pères et le profil de la descendance. Cependant, d'autres phénomènes entrent en jeu car les jeunes nés des couples de 3 mois en P4 apparaissent anxieux dans l'open field et l'elevated plus maze alors qu'ils sont les jeunes à avoir reçu le de plus de stimulations. Cette discordance dans les résultats pourrait provenir d'une évaluation imprécise des comportements parentaux due à un échantillonnage trop restreint ou de l'implication d'autres facteurs qui viennent moduler les effets des stimulations tactiles. Le fait que les jeunes nés des 4^{es} portées soient plus anxieux, quel que soit le niveau de stimulations reçu, laisse suggérer que les conséquences de l'accumulation d'événements reproductifs ont un effet fortement négatif sur l'anxiété de la descendance.

La monogamie peut être définie comme une association préférentielle entre deux adultes sexuellement matures qui se caractérise par une affiliation, des copulations et des contacts sélectifs pour le partenaire et non pour un individu étranger (Gubernick, 1994). Cette préférence pour le partenaire se maintient sur une saison de reproduction voire tout au long de vie des individus. Depuis plus de 15 ans, la souris glaneuse est qualifiée d'espèce socialement monogame chez qui les femelles expriment une préférence sociale et sexuelle nette pour leur partenaire (Patris & Baudoin, 1998). Toutefois aucune étude n'avait encore estimé si cette préférence était observable chez les mâles et si elle se maintenait sur une longue période. Nos résultats montrent que les mâles *M. spicilegus* montrent une préférence pour l'odeur de leur partenaire, quel que soit leur âge à la mise en couple et le temps qu'ils ont passé en couple avec leur partenaire, mais aussi que, plus les couples reproducteurs ont une longue vie commune plus la préférence olfactive des mâles pour leur partenaire s'accroît. Ces résultats sont pour l'instant préliminaires et peuvent être discutés (l'odeur des jeunes présente dans le stimulus olfactif peut affecter la préférence des mâles) mais ils offrent de nouvelles pistes d'investigation pour l'étude de la durabilité du lien chez les espèces monogames.

4 Les conséquences à long terme d'une reproduction retardée

Ce travail de thèse a permis de mettre en évidence, via une approche longitudinale séquentielle, que les individus qui retardent leur âge de première reproduction auront à surmonter des conséquences liées à ce retard comparativement aux individus qui ont débuté leur reproduction peu de temps après leur maturité sexuelle. Ce résultat est en accord avec d'autres études conduites chez les mammifères (Tarin et al., 2004) et les oiseaux (Oli et al., 2002). Chez notre modèle, les nouveau-nés issus de la 4^e portée ont une masse corporelle plus faible quand ils naissent de parents mis en couple à 6 mois comparativement à ceux nés des parents mis en couples à 3 mois. Le fait que les jeunes nés en fin de vie reproductive aient une masse corporelle à la naissance plus faible lorsqu'ils sont issus de vieux parents suggère que l'accumulation des événements reproducteurs affecte davantage les parents qui ont retardé leur âge de première reproduction que ceux qui ont débuté leur vie reproductive peu après l'âge de la maturité sexuelle. L'accumulation de dérivés réactifs de l'oxygène qui diminue la qualité des oocytes et des spermatozoïdes chez les parents les plus âgés pourrait expliquer cette différence pondérale à la naissance (Selesniemi et al., 2011; Lane et al., 2014). La différence de poids entre les nouveau-nés de ces deux origines n'est en revanche plus visible dès le 7^e jour post-partum, très probablement grâce à l'augmentation de l'effort parental des deux parents. Ceci révèle que le phénomène de sénescence n'est pas incompatible avec une augmentation de l'effort reproducteur et qu'une grande quantité de soins parentaux peut contrebalancer certains effets négatifs du vieillissement et expliquer un succès reproducteur similaire entre jeunes et vieux reproducteurs.

5 Impacts écologiques possibles

5.1 Dispersion

Le processus de dispersion joue un rôle central dans la dynamique et l'évolution des populations (Dieckmann et al., 1999). Il peut être défini comme le mouvement effectué par un individu entre sa localité de naissance et un nouveau site où il va se reproduire (Ims et al., 2008) et est caractérisé par trois étapes principales : la décision de départ (ou émigration), la phase de transfert (ou phase d'exploration) et la décision de fixation (ou immigration) dans un site d'arrivée (Ims & Yoccoz, 1997). Typiquement, les oiseaux et les mammifères dispersent de leur site de naissance vers l'âge de la maturité sexuelle afin de chercher et rivaliser des nouveaux territoires et/ou des partenaires sexuels. Ces individus nouvellement matures sont ordinairement caractérisés par une prise de risque importante associée à une forte recherche de nouveauté et d'un faible

niveau de stress et d'anxiété dans des tâches exploratoires (Laviola et al., 2003). Ce profil comportemental pourrait être évolutivement adaptatif et aider les individus nouvellement matures à disperser de leur aire natale et à négocier avec succès la transition entre dépendance et indépendance (Spear, 2000). Il est intéressant de noter que ce profil particulier se retrouve également chez l'espèce humaine chez qui les adolescents expriment généralement une grande impulsivité, un fort attrait pour la nouveauté et s'engagent dans de nombreux comportements à risque comparativement aux enfants et aux adultes (Steinberg, 2007). L'exploration d'environnements inconnus et la compétition pour un territoire et/ou un partenaire peut être dangereux car ils peuvent contenir des risques ou menaces pour l'animal (environnement physique, prédateur, congénère compétiteur...). Une étude réalisée en conditions naturelles a quantifié le "risque de dispersion" chez les femelles campagnols terrestres (*Arvicola terrestris*) et a estimé que les femelles dispersantes présentaient un taux de mortalité 86 fois plus haut que celles qui restaient sur leur site natal (Leuze, 1980). L'exploration d'un environnement inconnu est donc un compromis entre la découverte et l'utilisation des ressources nécessaires à la survie, à la reproduction et le risque d'être tué ou blessé par un prédateur ou un congénère. Ce compromis entre prise de risque et gains potentiels dépend de différents facteurs comme par exemple l'âge qui peut moduler l'état motivationnel et émotionnel de l'individu (Lima & Dill, 1990).

La dispersion apparaît particulièrement liée aux *comportements d'exploration*, qui facilitent la collecte efficace de l'information dans de nouveaux milieux mais aussi aux *comportements sociaux comme l'agressivité* qui peuvent faciliter l'insertion dans une nouvelle population après la dispersion ou encore à la sociabilité qui peut pousser les individus à rester sur leur site natal près de congénères familiaux (Cote et al., 2010). Il a été montré que la tendance à disperser est corrélée positivement à l'activité exploratrice chez la souris *Mus musculus musculus* de type sauvage (Krackow, 2003) et la mésange charbonnière (*Parus major*) (Dingemanse et al., 2003). Chez le merle bleu (*Sialia sialis*) et les campagnols (*Microtus pennsylvanicus* et *Microtus orchrogaster*), les individus dispersants sont plus agressifs que les résidants (Myers & Krebs, 1971; Duckworth & Badyaev, 2007) et les individus les plus sociables dispersent moins chez la marmotte (Armitage, 1986; Blumstein et al., 2009) et le lézard (Cote & Clobert, 2007). En plus de facteurs écologiques comme la densité de population ou la compétition reproductive, *les stratégies de dispersion des individus vont donc être dépendantes de leurs capacités à répondre à des situations physiques et sociales aversives et de leur tolérance envers des congénères.*

En conditions naturelles, les souris glaneuses dispersent soit à 3 mois pour les individus nés durant la saison de reproduction soit à 6 mois pour les animaux hivernants. Durant ce travail de thèse, nous avons mis en évidence que les mâles de ces deux classes d'âges présentent un profil comportemental similaire caractérisé

par une prise de risque importante et un haut niveau d'exploration dans des environnements aversifs ainsi qu'une forte agressivité lors de la rencontre de congénères inconnus. Ce profil paraît adéquat pour des animaux qui devront disperser lors de la période estivale quand la densité de la population est généralement plus élevée (Simeonovska-Nikolova, 2007). Chez les femelles, il est apparu que les souris de 3 mois et celles de 6 mois présentaient des profils comportementaux distincts. À l'inverse des jeunes femelles qui prennent des risques dans des environnements aversifs et sont agressives envers d'autres femelles, les femelles de 6 mois sont plus anxieuses et manifestent peu de comportements hautement agressifs. Le vieillissement accompagné d'une expérience sociale différente créée par une plus longue cohabitation entre femelles pourraient être à l'origine de ce résultat. L'impact de ces deux facteurs sur les comportements d'exploration et sociaux pourraient donc influencer les stratégies de dispersion des femelles de 6 mois et expliquer pourquoi, sous certaines conditions écologiques, ces femelles dispersent peu à la sortie du tumulus (Gouat et al., 2003a).

5.2 Stratégie de reproduction

L'âge de première reproduction est connu pour être un trait d'histoire de vie déterminant dans le choix des stratégies que vont adopter les animaux. Un délai dans l'âge de première reproduction peut par exemple entraîner les individus qui choisissent leur partenaire sexuel (le "choosy sex" correspond en général aux femelles) à se reproduire plus rapidement en acceptant par exemple des situations qui pourraient être en défaveur de leur succès reproducteur.

Nos résultats montrent clairement que les femelles mises en couple entre 6 et 8 mois, correspondant à la cohorte d'individus qui dispersent des tumuli après avoir inhibé sa reproduction pendant la période hivernale, se reproduisent plus vite que les femelles de 3 mois. Cette réduction de la latence de reproduction pourrait découler d'une faible exigence des femelles qui pourraient, en conditions naturelles, accepter de se reproduire avec des mâles de moins bonne qualité que les jeunes femelles. La formation des groupes socio-sexuels pourrait être aussi affectée par l'âge des individus au moment de la reproduction. Chez les oiseaux et mammifères monogames, il a été suggéré que l'agressivité entre les femelles est un mécanisme important pour maintenir le lien entre les partenaires d'un couple (Sue Carter et al., 1995). Par exemple, chez les tamarins lions, un petit primate néotropical qui présente des groupes socio-sexuels monogames, les femelles résidentes repoussent vigoureusement les femelles étrangères (Baker & Dietz, 1996) et aucune femelle n'a été observée à rejoindre avec succès un groupe contenant une femelle reproductrice (Dietz & Baker, 1993). La souris glaneuse est une espèce de rongeur dite socialement monogame et non génétiquement monogame (voir l'Encadré 5 pour la définition de ces notions) et des études menées sur le terrain montrent que

L'observation de groupes socio-sexuels polygynes composés d'un mâle et de plusieurs femelles est possible notamment en début de printemps quand les animaux sortent du tumulus (Poteaux et al., 2008). Ce type d'appariement affecte le succès reproducteurs des femelles (Gouat & Féron, 2005) mais peut être avantageux dans certaines conditions, quand par exemple la densité populationnelle et le nombre de mâles sont faibles et que les femelles doivent se reproduire rapidement. Cette polygynie facultative pourrait être facilitées par la diminution des comportements hautement agressifs observés chez les femelles de 6 mois.

5.3 Variabilité phénotypique de la descendance

Les résultats obtenus dans le Chapitre 6 montrent que l'âge de première reproduction mais aussi le rang de la portée influencent les comportements d'exploration de la descendance à l'âge adulte. Sur le terrain, les différents phénotypes des descendants concernant les comportements exploratoires pourraient conduire à des stratégies de dispersion variées. En effet, chez de nombreuses espèces, il a été établi que l'exploration d'un nouveau milieu et l'activité des individus sont corrélées positivement à la probabilité de dispersion (Dingemanse et al., 2003; Aragon et al., 2006; Cote et al., 2010). L'âge des parents pourrait donc être un facteur qui maintient une variabilité phénotypique dans les populations naturelles. En plus du profil émotionnel, il serait intéressant de définir le niveau d'agressivité des descendants nés à différents moments de la vie reproductive des couples. Les descendants nés en P4 pourraient être socialement plus tolérants entre eux et être capables de rester à proximité de leur groupe natal alors que les descendants nés en P2 seraient caractérisés par une stratégie active, associée à une agressivité plus marquée et à un haut niveau d'exploration et de prise de risques dans de nouveaux environnements. Ces stratégies seraient modulées par d'autres facteurs endogènes comme le sexe-ratio de la portée dont est issue l'individu (les mâles ayant eu un développement intra-utérin à proximité de deux mâles sont par exemple plus agressifs et possèdent de plus grands domaines vitaux, Drickamer 1996) et des facteurs environnementaux comme la densité populationnelle et la disponibilité des ressources.

6 Limites des approches employées dans cette thèse

6.1 L'effet cohorte

Afin d'évaluer l'effet du vieillissement sur les comportements exploratoires et sociaux (voir les Chapitres 1 et 2), nous avons utilisé une approche transversale qui nous a permis de comparer des groupes d'individus d'âges différents à un seul moment et de voir si une différence existait entre les groupes. Cette approche com-

porte une limite due au fait que les conditions environnementales en début de vie (de l'environnement utérin à la période de maturité sexuelle) sont susceptibles d'engendrer des différences phénotypiques persistantes entre des groupes d'individus nés à différents moments. Ce phénomène est appelé l'effet cohorte. Nous ne pouvons donc pas exclure que des souris nées à des moments différents, même rapprochés, puissent vieillir de façon différente. Dans la nature, des conditions environnementales précoces telles que la densité populationnelle, la qualité de l'habitat ou la disponibilité des ressources sont les principales sources d'un tel effet (Gaillard et al., 2003). Toutefois, nous espérons que les conditions contrôlées de laboratoire sont susceptibles de limiter la survenue de ce phénomène.

6.2 Hétérogénéité individuelle

Le vieillissement est un phénomène non uniforme chez tous les individus, il peut affecter différents individus de manière variable. Ces divergences entre l'âge chronologique et les altérations physiologiques ont des origines multiples qui s'influencent mutuellement. Elles peuvent être d'origine génétique (notamment chez une espèce de type sauvage chez qui il peut exister de fortes différences individuelles), être sous l'influence de facteurs externes (relativement contrôlés en laboratoire) et sont finalement modulées par l'expérience de l'individu (expérience sociale ou reproductive par exemple). Durant cette thèse, nous n'avons pas pu estimer la durée de vie de chaque individu. Hors, il est possible qu'il existe dans notre population des différences de qualité phénotypique entre nos individus qui pourraient très bien être liées à la durée de vie des animaux (co-variation positive entre le succès reproducteur et la longévité). Un taux de mortalité très dissemblable entre les animaux pourrait masquer (ou à l'inverse amplifier) les effets du vieillissement sur les traits comportementaux observés.

Les effets non-uniformes du vieillissement entre les différents individus peuvent provoquer l'émergence de plusieurs sous-populations âgées qui présentent des caractéristiques différentes et amèneraient donc à observer une grande variabilité inter-individuelle et des scores plus hétérogènes chez ces groupes d'animaux âgés que dans des groupes d'animaux plus jeunes. En conditions de laboratoire, Rowe et al. (1998) ont montré que les rats vieillissants (de 20 à 24 mois) présentaient des performances très hétérogènes dans des tests cognitifs et que deux populations de rats âgés pouvaient être différenciées suivant leurs capacités cognitives et leur réactivité émotionnelle. Les différentes expériences que nous avons menées chez la souris glaneuse ne dévoile *a priori* pas une augmentation notable de la variabilité interindividuelle avec l'âge que ce soit aussi bien au niveau des mesures d'anxiété et de néophobie que des observations des comportements liés à la reproduction suggérant l'absence d'une division nette des groupes de souris les plus âgés en plusieurs

sous-populations.

6.3 Prise en compte de la parité

Lors de l'étude longitudinale des comportements liés à la reproduction, nous avons basé nos relevés en fonction de l'apparition des portées (observations n jours après la 1^{re}, la 2^e ou la 4^e mise bas). La prise en compte de ce facteur est plus pertinent pour étudier les changements liés au vieillissement qu'en prenant en compte uniquement l'âge réel des individus. En effet, d'après certains auteurs, l'âge en soi n'est pas un facteur primordial dans les décisions d'allocation des ressources lors du processus de vieillissement mais dépend surtout de l'expérience reproductive de l'individu et plus particulièrement de l'accumulation des détériorations au fil des événements reproducteurs (Kirkwood & Austad, 2000; McNamara et al., 2009). Néanmoins, la prise en compte des portées est encore d'une précision imparfaite car elle sous-entend, bien qu'il existe une accumulation des coûts de la reproduction, que ces coûts soient identiques à chaque événement reproducteur pour tous les individus. Hors, compte tenu de la variabilité du nombre de jeunes par portée (mais aussi des latences inter-portées et de la masse corporelle des parents lors de la mise en couple), il est fort probable que les coûts de la reproduction diffèrent entre les individus pour une portée donnée. La prise en compte du nombre de jeunes engendrés à la place du nombre de portées produites pourrait peut être nous permettre de détecter plus aisément des variations comportementales liées à l'âge.

7 Quelques perspectives...

7.1 Différences entre mâles et femelles

Cette thèse n'avait pas pour objectif premier de comparer les conséquences comportementales du vieillissement des mâles et des femelles mais de repérer si l'évolution des changements associés au vieillissement était comparable entre les deux sexes. L'une des perspectives intéressantes serait donc d'étudier en profondeur les différences entre mâles et femelles au niveau des différents traits comportementaux observés. Ces futures analyses pourront s'articuler autour de la différence sexuelle dans l'expression des comportements exprimés dans les tests classiques d'évaluation de l'anxiété en mettant à profit la base de données recueillie pendant cette thèse. En plus d'estimer si les mâles sont plus ou moins anxieux que les femelles, il serait intéressant d'évaluer si les individus des deux sexes perçoivent les situations auxquelles nous les exposons de la même façon et si ce pattern se maintient lors du processus du vieillissement. En effet, les changements de comportement au fil de l'âge pourraient être quantitativement différents entre mâles et femelles mais pourraient aussi varier

qualitativement (en terme de signification) (Giuliani et al., 1994; Augustsson et al., 2005). L'emploi d'analyses factorielles permettrait de dégager les facteurs motivationnels qui sous-entendent les comportements spontanés des deux sexes à différentes périodes de leur vie et d'identifier de possibles relations entre les indices des différents tests.

7.2 Corrélats neurobiologiques liés aux changements comportementaux

Une autre perspective qui découlerait de ce travail serait d'étudier les corrélats neurobiologiques sous-jacents aux changements comportementaux associés au vieillissement que nous avons observé dans les différents chapitres de cette thèse. Par exemple, il serait intéressant d'identifier l'évolution des changements au niveau des zones cérébrales impliquées dans l'expression des comportements défensifs exprimés lors des tests d'évaluation de l'anxiété afin de comprendre la nature des modifications qui sous-tendent une évolution comportementale en forme de U inversé. De même, il serait intéressant de quantifier, à différents moments de la vie reproductive des couples, les récepteurs à oxytocine et à vasopressine, deux hormones impliquées dans la formation de liens entre partenaires chez les espèces monogames (Insel et al., 1995).

7.3 Initiation de la reproduction

Nous avons mis en évidence que les couples âgés initiaient plus rapidement leur reproduction ce qui pourrait résulter d'une diminution de l'exigence des femelles. Les facteurs qui conduisent à cette éventuelle diminution de l'exigence pourraient être multiples mais il est probable que les interactions entre partenaires jouent un rôle important dans le raccourcissement de la latence de première reproduction. Chez la souris glaneuse, la mise en couple est suivie de nombreux comportements agonistiques d'intensité plus ou moins forte (menaces, attaques). Ces comportements peuvent durer plusieurs jours et se révèlent être coûteux pour les deux partenaires du couple (on observe généralement une perte de poids des mâles et des femelles). Une étude précédente suggère que les comportements agonistiques observés lors de la mise en couple des animaux en laboratoire pourraient être impliqués dans le déclenchement de la motivation sexuelle et des activités sexuelles chez la souris glaneuse (Busquet et al., 2009). Le seuil de déclenchement pourrait être plus bas chez les individus âgés et un nombre réduit de comportements agonistiques pourrait être suffisant pour induire la reproduction ce qui, par conséquent, conduirait les couples âgés à se reproduire plus rapidement. Il serait intéressant d'étudier si des différences dans les comportements sociaux qui précèdent l'accouplement existent entre des couples plus ou moins âgés et si, un niveau faible de comportements agonistiques est effectivement compatible avec une courte latence d'accouplement chez les individus âgés. D'autres études

pourraient également être réalisées afin de mettre en évidence une diminution de l'exigence des femelles en diminuant, par exemple, artificiellement la qualité du mâle (mâle parasite).

7.4 Évaluation de l'investissement reproducteur

Lors de l'évaluation des effets de l'âge sur l'effort reproducteur, nous avons quantifié les soins parentaux qui correspondent à une mesure de l'allocation parentale de chaque individu. Les comportements parentaux sont pour les souris glaneuses plus ou moins coûteux suivant leur nature. Toutefois, l'allocation parentale et les dépenses énergiques qui leur sont associées ne reflètent pas le réel investissement fait par les individus (voir Hamel et al. 2010 pour des précisions sur les notions relatives aux coûts liés à la reproduction). Par exemple, pour une même proportion de temps passé à allaiter, les coûts liés à ce comportement pourraient être différents entre les jeunes femelles et celles plus âgées. De la même façon, bien que la masse corporelle des mâles ne semble pas intervenir dans l'expression des comportements paternels, leurs coûts réels pourraient être plus importants chez les jeunes mâles qui sont significativement plus légers que les mâles mis en couple à 6 mois. Cette différence de poids présente en conditions de laboratoire, n'existe peut-être pas en conditions naturelles. Afin de déterminer l'investissement réel des parents, il serait intéressant d'avoir une mesure directe de la quantité d'énergie investie dans la reproduction. Une diminution de la masse corporelle des parents pourrait être un indicateur de cet investissement énergétique. Toutefois, il serait impossible de détecter une quelconque diminution de poids relatif à l'effort maternel au fil de leur vie reproductive à cause du chevauchement de la gestation et de la lactation lors des reproductions post-partum. En outre, une diminution de la masse corporelle pourrait être imputable aux modifications physiologiques associées au vieillissement comme la perte de la masse musculaire. D'autres évaluateurs pourraient être envisagés comme la mesure des réserves lipidiques ou de leptine plasmatique (hormone utilisée comme marqueur biologique de la quantité de masse grasse, elle est sécrétée par les cellules adipeuses et connue pour réguler la prise alimentaire et la masse corporelle, Campbell et al. 2009). Des études de la consommation en oxygène des couples reproducteurs pourraient également être envisageables (après standardisation du nombre de jeunes présents dans les portées).

8 Conclusion

A l'issue de cette thèse dont l'objectif principal était d'étudier les conséquences émotionnelles et sociales du vieillissement chez la souris glaneuse, rongeur monogame de type sauvage, nous avons pu mettre en évidence des effets notables et parfois insoupçonnés de l'âge sur divers traits comportementaux. Le choix

des classes d'âges testées lors de ce travail a été conditionné par les traits d'histoire de vie de l'espèce et la volonté d'étudier les effets du vieillissement jusqu'à un âge avancé. Il est apparu que les comportements d'exploration et de prise de risque exprimés dans des situations aversives, quelles soient physiques ou sociales, décrivent une courbe en U inversé au fil de l'âge. Cette observation dévoile que, contrairement à ce que nous avons recensé dans la littérature, la relation entre vieillissement et anxiété/néophobie peut s'avérer être non-linéaire. Nos résultats révèlent également que l'âge de première reproduction mais aussi la durée de vie reproductive (parité) peut influencer les comportements socio-sexuels des individus. L'âge des futurs partenaires lors de leur première reproduction conditionne la latence de première reproduction et le style parental des mères et des pères. La préférence des mâles pour leur partenaire semble quant à elle s'accroître au fil de la vie reproductive des couples. Nous avons aussi montré qu'un succès reproducteur similaire entre les couples jeunes et les couples âgés, peut découler de stratégies parentales sensiblement distinctes, mêlant une augmentation de l'effort parental en terme de quantité et non de qualité de soins parentaux, avec les premiers signes de sénescence chez les individus les plus âgés. Enfin, l'âge de première reproduction mais surtout la parité se sont révélés être des facteurs pouvant influencer le profil émotionnel de la descendance devenue adulte. L'ensemble de ces résultats montrent que l'âge pourrait donc être un facteur déterminant dans le maintien de la variabilité phénotypique dans les populations naturelles et qu'il mérite d'être un élément essentiel à prendre en compte dans toute recherche éthologique.

Bibliographie

- Abdel-Khalek, A. M., 2002. Age and sex differences for anxiety in relation to family size, birth order, and religiosity among kuwaiti adolescents. *Psychological Reports* **90**, 1031–1036.
- Aguggia, J. P., Suárez, M. M., & Rivarola, M. A., 2013. Early maternal separation: Neurobehavioral consequences in mother rats. *Behavioural Brain Research* **248**, 25–31.
- Alexander, G., Bradley, L. R., & Stevens, D., 1993. Effect of age and parity on maternal behaviour in single-bearing merino ewes. *Animal Production Science* **33**, 721–728.
- Alleva, E., Lipp, H.-P., Nadel, L., Fasolo, A., & Ricceri, L., 1995. *Behavioral Brain Research in Naturalistic and Semi-naturalistic Settings*. Kluwer Academic Publishers.
- Andersen, M. B., Zimmer, J., & Sams-Dodd, F., 1999. Specific behavioral effects related to age and cerebral ischemia in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **62**, 673–682.
- Aragon, P., Meylan, S., & Clobert, J., 2006. Dispersal status-dependent response to the social environment in the common lizard, *Lacerta vivipara*. *Functional Ecology* **20**, 900–907.
- Armitage, K. B., 1986. Individuality, social behavior, and reproductive success in yellow-bellied marmots. *Ecology* pages 1186–1193.
- Auclair, Y., König, B., Ferrari, M., Perony, N., & Lindholm, A. K., 2014. Nest attendance of lactating females in a wild house mouse population: benefits associated with communal nesting. *Animal Behaviour* **92**, 143–149.
- Augustsson, H., Dahlborn, K., & Meyerson, B. J., 2005. Exploration and risk assessment in female wild house mice (*Mus musculus musculus*) and two laboratory strains. *Physiology & Behavior* **84**, 265–277.
- Aujard, F. & Perret, M., 1998. Age-related effects on reproductive function and sexual competition in the male prosimian primate, *Microcebus Murinus*. *Physiology & Behavior* **64**, 513–519.
- Austad, S. N., 2011. Candidate bird species for use in aging research. *ILAR Journal* **52**, 89–96.
- Bailey, K. R. & Crawley, J., 2009. Anxiety-related behaviors in mice. In *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. Boca Raton (FL), CRC Press,, second edition.
- Baker, A. J. & Dietz, J. M., 1996. Immigration in wild groups of golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*). *American Journal of Primatology* **38**, 47–56.
- Balcombe, N. R. & Sinclair, A., 2001. Ageing: definitions, mechanisms and the magnitude of the problem. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* **15**, 835–849.
- Bates, D., 2005. Fitting linear mixed models in R. *R news* **5**, 27–30.
- Baudoin, C., Busquet, N., Dobson, F. S., Gheusi, G., Féron, C., Durand, J.-L., Heth, G., Patris, B., & Todrank, J., 2005. Male–female associations and female olfactory neurogenesis with pair bonding in *Mus spicilegus*. *Biological Journal of the Linnean Society* **84**, 323–334.
- Beach, F. A., 1950. The snark was a boojum. *American Psychologist* **5**, 115.
- Beekman, A. T., Bremmer, M. A., Deeg, D. J., van Balkom, A. J., Smit, J. H., De Beurs, E., van Dyck, R., & Van Tilburg, W., 1998. Anxiety disorders in later life: a report from the longitudinal aging study amsterdam. *International Journal of Geriatric Psychiatry* **13**, 717–726.
- Belzung, C., Pineau, N., Beuzen, A., & Misslin, R., 1994. Pd135158, a cck-b antagonist, reduces “state,” but not “trait” anxiety in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **49**, 433–436.
- Bercovitch, F. B., Loomis, C. P., & Rieches, R. G., 2009. Age-specific changes in reproductive effort and terminal investment in female Nile lechwe. *Journal of Mammalogy* **90**, 40–46.
- Berlyne, D. E., 1960. *Conflict, arousal, and curiosity*. New York, McGraw-Hill Book Company.
- Bester-Meredith, J. K. & Marler, C. A., 2003. The association between male offspring aggression and paternal and maternal behavior of *Peromyscus* mice. *Ethology* **109**, 797–808.
- Bester-Meredith, J. K. & Marler, C. A., 2007. Social experience during development and female offspring aggression in *Peromyscus* mice. *Ethology* **113**, 889–900.
- Birnie, A. K., Taylor, J. H., Cavanaugh, J., & French, J. A., 2013. Quality of maternal and paternal care predicts

- later stress reactivity in the cooperatively-breeding marmoset (*Callithrix geoffroyi*). *Psychoneuroendocrinology* **38**, 3003–3014.
- Blanchard, D. & Blanchard, R., 2011. Defensive behaviors, fear, anxiety. In D. C. Blanchard, G. Griebel, & D. J. Nutt, editors, *Handbook of Anxiety and Fear*, chapter 2. Elsevier.
- Blanchard, D. C., Griebel, G., & Blanchard, R. J., 2001. Mouse defensive behaviors: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **25**, 205–218.
- Blanchard, R. J. & Blanchard, D. C., 1989. Antipredator defensive behaviors in a visible burrow system. *Journal of Comparative Psychology* **103**, 70.
- Blanchard, R. J., Yudko, E. B., Rodgers, R. J., & Blanchard, D. C., 1993. Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. *Behavioural Brain Research* **58**, 155–165.
- Blumstein, D. T. & Evans, C. S. and Daniel, J. C., 2000. *JWatcher: An Introductory User's Guide*.
- Blumstein, D. T., Wey, T. W., & Tang, K., 2009. A test of the social cohesion hypothesis: interactive female marmosets remain at home. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **276**, 3007–3012.
- Boguszewski, P. & Zagrodzka, J., 2002. Emotional changes related to age in rats – a behavioral analysis. *Behavioural Brain Research* **133**, 323–332.
- Bourin, M., Petit-Demoulière, B., Dhonnchadha, B. N., & Hascöet, M., 2007. Animal models of anxiety in mice. *Fundamental and Clinical Pharmacology* **21**, 567–574.
- Brandon, M., 2010. *Monogamy: The untold story*. ABC-CLIO.
- Brandt, A. & Vilcinskas, A., 2013. The fruit fly *Drosophila melanogaster* as a model for aging research. In *Yellow Biotechnology I*, pages 63–77. Springer.
- Bray, I., Gunnell, D., & Smith, G. D., 2006. Advanced paternal age: how old is too old? *Journal of Epidemiology and Community Health* **60**, 851–853.
- Bredy, T. W., Lee, A. W., Meaney, M. J., & Brown, R. E., 2004. Effect of neonatal handling and paternal care on offspring cognitive development in the monogamous californian mouse *Peromyscus californicus*). *Hormones and Behavior* **46**, 30–38.
- Breitenbach, M., Jazwinski, S. M., & Laun, P., 2011. *Aging research in yeast*, volume 57. Springer.
- Brouette-Lahlou, I., Amouroux, R., Chastrette, F., Cosnier, J., Stoffelsma, J., & Vernet-Maury, E., 1991. Dodecyl propionate, attractant from rat pup preputial gland: characterization and identification. *Journal of Chemical Ecology* **17**, 1343–1354.
- Busquet, N. & Baudoin, C., 2005. Odour similarities as a basis for discriminating degrees of kinship in rodents: evidence from *Mus spicilegus*. *Animal Behaviour* **70**, 997–1002.
- Busquet, N., Leveille Nizerolle, C., & Feron, C., 2009. What triggers reproductive life? Effects of adolescent cohabitation, social novelty and aggression in a monogamous mouse. *Ethology* **115**, 87–95.
- Caldji, C., Tannenbaum, B., Sharma, S., Francis, D., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J., 1998. Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **95**, 5335–5340.
- Cameron, E. Z., Linklater, W. L., Stafford, K. J., & Minot, E. O., 2000. Aging and improving reproductive success in horses: declining residual reproductive value or just older and wiser? *Behavioral Ecology and Sociobiology* **47**, 243–249.
- Campbell, J. C., Laugero, K. D., Van Westerhuyzen, J. A., Hostetler, C. M., Cohen, J. D., & Bales, K. L., 2009. Costs of pair-bonding and paternal care in male prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Physiology & Behavior* **98**, 367–373.
- Canady, A., Mooansky, L., & Stanko, M., 2009. First knowledge of winter ecology of the mound-building mouse (*Mus spicilegus* Petényi, 1882) from Slovakia. *Acta Zoologica Bulgaria* **61**, 79–86.
- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P., 2002. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research* **134**, 49–57.
- Champagne, F. & Meaney, M. J., 2001. Like mother, like daughter: evidence for non-genomic transmission of parental behavior and stress responsivity. *Progress in Brain Research* **133**, 287–302.
- Champagne, F. A., Curley, J. P., Keverne, E. B., & Bateson, P. P., 2007. Natural variations in postpartum maternal care in inbred and outbred mice. *Physiology & Behavior* **91**, 325–334.
- Champagne, F. A., Francis, D. D., Mar, A., & Meaney, M. J., 2003. Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiology & Behavior* **79**, 359–371.

- Chapillon, P., Patin, V., Roy, V., Vincent, A., & Caston, J., 2002. Effects of pre-and postnatal stimulation on developmental, emotional, and cognitive aspects in rodents: a review. *Developmental Psychobiology* **41**, 373–387.
- Cho, M. M., DeVries, A. C., Williams, J. R., & Carter, C. S., 1999. The effects of oxytocin and vasopressin on partner preferences in male and female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behavioral Neuroscience* **113**, 1071.
- Clark, M. M. & Galef, B. G., 1999. A testosterone-mediated trade-off between parental and sexual effort in male Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Journal of Comparative Psychology* **113**, 388.
- Clark, M. M. & Galef, B. G., 2001. Age-related changes in paternal responses of gerbils parallel changes in their testosterone concentrations. *Developmental Psychobiology* **39**, 179–187.
- Clark, M. M., Moghaddas, M., & Galef Jr, B. G., 2002. Age at first mating affects parental effort and fecundity of female Mongolian gerbils. *Animal Behaviour* **63**, 1129–1134.
- Clutton-Brock, T. H., 1984. Reproductive effort and terminal investment in iteroparous animals. *American Naturalist* **123**, 212–229.
- Clutton-Brock, T. H., 1991. *The evolution of parental care*. Princeton University Press.
- Cohas, A. & Allainé, D., 2009. Social structure influences extra-pair paternity in socially monogamous mammals. *Biology Letters* **5**, 313–316.
- Cohen, J., 1992. A power primer. *Psychological Bulletin* **112**, 155.
- Cohen-Salmon, C., Carlier, M., Roubertoux, P., Jouhaneau, J., Semal, C., & Paillette, M., 1985. Differences in patterns of pup care in mice. V – pup ultrasonic emissions and pup care behavior. *Physiology & Behavior* **35**, 167–174.
- Cole, L. C., 1954. The population consequences of life history phenomena. *Quarterly Review of Biology* **29**, 103–137.
- Colombelli-Negrel, D. & Gouat, P., 2006. Male and female mound-building mice, *Mus spicilegus*, discriminate dietary and individual odours of conspecifics. *Animal Behaviour* **72**, 577–583.
- Cornwell, B. R., Baas, J. M., Johnson, L., Holroyd, T., Carver, F. W., Lissek, S., & Grillon, C., 2007. Neural responses to auditory stimulus deviance under threat of electric shock revealed by spatially-filtered magnetoencephalography. *Neuroimage* **37**, 282–289.
- Coroiu, I., Kryštufek, B., & Vohralík, V., 2008. *Mus spicilegus*. *The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3*.
- Cosoff, S. J. & Julian Hafner, R., 1998. The prevalence of comorbid anxiety in schizophrenia, schizoaffective disorder and bipolar disorder. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry* **32**, 67–72.
- Cote, J. & Clobert, J., 2007. Social personalities influence natal dispersal in a lizard. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **274**, 383–390.
- Cote, J., Fogarty, S., Weinersmith, K., Brodin, T., & Sih, A., 2010. Personality traits and dispersal tendency in the invasive mosquitofish (*Gambusia affinis*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **277**, 1571–1579.
- Curio, E., 1983. Why do young birds reproduce less well? *Ibis* **125**, 400–404.
- Danilovich, N. & Ram Sairam, M., 2006. Recent female mouse models displaying advanced reproductive aging. *Experimental Gerontology* **41**, 117–122.
- Darwish, M., Korányi, L., Nyakas, C., & Almeida, O. F., 2001. Exposure to a novel stimulus reduces anxiety level in adult and aging rats. *Physiology & Behavior* **72**, 403–407.
- de Bruin, E. I., Verheij, F., Wiegman, T., & Ferdinand, R. F., 2006. Differences in finger length ratio between males with autism, pervasive developmental disorder—not otherwise specified, adhd, and anxiety disorders. *Developmental Medicine & Child Neurology* **48**, 962–965.
- Depino, A. M. & Gross, C., 2007. Simultaneous assessment of autonomic function and anxiety-related behavior in balb/c and c57bl/6 mice. *Behavioural Brain Research* **177**, 254–260.
- Descamps, S., Boutin, S., Berteaux, D., & Gaillard, J.-M., 2008. Age-specific variation in survival, reproductive success and offspring quality in red squirrels: evidence of senescence. *Oikos* **117**, 1406–1416.
- Dieckmann, U., O'Hara, B., & Weisser, W., 1999. The evolutionary ecology of dispersal. *Trends in Ecology & Evolution* **14**, 88–90.
- Dietz, J. M. & Baker, A. J., 1993. Polygyny and female reproductive success in golden lion tamarins, *Leontopithecus rosalia*. *Animal Behaviour* **46**, 1067–1078.
- Dingemans, N. J., Both, C., van Noordwijk, A. J., Rutten, A. L., & Drent, P. J., 2003. Natal dispersal and personalities in great tits (*Parus major*). *Proceedings of the Royal Society - Biological Sciences* **270**, 741–747.

- DiTornasso, R. A. & Gosch, E. A., 2007. Anxiety disorders: An overview. In R. A. DiTomasso & E. A. Gosch, editors, *Anxiety Disorders: a Practitioner's Guid eto Comaprative Treatements*, pages 1–31. Springer Publishing Company.
- Djahanbakhch, O., Ezzati, M., & Zosmer, A., 2007. Reproductive ageing in women. *The Journal of Pathology* **211**, 219–231.
- Dobson, F. S. & Baudoin, C., 2002. Experimental tests of spatial association and kinship in monogamous mice (*Mus spicilegus*) and polygynous mice (*Mus musculus domesticus*). *Canadian Journal of Zoology* **80**, 980–986.
- Downs, J. L. & Wise, P. M., 2009. The role of the brain in female reproductive aging. *Molecular and Cellular Endocrinology* **299**, 32–38.
- Drewnowski, A. & Shultz, J., 2001. Impact of aging on eating behaviors, food choices, nutrition, and health status. *Journal of Nutrition, Health & Aging* **5**, 75–79.
- Drickamer, L. C., 1996. Intra-uterine position and anogenital distance in house mice: consequences under field conditions. *Animal Behaviour* **51**, 925–934.
- Duckworth, R. A. & Badyaev, A. V., 2007. Coupling of dispersal and aggression facilitates the rapid range expansion of a passerine bird. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**, 15017–15022.
- Dudley, D., 1974. Paternal behavior in the california mouse, *Peromyscus californicus*. *Behavioral Biology* **11**, 247–252.
- Ehman, K. & Scott, M., 2001. Urinary odour preferences of mhc congenic female mice, *Mus domesticus*: implications for kin recognition and detection of parasitized males. *Animal Behaviour* **62**, 781–789.
- Elias, J. W., Nau, K. L., Villescas, R. X., & Bell, R., 1982. The effects of parity on passive avoidance conditioning on three age groups of fischer 344 male rats. *Experimental Aging Research* **8**, 209–211.
- Elwood, R. & Broom, D., 1978. The influence of litter size and parental behaviour on the development of mongolian gerbil pups. *Animal Behaviour* **26**, 438–454.
- Engellenner, W. J., Burreight, R. G., & Donovick, P. J., 1986. Lead, age and aggression in male mice. *Physiology & Behavior* **36**, 823–828.
- Everly, G. S. & Lating, J. M., 2002. The anatomy and physiology of the human stress response. In G. S. Everly, editor, *A Clinical guide to the Treatment of the Human Stress*, pages 15–48. Springer.
- Fanselow, M. S. & Lester, L. S., 1988. A functional behavioristic approach to aversively motivated behavior: predatory imminence as a determinant of the topography of defensive behavior. In R. C. Bolles & M. D. Beecher, editors, *Evolution and Learning*, pages 185–212. Lawrence Erlbaum Associates, Inc.
- Faravelli, C., Alessandra Scarpato, M., Castellini, G., & Lo Sauro, C., 2013. Gender differences in depression and anxiety: the role of age. *Psychiatry Research* **210**, 1301–1303.
- Faraway, J. J., 2006. *Extending the linear model with R: generalized linear, mixed effects and nonparametric regression models*. CRC press.
- Féron, C. & Gheusi, G., 2003. Social regulation of reproduction in the female mound-builder mouse (*Mus spicilegus*). *Physiology & Behavior* **78**, 717–722.
- Féron, C. & Gouat, P., 2007. Paternal care in the mound-building mouse reduces inter-litter intervals. *Reproduction Fertility And Development* **19**, 425–429.
- Fieffé-Lacroix, 1809. *LA clef des lois romaines ou Dictionnaire Analytique et raisonné de toutes les maitères contenues dans le Corps de Droit*, volume Premier. C. Lamort.
- Field, T., 1998. Maternal depression effects on infants and early interventions. *Preventive Medicine* **27**, 200–203.
- File, S. E. & Hyde, J., 1978. Can social interaction be used to measure anxiety ? *British Journal of Pharmacology* **62**, 19–24.
- File, S. E. & Seth, P., 2003. A review of 25 years of the social interaction test. *European Journal of Pharmacology* **463**, 35–53.
- Fischer, K. E. & Austad, S. N., 2011. The development of small primate models for aging research. *ILAR Journal* **52**, 78–88.
- Fitzpatrick, S. M., 2006. Delayed mating reduces fecundity of blackheaded fireworm, *Rhopobota naevana*, on cranberry. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **120**, 245–250.
- Flatscher-Bader, T., Foldi, C., Chong, S., Whitelaw, E., Moser, R., Burne, T., Eyles, D., & McGrath, J., 2011. Increased de novo copy number variants in the offspring of older males. *Translational Psychiatry* **1**, e34.
- Fleming, A. S., Cheung, U., Myhal, N., & Kessler, Z., 1989. Effects of maternal hormones on 'timidity' and attraction to pup-related odors in female rats. *Physiology & Behavior* **46**, 449–453.

- Flowers, R. A., Brown, C., et al., 2002. Effects of sport context and birth order on state anxiety. *Journal of Sport Behavior* **25**, 41–56.
- Foldi, C. J., Eyles, D. W., Flatscher-Bader, T., McGrath, J. J., & Burne, T. H., 2011. New perspectives on rodent models of advanced paternal age: relevance to autism. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* **5**.
- Foldi, C. J., Eyles, D. W., McGrath, J. J., & Burne, T. H., 2010. Advanced paternal age is associated with alterations in discrete behavioural domains and cortical neuroanatomy of c57bl/6j mice. *European Journal of Neuroscience* **31**, 556–564.
- Francis, D. D., Diorio, J., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J., 2002. Environmental enrichment reverses the effects of maternal separation on stress reactivity. *The Journal of Neuroscience* **22**, 7840–7843.
- Francis, D. D. & Meaney, M. J., 1999. Maternal care and the development of stress responses. *Current Opinion in Neurobiology* **9**, 128–134.
- Frans, E. M., Sandin, S., Reichenberg, A., Lichtenstein, P., Långström, N., & Hultman, C. M., 2008. Advancing paternal age and bipolar disorder. *Archives of General Psychiatry* **65**, 1034–1040.
- Fraser, A. F., Broom, D. M., et al., 1997. *Farm animal behaviour and welfare*. CaB international, third edition.
- Frazier, C. R., Trainor, B. C., Cravens, C. J., Whitney, T. K., & Marler, C. A., 2006. Paternal behavior influences development of aggression and vasopressin expression in male californian mouse offspring. *Hormones and Behavior* **50**, 699–707.
- Furchtgott, E. & Lazar, J., 1969. Maternal parity and offspring behavior in the domestic mouse. *Developmental Psychology* **1**, 227.
- Gaillard, J., Loison, A., Toigo, C., Delorme, D., & VAN Laere, G., 2003. Cohort effects and deer population dynamics. *Ecoscience* **10**, 412–420.
- Galler, J. R. & Propert, K. J., 1982. Early maternal behaviors predictive of the survival of suckling rats with intergenerational malnutrition. *The Journal of Nutrition* **112**, 332–337.
- Garza, J. C., Dallas, J., Duryadi, D., Gerasimov, S., Croset, H., & Boursot, P., 1997. Social structure of the mound-building mouse *Mus spicilegus* revealed by genetic analysis with microsatellites. *Molecular Ecology* **6**, 1009–1017.
- Gewirtz, J. C., McNish, K. A., & Davis, M., 2000. Is the hippocampus necessary for contextual fear conditioning? *Behavioural Brain Research* **110**, 83–95.
- Gilbert, A. N., 1984. Postpartum and lactational estrus: a comparative analysis in rodentia. *Journal of Comparative Psychology* **98**, 232.
- Giuliani, A., Ghirardi, O., Caprioli, A., di Serio, S., Ramacci, M. T., & Angelucci, L., 1994. Multivariate analysis of behavioral aging highlights some unexpected features of complex systems organization. *Behavioral and Neural Biology* **61**, 110–122.
- Gonzalez, A., Lovic, V., Ward, G. R., Wainwright, P. E., & Fleming, A. S., 2001. Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Developmental Psychobiology* **38**, 11–32.
- Gouat, P. & Féron, C., 2005. Deficit in reproduction in polygynously mated females of the monogamous mound-building mouse *Mus spicilegus*. *Reproduction, Fertility, and Development* **17**, 617–623.
- Gouat, P., Féron, C., & Demouron, S., 2003a. Seasonal reproduction and delayed sexual maturity in mound-building mice *Mus spicilegus*. *Reproduction, Fertility, and Development* **15**, 187–195.
- Gouat, P., Katona, K., & Poteaux, C., 2003b. Is the socio-spatial distribution of mound-building mice, *Mus spicilegus*, compatible with a monogamous mating system? *Mammalia* **67**, 15–24.
- Gouat, P., Patris, B., & Lalande, C., 1998. Conspecific and heterospecific behavioural discrimination of individual odours by mound-building mice. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. Serie III, Sciences de la Vie* **321**, 571–575.
- Green, W. C., 1990. Reproductive effort and associated costs in bison (*Bison bison*): do older mothers try harder? *Behavioral Ecology* **1**, 148–160.
- Griebel, G., Belzung, C., Misslin, R., & Vogel, E., 1993. The free-exploratory paradigm: an effective method for measuring neophobic behaviour in mice and testing potential neophobia-reducing drugs. *Behavioural Pharmacology* **4**, 637–644.
- Grillon, C., 2008. Models and mechanisms of anxiety: evidence from startle studies. *Psychopharmacology* **199**, 421–437.
- Gross, C. & Hen, R., 2004. The developmental origins of anxiety. *Nature Reviews Neuroscience* **5**, 545–552.
- Grotewiel, M. S., Martin, I., Bhandari, P., & Cook-Wiens, E., 2005. Functional senescence in *Drosophila melanogaster*. *Ageing Research Reviews* **4**, 372–397.

- Gubernick, D., 1994. Biparental care and male-female relations in mammals. In S. Parmigiani & F. S. vom Saal, editors, *Infanticide and Parental Care*, chapter 18, pages 427–463. Chur, Switzerland: Harwood Academic Publishers.
- Gubernick, D. J. & Alberts, J. R., 1983. Maternal licking of young: resource exchange and proximate controls. *Physiology & Behavior*.
- Gubernick, D. J. & Teferi, T., 2000. Adaptive significance of male parental care in a monogamous mammal. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **267**, 147–150.
- Guerra, R. F. & Nunes, C. R. d. O., 2001. Effects of litter size on maternal care, body weight and infant development in golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Behavioural Processes* **55**, 127–142.
- Hahn, M. E. & Lavooy, M. J., 2005. A review of the methods of studies on infant ultrasound production and maternal retrieval in small rodents. *Behavior Genetics* **35**, 31–52.
- Haldane, J. B. S., 1941. *New paths in genetics*. George Allen and Unwin, Ltd., London.
- Hall, C., 1934. Emotional behavior in the rat. i. defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology* **18**, 385–403.
- Hamel, S., Gaillard, J.-M., Yoccoz, N. G., Loison, A., Bonenfant, C., & Descamps, S., 2010. Fitness costs of reproduction depend on life speed: empirical evidence from mammalian populations. *Ecology Letters* **13**, 915–935.
- Hamilton, W. D., 1966. The moulding of senescence by natural selection. *Journal of Theoretical Biology* **12**, 12–45.
- Harper, J. M., 2008. Wild-derived mouse stocks: an underappreciated tool for aging research. *Age* **30**, 135–145.
- Harper, J. M., Leathers, C. W., & Austad, S. N., 2006. Does caloric restriction extend life in wild mice? *Aging Cell* **5**, 441–449.
- Hauser, H. & Gandelman, R., 1983. Contiguity to males in utero affects avoidance responding in adult female mice. *Science* **220**, 437–438.
- Hill, R., 1992. The altricial/precocial contrast in the thermal relations and energetics of small mammals. In T. Tomasi & T. Horton, editors, *Mammalian energetics: interdisciplinary views of metabolism and reproduction*, chapter 7, page 122. Ithaca, NY: Cornell University Press.
- Hoffman, C. L., Higham, J. P., Mas-Rivera, A., Ayala, J. E., & Maestriperieri, D., 2010. Terminal investment and senescence in rhesus macaques (*Macaca mulatta*) on Cayo Santiago. *Behavioral Ecology* **21**, 972–978.
- Hohoff, C., 2009. Anxiety in mice and men: a comparison. *Journal of Neural Transmission* **116**, 679–687.
- Holmes, A., Parmigiani, S., Ferrari, P., Palanza, P., & Rodgers, R., 2000. Behavioral profile of wild mice in the elevated plus-maze test for anxiety. *Physiology & Behavior* **71**, 509–516.
- Hölzl, M., Hoi, H., Darolova, A., Krištofik, J., & Penn, D. J., 2009. Why do the mounds of *Mus spicilegus* vary so much in size and composition? *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde* **74**, 308–314.
- Huck, U., Pratt, N., Labov, J., & Lisk, R., 1988. Effects of age and parity on litter size and offspring sex ratio in golden hamsters (*mesocricetus auratus*). *Journal of reproduction and fertility* **83**, 209–214.
- Hunt, J. & Simmons, L., 2000. Maternal and paternal effects on offspring phenotype in the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Evolution* **54**, 936–941.
- Hurtado, M. J., Fénéron, R., & Gouat, P., 2013. Specialization in building tasks in the mound-building mouse, *Mus spicilegus*. *Animal Behaviour* **85**, 1153–1160.
- Ims, R. & Yoccoz, N., 1997. Study transfer processes in metapopulations. In I. Hanski & M. Gilpin, editors, *Metapopulation biology: ecology, genetics and evolution*, pages 247–266. San Diego: Academic Press.
- Ims, R. A., Henden, J.-A., & Killengreen, S. T., 2008. Collapsing population cycles. *Trends in Ecology & Evolution* **23**, 79–86.
- Insee, 2012. Un premier enfant à 28 ans. Technical report, Division Enquêtes et études démographiques.
- Insel, T. R., Preston, S., & Winslow, J. T., 1995. Mating in the monogamous male: behavioral consequences. *Physiology & Behavior* **57**, 615–627.
- Jennions, M. D. & Petrie, M., 1997. Variation in mate choice and mating preferences: a review of causes and consequences. *Biological Reviews* **72**, 283–327.
- Jia, R., Tai, F., An, S., Zhang, X., & Broders, H., 2009. Effects of neonatal paternal deprivation or early deprivation on anxiety and social behaviors of the adults in mandarin voles. *Behavioural Processes* **82**, 271–278.
- Johnson, M., Thomson, S., & Speakman, J., 2001. Limits to sustained energy intake iii. effects of concurrent pregnancy and lactation in *Mus musculus*. *Journal of Experimental Biology* **204**, 1947–1956.

- Johnston, R. E., 2003. Chemical communication in rodents: from pheromones to individual recognition. *Journal of Mammalogy* **84**, 1141–1162.
- Jones, O. R., Gaillard, J.-M., Tuljapurkar, S., Alho, J. S., Armitage, K. B., Becker, P. H., Bize, P., Brommer, J., Charmantier, A., Charpentier, M., et al., 2008. Senescence rates are determined by ranking on the fast–slow life-history continuum. *Ecology Letters* **11**, 664–673.
- Jutapakdeegul, N., Casalotti, S. O., Govitrapong, P., & Kotchabhakdi, N., 2003. Postnatal touch stimulation acutely alters corticosterone levels and glucocorticoid receptor gene expression in the neonatal rat. *Developmental Neuroscience* **25**, 26–33.
- Kaitala, V., Mappes, T., & Ylonen, H., 1997. Delayed female reproduction in equilibrium and chaotic populations. *Evolutionary Ecology* **11**, 105–126.
- Kidd, S. A., Eskenazi, B., & Wyrobek, A. J., 2001. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertility and Sterility* **75**, 237–248.
- Kirkwood, T. B., 1977. Evolution of ageing. *Nature* **270**, 301–304.
- Kirkwood, T. B. & Austad, S. N., 2000. Why do we age? *Nature* **408**, 233–238.
- Kirkwood, T. B. & Rose, M. R., 1991. Evolution of senescence: late survival sacrificed for reproduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **332**, 15–24.
- Kishi, S., Uchiyama, J., Baughman, A. M., Goto, T., Lin, M. C., & Tsai, S. B., 2003. The zebrafish as a vertebrate model of functional aging and very gradual senescence. *Experimental Gerontology* **38**, 777–786.
- Kleiman, D. G., 1977. Monogamy in mammals. *Quarterly Review of Biology* **52**, 39–69.
- Kolevzon, A., Gross, R., & Reichenberg, A., 2007. Prenatal and perinatal risk factors for autism: a review and integration of findings. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine* **161**, 326–333.
- Kong, L., Chen, K., Womer, F., Jiang, W., Luo, X., Driesen, N., Liu, J., Blumberg, H., Tang, Y., Xu, K., et al., 2013. Sex differences of gray matter morphology in cortico-limbic-striatal neural system in major depressive disorder. *Journal of Psychiatric Research* **47**, 733–739.
- König, B., 1993. Maternal investment of communally nursing female house mice (*Mus musculus domesticus*). *Behavioural Processes* **30**, 61–73.
- König, B., 1994. Components of lifetime reproductive success in communally and solitarily nursing house mice - a laboratory study. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **34**, 275–283.
- König, B., 2006. Non-offspring nursing in mammals: general implications from a case study on house mice. In P. Kappeler & C. van Schaik, editors, *Cooperation in Primates and Humans - Mechanisms and Evolutions*, chapter 11, pages 191–205. Berlin, Heidelberg: Springer - Verlag.
- König, B. & Markl, H., 1987. Maternal care in house mice. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **20**, 1–9.
- Korte, S. M., Koolhaas, J. M., Wingfield, J. C., & McEwen, B. S., 2005. The darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **29**, 3–38.
- Krackow, S., 2003. Motivational and heritable determinants of dispersal latency in wild male house mice (*Mus musculus musculus*). *Ethology* **109**, 671–689.
- Krackow, S. & Matuschak, B., 1991. Mate choice for non-siblings in wild house mice: evidence from a choice test and a reproductive test. *Ethology* **88**, 99–108.
- Kudryavtseva, N. N., Smagin, D. A., Kovalenko, I. L., & Vishnivetskaya, G. B., 2014. Repeated positive fighting experience in male inbred mice. *Nature Protocols* **9**, 2705–2717.
- Lafaille, M., Bimbard, G., & Greenfield, M. D., 2010. Risk trading in mating behavior: forgoing anti-predator responses reduces the likelihood of missing terminal mating opportunities. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **64**, 1485–1494.
- Lafaille, M., Gouat, P., & Féron, C., 2014. Efficiency of delayed reproduction in *Mus spicilegus*. *Reproduction, Fertility and Development* .
- Lane, M., McPherson, N. O., Fullston, T., Spillane, M., Sandeman, L., Kang, W. X., & Zander-Fox, D. L., 2014. Oxidative stress in mouse sperm impairs embryo development, fetal growth and alters adiposity and glucose regulation in female offspring. *PLoS One* **9**, e100832.
- Langford-Smith, A., Langford-Smith, K. J., Jones, S. A., Wynn, R. F., Wraith, J. E., Wilkinson, F. L., & Bigger, B. W., 2011. Female mucopolysaccharidosis IIIA mice exhibit hyperactivity and a reduced sense of danger in the open field test. *PLoS One* **6**, e25717.
- Lansac, J., 1995. Delayed parenting. Is delayed childbearing a good thing? *Human Reproduction* **10**, 1033–5.

- Laviola, G., Macrì, S., Morley-Fletcher, S., & Adriani, W., 2003. Risk-taking behavior in adolescent mice: psychological determinants and early epigenetic influence. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **27**, 19–31.
- Law, R., 1979. Optimal life histories under age-specific predation. *American Naturalist* **114**, 399–417.
- Leigh, H. & Hofer, M., 1973. Behavioral and physiological effects of littermate removal on the remaining single pup and mother during the pre-weaning period in rats. *Psychosomatic Medicine* **35**, 497–508.
- Lenington, S., Coopersmith, C., & Williams, J., 1992. Genetic basis of mating preferences in wild house mice. *American Zoologist* **32**, 40–47.
- Leon, M., Croskerry, P. G., & Smith, G. K., 1978. Thermal control of mother-young contact in rats. *Physiology & Behavior* **21**, 793–811.
- Leonardo, E. & Hen, R., 2006. Genetics of affective and anxiety disorders. *Annual Review of Psychology* **57**, 117–137.
- Leuze, C., 1980. The application of radio tracking to the study of behavioral ecology of the water vole, *Arvicola terrestris*. In C. J. Amlaner & D. W. Macdonald, editors, *A Handbook on Biotelemetry and Radio Tracking*, pages 361 – 366. Oxford: Pergamon Press.
- Lévy, F. & Fleming, A. S., 2005. The neurobiology of maternal behaviors in mammals. In P. J. Marshall & N. A. Fox, editors, *The Development of Social Engagement*, chapter 8. Oxford University Press.
- Leyfer, O. T., Folstein, S. E., Bacalman, S., Davis, N. O., Dinh, E., Morgan, J., Tager-Flusberg, H., & Lainhart, J. E., 2006. Comorbid psychiatric disorders in children with autism: interview development and rates of disorders. *Journal of Autism and Developmental Disorders* **36**, 849–861.
- Lima, S. & Dill, L., 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation - a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology* **68**, 619–640.
- Lipshultz, L. I., Howards, S. S., & Niederberger, C. S., 2009. *Infertility in the Male*. Cambridge University Press.
- Liu, D., Diorio, J., Day, J. C., Francis, D. D., & Meaney, M. J., 2000. Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nature Neuroscience* **3**, 799–806.
- Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A., Sharma, S., Pearson, D., Plotsky, P. M., & Meaney, M. J., 1997. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* **277**, 1659–1662.
- Liu, Y., Curtis, J. T., & Wang, Z., 2001. Vasopressin in the lateral septum regulates pair bond formation in male prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behavioral Neuroscience* **115**, 910.
- Liu, Z.-H. & Smith, C. B., 2009. Dissociation of social and nonsocial anxiety in a mouse model of fragile x syndrome. *Neuroscience Letters* **454**, 62–66.
- Loue, S. & Sajatovic, M., 2007. *Encyclopedia of Aging and Public Health*. Springer.
- Lynn, S. E., Prince, L. E., Schook, D. M., & Moore, I. T., 2009. Supplementary testosterone inhibits paternal care in a tropically breeding sparrow, *Zonotrichia capensis*. *Physiological and Biochemical Zoology* **82**, 699–708.
- Malatynska, E., Steinbusch, H. W. M., Redkozubova, O., Bolkunov, A., Kubatiev, A., Yeritsyan, N. B., Vignisse, J., Bachurin, S., & Strekalova, T., 2012. Anhedonic-like traits and lack of affective deficits in 18-month-old c57bl/6 mice: implications for modeling elderly depression. *Experimental Gerontology* **47**, 552–564.
- Maldonado, E. & Navarro, J., 2001. Mdma ('ecstasy') exhibits an anxiogenic-like activity in social encounters between male mice. *Pharmacological Research* **44**, 27–31.
- Marler, C., Trainor, B. C., & Davis, E., 2005. Paternal behavior and offspring aggression. *Current Directions in Psychological Science* **14**, 163–166.
- Martínez, C., Ramírez, G., & Vásquez, M., 2009. Pruebas no paramétricas para comparar curvas de supervivencia de dos grupos que experimentan eventos recurrentes. *Revista ingeniería UC* **16**, 3.
- Masoro, E. J. & Austad, S. N., 2011. *Handbook of the Biology of Aging*. Access Online via Elsevier.
- Mautz, B. S. & Sakaluk, S. K., 2008. The effects of age and previous mating experience on pre-and post-copulatory mate choice in female house crickets (*Acheta domesticus* L.). *Journal of Insect Behavior* **21**, 203–212.
- McCarty, R. & Southwick, C. H., 1977. Paternal care and the development of behavior in the southern grasshopper mouse, (*Onychomys torridus*). *Behavioral Biology* **19**, 476–490.
- McCulloch, D. & Gems, D., 2003. Body size, insulin/igf signaling and aging in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Experimental Gerontology* **38**, 129–136.

- McGhee, K. E. & Bell, A. M., 2014. Paternal care in a fish: epigenetics and fitness enhancing effects on offspring anxiety. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **281**, 20141146.
- McGraw, L. A. & Young, L. J., 2010. The prairie vole: an emerging model organism for understanding the social brain. *Trends in Neurosciences* **33**, 103–109.
- McGuire, B. & Bemis, W. E., 2007. Litter size influences maternal but not paternal care in three species of voles, as measured by nest attendance. *Journal of Mammalogy* **88**, 1420–1426.
- McGuire, B. & Getz, L. L., 2010. Alternative male reproductive tactics in a natural population of prairie voles *Microtus ochrogaster*. *Acta Theriologica* **55**, 261–270.
- McLeod, B. D., Wood, J. J., & Weisz, J. R., 2007. Examining the association between parenting and childhood anxiety: a meta-analysis. *Clinical Psychology Review* **27**, 155–172.
- McNamara, J. M., Houston, A. I., Barta, Z., Scheuerlein, A., & Fromhage, L., 2009. Deterioration, death and the evolution of reproductive restraint in late life. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **276**, 4061.
- McNaughton, N., 1997. Cognitive dysfunction resulting from hippocampal hyperactivity – a possible cause of anxiety disorder? *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **56**, 603–611.
- Medawar, P. B., 1952. *An Unsolved Problem of Biology*. H.K. Lewis and Company, London.
- Menezes, P., Lewis, G., Rasmussen, F., Zammit, S., Sippes, A., Harrison, G., Tynelius, P., & Gunnell, D., 2010. Paternal and maternal ages at conception and risk of bipolar affective disorder in their offspring. *Psychological Medicine* **40**, 477–485.
- Meyza, K. Z., Boguszewski, P. M., Nikolaev, E., & Zagrodzka, J., 2011. Age increases anxiety and reactivity of the fear/anxiety circuit in lewis rats. *Behavioural Brain Research* **225**, 192–200.
- Milishnikov, A. N., Rafiev, A. N., & Muntianu, A. I., 1998. Genotypic variability in populations of the mound-builder mouse *Mus spicilegus* pet., 1882, at various life cycle stages. *Genetika* **34**, 947–952.
- Miller, R., Austad, S., Burke, D., Chrisp, C., Dysko, R., Galecki, A., Jackson, A., & Monnier, V., 1999. Exotic mice as models for aging research: polemic and prospectus. *Neurobiology of Aging* **20**, 217–231.
- Miyamoto, M., Kiyota, Y., Nishiyama, M., & Nagaoka, A., 1992. Senescence-accelerated mouse (sam): age-related reduced anxiety-like behavior in the sam-p/8 strain. *Physiology & Behavior* **51**, 979–985.
- Montano, M., Welshons, W., & Vom Saal, F., 1995. Free estradiol in serum and brain uptake of estradiol during fetal and neonatal sexual differentiation in female rats. *Biology of Reproduction* **53**, 1198–1207.
- Moore, P. J. & Moore, A. J., 2001. Reproductive aging and mating: the ticking of the biological clock in female cockroaches. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98**, 9171–9176.
- Morales, J., Cole, C., Neumann, I. D., Langraf, R., & Young, L. J., 2004. Vasopressin release in the ventral pallidum during mating in the monogamous male prairie vole. *Society for Neuroscience Abstracts* **214**, 1.
- Mousseau, T. A. & Dingle, H., 1991. Maternal effects in insect life histories. *Annual Review of Entomology* **36**, 511–534.
- Myers, J. H. & Krebs, C. J., 1971. Genetic, behavioral, and reproductive attributes of dispersing field voles *Microtus pennsylvanicus* and *Microtus ochrogaster*. *Ecological Monographs* pages 53–78.
- Nagelkerke, N. J., 1991. A note on a general definition of the coefficient of determination. *Biometrika* **78**, 691–692.
- Nair, H. P. & Young, L. J., 2006. Vasopressin and pair-bond formation: genes to brain to behavior. *Physiology* **21**, 146–152.
- Neodorf, D. L., 2004. Extrapair paternity in birds: understanding variation among species. *The Auk* **121**, 302–307.
- Neumann, I. D., Krömer, S. A., & Bosch, O. J., 2005. Effects of psycho-social stress during pregnancy on neuroendocrine and behavioural parameters in lactation depend on the genetically determined stress vulnerability. *Psychoneuroendocrinology* **30**, 791–806.
- Nickerson, S., 1995. Milk production: factors affecting milk composition. In F. Harding, editor, *Milk quality*, chapter 2, page 23. Springer.
- Nithianantharajah, J. & Hannan, A. J., 2006. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience* **7**, 697–709.
- Nussey, D., Coulson, T., Festa-Bianchet, M., & Gaillard, J.-M., 2008. Measuring senescence in wild animal populations: towards a longitudinal approach. *Functional Ecology* **22**, 393–406.

- Nussey, D. H., Froy, H., Lemaitre, J.-F., Gaillard, J.-M., & Austad, S. N., 2013. Senescence in natural populations of animals: widespread evidence and its implications for bio-gerontology. *Ageing Research Reviews* **12**, 214–225.
- O'Donovan, A., Slavich, G. M., Epel, E. S., & Neylan, T. C., 2013. Exaggerated neurobiological sensitivity to threat as a mechanism linking anxiety with increased risk for diseases of aging. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **37**, 96–108.
- Oli, M. K., Hepp, G. R., & Kenamer, R. A., 2002. Fitness consequences of delayed maturity in female wood ducks. *Evolutionary Ecology Research* **4**, 563–576.
- Omholt, S. W. & Amdam, G. V., 2004. Epigenetic regulation of aging in honeybee workers. *Science of Aging Knowledge Environment* **2004**, pe28.
- Ostermeyer, M. C. & Elwood, R. W., 1984. Helpers (?) at the nest in the mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. *Behaviour* **91**, 61–77.
- Pacheco, K., Dawson, J. W., Jutting, M., & Bertram, S. M., 2013. How age influences phonotaxis in virgin female jamaican field crickets (*Gryllus assimilis*). *PeerJ* **1**, e130.
- Palanza, P., Morley-Fletcher, S., & Laviola, G., 2001. Novelty seeking in periadolescent mice: sex differences and influence of intrauterine position. *Physiology & Behavior* **72**, 255–262.
- Pardon, M.-C., Gérardin, P., Joubert, C., Pérez-Díaz, F., & Cohen-Salmon, C., 2000. Influence of prepartum chronic ultramild stress on maternal pup care behavior in mice. *Biological Psychiatry* **47**, 858–863.
- Patris, B. & Baudoin, C., 1998. Female sexual preferences differ in *Mus spicilegus* and *Mus musculus domesticus*: the role of familiarization and sexual experience. *Animal Behaviour* **56**, 1465–1470.
- Patris, B. & Baudoin, C., 2000. A comparative study of parental care between two rodent species: implications for the mating system of the mound-building mouse, *Mus spicilegus*. *Behavioral Processes* **51**, 35–43.
- Patris, B., Gouat, P., Jacquot, C., Christophe, N., & Baudoin, C., 2002. Agonistic and sociable behaviors in the mound-building mice, *Mus spicilegus*: a comparative study with *Mus musculus domesticus*. *Aggressive Behavior* **28**, 75–84.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M., 1985. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods* **14**, 149–167.
- Petralia, R. S., Mattson, M. P., & Yao, P. J., 2014. Aging and longevity in the simplest animals and the quest for immortality. *Ageing Research Reviews* .
- Pisarska, M., Mulchahey, J. J., Welge, J. A., Geraciotti, Jr, T., & Kasckow, J. W., 2000. Age-related alterations in emotional behaviors and amygdalar corticotropin-releasing factor (crf) and crf-binding protein expression in aged fischer 344 rats. *Brain Research* **877**, 184–190.
- Pison, G., 2009. Le vieillissement démographique sera plus rapide au sud qu'au nord. *Population et Sociétés* page 4.
- Pittet, F., Coignard, M., Houdelier, C., Richard-Yris, M.-A., & Lumineau, S., 2012. Age affects the expression of maternal care and subsequent behavioural development of offspring in a precocial bird. *PLoS One* **7**, e36835.
- Pittet, F., Coignard, M., Houdelier, C., Richard-Yris, M.-A., & Lumineau, S., 2013. Effects of maternal experience on fearfulness and maternal behaviour in a precocial bird. *Animal Behaviour* **85**, 797–805.
- Popović, N., Baño-Otálora, B., Rol, M. A., Caballero-Bleda, M., Madrid, J. A., & Popović, M., 2009. Aging and time-of-day effects on anxiety in female octodon degus. *Behavioural Brain Research* **200**, 117–121.
- Poteaux, C., Busquet, N., Gouat, P., Katona, K., & Baudoin, C., 2008. Socio-genetic structure of mound-building mice, *Mus spicilegus*, in autumn and early spring. *Biological Journal of the Linnean Society* **93**, 689–699.
- Prakash, P., Merali, Z., Kolajova, M., Tannenbaum, B. M., & Anisman, H., 2006. Maternal factors and monoamine changes in stress-resilient and susceptible mice: cross-fostering effects. *Brain Research* **1111**, 122–133.
- Priebe, K., Brake, W. G., Romeo, R. D., Sisti, H. M., Mueller, A., McEwen, B. S., & Francis, D. D., 2005. Maternal influences on adult stress and anxiety-like behavior in c57bl/6j and balb/cj mice: a cross-fostering study. *Developmental Psychobiology* **47**, 398–407.
- Priestnall, R., 1972. Effects of litter size on the behaviour of lactating female mice (*Mus musculus*). *Animal Behaviour* **20**, 386–394.
- R Development Core Team, 2012. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- Raouf, S. A., Parker, P. G., Ketterson, E. D., Nolan, V., & Ziegenfus, C., 1997. Testosterone affects reproductive success by influencing extra-pair fertilizations in male dark-eyed juncos (aves: *Junco hyemalis*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **264**, 1599–1603.

- Reichard, U. H. & Boesch, C., 2003. *Monogamy: Mating Strategies and Partnerships in Birds, Humans and Other Mammals*. Cambridge University Press.
- Reichenberg, A., Gross, R., Weiser, M., Bresnahan, M., Silverman, J., Harlap, S., Rabinowitz, J., Shulman, C., Malaspina, D., Lubin, G., et al., 2006. Advancing paternal age and autism. *Archives of General Psychiatry* **63**, 1026–1032.
- Rice, D. & Barone Jr, S., 2000. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environmental Health Perspectives* **108**, 511.
- Richardson, A., Heydari, A. R., Morgan, W. W., Nelson, J. F., Sharp, Z. D., & Walter, C. A., 1997. Use of transgenic mice in aging research. *ILAR Journal* **38**, 124–136.
- Roff, D. A., 1992. *Evolution of Life Histories: Theory and Analysis*. Chapman and Hall, New-York.
- Roth, G. S., Mattison, J. A., Ottinger, M. A., Chachich, M. E., Lane, M. A., & Ingram, D. K., 2004. Aging in rhesus monkeys: relevance to human health interventions. *Science* **305**, 1423–1426.
- Rowe, W. B., Spreekmeester, E., Meaney, M. J., Quirion, R., & Rochford, J., 1998. Reactivity to novelty in cognitively-impaired and cognitively-unimpaired aged rats and young rats. *Neuroscience* **83**, 669–680.
- Rowell, T. E., 1960. On the retrieving of young and other behaviour in lactating golden hamsters. *Proceedings of the Zoological Society of London* **135**, 265–282.
- Ryan, B. C. & Vandenbergh, J. G., 2002. Intrauterine position effects. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **26**, 665–678.
- Sadd, B., Holman, L., Armitage, H., Lock, F., Marland, R., & Siva-Jothy, M., 2006. Modulation of sexual signalling by immune challenged male mealworm beetles (*Tenebrio molitor*, L.): evidence for terminal investment and dishonesty. *Journal of Evolutionary Biology* **19**, 321–325.
- Saha, S., Barnett, A. G., Foldi, C., Burne, T. H., Eyles, D. W., Buka, S. L., & McGrath, J. J., 2009. Advanced paternal age is associated with impaired neurocognitive outcomes during infancy and childhood. *PLoS Medicine* **6**, e1000040.
- Salchner, P., Lubec, G., & Singewald, N., 2004. Decreased social interaction in aged rats may not reflect changes in anxiety-related behaviour. *Behavioural Brain Research* **151**, 1–8.
- Sampino, S., Juszczak, G., Zacchini, F., Swiergiel, A., Modlinski, J., Loi, P., & Ptak, G., 2014. Grand-paternal age and the development of autism-like symptoms in mice progeny. *Translational Psychiatry* **4**, e386.
- Saudou, F., Amara, D. A., Dierich, A., LeMeur, M., Ramboz, S., Segu, L., Buhot, M.-C., & Hen, R., 1994. Enhanced aggressive behavior in mice lacking 5-HT_{1B} receptor. *Science* **265**, 1875–1878.
- Schino, G., Speranza, L., & Troisi, A., 2001. Early maternal rejection and later social anxiety in juvenile and adult Japanese macaques. *Developmental Psychobiology* **38**, 186–190.
- Schmidt, N. B., Richey, J. A., Zvolensky, M. J., & Maner, J. K., 2008. Exploring human freeze responses to a threat stressor. *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry* **39**, 292–304.
- Seitz, P. F., 1958. The maternal instinct in animal subjects: I. *Psychosomatic Medicine* **20**, 215–226.
- Selesniemi, K., Lee, H.-J., Muhlhauser, A., & Tilly, J. L., 2011. Prevention of maternal aging-associated oocyte aneuploidy and meiotic spindle defects in mice by dietary and genetic strategies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **108**, 12319–12324.
- Serra, J., Hurtado, M. J., Le Négrate, A., Féron, C., Nowak, R., & Gouat, P., 2012. Behavioral differentiation during collective building in wild mice *Mus spicilegus*. *Behavioral Processes* **89**, 292–298.
- Shoji, H. & Mizoguchi, K., 2011. Aging-related changes in the effects of social isolation on social behavior in rats. *Physiology & Behavior* **102**, 58–62.
- Sikes, R. S. & Ylönen, H., 1998. Considerations of optimal litter size in mammals. *Oikos* **83**, 452–465.
- Simeonovska-Nikolova, D., Gerasimov, S., et al., 2000. Seasonal changes of some population characteristics of *Mus spicilegus* Petenyi in north Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica* **52**, 81–90.
- Simeonovska-Nikolova, D. & Lomlieva, M., 2012. Sociosexual behavior of female mound-building mice, *Mus spicilegus*, in a forced-pairing experiment. *Natural & Mathematical Science* pages 1–5.
- Simeonovska-Nikolova, D. M., 2003. Social relationships and social structure of the mound-building mouse (*Mus spicilegus*) in intraspecific cage groups. *Acta Ethologica* **6**, 39–45.
- Simeonovska-Nikolova, D. M., 2007. Spatial organization of the mound-building mouse, *Mus spicilegus*, in the region of northern Bulgaria. *Acta Zoologica Sinica* **53**, 22–28.

- Simon, N. M., Zalta, A. K., Worthington, 3rd, J. J., Hoge, E. A., Christian, K. M., Stevens, J. C., & Pollack, M. H., 2006. Preliminary support for gender differences in response to fluoxetine for generalized anxiety disorder. *Depression and Anxiety* **23**, 373–376.
- Slotnick, B. M., 1967. Disturbances of maternal behavior in the rat following lesions of the cingulate cortex. *Behaviour* **29**, 204–236.
- Smart, R. G., 1963. Alcoholism, birth order, and family size. *The Journal of Abnormal and Social Psychology* **66**, 17.
- Smith, R. G., Kember, R. L., Mill, J., Fernandes, C., Schalkwyk, L. C., Buxbaum, J. D., & Reichenberg, A., 2009. Advancing paternal age is associated with deficits in social and exploratory behaviors in the offspring: a mouse model. *PLoS One* **4**, e8456.
- Smotherman, W. P., Bell, R. W., Starzec, J., Elias, J., & Zachman, T. A., 1974. Maternal responses to infant vocalizations and olfactory cues in rats and mice. *Behavioral Biology* **12**, 55–66.
- Sokolov, V., Kotenkova, E., & Michailenko, A., 1998. *Mus spicilegus*. *Mammalian Species* **592**, 1–6.
- Solomon, N. G., Keane, B., Knoch, L. R., & Hogan, P. J., 2004. Multiple paternity in socially monogamous prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Canadian Journal of Zoology* **82**, 1667–1671.
- Speakman, J. R., 2008. The physiological costs of reproduction in small mammals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **363**, 375–398.
- Spear, L. P., 2000. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **24**, 417–463.
- Sprott, R. L., 2011. Animal models of aging: something old, something new introduction. *Ilar Journal* **52**, 1–3.
- Stagner, B. H., 1986. The viability of birth order studies in substance abuse research. *Substance Use & Misuse* **21**, 377–384.
- Starr-Phillips, E. J. & Beery, A. K., 2014. Natural variation in maternal care shapes adult social behavior in rats. *Developmental Psychobiology* **56**, 1017–1026.
- Stearns, S. C., 1992. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press.
- Steinberg, L., 2007. Risk taking in adolescence new perspectives from brain and behavioral science. *Current Directions in Psychological Science* **16**, 55–59.
- Steiner, M., Allgulander, C., Ravindran, A., Kosar, H., Burt, T., & Austin, C., 2005. Gender differences in clinical presentation and response to sertraline treatment of generalized anxiety disorder. *Human Psychopharmacology* **20**, 3–13.
- Stern, J. M., 1997. Offspring-induced nurturance; animal-human parallels. *Developmental Psychobiology* **31**, 19–37.
- Streatfeild, C. A., Mabry, K. E., Keane, B., Crist, T. O., & Solomon, N. G., 2011. Intraspecific variability in the social and genetic mating systems of prairie voles, *Microtus ochrogaster*. *Animal Behaviour* **82**, 1387–1398.
- Sue Carter, C., Courtney Devries, A., & Getz, L. L., 1995. Physiological substrates of mammalian monogamy: the prairie vole model. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **19**, 303–314.
- Szenczi, P., Bánszegi, O., Dúcs, A., Gedeon, C. I., Markó, G., Németh, I., & Altbäcker, V., 2011. Morphology and function of communal mounds of overwintering mound-building mice (*Mus spicilegus*). *Journal of Mammalogy* **92**, 852–860.
- Szenczi, P., Bánszegi, O., Groó, Z., & Altbäcker, V., 2012. Development of the social behavior of two mice species with contrasting social systems. *Aggressive Behavior* **38**, 288–297.
- Takeda, T., 1999. Senescence-accelerated mouse (sam): a biogerontological resource in aging research. *Neurobiology of Aging* **20**, 105–110.
- Tarin, J., Gomez-Piquer, V., Rausell, F., Hermenegildo, C., & Cano, A., 2004. Effect of delayed breeding on the reproductive performance of female mice. *reproduction Fertility and Development* **16**, 373–378.
- Tarín, J. J., Gómez-Piquer, V., Manzanedo, C., Miñarro, J., Hermenegildo, C., & Cano, A., 2003. Long-term effects of delayed motherhood in mice on postnatal development and behavioural traits of offspring. *Human Reproduction* **18**, 1580–1587.
- Tavecchia, G., Pradel, R., Boy, V., Johnson, A. R., & Cézilly, F., 2001. Sex- and age-related variation in survival and cost of first reproduction in greater flamingos. *Ecology* **82**, 165–174.
- Thompson, S., 1992. Energetics of gestation and lactation in small mammals: basal metabolic rate and limits of energy use. In T. Tomasi & T. Horton, editors, *Mammalian Energetics: Interdisciplinary Views of Metabolism and Reproduction*, chapter 10, page 213. Cornell University Press.

- Tong, W., 2012. *Causes and consequences of cooperative construction in the mice Mus spicilegus and Peromyscus polionotus*. Ph.D. thesis, Harvard University, Cambridge, Massachusetts.
- Tong, W. & Hoekstra, H., 2012. *Mus spicilegus*. *Current Biology* **22**, R858–R859.
- Torrás-García, M., Costa-Miserachs, D., Coll-Andreu, M., & Portell-Cortés, I., 2005. Decreased anxiety levels related to aging. *Experimental Brain Research* **164**, 177–184.
- Torrey, E. F., Buka, S., Cannon, T. D., Goldstein, J. M., Seidman, L. J., Liu, T., Hadley, T., Rosso, I. M., Bearden, C., & Yolken, R. H., 2009. Paternal age as a risk factor for schizophrenia: how important is it? *Schizophrenia Research* **114**, 1–5.
- Trainor, B. C., Pride, M. C., Landeros, R. V., Knoblauch, N. W., Takahashi, E. Y., Silva, A. L., & Crean, K. K., 2011. Sex differences in social interaction behavior following social defeat stress in the monogamous californian mouse (*Peromyscus californicus*). *PloS One* **6**, e17405.
- Trimble, B. K., Baird, P. A., & Opitz, J. M., 1978. Maternal age and down syndrome: age-specific incidence rates by single-year intervals. *American Journal of Medical Genetics* **2**, 1–5.
- Troen, B. R., 2003. The biology of aging. *Mount Sinai Journal of Medicine* **70**, 3–22.
- Tuljapurkar, S., 1990. Delayed reproduction and fitness in variable environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **87**, 1139–1143.
- United Nations, 2013. World population ageing 2013. Technical report, Department of Economic and Social Affairs, Population Division.
- Uriarte, N., Breigeiron, M. K., Benetti, F., Rosa, X. F., & Lucion, A. B., 2007. Effects of maternal care on the development, emotionality, and reproductive functions in male and female rats. *Developmental Psychobiology* **49**, 451–462.
- Van den Bergh, B. R., Van Calster, B., Pinna Puissant, S., & Van Huffel, S., 2008. Self-reported symptoms of depressed mood, trait anxiety and aggressive behavior in post-pubertal adolescents: associations with diurnal cortisol profiles. *Hormones and Behavior* **54**, 253–257.
- Veenema, H. C., Spruijt, B. M., Gispen, W. H., & Van Hooff, J., 1997. Aging, dominance history, and social behavior in java-monkeys (*Macaca fascicularis*). *Neurobiology of Aging* **18**, 509–515.
- Veenema, H. C., van Hooff, J. A., Gispen, W. H., & Spruijt, B. M., 2001. Increased rigidity with age in social behavior of java-monkeys (*Macaca fascicularis*). *Neurobiology of Aging* **22**, 273–281.
- vom Saal, F. S., 1981. Variation in phenotype due to random intrauterine positioning of male and female fetuses in rodents. *Journal of Reproduction and Fertility* **62**, 633–650.
- Wang, M.-H. & vom Saal, F. S., 2000. Maternal age and traits in offspring. *Nature* **407**, 469–470.
- Wang, Z. & Novak, M. A., 1994. Parental care and litter development in primiparous and multiparous prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Journal of Mammalogy* pages 18–23.
- Webb, D., Fullenwider, J., McClure, P., Profeta, L., & Long, J., 1990. Geometry of maternal-offspring contact in two rodents. *Physiological Zoology* **63**, 821–844.
- Wei, L.-J., Lin, D. Y., & Weissfeld, L., 1989. Regression analysis of multivariate incomplete failure time data by modeling marginal distributions. *Journal of the American statistical association* **84**, 1065–1073.
- Welker, W., 1961. An analysis of exploratory and play behavior in animals. In D. Fiske & S. Maddi, editors, *Functions of Varied Experience*, page 111. Homewood: Dorsey.
- Williams, G. C., 1957. Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution* **11**, 398–411.
- Williams, G. C., 1966. Natural selection, the costs of reproduction, and a refinement of Lack's principle. *The American Naturalist* **100**, 687–687.
- Williams, P. L., Anderson, G. L., Johnstone, J. L., Nunn, A. D., Tweedle, M. F., & Wedeking, P., 2000. *Caenorhabditis elegans* as an alternative animal species. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A* **61**, 641–647.
- Winslow, J. T., 1993. A role of central vasopressin in pair bonding in monogamous prairie voles. *Nature* **365**, 7.
- Wright, H. W. Y., 2006. Paternal den attendance is the best predictor of offspring survival in the socially monogamous bat-eared fox. *Animal Behaviour* **71**, 503–510.
- Yahner, R. H., 2011. *Wildlife behavior and conservation*. Springer.
- Yeoman, M. & Faragher, R., 2001. Ageing and the nervous system: insights from studies on invertebrates. *Biogerontology* **2**, 85–97.
- Ylönen, H. & Ronkainen, H., 1994. Breeding suppression in the bank vole as antipredatory adaptation in a predictable environment. *Evolutionary Ecology* **8**, 658–666.

- Young, K. A., Gobrogge, K. L., Liu, Y., & Wang, Z., 2011. The neurobiology of pair bonding: insights from a socially monogamous rodent. *Frontiers in Neuroendocrinology* **32**, 53–69.
- Yu, J.-F., Lu, Q., Li, Y.-Y., Xu, J., & Ye, H., 2014. Mechanisms of the decline in reproductive fitness with age in the moth *Spodoptera litura*. *Insect Review* **1**, 1–11.
- Zaharia, M. D., Kulczycki, J., Shanks, N., Meaney, M. J., & Anisman, H., 1996. The effects of early postnatal stimulation on morris water-maze acquisition in adult mice: genetic and maternal factors. *Psychopharmacology* **128**, 227–239.

Conséquences émotionnelles et sociales du vieillissement : étude comportementale chez un rongeur monogame de type sauvage, *Mus spicilegus*

L'idée que les souches de rongeurs de laboratoire ne soient pas des modèles idéaux pour la recherche sur le vieillissement n'est pas nouvelle. Pourtant, l'attitude des chercheurs face à l'introduction d'animaux de type sauvage dans leurs travaux demeure frileuse bien que ces derniers apporteraient une solution adéquate pour l'étude d'un processus aussi complexe et multifactoriel que le vieillissement et permettraient d'intégrer les traits d'histoire de vie des individus afin de rendre compte de façon pertinente des changements liés à l'âge. Chez la souris glaneuse, le report de l'âge de première reproduction des animaux juvéniles hivernants conduit à la création de deux cohortes. Ces deux groupes d'animaux devront, à un âge plus ou moins avancé, explorer des environnements anxiogènes et faire face à des compétiteurs lors de leur dispersion, se reproduire et élever leur progéniture qui devra à son tour disperser. L'objectif de cette thèse est d'étudier les conséquences émotionnelles et sociales du vieillissement qui pourraient influencer les stratégies comportementales de ce rongeur de type sauvage. Ce travail s'ouvre également sur des thématiques d'actualité dans le domaine de la biogérontologie. Notre étude montre qu'à l'instar de celles réalisées chez l'Homme, le niveau d'anxiété d'un individu peut être déterminé par son âge mais aussi par l'âge de ses parents. L'âge de mise en couple va quant à lui influencer certaines stratégies liées à la reproduction comme la latence d'accouplement ou l'effort parental fourni par les mères et les pères et va conditionner l'apparition des premiers signes de sénescence reproductive. Enfin, cette étude dévoile que la durée de vie reproductive d'un couple monogame pourrait être un facteur renforçateur des liens qui unissent un mâle à sa partenaire.

Mots-clefs : changements liés à l'âge, anxiété, interactions sociales, comportement maternel/paternel, reproduction, âge maternel/paternel avancé, effort reproducteur, lien entre partenaires, préférence pour le partenaire

Age-related changes in emotional and social behavior: a study in a monogamous wild-type rodent species, *Mus spicilegus*

The idea that standard laboratory rodents may not be an ideal model for aging research is not new. Nonetheless, the researchers' attitude toward using wild-type species remains cautious although these animals would make a suitable solution to study a process as complex and multifaceted as aging, and would allow to incorporate the life history traits of individuals to reflect appropriately age-related changes. In the mound-building mouse, the delay of the age of first reproduction of overwintering juvenile animals leads to the establishment of two cohorts. These two groups of animals have to, at more or less advanced ages, explore anxiogenic environments and face competitors during dispersal, reproduce and raise their offspring which will in turn disperse. The aim of this thesis is to study the emotional and social consequences of aging that could influence the behavioral strategies in this wild-type rodent focusing on current issues in the biogerontological field. Our study shows that, like in humans, the anxiety level of an individual can be determined by its own age but also by the age of its parents at conception. For its part, the age at pairing influences reproduction-related strategies as the latency of first reproduction or parental effort provided by mothers and fathers and affects the appearance of the first signs of reproductive senescence. Finally, this work reveals that the duration of pairing could strengthen the social bond between a male and its partner in a monogamous species.

Keywords : age-related changes, social interactions, anxiety, maternal/paternal care, reproduction, advanced maternal/paternal age, reproductive effort, pair bonding, partner preference