

N° ordre IPHC-DEPE 10-003

N° ordre Uds 733

Discipline : Sciences du Vivant  
Spécialité : Physiologie et Biologie des  
Organismes - Populations - Interactions

# THÈSE

## Impact d'un dérangement sur la balance énergétique, le comportement et la reproduction d'Anatidés: généralisation du compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation

*Présentée par:*

**Cédric ZIMMER**

*Pour obtenir le grade de:*

**Docteur de l'Université de Strasbourg**

*Soutenue publiquement le 1er octobre 2010*

*Membres du jury:*



23 rue Becquerel  
67087 Strasbourg Cedex 2

T. (33) 03 88 10 69 00  
F. (33) 03 88 10 69 06  
UMR 7178

O. Petit, CR, Strasbourg  
J.P. Robin, CR, Strasbourg  
J.L. Gendrault, Pr, Strasbourg  
M.A. Richard, Pr, Rennes  
G. Malacarne, Pr, Alessandria (Italie)  
D. Grémillet, DR, Montpellier  
M. Boos, Dir. Naturaconst@, Wilhausen

Co-Directeur de thèse  
Co-Directeur de thèse  
Rapporteur interne  
Rapporteur externe  
Rapporteur externe  
Examineur  
Membre invité



Présentée par  
**Cédric ZIMMER**

**Impact d'un dérangement sur la balance énergétique, le comportement  
et la reproduction d'Anatidés : généralisation du compromis entre le  
risque de jeûne et le risque de prédation**



Soutenue publiquement le 1<sup>er</sup> octobre 2010 devant la commission d'examen :

**Odile PETIT**

Chargé de recherche, CNRS, Strasbourg

**Jean-Patrice ROBIN**

Chargé de recherche, CNRS, Strasbourg

**Marie-Annick RICHARD**

Professeur, Université Rennes 1, Rennes

**Giorgio MALACARNE**

Professeur, Université du Piémont Oriental, Alessandria

**Jean-Louis GENDRAULT**

Professeur, Université de Strasbourg, Strasbourg

**David GREMILLET**

Directeur de recherche, CNRS, Montpellier

**Mathieu BOOS**

Directeur Naturaconst@, Wilshausen

**Codirectrice de thèse**

**Codirecteur de thèse**

**Rapporteur externe**

**Rapporteur externe**

**Examineur interne**

**Examineur**

**Membre invité**



*A ma mère et mes grands-parents*



## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier en premier lieu Odile Petit, ma "chef", pour son aide et son soutien, tant au niveau professionnel que personnel, tout au long de ces quatre années. Merci pour ta confiance, ta disponibilité, ta rigueur scientifique, ta bonne humeur et pour cette relation d'amitié qui s'est développée entre nous.

Je remercie également Jean-Patrice Robin, mon "chef", pour toutes les connaissances techniques et physiologiques mais aussi "canardologiques" qu'il m'a inculquées. Merci pour ta disponibilité, ton aide et surtout pour tous ces bons moments de manip. Je pense avoir appris beaucoup de choses avec toi mais j'en retiens deux en particulier qui sont l'art du jeu de mot et l'écriture du mail indéchiffrable.

Un grand merci à Mathieu Boos sans qui cette thèse n'aurait pas pu se réaliser. Merci de t'être fortement impliqué dans ce travail et notamment d'avoir été présent tous les week-ends pendant les périodes de manip et pour ton pilotage de la voiture. Merci aussi pour ta rigueur scientifique et pour toutes les discussions enthousiastes que nous avons partagées.

Je tiens également à remercier Mme. Richard, M. Malacarne, M. Gendrault et M. Gremillet d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Merci à Stéphane Blanc de m'avoir permis de réaliser cette thèse au sein du Département d'Ecologie, Physiologie et Ethologie de l'IPHC ainsi que pour son aide.

J'adresse toute ma gratitude à Mathilde Arrivé pour avoir effectué une partie importante des analyses sur les échantillons de plasma, à Alexandre Zahariev pour les analyses d'eau marquée et à Gregoy Bedecarats pour les dosages de prolactine.

Je remercie également Myriam Maumy-Bertrand et Frédéric Bertrand pour leur aide précieuse dans l'élaboration des modèles statistiques.

Un grand merci à Marie Pelé, Cédric Sueur et Armand Jacob pour avoir été présent dans les bons moments mais aussi dans les moins bons, ainsi que pour leur soutien, leur amitié et toutes les soirées passées ensemble.

Un merci tout particulier à Léa pour tous les bons moments passés ensemble qui m'ont permis de décompresser et pour son soutien.

Je tiens également à remercier mes différentes collègues de bureau, Caroline, Edwina et Marion pour leur bonne humeur. Un merci tout particulier à Marion pour son soutien, son amitié et sa gaieté dans le bureau.

Un grand merci à tous les thésards actuels Maryline, Claire, Manuelle, Virginie, Vincent, Armand, Nicolas et anciens Sabrina, Audrey, Katia, Hélène, Michael, Sylvain, François, Damien pour leur aide et leur bonne humeur.

Je tiens également à remercier tous les étudiants avec qui j'ai eu le plaisir de travailler Céline, Audrey, Pauline, Léa, Nadia, Stéphanie, Claire, Benoit, Carole, Sandra et ceux que j'oublie.

Un grand merci à Poupou pour son aide et ses conseils en stat, ainsi qu'à sa femme Julie pour ses délicieux petits pains et pour toutes les soirées passées chez eux.

Je remercie également tout le personnel du DEPE qui a permis que cette thèse se déroule agréablement.

Je tiens à remercier aussi ma famille pour son soutien indispensable et particulièrement ma maman, ma grand-mère et mon grand-père sans qui je n'aurai jamais pu arriver là. Je pense que je ne pourrai jamais vous remercier assez mais merci pour tout ce que vous avez fait et faites encore.



Un grand merci également à tous mes amis de la Meuse : Mélina, Johan, Nicolas, Jérôme, Adeline, Anne, Sabrina et à mon frère Alex.

Enfin, je remercie tous les canards qui ont permis de mener à bien ce travail notamment Amélie, Champion 1, Champion 2 et Patte en vrac.

Ce travail a été financé par le Cabinet d'Expertise et de Recherche en Ecologie Appliquée Naturaconst@, la Région Alsace et le CNRS.



## ARTICLES

Ce travail est basé sur les articles suivants :

**Article 1 :**

Zimmer Cédric, Boos Mathieu, Schricke Vincent, Groscolas René and Robin Jean-Patrice (en préparation). Comparison of two non-invasive methods to estimate body lipids in ducks.

**Article 2 :**

Zimmer Cédric, Boos Mathieu, Petit Odile, and Robin Jean-Patrice (in press). Body mass variations in disturbed mallards fit to the mass-dependent starvation-predation risk trade-off. *Journal of Avian Biology*

**Article 3 :**

Zimmer Cédric, Boos Mathieu, Poulin Nicolas, Petit Odile, and Robin Jean-Patrice (soumis). Generalization of the mass-dependent starvation-predation risk trade-off.

**Article 4 :**

Zimmer Cédric, Boos Mathieu, Poulin Nicolas, Petit Odile, and Robin Jean-Patrice (en préparation). Does predation risk at breeding initiation modify the response to starvation-predation risk trade-off in ducks?

**Article 5 :**

Zimmer Cédric, Boos Mathieu, Blanc Stéphane, Petit Odile, Robin Jean-Patrice (en préparation). Predation risk leads to limited body reserves decrease but not to higher energy expenditure in ducks.

**Article 6 :**

Zimmer Cédric, Boos Mathieu, Arrivé Mathilde, Petit Odile, and Robin Jean-Patrice (en préparation). Coping with repeated predation risk in ducks is paired with an immunoredistribution.

**Article 7 :**

Cédric Zimmer, Mathieu Boos, Frédéric Bertrand, Jean-Patrice Robin and Odile Petit (soumis). Optimal behavioral adjustment in response to increased predation risk: a study in three duck species.

**Article 8 :**

Boos Mathieu, Zimmer Cédric, Carrière Aurélie, Robin Jean-Patrice and Petit Odile (2007). Post-hatching parental care behaviour and hormonal status in precocial birds. *Behavioural Processes*. 76: 206-214.

Articles non inclus dans le cadre de la thèse :

Lihoreau Mathieu, Zimmer Cédric et Rivault Colette (2007). Kin recognition and incest avoidance in a group-living insect. *Behavioral Ecology*. 18: 880-887.

Lihoreau Mathieu, Zimmer Cédric et Rivault Colette (2008). Mutual mate choice: when it pays both sexes to avoid inbreeding. *PLOS One*. 3 (10).

Boos Mathieu, Auroy François, Liukkonen Tuija, Zimmer Cédric, Robin Jean-Patrice, Petit Odile (soumis). Brood desertion in ducks: the ecological significance of parental care for offspring survival.

Antoun Edwina, Momken Iman, Audrey Bergouignan, Zimmer Cédric, Sylvie Normand, Michel Desage, Laure Gabert, Blanc Stephane, Simon Chantal (en préparation). Effects of two-month training at current recommendation on the trafficking of dietary fat.

## COMMUNICATIONS

### Communications orales :

Zimmer C., Boos M., Robin J-P. and O. Petit (2010). Collective parental care in mallards: a crèching behaviour? Conférence annuelle de la Société Française pour l'Etude du Comportement Animal. Toulouse (France) 31 Mars-2 Avril. Acte du colloque : 35.

Zimmer C., Boos M., Robin J-P. and O. Petit (2009). Optimal behavioural adjustment to environmental pressure: an experimental study in mallards. 7<sup>th</sup> conference of the European Ornithologists' Union. Zurich (Suisse) 21-26 Août. Acte du colloque : 93.

Zimmer C., Boos M., Petit O. et Robin J-P. (2008). Wing loading adjustment in mallards (*Anas platyrhynchos*): a generalization of the mass starvation predation risk theory in large birds? XX<sup>th</sup> International Congress of Zoology. Paris (France) 26-29 Août. Acte du colloque.

Zimmer C., Boos M., Robin J-P. et Petit O. (2007). Comportement d'attention parentale post éclosion et état hormonal chez un oiseau nidifuge, le canard colvert. Conférence annuelle de la Société Française pour l'Etude du Comportement Animal. Paris (France). 18-20 Avril. Actes du Colloque : 50.

### Communications affichées :

Zimmer C., Boos M., Robin J-P. and O. Petit (2010). Behavioural adjustments in response to increased predation risk: an experimental study in the tufted duck. 25<sup>th</sup> International Ornithological Congress. Campos Do Jordao (Brésil) 22-28 Août. Acte du colloque.

Robin J-P., Boos M., Bedecarrats G., Petit O. and Zimmer C. (2010). Effects of an increase in predation risk on stress and reproduction in female mallards. 25<sup>th</sup> International Ornithological Congress. Campos Do Jordao (Brésil) 22-28 Août. Acte du colloque.

Robin J-P., Boos M., Petit O. and Zimmer C. (2009). Body mass and wing loading adjustments in disturbed common teals (*Anas crecca*): an experimental study. 7<sup>th</sup> conference of the European Ornithologists' Union. Zurich (Suisse) 21-26 Août. Acte du colloque : 137.

Zimmer C., Boos M., Robin J-P. et Petit O. (2008). Collective parental care in Mallard: a crèching strategy ?. 4<sup>th</sup> European Conference on Behavioral Biology. Dijon (Fance) 18-20 Juillet. Acte du colloque : 364.

Boos M., Zimmer C., Schricke V., Robin J-P et R. Groscolas (2007). Comparison of two non-invasive methods to estimate body lipids in ducks. XXVIII<sup>th</sup> Congress of the International Union of Game Biologists. Uppsala (Suède) 13-18 Août.

# SOMMAIRE

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION .....	1
1. Contexte général.....	2
1.1 Théories des traits d'histoire de vie.....	2
1.2 Notion de compromis.....	3
1.2.1 Les compromis physiologiques.....	3
1.2.2 Les compromis micro-évolutifs .....	5
1.2.3 Les compromis macro-évolutifs .....	6
1.2.4 Les oiseaux : un bon modèle pour l'étude des compromis .....	6
2. Le compromis entre le risque de prédation et le risque de jeûne.....	8
3. Compromis entre les risques de jeûne et de prédation : effets sur la biologie des oiseaux.....	11
3.1 Aspects énergétiques.....	11
3.1.1 Masse corporelle et réserves énergétiques .....	11
3.1.2 Masse corporelle et énergétique du vol .....	15
3.2 Aspects physiologiques .....	20
3.2.1 Effets sur le stress .....	20
3.2.1.1 La notion de stress .....	20
3.2.1.2 Réponse au stress.....	21
3.2.1.3 Stress chronique .....	24
3.2.2 Effets sur l'immunité.....	26
3.3 Aspects comportementaux .....	29
3.4 Effets sur la reproduction et la fitness.....	38
3.4.1 Effets sur les hormones de la reproduction .....	39
3.4.2 Effets sur le développement des gonades, la formation des œufs et leurs coûts énergétiques .....	42
3.4.3 Effets sur les soins aux jeunes et le succès reproducteur .....	44
4. Objectifs et modèles d'études .....	47
4.1 Objectifs .....	47
4.2 Choix des modèles d'études.....	49
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES.....	51
1. Animaux et conditions d'élevage .....	52
2. Méthodologie générale .....	53
2.1 Dérangement.....	53
2.2 Pesée, charge alaire et prélèvement de sang .....	54
2.3 Consommation alimentaire .....	55
2.4 Observations comportementales .....	56
2.5 Suivi de la reproduction .....	57
3. Analyse des échantillons.....	58
3.1 Hormones et facteurs immunitaires.....	58
3.2 Composition corporelle et dépense énergétique.....	60
3.2.1 Estimation de la composition corporelle par dilution isotopique.....	60
3.2.2 Estimation de la dépense énergétique.....	61
CHAPITRE 3 : EFFETS DE L'AUGMENTATION DU RISQUE DE PREDATION AU NIVEAU ENERGETIQUE.....	87
1. Ajustements de la masse corporelle et de la charge alaire.....	88
2. Effets sur la dépense énergétique et les réserves énergétiques .....	176

CHAPITRE 4 : EFFETS DE L'AUGMENTATION DU RISQUE DE PREDATION AU NIVEAU PHYSIOLOGIQUE .....	197
CHAPITRE 5 : EFFETS DE L'AUGMENTATION DU RISQUE DE PREDATION AU NIVEAU COMPORTEMENTAL .....	235
CHAPITRE 6 : EFFETS DE L'AUGMENTATION DU RISQUE DE PREDATION SUR LA REPRODUCTION.....	269
1. Effets sur les hormones de la reproduction.....	270
1.1 Effets sur les œstrogènes et la testostérone .....	271
1.1.1 Œstradiol.....	271
1.1.2 Testostérone.....	274
1.2 Effets sur la prolactine .....	276
2. Effets sur l'investissement dans la reproduction .....	279
2.1 Colverts.....	280
2.1.1 Date de ponte .....	281
2.1.2 Investissement dans les œufs.....	281
2.1.3 Elevage des jeunes .....	282
2.1.3.1 Caractérisation du comportement d'attention parentale .....	282
2.1.3.2 Effets de l'augmentation du risque de prédation sur le comportement d'attention parentale .....	293
2.2 Sarcelles.....	295
CHAPITRE 7 : DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....	297
1. Généralisation du compromis et effets des stratégies de gestions des réserves énergétiques.....	298
2. Approche intégrative du compromis .....	302
BIBLIOGRAPHIE .....	311



# CHAPITRE 1 : INTRODUCTION

---

""La Vie", ça n'existe pas, à moins de croire que c'est une sorte d'entité, comme une âme, qui vient habiter la matière et lui donner Vie, la rendre mobile, éventuellement sensible, etc. Je trouve symptomatique que, de la même façon que les scientifiques ne recherchent plus à mettre la main sur l'âme des choses, ils n'ont pas pour objet d'étude "la Vie", mais, par exemple, des processus biochimiques. De leur point de vue, qui est aussi le mien, "la Vie", ça n'existe tout bonnement pas !!! C'est un raccourci sémantique, support à mysticisme, mais c'est un concept dont il n'y a rien à faire. On ne peut en déduire ni généralités sur "la matière vivante", ni conséquences éthiques, ni métaphysique, ni rien du tout. Autant le jeter à la poubelle et passer à autre chose !"

Charles Darwin

## **1. CONTEXTE GENERAL**

### **1.1 Théories des traits d'histoire de vie**

Un organisme idéal de l'évolution, un 'démon de Darwin', va simultanément maximiser tous les aspects de sa reproduction. Cet organisme immortel commencerait à se reproduire dès sa naissance et transmettrait ses gènes aux générations futures tout au long de sa vie (Partridge et Harvey 1988). Cependant, la diversité des histoires de vie que l'on observe dans la nature serait incompréhensible si un tel organisme existait. Ainsi, la théorie des traits d'histoire de vie cherche à expliquer ces variations au niveau des caractéristiques de vie majeures des organismes et comment elles vont conduire à des changements de la fitness entre les individus (Stearns 1992, Roff 2002). Dans ce contexte, la fitness est définie comme la contribution attendue d'un allèle, génotype ou phénotype aux générations futures. La fitness est alors une notion relative, c'est-à-dire que la fitness d'un organisme particulier sera fonction de celle des autres organismes de la population. Elle va aussi dépendre de l'environnement dans lequel elle est mesurée (Stearns 1992). Il semble donc que la théorie des traits d'histoire de vie soit nécessaire à la compréhension de l'action de la sélection naturelle (Stearns 1992). Elle se base plus spécifiquement sur l'analyse des caractères ayant un lien direct avec la survie et la reproduction, tels que la vitesse de croissance, l'âge et la taille à maturité sexuelle, la durée de vie, le nombre de reproduction, le nombre de descendants produits, le taux de mortalité, etc. (Stearns 1992, 2000, Roff 2002). La variation de ces différents traits va se faire dans un but adaptatif. En effet, un phénotype va se modifier en réponse à un changement de l'environnement auquel il est fonctionnellement lié et ce changement va induire une amélioration d'un trait d'histoire de vie. Si ce changement n'entraîne pas d'amélioration d'un trait d'histoire de vie, il ne devrait pas apparaître (Stearns 1992). Néanmoins, cette adaptation des traits d'histoire de vie va être limitée par des contraintes génétiques, physiologiques, chimiques, biomécaniques, comportementales ou écologiques. Ainsi, les organismes vont avoir une norme de réaction qui correspond aux limites de variations des différents traits imposées par ces contraintes (Stearns 2000). Cette théorie est donc basée sur des modèles d'optimisation. Ainsi, les variations entre les traits d'histoire de vie des espèces sont

communément vues comme ayant une base génétique et reflétant l'optimisation des phénotypes en accord avec leur environnement afin de maximiser leur fitness (Stearns 2000, Ricklefs et Wikelski 2002).

## **1.2 Notion de compromis**

Ces différences dans les traits d'histoire de vie entre populations sont dues à l'existence de compromis, un sujet central dans les études sur la théorie des traits d'histoire de vie (Roff 1992, Stearns 1992). En effet, comme nous venons de le voir, différentes contraintes empêchent les organismes de maximiser tous leurs traits d'histoires de vie à la fois. Par conséquent, un organisme pourra favoriser certains traits uniquement aux dépens d'autres. Le terme compromis est alors souvent utilisé pour caractériser presque exclusivement les relations négatives entre deux traits (Stearns 1992). C'est dans ce cadre que Stearns (1992) a défini trois types de compromis : les compromis physiologiques, les compromis micro-évolutifs et les compromis macro-évolutifs.

### *1.2.1 Les compromis physiologiques*

Les compromis physiologiques relèvent d'une compétition directe entre deux traits ou plus pour l'allocation d'une quantité limitée d'énergie, de temps ou de toute autre ressource chez un même individu. Dans ce cas, l'augmentation des ressources allouées à un trait va entraîner une diminution des ressources allouées à un autre trait (Stearns 1989, 1992, Zera et Harshman 2001). Cette allocation différentielle des ressources correspond au principe d'allocation des ressources développé par Levins (1968) et au modèle d'acquisition et d'allocation des ressources de Van Noordwijk et de Jong (1986) (Figure 1).

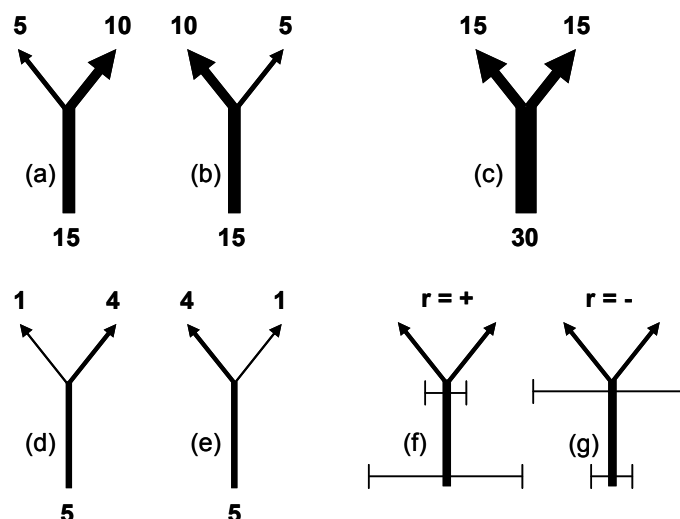


Figure 1 : Représentation schématique de compromis physiologiques. Chaque schéma d'allocation en Y illustre la quantité d'énergie apportée (valeur à la base) et la façon dont cette énergie est allouée entre deux traits (valeur à l'extrémité des flèches) pour un phénotype (ou génotype) particulier. Les schémas (a) et (b) représentent un compromis standard d'allocation différentielle d'une quantité limitée d'énergie, 15 unités dans ce cas. Le schéma (c) illustre l'effet masquant d'une augmentation de l'apport de la ressource sur un compromis car il ya assez d'énergie pour palier au coût des deux traits. Les schémas (d) et (e) montrent l'effet aggravant d'une diminution de l'apport en énergie sur un compromis. La comparaison entre les schémas (a), (b) et (d), (e) permet de mettre en évidence la plasticité des compromis basés sur l'apport d'énergie. Les schémas (f) et (g) représentent l'influence de la variation relative d'acquisition d'énergie (longueur de la ligne à la base du schéma) et de la variation relative de l'allocation de cette énergie (longueur de la ligne au niveau des flèches) sur le sens de la corrélation entre deux traits impliqués dans un compromis. D'après Zera et Harshman (2001).

Ces compromis entre traits physiologiques peuvent se produire entre des traits exprimés durant la même période ou des périodes différentes du cycle de vie (Zera *et al.* 1998, Stevens *et al.* 1999). Il a aussi été montré qu'il peut y avoir des corrélations positives entre deux traits qui sont liés par un compromis physiologique (Van Noordwijk et de Jong 1986). Le fait que la corrélation phénotypique entre deux traits soit positive ou négative va dépendre de la variation relative de l'acquisition de la ressource et de son allocation différentielle entre les traits chez différents organismes (Van Noordwijk et de Jong 1986, de Jong et Van Noordwijk 1992) (Figure 1). De plus, certains facteurs peuvent dissimuler l'existence d'un compromis entre deux traits, le principal étant la variation de la quantité de nourriture disponible. En effet, une limitation de la quantité de nourriture peut être nécessaire pour faire apparaître certains compromis ou va augmenter

l'allocation différentielle entre deux traits en favorisant celui qui est prioritaire (Stearns 1992) (Figure 1). Au contraire, une augmentation de la disponibilité alimentaire va pouvoir masquer certains compromis car il va y avoir assez d'énergie pour assurer le coût physiologique simultané des deux traits (Zera et Harshman 2001) (Figure 1). Par conséquent, en fonction de la disponibilité nutritionnelle un compromis pourra être important ou insignifiant. Ainsi, il existe une plasticité de la réponse à un compromis qui va être déterminée par des règles de priorité qui contrôlent l'allocation relative aux différents traits d'un organisme en fonction de l'apport en ressources. En outre, ces règles de priorité sont déterminées par les facteurs écologiques (Zera et Harshman 2001). Les compromis physiologiques les plus étudiés sont pour la plupart liés au coût de la reproduction comme la différence d'investissement des ressources entre la survie et la reproduction ou encore entre la reproduction présente et les reproductions futures au niveau intra-individuel.

### *1.2.2 Les compromis micro-évolutifs*

Les compromis micro-évolutifs sont plus larges que les compromis physiologiques qu'ils incluent. Les compromis micro-évolutifs se produisent dans des populations sous sélection lorsque la modification d'un trait qui augmente la fitness est liée à un changement dans un autre trait qui diminue la fitness (Stearns 1992). Ces compromis sont donc définis par la réponse des populations à la sélection. Pratiquement tous les compromis micro-évolutifs impliquent des compromis physiologiques mais ces derniers peuvent exister dans une population qui n'est soumise à aucun compromis micro-évolutif (Stearns 1992). Ainsi, c'est la variation génétique qui est présente au niveau des compromis physiologiques qui va entraîner une sélection sur la population (Stearns 1992). Cette définition implique qu'il faut pouvoir montrer qu'il y a une réponse à la sélection afin de pouvoir classer un compromis comme micro-évolutif.

Comme les compromis physiologiques, les compromis micro-évolutifs s'intéressent principalement aux coûts de la reproduction. Ces principaux compromis étudiés sont :

- le compromis entre la reproduction en cours et la survie des parents,

- le compromis entre la reproduction en cours et la possibilité de se reproduire ultérieurement,
- le compromis entre la reproduction en cours et la croissance des parents,
- le compromis entre la reproduction en cours et la condition des parents,
- le compromis entre le nombre de jeunes et leur taille (Stearns 1989, 1992).

### *1.2.3 Les compromis macro-évolutifs*

Les compromis macro-évolutifs impliquent des analyses comparatives de la variation des traits entre des groupes phylogénétiquement indépendants. Ces compromis permettent d'identifier les conditions communes à des clades en comparant les compromis physiologiques et/ou micro-évolutifs présents dans ces lignées. Les compromis macro-évolutifs permettent aussi de déterminer quels compromis physiologiques et micro-évolutifs vont être intéressants à étudier plus précisément. (Stearns 1992).

Nous venons de voir qu'il existe différents compromis en fonction du niveau d'analyse auquel on se place. Dans le cadre de mes travaux de thèse, je m'intéresserai à des caractères physiologiques et phénotypiques ainsi qu'à l'effet de la variation de ces caractères sur la capacité de survie et la reproduction des individus. Ainsi nous nous plaçons dans un contexte expérimental où, un compromis correspondra à un coût physiologique ou au niveau de la fitness quand un changement sera bénéfique pour un trait donné, il sera lié à un changement désavantageux dans un autre.

### *1.2.4 Les oiseaux : un bon modèle pour l'étude des compromis*

Les oiseaux semblent être un modèle approprié pour l'étude des compromis entre différents traits d'histoire de vie (Ricklefs et Wikelski 2002). Tout d'abord, les études menées par les ornithologues Lack, Skutch et Moreau sont à l'origine de la pensée moderne sur la théorie des traits d'histoire de vie (Ricklefs 2000, Ricklefs et Wikelski 2002). En effet, ces auteurs sont les premiers à avoir mis en

évidence scientifiquement qu'il y avait des différences dans les traits d'histoire de vie en s'intéressant plus particulièrement à la taille des couvées en fonction de l'environnement. Dès 1947, Lack a notamment proposé d'interpréter la taille de la couvée dans un contexte de sélection naturelle et de fitness individuelle. Son idée principale est que les réponses évolutives à la sélection naturelle maximisent la fitness individuelle (Ricklefs 2000). De plus, les variations de traits d'histoire de vie dans différents environnements sont assez bien documentées chez les oiseaux (Ricklefs et Wikelski 2002) qui notamment de part leur mode de vie, leur mode de reproduction et leur taille relativement importante se prêtent d'ailleurs bien à la manipulation expérimentale de ces traits (Norris et Evans 2000, Cresswell 2008).

Comme nous le montrent les travaux actuels, la grande majorité des études, portant sur la variation des traits d'histoire de vie chez les oiseaux se sont intéressées aux coûts de la reproduction (Witter et Cuthill 1993). Les principaux compromis étudiés sont ceux entre l'âge et la taille à maturité sexuelle, entre la durée de vie et le nombre de reproduction, entre la reproduction en cours et la survie et entre la reproduction en cours et la possibilité de reproduction future. Au contraire, les travaux concernant les compromis qui impliquent deux traits liés à la survie et donc n'impliquant pas directement un coût reproductif sont moins nombreux. Afin de pouvoir se reproduire, les individus doivent atteindre la maturité sexuelle et survivre entre deux épisodes de reproduction (Lind et Cresswell 2006). Ainsi, les variations des traits d'histoire de vie qui vont permettre d'assurer cette survie en dehors de la période de reproduction ainsi que les compromis qui existent entre eux vont également être importants pour la fitness (Rogers et Smith 1993). De plus, différents facteurs comme la disponibilité alimentaire, la condition corporelle ou le risque de prédation vont imposer des limites à la variation des traits d'histoire de vie à cause de contraintes liées à ces facteurs (Ricklefs et Wikelski 2002). En effet, il semble que l'énergétique et la prédation soient des facteurs majeurs qui influencent les traits d'histoire de vie chez les oiseaux (Lima et Dill 1990, McNab 1997, Zera et Harshman 2001). Par conséquent, un compromis important dans la théorie des traits d'histoire de vie est celui entre la recherche alimentaire et l'évitement de la prédation (Van der Veen et Sivars 2000, MacLeod *et al.* 2007a).

## 2. LE COMPROMIS ENTRE LE RISQUE DE PREDATION ET LE RISQUE DE JEUNE

Au cours de l'hiver, les oiseaux vont devoir faire face à deux risques majeurs de mortalité. Le premier est le jeûne, total ou partiel, qui peut être causé par la diminution des opportunités de recherche alimentaire en raison de la réduction de la durée du jour ou de mauvaises conditions climatiques. La conséquence est un déséquilibre énergétique obligeant les oiseaux à puiser dans leurs réserves énergétiques (Blem 1990, Cresswell 1998). Le second est la prédation qui survient notamment lorsqu'un individu va prendre plus de risques pendant qu'il s'alimente (Lima et Dill 1990, Houston *et al.* 1993).

Un moyen, chez les oiseaux en particulier et chez les animaux en général, de limiter le risque et/ou d'endurer le jeûne est d'augmenter les réserves énergétiques (Blem 1990, Brodin 2001). En effet, la capacité à jeûner va dépendre directement de la quantité relative des réserves lipidiques (Blem 1990, Cherel et Groscolas 1999, Boos *et al.* 2005). Par conséquent, lorsque le risque de jeûne devient très important, la masse corporelle optimale devrait être celle à laquelle correspond la masse adipeuse la plus élevée possible. Cependant, il a été clairement montré chez différentes espèces que le niveau de réserves corporelles accumulées ne correspond pas au niveau physiologique maximum. Il semble donc qu'il y ait un coût en terme de fitness associé à la maintenance de réserves énergétiques importantes et d'une masse corporelle élevée (Lima 1986, Witter et Cuthill 1993). Il a été mis en évidence que ce coût est principalement lié à la prédation. En effet, il a été proposé que le risque de prédation soit masse-dépendant c'est-à-dire que l'augmentation des réserves énergétiques accroît la mortalité par les prédateurs. Il apparaît ainsi que le niveau de stockage des réserves obéit à un compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation (*starvation-predation risk trade-off*) (Lima 1986, McNamara et Houston 1990, Houston et McNamara 1993, Witter et Cuthill 1993, Witter *et al.* 1994). Ce compromis est un des fondements de la théorie des traits d'histoires de vie et est un défi clé pour les oiseaux puisqu'il influence la fitness (Houston *et al.* 1993, Van der Veen et Sivars 2000, MacLeod 2006, MacLeod et Gosler 2006, MacLeod *et al.* 2007a).



Puisque chez les oiseaux le risque de prédation va dépendre de la quantité de réserves corporelles transportées, il est à prévoir que la probabilité d'être tué par un prédateur diminue si la masse corporelle est ajustée aussi bas que possible afin d'améliorer les capacités de fuite (Lima 1986, Houston *et al.* 1993, Witter et Cuthill 1993). Néanmoins, afin d'éviter les effets délétères du jeûne notamment pendant les périodes de faible disponibilité alimentaire, les animaux doivent également stocker ou conserver un minimum de réserves énergétiques (Witter et Cuthill 1993). Théoriquement, les individus doivent pouvoir minimiser à la fois leur risque de mortalité lié à la prédation et au jeûne en optimisant leur niveau de réserves énergétiques et leur masse corporelle (Houston *et al.* 1993, Bednekoff et Houston 1994a). Avec une telle stratégie, un individu devrait accumuler une quantité importante de réserves corporelles lorsque le risque de jeûne est important et diminuer ses réserves lorsque le risque de prédation augmente (Lima 1986, Bednekoff et Houston 1994a). En conséquence, la masse corporelle d'un individu à un moment donné devrait refléter le niveau relatif des risques de prédation et de jeûne dans son environnement, on peut alors la considérer comme un indice phénotypique essentiel de ce compromis (Cresswell 1998, 2003, MacLeod et Gosler 2006). Chez les passereaux, il y a actuellement de nombreuses preuves qui montrent que les individus gèrent leur masse corporelle et leurs réserves énergétiques en accord avec l'hypothèse du risque de prédation masse-dépendant (Gosler *et al.* 1995, Adriaensen *et al.* 1998, Cresswell 1998, Van der Veen et Sivars 2000, Gentle et Gosler 2001, Kullberg *et al.* 2005, MacLeod *et al.* 2005a, MacLeod *et al.* 2005b). Il a ainsi été montré chez la mésange charbonnière (*Parus major*) sauvage que la masse corporelle moyenne des individus diminue les années où l'épervier (*Accipiter nisus*), leur prédateur principal, est présent et qu'elle augmente les années où il est absent (Gosler *et al.* 1995). De plus, des études expérimentales ont montré que lorsque la vulnérabilité à la prédation augmente ou quand les oiseaux sont poursuivis, ou même lorsqu'une forme de prédateur est présentée (perception du risque), les individus diminuent leur masse corporelle principalement en réduisant leur consommation alimentaire (Lilliendahl 1997, Carrascal et Polo 1999, Gentle et Gosler 2001). A l'inverse, il a été montré dans certaines études que les individus pouvaient augmenter à court

terme leur masse corporelle en réponse à la présence de prédateurs (Fransson et Weber 1997, Lilliendahl 1998, Pravosudov et Grubb 1998). Dans ce cas, le prédateur n'est pas forcément perçu comme une menace pour la survie immédiate mais comme un facteur d'interruption de la recherche alimentaire. En réponse, les individus augmentent leurs réserves énergétiques car à la présence du prédateur est associée l'incertitude de trouver de la nourriture (Houston et McNamara 1993, McNamara *et al.* 1994, MacLeod *et al.* 2007b).

En fait, il semble que la façon dont la masse corporelle va varier en réponse au risque de prédation va dépendre de deux facteurs qui vont être liés à la perception de ce risque et des contraintes liées à la disponibilité alimentaire. En premier lieu, il a été montré théoriquement et empiriquement qu'une rencontre avec un prédateur va pouvoir entraîner une diminution des réserves énergétiques mais elle pourra aussi conduire à une augmentation de ces réserves en agissant comme une interruption de la recherche alimentaire (Rands et Cuthill 2001, McNamara *et al.* 2005). Le sens de la réponse va dépendre de la façon dont la rencontre avec un prédateur est perçue. Si les risques sont uniquement présents lorsque le prédateur est directement visible, il devrait y avoir une augmentation de la recherche alimentaire après son départ. A l'inverse, si le prédateur représente un danger quand il se trouve à proximité mais hors du champ de vision, un prédateur territorial par exemple, la recherche alimentaire devrait diminuer après la disparition de ce dernier (McNamara *et al.* 2005). En second lieu, la direction de la réponse va aussi dépendre de la qualité de l'environnement. Dans un environnement pauvre et/ou imprévisible, les oiseaux n'auront pas d'autre choix que de rechercher de la nourriture même durant les périodes où le risque de prédation est élevé. Dans ce cas, les individus devront réduire leur masse corporelle pour réduire ce risque de prédation (MacLeod *et al.* 2007b, Cresswell *et al.* 2009), ce qui correspond à une réponse observée dans le contexte du risque de prédation masse-dépendant (Lima 1986, Houston *et al.* 1993, Witter et Cuthill 1993). En revanche, dans un environnement favorable et prévisible, les oiseaux vont pouvoir diminuer le risque de prédation en évitant de rechercher de la nourriture sur des sites ou à des moments où ce risque est important. Il va en résulter des contraintes au niveau des opportunités d'alimentation et par conséquent cela va augmenter le

risque de jeûne. Les individus vont donc devoir augmenter leurs réserves énergétiques, ce qui correspond à une réponse observée dans le contexte d'une interruption de la recherche alimentaire (Houston et McNamara 1993, Lilliendahl 1998, Pravosudov et Grubb 1998, McNamara *et al.* 2005). Cependant, cette réponse ne sera possible que si l'environnement est assez riche pour permettre aux individus de couvrir leurs besoins énergétiques durant les périodes où le risque de prédation est faible (MacLeod *et al.* 2007b). Par conséquent, dans un environnement riche en nourriture, les oiseaux devraient répondre à une augmentation du risque de prédation en augmentant leur masse corporelle et dans un environnement pauvre en ressources alimentaires en diminuant cette dernière. Ainsi, la direction des variations de la masse corporelle peut être utilisée comme un indice de l'état démographique relatif des populations et/ou de la qualité relative alimentaire de leur environnement, comme cela a été démontré chez les passereaux (MacLeod *et al.* 2007b, Cresswell *et al.* 2009).

### **3. COMPROMIS ENTRE LES RISQUES DE JEUNE ET DE PREDATION : EFFETS SUR LA BIOLOGIE DES OISEAUX**

#### **3.1 Aspects énergétiques**

Ce compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation a été développé à l'origine pour expliquer le fait que durant l'hiver les petits oiseaux ne transportent pas un niveau de réserves énergétiques aussi important que celui auquel l'on pourrait s'attendre dans la perspective de minimiser le risque de jeûne (Lima 1986). Ainsi, beaucoup d'études se sont focalisées sur la régulation de la masse corporelle et des réserves énergétiques en fonction de ces deux risques. Par conséquent, ces aspects énergétiques sont ceux qui ont été majoritairement étudiés dans le cadre de ce compromis.

##### *3.1.1 Masse corporelle et réserves énergétiques*

Il a été observé depuis longtemps que la masse corporelle des oiseaux varie au cours de l'année. C'est particulièrement le cas chez certaines espèces de l'hémisphère nord qui présentent des

variations temporelles et géographiques marquées durant l'hiver (Lima 1986, Bednekoff et Houston 1994b). En général, les individus des populations situées les plus au nord pour une espèce donnée ont tendance à être plus lourds. De plus, la masse corporelle pour des individus situés à une même latitude atteint un pic au milieu de l'hiver lorsque les températures sont les plus froides. Ce changement saisonnier de la masse corporelle est principalement dû à une accumulation de réserves lipidiques en partie régulée de manière endogène via la photopériode (Blem 1976, Reinecke *et al.* 1982, Whyte et Bolen 1988, Haftorn 1989, Blem 1990, Loesch *et al.* 1992, Witter et Cuthill 1993). Ces variations temporelles et spatiales du stockage de réserves lipidiques sont en accord avec l'hypothèse que les oiseaux régulent leurs réserves énergétiques de façon active et adaptative en fonction de leurs besoins (Houston et McNamara 1993, Witter et Cuthill 1993). Parallèlement à cette régulation saisonnière de la masse corporelle, une régulation journalière a également été mise en évidence (Cresswell 1998). Ces deux types de régulation vont être plus ou moins importants en fonction de la taille des espèces. Les variations saisonnières sont plus marquées chez les espèces de grande taille car la capacité à stocker des réserves lipidiques augmente de façon isométrique avec la taille (Blem 1990). En revanche, les variations journalières ont plus d'amplitude chez les espèces de petite taille car la dépense énergétique spécifique augmente inversement à la taille (rapport surface sur volume varie selon une fonction  $1/m$ ) (Schmidt-Nielsen 1983). En fait, les espèces de petite taille vont stocker durant le jour des lipides qui vont être utilisés au cours de la nuit suivante et qui permettront une survie maximale de deux jours (Haftorn 1989, Brodin 2007). En revanche, les espèces de plus grande taille vont stocker une quantité plus importante de réserves ce qui leur permet de survivre à une indisponibilité de nourriture sur une plus longue période (Blem 1990, Cherel et Groscolas 1999, Wang *et al.* 2006). Dans les deux cas, le niveau optimal de réserves lipidiques va aussi dépendre de facteurs environnementaux proximaux comme la température ou la disponibilité alimentaire (Lima 1986, McNamara et Houston 1990).

Les bénéfices de ce stockage de réserves lipidiques sont bien connus (Blem 1976, Pond 1978, Blem 1990, Witter et Cuthill 1993). Parmi ces bénéfices supposés, le premier est l'isolation

du corps. Cette hypothèse suppose que la graisse sous-cutanée, le tissu adipeux majeur, joue un rôle dans la régulation thermique corporelle (Pond 1978). Le second bénéfice supposé est qu'elles auraient un rôle de support mécanique et de protection des organes (Pond 1978). En outre, les réserves lipidiques peuvent aussi être des signaux sexuels et sociaux (Pond 1978). Par exemple, le dindon sauvage mâle adulte (*Melagris gallopavo*), développe une couche de graisse importante au niveau des pectoraux qui peut représenter 10 % de la masse totale d'un individu mais uniquement au cours de la saison de reproduction (Pelham et Dickson 1992). Chez la carouge à épaulette (*Agelius phoeniceus*), le cou et la partie antérieure de la région pectorale deviennent plus gros aux dépens des autres stocks de lipides durant la période de formation des couples et de défense du territoire (Brenner 1967). Cependant, le bénéfice le plus largement reconnu du stockage de réserves lipidiques chez les oiseaux est l'énergie qui va être libérée quand ces réserves seront métabolisées. Bien que les oiseaux puissent utiliser des réserves énergétiques internes comme les glucides et les protéines ou des réserves externes en cachant de la nourriture (Blem 1990), les réserves lipidiques sont la principale source de réserves énergétiques chez la plupart des oiseaux (Grimminger 1976). Le glycogène et les protéines s'accompagnent d'un stockage d'eau (1g de protéine est lié à 3 g d'eau) alors que le stockage des lipides est associé à très peu d'eau. Par conséquent, les lipides représentent le mode de stockage d'énergie le plus avantageux puisqu'un gramme de tissu adipeux fournit 8 à 10 fois plus d'énergie qu'un gramme de tissu musculaire ou du foie (Robin 1989). La quantité de graisse stockée peut être très importante et représenter jusqu'à 100 % de la masse maigre et ainsi donner un surplus d'énergie pour d'assez longues périodes de jeûne ou selon les espèces, pour des activités comme la ponte des œufs ou la migration (Blem 1976). La plupart des espèces d'oiseaux utilisent principalement le vol battu comme moyen de locomotion qui est le mode de déplacement qui demande la plus grande dépense d'énergie par unité de temps (Norberg 1996). Ainsi, les réserves lipidiques peuvent assurer ces demandes importantes d'énergie lors d'efforts physiques et longs, comme lors d'un vol migratoire, après que le glucose et le glycogène, substrats principalement utilisés lors de vols intenses et courts, aient été épuisés ou lorsque les ressources environnementales sont limitées et ne permettent de

garantir ces besoins (Witter et Cuthill 1993). Dans le cadre du compromis entre les risques de jeûne et de prédation, les réserves adipeuses vont avoir un rôle majeur pour permettre aux oiseaux de résister aux périodes de jeûne. En effet, durant la phase d'épargne protéique, généralement la plus longue, la majeure partie de la dépense énergétique est assurée par le métabolisme des lipides ce qui permet d'épargner les protéines (Cherel et Groscolas 1999). Ainsi, le risque de jeûne diminuerait de façon exponentielle avec l'augmentation des réserves lipidiques (McNamara et Houston 1990). Les espèces d'oiseaux de grande taille qui peuvent transporter relativement plus de réserves énergétiques, ont en fait une autonomie au jeûne prolongé plus grande que les espèces de petite taille qui stockent moins de réserves corporelles.

Le stockage de réserves lipidiques a des bénéfices évidents. Cependant, comme nous l'avons déjà évoqué précédemment, les oiseaux maintiennent un niveau de réserves énergétiques stable en dessous du maximum possible, ce qui suggère que la quantité de lipides accumulés est déterminée en fonction d'un rapport coût-bénéfice lié au stockage de ces réserves lipidiques (Witter et Cuthill 1993). En résumé, stocker des réserves de graisse à un niveau supérieur que celui nécessaire pour répondre aux besoins actuels ou attendus va entraîner des coûts pour la survie. Tout d'abord, une augmentation des réserves énergétiques aura un certain nombre de conséquences sur le métabolisme (Witter et Cuthill 1993), en augmentant, par exemple, le métabolisme de repos en réponse à une augmentation des coûts de maintenance (Brodin 2001). Cette augmentation du métabolisme de base ne dépendrait pas directement de l'augmentation des réserves lipidiques qui sont métaboliquement inertes mais plutôt du gain de tissus ou d'organes métaboliquement actifs (muscles, organes digestifs) liés à l'augmentation de ces réserves graisseuses (Brodin 2001). De plus, une augmentation des réserves énergétiques va entraîner une augmentation de la masse corporelle qui aura pour effet une accentuation du métabolisme journalier (Houston et McNamara 1993, Houston *et al.* 1993, Witter et Cuthill 1993, Brodin 2007). En effet, les modèles théoriques et les données empiriques suggèrent que le métabolisme durant le vol battu augmente avec la masse corporelle (Pennycuick 1989, 2008, Norberg 1996, Videler 2005). Par ailleurs, la dépense énergétique d'un individu au cours de la recherche alimentaire

augmente avec l'augmentation de sa masse corporelle (McNamara et Houston 1990, Houston et McNamara 1993). Pour compenser ces coûts liés à une augmentation de la masse corporelle, les oiseaux vont devoir augmenter leur consommation alimentaire en augmentant leur recherche alimentaire soit en l'intensifiant (ou en accentuant leur vitesse d'ingestion), soit en s'alimentant sur une période plus longue ou en changeant de site d'alimentation (Houston et McNamara 1993, Witter et Cuthill 1993). Cependant, ces différentes stratégies permettant d'augmenter la prise alimentaire vont pouvoir potentiellement augmenter le risque de prédation (e.g. Lima 1986, Gilliam et Fraser 1987, McNamara et Houston 1990, Houston et McNamara 1993). En effet, si l'activité de recherche alimentaire est associée à un risque de prédation élevé, augmenter l'intensité de recherche alimentaire va davantage exposer l'individu au risque d'être capturé par un prédateur et cette augmentation se fera aux dépens du temps alloué à d'autres activités (Witter et Cuthill 1993). Enfin, une augmentation de la masse corporelle va pouvoir diminuer les capacités de fuite face à un prédateur et ainsi augmenter la probabilité d'être capturé et tué (Blem 1975, Witter et Cuthill 1993). En effet, une masse corporelle élevée peut diminuer les capacités de décollage et les performances de vol (vitesse et angle) qui sont des facteurs déterminants pour échapper aux prédateurs lors d'une attaque (Lima 1993, Witter et Cuthill 1993, Witter *et al.* 1994).

Nous avons vu que les réserves énergétiques sont un tampon particulièrement important contre le risque de jeûne. En revanche, l'augmentation de la masse corporelle liée au stockage de ces réserves entraîne à contrario des coûts importants en termes de survie immédiate. Par conséquent, la masse corporelle (ou le niveau des réserves énergétiques) d'un individu peut être perçu comme le résultat phénotypique du compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation.

### *3.1.2 Masse corporelle et énergétique du vol*

La masse corporelle est un élément clé conditionnant les performances de vol et l'effet de sa variation sur la mécanique du vol a beaucoup été étudié notamment au niveau théorique (e.g. Pennycuik 1975, 1989, 2008, Hedenstrom 1992, Hedenstrom et Alerstam 1992, Norberg 1996,

Videler 2005). Globalement, les capacités de vol des oiseaux sont déterminées par la différence entre la puissance maximale qui peut être fournie par les muscles impliqués dans le vol ( $P_a$ , *Power available*), principalement les pectoraux, et la puissance requise pour pouvoir voler à une vitesse stable ( $P_r$ , *Power required*) (Hedenstrom et Alerstam 1992). La marge de puissance (*Power margin*) qui correspond au ratio entre cette puissance disponible pour le vol provenant des pectoraux et la puissance requise pour voler à la vitesse nécessitant le moins de puissance ( $P_a/P_r$ ) va diminuer avec l'augmentation de la masse corporelle (Pennycuick 1975). Cette diminution résulte du fait que la  $P_a$  augmente moins rapidement que la  $P_r$  lorsque la masse corporelle augmente (Pennycuick 2008) (Figure 2).

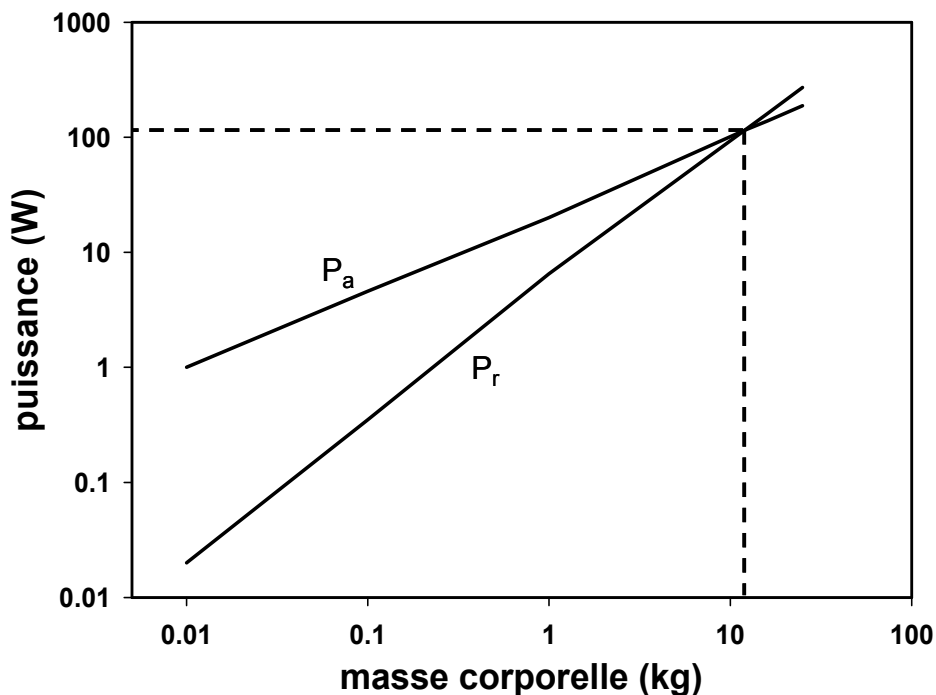


Figure 2 : Evolution de la puissance disponible provenant des pectoraux pour le vol ( $P_a$ ) en watts et de la puissance requise pour voler à la vitesse demandant la puissance minimale ( $P_r$ ) en watts en fonction de la masse corporelle en kilogrammes. Il apparaît que la limite de masse corporelle pour le vol horizontal est environ 16 kg avec une puissance de 115 W. D'après Norberg 1996 et Pennycuick 2008.

Un oiseau avec une marge de puissance de 0, soit avec une masse corporelle d'environ 16 kg, peut produire la quantité exacte de puissance requise pour voler horizontalement à la vitesse nécessitant le moins de puissance (Norberg 1996) (Figure 3). Une valeur de logarithme de la



marge de puissance de +1 signifie qu'un individu produit dix fois plus de puissance que nécessaire pour voler horizontalement. Ainsi, pour un oiseau de 1 kg la marge de puissance est de 0,55, pour un oiseau de 100 g elle est de 1,01, et pour un oiseau de 10 g elle est de 1,55. Ainsi, un oiseau de 10 g a dix fois plus d'énergie disponible pour le vol qu'un oiseau d'1 kg (Norberg 1996) (Figure 3). Par conséquent, plus un oiseau est petit plus il lui sera facile de trouver la puissance requise pour voler horizontalement (Norberg 1996). De manière générale, un oiseau avec une marge de puissance élevée aura plus d'énergie que nécessaire pour voler horizontalement et il pourra utiliser cette énergie pour s'élever ou pour voler à des vitesses qui demandent plus de puissance (Pennycuik 2008).

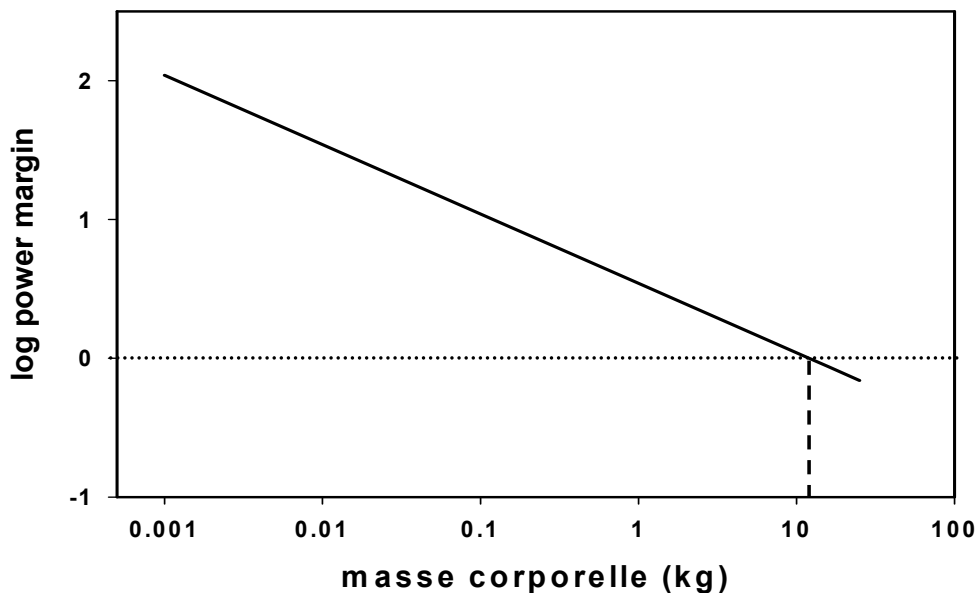


Figure 3 : Logarithme de la marge de puissance en fonction de la masse corporelle des oiseaux en kilogrammes. Une valeur du logarithme de la marge de puissance de 0 indique qu'un individu de cette masse, environ 16 kg, produit exactement la puissance permettant de voler horizontalement à la vitesse nécessitant la puissance minimale. D'après Norberg 1996.

Par ailleurs, les variations de masse corporelle vont modifier la charge alaire qui est un facteur déterminant des performances et du coût mécanique du vol (Norberg 1996). Elle correspond au ratio entre la masse corporelle et la surface des ailes ( $\text{g.cm}^{-2}$ ). Cette charge alaire est un meilleur indice pour prédire la vitesse de vol que la masse corporelle seule (Alerstam *et al.* 2007). Ainsi, les oiseaux avec une charge alaire faible peuvent voler à des vitesses plus faibles et

inversement. La charge alaire affecte également les possibilités de manœuvrabilité des oiseaux car la capacité des individus à prendre des virages serrés va dépendre de la portance produite par les ailes et donc de la charge alaire (Norberg 1996). La charge alaire détermine aussi la capacité d'accélération des oiseaux. Cette dernière diminue avec l'augmentation de la masse corporelle et donc de la charge alaire (Hedenstrom 1992).

Dans le contexte du compromis entre les risques de jeûne et de prédation, une augmentation de la masse corporelle et donc de la charge alaire qui lui est associée va avoir pour conséquence d'augmenter le risque de prédation en détériorant les capacités de fuite des oiseaux (Lind *et al.* sous presse). Cette diminution des capacités de fuite face à un prédateur peut être due à deux raisons : une diminution des performances au décollage et/ou une diminution de la manœuvrabilité durant le vol (Witter et Cuthill 1993). S'agissant des performances au décollage, il semble qu'une augmentation de la charge alaire ait un effet négatif sur l'angle de décollage et la vitesse au décollage (Witter et Cuthill 1993, Witter *et al.* 1994). Il a été montré chez l'étourneau (*Sturnus vulgaris*) que l'ajout d'une charge artificielle diminue l'angle de décollage (Witter *et al.* 1994). De plus, il a été démontré que l'augmentation de la masse corporelle avant la migration ou durant la reproduction affecte négativement l'angle (Kullberg *et al.* 1996, Lee *et al.* 1996, Lind *et al.* 1999) et la vitesse au décollage (Kullberg *et al.* 1996, Kullberg *et al.* 2000, Veasey *et al.* 2001, Burns et Ydenberg 2002, Kullberg *et al.* 2002b). Kullberg *et al.* (1996) ont montré qu'une augmentation des réserves lipidiques de 60 % avant la migration diminue l'angle d'ascension de 32 % et la vitesse de 17 % chez la fauvette à tête noire (*Sylvia atricapilla*). Cependant, il semble que chez les oiseaux de petite taille (passereaux), ces effets sur les performances de décollage ne puissent être mis en évidence qu'en cas de variation importante de la masse corporelle. En effet, il a été montré que les variations journalières de la masse corporelle, comprises entre 5 et 10 % (Cresswell 1998, Kullberg 1998, Kullberg *et al.* 1998, Van der Veen et Lindstrom 2000) chez ces espèces ne s'accompagne pas d'une diminution de l'angle et/ou de la vitesse au décollage (Kullberg 1998, Kullberg *et al.* 1998, Van der Veen et Lindstrom 2000, Veasey *et al.* 2000, Krams 2002, Macleod

2006, Lind *et al.* sous presse). Les effets d'une augmentation de la masse corporelle sur les capacités de décollage chez ces espèces sont résumés dans la Figure 4.

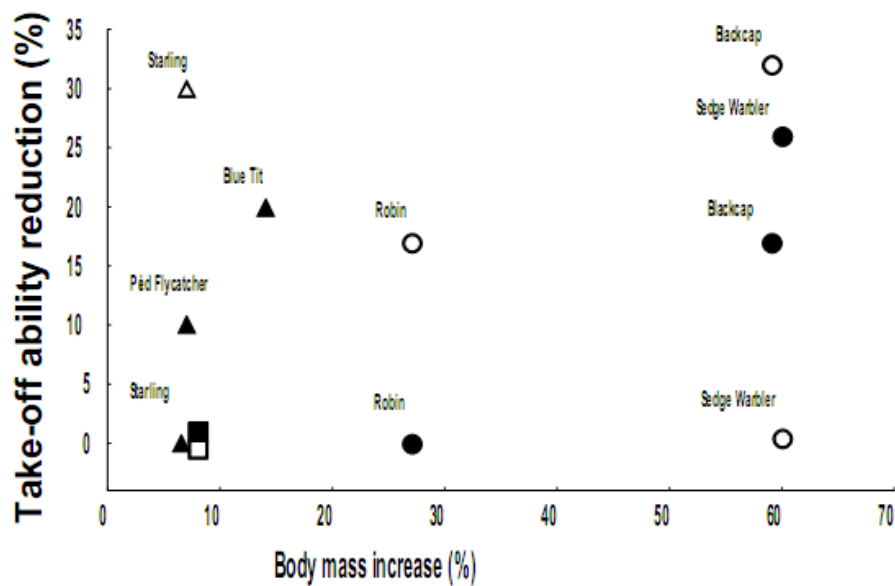


Figure 4 : Détérioration des capacités de décollage (%) en fonction de l'augmentation naturelle de la masse corporelle (%) due à la reproduction, à l'augmentation journalière de la masse corporelle et à l'engraissement pré-migratoire. Les symboles noirs représentent l'effet sur la vitesse de décollage et les symboles blancs représentent l'effet sur l'angle au décollage. Les triangles correspondent aux effets durant la reproduction, les carrés à ceux liés à l'augmentation journalière de la masse corporelle et les cercles à ceux de l'engraissement pré-migratoire. Les symboles pour l'augmentation journalière de la masse corporelle représentent six espèces sédentaires dans lesquelles aucun effet n'a été mis en évidence (voir texte ci-dessus). D'après Lind *et al.* (sous presse).

En outre, la manœuvrabilité en vol qui correspond à la possibilité de tourner dans un espace réduit et l'agilité qui correspond à la capacité à initier une manœuvre (Andersson et Norberg 1981, Norberg et Rayner 1987) sont également des facteurs importants pour échapper aux prédateurs durant le vol (Witter et Cuthill 1993, Witter *et al.* 1994). Or, la manœuvrabilité et l'agilité diminuent également avec l'augmentation de la masse corporelle (Norberg et Rayner 1987, Hedenstrom 1992, Hedenstrom et Alerstam 1992, Hedenstrom et Rosen 2001). Peu d'études empiriques sur les effets de la masse corporelle sur la manœuvrabilité et l'agilité au cours du vol chez les oiseaux ont été menées et en fait nos connaissances sur ce sujet proviennent d'études chez les chauves-souris. Il a notamment été montré que l'ajout d'une charge représentant 5 % de la masse corporelle réduit la manœuvrabilité chez la chauve-souris de Yuma (*Myotis yumanensis*). De

plus, chez plusieurs espèces de microchiroptères africains, la charge alaire et la masse corporelle sont négativement corrélées avec la manœuvrabilité au cours d'épreuves d'obstacles et à l'inverse l'efficacité de la recherche de nourriture dans des habitats avec une végétation dense est positivement corrélée avec la manœuvrabilité (dans Swartz *et al.* 2003). En conclusion, les données théoriques et empiriques nous indiquent qu'une augmentation de la masse corporelle et de la charge alaire qui lui est associée affecte les performances au décollage et la manœuvrabilité durant le vol ce qui augmente le risque de se faire capturer par un prédateur.

## **3.2 Aspects physiologiques**

### *3.2.1 Effets sur le stress*

#### 3.2.1.1 La notion de stress

Dans leur environnement, les animaux doivent faire face à des perturbations qui peuvent être prédictibles comme la succession des saisons ou le passage d'un stade d'histoire de vie à un autre (par exemple passage de la reproduction à la mue), ou imprévisibles comme une attaque par un prédateur ou une diminution des ressources alimentaires. S'agissant des perturbations prévisibles, les individus anticipent ces changements et ajustent leur comportement et leur physiologie à ces nouvelles conditions. Ainsi, ces événements prévisibles ne sont pas considérés comme stressants pour un individu tant qu'ils ne constituent pas une menace. En revanche, les perturbations imprévisibles perçues comme une menace pour la survie de l'animal vont entraîner une réponse de type "réponse au stress" (Silverin 1998a, Wingfield *et al.* 1998, Wingfield et Romero 2001, Wingfield 2003, Landys *et al.* 2006, Cockrem 2007). Il apparaît donc nécessaire à ce stade de définir la notion de stress. En effet, la notion de stress regroupe trois concepts qui sont liés : (1) les stimuli néfastes auxquels l'individu est confronté ; (2) les réponses physiologiques et comportementales pour faire face à ces stimuli ; (3) les conséquences pathologiques du maintien de ces mécanismes de réponse durant une longue période (Romero 2004, Romero et Butler 2007). En accord avec Romero (2004), j'utiliserai le terme "événement stressant" en référence aux stimuli imprévisibles et néfastes (considérés comme menaçants) pour l'individu, le terme "réponse au

stress" en référence aux mécanismes physiologiques et comportementaux qui suivent l'évènement stressant et le terme "stress chronique" en référence à l'activation continue et soutenue de ces mécanismes de réponse.

### 3.2.1.2 Réponse au stress

Face à un évènement stressant et menaçant comme l'attaque d'un prédateur ou d'un congénère, une réponse rapide sera nécessaire sans pouvoir anticiper ce changement (Wingfield et Kitaysky 2002). Ainsi, la réponse au stress va se mettre en place et faire entrer l'individu dans un état "d'urgence". Cet état d'urgence va l'amener du stade d'histoire de vie "normal" vers un état physiologique et comportemental qui va favoriser sa survie immédiate et lui permettre de revenir au stade d'histoire de vie antérieur dès que l'évènement stressant aura disparu (Wingfield *et al.* 1998, Wingfield et Romero 2001, Wingfield et Kitaysky 2002). La première phase de la réponse se met en place quasi-instantanément afin d'affronter ou de fuir l'évènement perturbant ("*the fight-or-flight response*"). Par contre, si l'évènement stressant se maintient dans le temps ou se répète, différentes stratégies physiologiques et comportementales peuvent être mises en place (Wingfield *et al.* 1998, Wingfield et Romero 2001, Wingfield et Kitaysky 2002, Wingfield 2003, 2005) :

- (1) Tout d'abord, l'individu peut s'enfuir afin de s'éloigner de l'évènement stressant ("*the leave-it*" strategy).
- (2) La seconde possibilité est de rester et de trouver un refuge pour supporter l'évènement stressant jusqu'à ce qu'il se termine ("*the take-it*" strategy).
- (3) La troisième solution est de chercher d'abord un refuge avant de s'éloigner si l'évènement stressant persiste et que les conditions ne s'améliorent pas ("*take at first and then leave-it*" strategy).

Ces différentes stratégies comportementales nécessitent la mobilisation des réserves énergétiques stockées telles que les réserves lipidiques, le glycogène ou les protéines. Elles serviront alors à fournir de l'énergie afin de pouvoir s'éloigner de l'évènement stressant ou de survivre durant la période de refuge dans un abri. Enfin, quand l'évènement stressant est terminé, l'individu peut soit

retourner sur le site et reprendre son stade d'histoire de vie normal, soit, s'il avait fuit l'évènement stressant, il peut s'installer dans un autre habitat dès qu'un site approprié aura été identifié et reprendre la séquence normale du stade d'histoire de vie en cours (Wingfield *et al.* 1997, Wingfield *et al.* 1998, Wingfield et Romero 2001, Wingfield et Kitaysky 2002, Wingfield 2003, 2005).

Cette suite de réponses physiologiques et comportementales est temporaire mais adaptative car elle va dans l'immédiat maximiser la probabilité de survie face aux évènements stressants (Silverin 1998a, Wingfield *et al.* 1998, Sapolsky *et al.* 2000, Greenberg *et al.* 2002, Wingfield et Kitaysky 2002, McEwen et Wingfield 2003, Wingfield 2003). Pour un individu donné, il semble que ces composantes physiologiques et comportementales de la réponse au stress soient identiques tout au long de l'année et quel que soit le stade d'histoire de vie durant lequel elle a été déclenchée. Cependant, cette réponse peut différer entre les individus d'une espèce exposés à un même évènement stressant (Wingfield *et al.* 1998). Les modifications de ces deux composantes peuvent se produire dans les minutes ou les heures qui suivent l'exposition à l'évènement stressant et sont principalement sous le contrôle de mécanismes hormonaux (Buchanan 2000, Wingfield et Romero 2001, Wingfield et Kitaysky 2002, Wingfield 2005).

La réponse au stress est sous le contrôle de médiateurs qui regroupent certaines hormones spécifiques et des facteurs immunitaires et nerveux (McEwen et Wingfield 2003, Schulkin 2003, Landys *et al.* 2006). La réponse endocrinienne au stress se fait en deux temps. La première vague implique tout d'abord la sécrétion, en quelques secondes, de catécholamines (adrénaline et/ou noradrénaline) par le système nerveux sympathique ce qui entraîne une augmentation du rythme cardiaque, une vasodilatation des artérioles dans les muscles squelettiques, une veinoconstriction générale, un relâchement des muscles bronchiolaires, une dilatation des pupilles, une piloérection, un arrêt de la digestion ainsi qu'une mobilisation du glycogène et des acides gras libres (Silverin 1998a, Sapolsky *et al.* 2000, Wingfield et Romero 2001). Cette réponse augmente l'efficacité des processus permettant de faire face immédiatement à un évènement stressant sur un pas de temps très court de l'ordre de quelques secondes ou minutes (Wingfield et Romero 2001, Romero et Butler 2007). La seconde vague, qui se met en place quelques minutes (généralement moins de 5

minutes) est une sécrétion de glucocorticoïdes (GC), produits finaux de l'axe hypothalamo-hypophysaire-corticosurrénalien (axe HHCS) dont la forme majeure aviaire est la corticostérone. Cette augmentation de la corticostérone circulante va avoir de nombreux effets bénéfiques sur le comportement et la physiologie dans le but de maximiser la survie, au moins à court terme. Cela se traduit par la suppression réversible du comportement de reproduction sans toutefois altérer le système reproducteur, l'augmentation de la néoglucogenèse, l'augmentation de la recherche et de la consommation alimentaire, l'activation du système immunitaire favorisant ainsi le comportement de fuite et le retour à un stade d'histoire de vie normal (Sapolsky *et al.* 2000, Wingfield et Romero 2001, Wingfield et Kitaysky 2002, Romero 2004). L'arrêt de la libération de GC est sous le contrôle des GC eux-mêmes via un mécanisme de rétrocontrôle négatif au niveau de l'hypothalamus (Dallman et Bhatnagar 2001, Romero 2004)

Dans le contexte du compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation, une réponse au stress peut se mettre en place en cas de diminution de la disponibilité alimentaire, de déplétion des réserves énergétiques endogènes ou en cas d'attaque par un prédateur. Dans la première situation, en cas de chutes de neiges par exemple, le gain énergétique net peut devenir négatif induisant une réponse au stress (Rogers *et al.* 1993, Wingfield et Romero 2001, Lynn *et al.* 2010). L'augmentation de la concentration en GC va permettre de mobiliser les réserves énergétiques en favorisant la néoglucogenèse afin d'augmenter la disponibilité en glucose (Gray *et al.* 1990, Sapolsky *et al.* 2000) et va aussi stimuler la consommation et la recherche alimentaire (Astheimer *et al.* 1992, Rogers *et al.* 1993). Cependant, ce dernier effet ne s'exprime pas chez toutes les espèces, comme cela a pu être démontré chez le junco ardoisé (*Junco heymalis*) où une augmentation expérimentale de la concentration en corticostérone par des implants sous-cutanés n'a pas modifié la consommation alimentaire (Gray *et al.* 1990). Une augmentation du niveau de GC stimulerait l'appétit afin de restaurer les réserves énergétiques à l'issue d'un stress aigu (Dallman *et al.* 1993) mais cet effet serait modulé en fonction de l'état nutritionnel des oiseaux car il n'est observé qu'à la suite d'une restriction alimentaire (Astheimer *et al.* 1992) et tout particulièrement

lors d'un jeûne prolongé lorsque l'augmentation du catabolisme protéique est caractérisé par une élévation de la corticostéronémie (Cherel *et al.* 1988, Robin *et al.* 1998). Dans la seconde situation lorsqu'une attaque ou la simple présence d'un prédateur déclenche une réponse au stress (Lima 1998a, Scheuerlein *et al.* 2001, Canoine *et al.* 2002, Wingfield 2003, 2005, Landys *et al.* 2006), la libération des catécholamines permet de mobiliser l'énergie nécessaire afin de fuir ou de combattre le prédateur (Silverin 1998a). Ensuite, l'augmentation de la concentration en GC va, selon les espèces, favoriser l'activité locomotrice afin d'échapper au prédateur ou à l'inverse, diminuer la locomotion et permettre de trouver un refuge (Astheimer *et al.* 1992, Breuner *et al.* 1998, Wingfield *et al.* 1998, Cockrem et Silverin 2002). Par exemple, des mésanges charbonnières auxquelles on présente un hibou réagissent en élevant leur niveau de corticostérone ce qui provoque une augmentation du temps passé en vol (Cockrem et Silverin 2002). Au contraire, chez le bruant à couronne blanche (*Zonotrichia leucophrys*) nourri, une augmentation induite de la corticostérone va résulter en une diminution de l'activité locomotrice (Astheimer *et al.* 1992) ce qui s'apparente à un comportement de refuge afin de survivre à l'évènement stressant (Wingfield *et al.* 1998). Cette réponse au stress face à un prédateur dépend en fait du contexte, c'est-à-dire que les individus vont augmenter leur niveau de GC uniquement si le prédateur est perçu comme une menace immédiate pour leur survie (Silverin 1998a, Canoine *et al.* 2002, Cockrem et Silverin 2002, Mueller *et al.* 2006). Par ailleurs, les GC peuvent aussi contribuer à la mise en place d'autres comportements anti-prédateurs comme l'émission de cris d'alarme ou l'augmentation de la vigilance (Pravosudov 2007). Il apparaît donc, dans le contexte du compromis entre les risques de jeûne et de prédation, que la mise en place d'une réponse au stress suite à l'augmentation d'un de ces risques soit bénéfique aux oiseaux en leur permettant d'assurer leur survie immédiate.

### 3.2.1.3 Stress chronique

Nous avons vu que la mise en place d'une réponse au stress, notamment à travers l'augmentation de la concentration en GC face à un évènement stressant, constitue une réponse adaptative afin d'assurer la survie de l'individu. Cependant, des évènements stressants peuvent perdurer ou se



répéter fréquemment sans que l'animal puisse s'y habituer (c'est-à-dire qu'il continue à percevoir les stimuli comme menaçant), dans ce cas, il est classiquement décrit que l'axe HHCS va rester activé et la concentration en GC se maintient élevée, caractérisant ainsi un état de stress chronique (Dallman et Bhatnagar 2001, Romero 2004, Rich et Romero 2005, Cyr et Romero 2007, 2009). Cependant, différentes études ont mis évidence que la concentration en GC basale et/ou en réponse à des évènements stressants durant une période de stress chronique n'est pas modifiée (e.g Michel *et al.* 2005) ou est diminuée (e.g. Rich et Romero 2005, Cyr *et al.* 2007). Il a ainsi été montré chez l'étourneau sansonnet que l'exposition à un stress chronique (différents évènements stressants répétés de manière aléatoire 2h/j pendant 8 jours continus) diminue le niveau de corticostérone basal et atténue l'augmentation de corticostérone lors d'une réponse au stress (Cyr *et al.* 2007, Cyr et Romero 2007). Il semble que cette réponse soit contrôlée physiologiquement par une diminution régulée de l'activité de l'axe HHCS en réponse au stress chronique (Rich et Romero 2005). Cette adaptation aurait pour rôle de minimiser les effets négatifs de la libération chronique de corticostérone (Sapolsky *et al.* 2000, Wingfield et Romero 2001, Cyr *et al.* 2007).

Dans ces différents cas, la mise en place d'un stress chronique n'est pas sans coûts. En effet, il a été montré que ce dernier peut conduire à l'inhibition de la reproduction, à l'inhibition du système immunitaire, à une déplétion musculaire, à une réduction de la croissance, à la mort de cellules neuronales, à une hyperglycémie et à une diminution des capacités cognitives (Sapolsky *et al.* 2000, Dallman et Bhatnagar 2001, Wingfield et Romero 2001). Ainsi, malgré une diminution de la corticostérone circulante durant un stress chronique, le succès reproducteur des femelles étourneau en milieu naturel qui ont subi ce type de stress est plus faible que celui des femelles contrôles (Cyr et Romero 2007). Enfin, bien que le stress chronique puisse entraîner des pathologies, il n'est pas nécessairement non adaptatif. Au contraire, on peut supposer que l'organisme tente peut être "de tirer le meilleur du pire" (Clinchy *et al.* 2004).

Dans le cadre du compromis entre les risques de jeûne et de prédation, l'entrée en stress chronique est possible en réponse à un risque de prédation important ou à une diminution drastique de la disponibilité alimentaire (Wingfield et Sapolsky 2003, Sheriff *et al.* 2009).

### 3.2.2 Effets sur l'immunité

Deux types d'immunités caractérisent le système immunitaire : l'immunité innée et l'immunité acquise (Roitt *et al.* 2001). L'immunité innée est l'outil le plus basique pour combattre les infections faisant intervenir différentes cellules telles que les macrophages, les granulocytes (hétérophiles, éosinophiles et basophiles), les thrombocytes, les mastocytes et les cellules "Natural Killer". Elle est considérée comme la première ligne de défense, non spécifique, permettant ainsi une protection contre un grand nombre de pathogènes (von Holst 1998, Juul-Madsen *et al.* 2008). L'immunité acquise ou spécifique prend le relais de l'immunité innée lorsque celle-ci n'est pas suffisamment efficace (Erf 2004). Elle se développe en quelques jours et dépend de la reconnaissance spécifique du pathogène. En effet, les lymphocytes sont capables de reconnaître spécifiquement un antigène grâce à leur récepteur membranaire et d'adapter la réponse en conséquence (Erf 2004). Cette réponse peut être à médiation humorale, impliquant l'intervention des lymphocytes B et la production d'anticorps. Ainsi, les lymphocytes B, produits par la bourse de Fabricius chez les oiseaux, synthétisent les anticorps appartenant à la catégorie moléculaire des immunoglobulines (Ig) (Ratcliffe 2008). Les Ig sont des glycoprotéines différenciées en trois classes chez les oiseaux : IgY, IgM et IgA, les IgY étant la forme prédominante dans le sérum (Davison *et al.* 2008). La réponse peut aussi être à médiation cellulaire, alors actionnée par les lymphocytes T cytotoxiques. Les précurseurs des cellules T migrent de la moelle osseuse vers le thymus où ils prolifèrent et se différencient avant de gagner la circulation sanguine. En outre, l'immunité acquise se caractérise par la mise en place d'une mémoire immunologique dont le but est de protéger l'organisme contre les antigènes déjà rencontrés (von Holst 1998, Erf 2004). Ainsi, la capacité de ces deux types d'immunité à produire une réponse immunitaire reflète l'immunocompétence d'un organisme.

L'augmentation du risque de jeûne liée à une diminution de la disponibilité en ressources et/ou une augmentation du risque de prédation peuvent entraîner une diminution de l'immunocompétence (Sheldon et Verhulst 1996, Råberg *et al.* 1998, Lochmiller et Deerenberg 2000, Norris et Evans 2000, Rigby et Jokela 2000, Demas *et al.* 2003, Zhang *et al.* 2003, Navarro *et*

al. 2004, Stoks *et al.* 2006, Houston *et al.* 2007, Mikolajewski *et al.* 2008). En effet, il est largement reconnu que l'état nutritionnel ou énergétique d'un animal peut avoir un impact important sur son système immunitaire (Chandra 1996, Pond 1996, Moret et Schmid-Hempel 2000, Demas 2004, Matarese et La Cava 2004, Demas et Sakaria 2005, Bourgeon *et al.* 2006a). De plus, il apparaît, bien que directement vérifié de façon limitée (Ardia et Schat 2008), que le maintien d'un système immunitaire opérationnel et la mise en place d'une réponse immunitaire soient coûteux énergétiquement (Råberg *et al.* 1998, Lochmiller et Deerenberg 2000, Viney *et al.* 2005, Ardia et Schat 2008, Martin *et al.* 2008). Il existe donc vraisemblablement un compromis physiologique entre le système immunitaire et les autres traits d'histoire de vie demandeurs en énergie. Ainsi, au cours d'une période de déficit énergétique, les ressources disponibles liées au système immunitaire vont être réallouées aux autres activités coûteuses énergétiquement et plus cruciales pour la survie telles que la thermorégulation ou la maintenance des réserves énergétiques (Sheldon et Verhulst 1996, Råberg *et al.* 1998, Norris et Evans 2000). Dans le cadre d'une diminution de la disponibilité alimentaire, un animal devra décider d'allouer les ressources entre ses réserves énergétiques qui lui seront nécessaires pour résister à un jeûne et ses défenses immunitaires. Cela implique que l'investissement optimal dans les défenses immunitaires diminue avec la diminution des réserves énergétiques, l'objectif étant d'assurer la survie immédiate. Lorsque les réserves énergétiques d'un animal diminuent fortement, en théorie, il devrait donc être prêt à prendre des risques, en termes de maladie, dans le but d'augmenter ses réserves corporelles. Inversement lorsque les réserves énergétiques sont importantes, l'individu devrait protéger cet atout en investissant dans ses défenses immunitaires (Houston *et al.* 2007). Par ailleurs, le système immunitaire peut être affecté par le niveau d'activité des individus, on observe ainsi une diminution de l'immunocompétence chez les individus qui s'engagent dans un exercice physique soutenu (Hoffman-Goetz et Pedersen 1994, Nierman et Nehlsen-Cannarella 1994, Apanius 1998, Råberg *et al.* 1998, Norris et Evans 2000). Par exemple, une augmentation du coût du vol à travers une augmentation de la charge alaire chez l'hirondelle bicolore (*Tachycineta bicolor*) conduit à une diminution de l'immunocompétence humorale (Hasselquist *et al.* 2001).

L'effet de l'augmentation du risque de prédation sur le système immunitaire a été assez peu étudié chez les oiseaux, cependant les quelques études sur ce sujet chez les oiseaux (Ewenson *et al.* 2003, Navarro *et al.* 2004) et des espèces de mammifères et d'insectes (Rigby et Jokela 2000, Zhang *et al.* 2003, Stoks *et al.* 2006, Mikolajewski *et al.* 2008) indiquent qu'elle entraîne une diminution de l'immunocompétence. En effet, dans le cas d'un risque de prédation élevé, le risque de mort par un prédateur est à priori plus important que celui qui pourrait résulter d'une maladie, donc l'énergie attribuée au maintien du système immunitaire devrait être réallouée aux comportements anti-prédateurs. Il existerait ainsi un compromis entre les comportements anti-prédateurs et l'immunocompétence (Rigby et Jokela 2000).

L'augmentation du risque de jeûne ou de prédation, comme je l'ai déjà évoqué, peut entraîner une réponse au stress. Il est couramment admis que le stress peut induire une immunosuppression via l'action des GC quand leur concentration plasmatique est élevée. En effet, il est supposé que les compromis entre le système immunitaire et les autres traits d'histoires de vie sont régulés par les GC qui seraient le principal mécanisme proximal sous-jacent de l'immunosuppression (Apanius 1998, Råberg *et al.* 1998, Wingfield *et al.* 1998, Sapolsky *et al.* 2000, Martin *et al.* 2008). Cette immunosuppression par hypersécrétion de GC représenterait un "sacrifice" pour fournir les ressources aux processus plus cruciaux (Sapolsky *et al.* 2000). Ainsi, parallèlement à la suppression de la fonction immunitaire, les cellules et tissus immunitaires vont être catabolisés pour libérer du glucose et des protéines, ces dernières étant un facteur limitant pour le maintien du système immunitaire (Apanius 1998, Martin 2009). Par exemple, l'administration de corticostérone exogène au début du jeûne d'incubation réduit le niveau d'immunoglobulines chez l'eider à duvet (*Somateria mollissima*) captif (Bourgeon et Raclot 2006). Cependant, il semble que l'effet des glucocorticoïdes sur l'immunité soit plus contrasté car dans la plupart des cas, du moins chez l'oiseau adulte, la concentration naturelle en corticostérone ne varie pas significativement avec le niveau de cellules immunitaires (e.g. Saino *et al.* 2002, Ilmonen *et al.* 2003, Bourgeon *et al.* 2006a). De plus, il a été mis en évidence chez des poulets d'élevage que le stress augmente la résistance à certaines maladies alors qu'elle diminue la résistance à d'autres en

fonction de l'effet des GC sur ces pathologies (Zulkifli et Siegel 1995). Par ailleurs, il a été proposé que les concentrations physiologiques en corticostérone circulante contribuent davantage à une immunoredistribution plutôt qu'à une réelle immunosuppression (Braude *et al.* 1999). D'un point de vue adaptatif, il paraît vraisemblable qu'un animal devrait augmenter son activité immunitaire dans les parties du corps au moment où elles sont le plus exposées à un risque de blessure, comme par exemple au cours d'un conflit territorial ou d'échappement à un prédateur (Martin *et al.* 2008). De plus, la régulation négative du système immunitaire ne peut pas être rapide puisque ce système est un réseau diffus de cellule et de tissus (Råberg *et al.* 1998) ce qui empêche une économie d'énergie rapide. L'immunosuppression ne permettrait donc un gain énergétique qu'après une période assez longue (jours/semaines) et à court terme les coûts de la suppression du système immunitaire devraient probablement être supérieurs aux bénéfices (Martin 2009). Ainsi, dans le cas de stress aigu, il apparaît que l'activité immunitaire devrait être accrue afin d'assurer la survie face à ces facteurs stressant (Apanius 1998, Martin 2009). En revanche, une situation de stress chronique peut affecter la santé de l'animal : l'activité globale du système immunitaire va avoir tendance à diminuer via l'action des GC (Apanius 1998, Martin 2009). En conséquence, les ressources qui ne sont plus allouées au système immunitaire sont utilisées pour maintenir des fonctions métaboliques plus cruciales pour la réponse à ce type de stress (McNamara et Buchanan 2005), ainsi cette immunosuppression pourrait être adaptative (McEwen et Wingfield 2003, Martin 2009).

### **3.3 Aspects comportementaux**

La prédation est manifestement une des pressions de sélection majeure qui détermine le comportement des animaux (Lima et Dill 1990, Lima 1998a) De ce fait les modifications comportementales observées sont souvent considérées comme la conséquence la plus évidente et la mesure la plus sensible de l'effet de la prédation ou du dérangement (Frid et Dill 2002, Beale et Monaghan 2004, Beale 2007). En effet, en présence de prédateurs, les proies peuvent se comporter de façon à éviter les prédateurs ou à éviter d'être capturés afin d'augmenter leur survie immédiate

(Lima et Dill 1990, Lima 1998a, Lind et Cresswell 2005, Beale 2007, Cresswell 2008). D'autre part, le risque de jeûne entraîne aussi des modifications du comportement favorisant l'acquisition d'énergie afin de maximiser la survie immédiate (Lima 1998a, Lind et Cresswell 2005, Cresswell 2008). Nous avons vu que ces deux risques peuvent être considérés comme un stress et il a été proposé que la plasticité comportementale permet de réduire les coûts liés au stress (Parsons 1998). Ainsi, en faisant varier différents aspects de son comportement, un animal va pouvoir contrôler à la fois son acquisition d'énergie et sa probabilité d'être tué par un prédateur (Houston *et al.* 1993, Brown 1999). Les risques de prédation et de jeûne peuvent donc induire des modifications au niveau de différents aspects du comportement comme la distance de fuite, le choix de l'habitat, la taille des groupes, la recherche alimentaire ou encore le niveau de vigilance (Ydenberg et Dill 1986, Gilliam et Fraser 1987, Lima et Dill 1990, Bednekoff et Lima 1998, Lima 1998a, b, Krause et Ruxton 2002, Verdolin 2006, Ruxton *et al.* 2007, Cresswell 2008). Dans ce travail, nous allons nous focaliser sur les effets des risques de jeûne et de prédation sur le budget temps.

En réponse à une augmentation du risque de jeûne ou de prédation, les oiseaux vont donc modifier leur comportement afin de maximiser leur survie immédiate (Lima 1998b, Lind et Cresswell 2005, Cresswell 2008). Cependant, ce changement de comportement se fait au détriment d'autres comportements (Cresswell 2008). Dans ce cas, il y a un conflit entre ces comportements (Lima et Dill 1990), c'est-à-dire qu'en théorie l'augmentation du comportement permettant d'assurer la survie immédiate devrait résulter en une diminution des ressources et/ou de l'énergie disponibles pour la survie à long terme ou la fécondité, ce qui diminuerait la fitness (Lima 1998a, b, Frid et Dill 2002, Cresswell 2008). Ce compromis entre les comportements va donc pouvoir entraîner des coûts à long terme (Lima et Dill 1990, Werner et Anholt 1993, Lima 1998a, b, Cresswell 2008). Enfin, en raison du conflit qui peut exister entre les différents comportements émis par un animal, il semble que la meilleure façon d'étudier les modifications du comportement en réponse à ces risques soit dans le cadre de compromis (Lima 1998a, b, Cresswell 2008).

Dans ce cadre, la grande majorité des études se sont principalement intéressées aux compromis qui vont permettre d'optimiser à la fois le fourragement et la sécurité par rapport aux prédateurs (revue dans Lima et Dill 1990, Lima 1998a, Brown 1999, Brown et Kotler 2004, Verdolin 2006). Le principal compromis étudié est celui entre les comportements anti-prédateurs, principalement la vigilance, qui permettent de diminuer le risque de prédation immédiat et la recherche de nourriture (Lima et Dill 1990, Lima 1998a, Hamilton et Heithaus 2001, Lind et Cresswell 2005, Cresswell 2008). En effet, chez beaucoup d'animaux, ce compromis apparaît comme clair car la vigilance et la recherche de nourriture sont des comportements qui vont demander de l'attention visuelle et du temps qui sont toutes les deux des ressources limitées et sont donc alloués à un comportement aux dépens de l'autre (Stephens et Krebs 1986, Dukas et Kamil 2000). De plus, quand ils recherchent de la nourriture, les individus vont devoir souvent relever la tête pour détecter les prédateurs ce qui rend ces deux comportement incompatibles (Bednekoff et Lima 1998, Lima et Bednekoff 1999a, Cresswell *et al.* 2003). Ce conflit a conduit à émettre l'hypothèse selon laquelle les individus qui fourragent ne sont pas capables de détecter un prédateur qui attaque (Cresswell *et al.* 2003). Cependant, chez certaines espèces, la détection de prédateurs est possible pendant la recherche de nourriture et dans certains cas on observe une augmentation de la vigilance qui n'affecte pas les capacités d'alimentation par exemple grâce à leur champ de vision qui chez certaines espèces permet de voir à la fois le sol et l'horizon (Cresswell 1994a, Fitzpatrick et Bouchez 1998, Lima et Bednekoff 1999a, Kotler *et al.* 2010). La recherche de nourriture peut alors être considérée non pas comme un état de non vigilance mais comme un état moins vigilant qui va dépendre des différents types de comportements de fourragement (Lima et Bednekoff 1999a, Cresswell *et al.* 2003). De fait, la prédation est considérée, en général, comme un coût pour la recherche de nourriture (Brown 1999, Brown et Kotler 2004) ce qui implique que le risque de prédation est lié au risque de jeûne (Brown et Kotler 2004, Cresswell 2008, Cresswell et Whitfield 2008). Par conséquent, l'augmentation de l'effort de fourragement réduit la probabilité de mort due au jeûne mais diminue l'investissement dans les comportements anti-prédateurs et augmente la probabilité d'être capturé par un prédateur (McNamara et Houston 1987, Lima et Dill

1990, Lima 1998a). Il a ainsi été proposé que les animaux cherchent à contrôler leur niveau de risque de jeûne et de prédation à travers le temps qu'ils vont allouer au fourragement et aux comportements anti-prédateurs (Brown 1999, Lima et Bednekoff 1999b, Brown et Kotler 2004, Kotler *et al.* 2010). De façon générale, les individus augmentent leur temps de vigilance, qui est le principal comportement anti-prédateur et est essentiel pour la survie à une attaque de prédateur, aux dépens du temps de recherche alimentaire lorsque le risque de prédation augmente (Lord *et al.* 1997, Lima et Bednekoff 1999b, Kavaliers et Choleris 2001, Lind 2004, Whittingham *et al.* 2004, Gagliardi *et al.* 2006, Lind et Cresswell 2006, Watson *et al.* 2007, Mathot *et al.* 2009, Sansom *et al.* 2009). L'investissement dans la vigilance peut dépendre de différents facteurs. Tout d'abord, de l'obstruction de l'environnement c'est-à-dire si le milieu est ouvert ou fermé, il va alors augmenter quand l'environnement est perçu comme plus risqué (Lima et Bednekoff 1999a, Whittingham *et al.* 2004, Devereux *et al.* 2006, Watson *et al.* 2007). D'autre part, il peut aussi dépendre de la méthode de recherche alimentaire (Lima et Bednekoff 1999a, Guillemain *et al.* 2001). Par exemple, chez la sarcelle d'hiver et le canard souchet (*Anas clypeata*), on observe une augmentation de la vigilance quand les individus utilisent un comportement de recherche alimentaire plus risqué tel que la recherche de nourriture la tête sous l'eau, par rapport à un comportement qui permet de rechercher de la nourriture tout en étant vigilant comme la recherche de nourriture à la surface de l'eau (Guillemain *et al.* 2001). Enfin, chez les oiseaux, l'investissement dans la durée de vigilance par rapport à celle de recherche alimentaire peut dépendre de l'état des réserves énergétiques des individus (Brown 1999, Jones *et al.* 2009). Ainsi, chez le pinson des arbres (*Fringilla coelebs*), les individus les plus gros augmentent leur fréquence de comportements de vigilance pour compenser leur risque de prédation plus élevé ce qui diminue leur consommation alimentaire et inversement chez les individus de faible masse corporelle (Jones *et al.* 2009). Ces ajustements s'inscrivent bien dans la notion de compromis et il apparaît donc que le temps investi dans la vigilance permet de diminuer le risque de prédation et ainsi d'augmenter la survie immédiate. Cependant, cet investissement diminue le temps alloué à la recherche alimentaire ce qui augmente le risque de



jeûne (Lima 1998a, Blumstein *et al.* 2005, Lind et Cresswell 2005, Watson *et al.* 2007, Cresswell 2008, Ferrari *et al.* 2009).

Il a aussi été montré que pour faire face à la prédation les individus réduisent leur activité (Lima et Dill 1990, Werner et Anholt 1993, Anholt et Werner 1998, Kats et Dill 1998, Lima 1998a, Sih et McCarthy 2002, Cresswell 2008). L'explication sous-jacente à cette diminution du risque de prédation est que l'augmentation de l'activité accroît la probabilité d'être détecté ou de rencontrer un prédateur (Anholt et Werner 1998, Lima 1998a). On observe la même diminution d'activité dans une situation de disponibilité alimentaire élevée ce qui permet de réduire le risque de prédation sans compromettre l'état des réserves énergétiques (Anholt et Werner 1995, 1998, Lima 1998a, Steiner et Pfeiffer 2007). Cependant, un animal qui fait face à un risque de jeûne important et qui doit donc se nourrir avec un taux d'acquisition d'énergie relatif élevé pour combler ses besoins énergétiques va également accepter un risque de prédation plus important quand il se nourrit et augmente donc son niveau d'activité (Lima 1998a, b, Brown et Kotler 2004, Kotler *et al.* 2010, Krams *et al.* 2010). En effet, la recherche de nourriture nécessite des mouvements. Par conséquent, la diminution d'activité va être accompagnée d'une diminution du taux d'alimentation (Lima et Dill 1990, Werner et Anholt 1993, Lima 1998a) ce qui va augmenter le risque de jeûne (Ajie *et al.* 2007). Ainsi, la modification du niveau d'activité des individus influence à la fois leurs risques de jeûne et de prédation.

Nous avons vu que le risque de prédation influence les décisions concernant la recherche alimentaire ou le niveau d'activité et que les animaux ont la possibilité de contrebalancer le risque de prédation contre le risque de jeûne quand ils décident quel comportement poursuivre. Il semble donc qu'ils soient capables de répondre aux changements du risque de prédation au cours du temps (Kats et Dill 1998, Lima et Bednekoff 1999b). Une telle variation du risque de prédation est en fait un aspect inévitable de la plupart des environnements naturels (Lima et Bednekoff 1999b, Sih *et al.* 2000). Ce risque varie naturellement entre les saisons, au cours du cycle lunaire, au cours de la journée ou d'un moment à l'autre (Lima et Bednekoff 1999b, Sih *et al.* 2000, Ferrari *et al.* 2009). Cependant, cette variation a rarement été prise en compte dans les études de l'effet de la

prédation sur le comportement des proies (Sih *et al.* 2000). De plus, elles se sont limitées aux réponses sur des périodes de temps relativement courtes en réponse à la présence immédiate d'une menace (Ferrari *et al.* 2009). La conséquence à la variation temporelle de ce risque est que les animaux font face à un problème quant à l'allocation optimale entre la recherche alimentaire et les comportements anti-prédateurs dans ces différents états de risque (Lima et Bednekoff 1999b). Afin de prendre en compte cette variation temporelle du risque de prédation, Lima et Bednekoff (1999b) ont proposé l'hypothèse de la répartition des risques ("*risk allocation hypothesis*") qui suppose que les réponses anti-prédatrices ne sont pas simplement spécifiques à la situation présente mais dépendent du contexte général dans lequel le risque varie. Leur modèle est basé sur le concept que les proies allouent de façon adaptative leur effort de recherche alimentaire, et donc leur exposition à la prédation entre des situations de risque élevé et de risque faible de prédation. Ainsi, le comportement des proies dans toutes les situations devrait dépendre du risque global auquel elles sont soumises, plus spécifiquement, de la durée des périodes de risque élevé par rapport à celle de risque faible et du niveau relatif de risque associé avec chacune d'elles. Si les périodes de risque élevé sont peu fréquentes, les proies devraient évidemment montrer une vigilance particulièrement élevée durant ces rares périodes de risque. Dans ce cas, elles ont beaucoup de temps pour se nourrir de façon relativement sûre. A l'inverse, quand les périodes de risque élevé deviennent communes, les proies devraient diminuer leur niveau de vigilance principalement durant les situations de risque faible mais aussi durant celle de risque élevé. En effet, dans ce cas elles vont devoir prendre plus de risques pour assurer leurs besoins énergétiques et donc augmenter leur temps de recherche alimentaire dans les deux situations. Cette dernière prédiction de l'hypothèse de la répartition des risques, qui assume que les individus qui sont exposés à de longues périodes de risque élevé devraient être moins vigilants que ceux qui sont dans des situations de risque faible, va à l'encontre de ce qui est habituellement observé. En effet, la vision classique est que les animaux exposés à un risque de prédation important soient plus vigilants que ceux exposés à un risque plus faible (Ferrari *et al.* 2009). Cette vision est principalement due aux protocoles expérimentaux utilisés qui consistent souvent en une courte

exposition à un prédateur suivi de longues périodes de risque faible avec les observations réalisées uniquement durant la période de risque élevé (Lima et Bednekoff 1999b, Sih *et al.* 2000, Sih et McCarthy 2002). Cependant, les tests empiriques de l'hypothèse de la répartition des risques ont conduit à des résultats contrastés (Ferrari *et al.* 2009). En effet, certaines études ont trouvé des résultats qui ne soutiennent pas la théorie de la répartition des risques (Van Buskirk *et al.* 2002, Koivisto et Pusenius 2003, Pecor et Hazlett 2003, Sundell *et al.* 2004, Pecor et Hazlett 2006). D'autres travaux supportent partiellement cette hypothèse (Hamilton et Heithaus 2001, Sih et McCarthy 2002, Mirza *et al.* 2006). On observe ainsi une diminution des comportements anti-prédateurs dans les situations de risque élevé par rapport à celle de risque faible ce qui est en accord avec l'hypothèse de la répartition des risques. Enfin, certaines études sont totalement en accord avec l'hypothèse de la répartition des risques (Foam *et al.* 2005, Brown *et al.* 2006, Ferrari *et al.* 2008). Ces résultats contrastés peuvent être expliqués par le fait que les différentes études n'ont peut-être pas respecté une ou plusieurs des suppositions cruciales du modèle. Les deux plus importantes sont que les animaux doivent atteindre un seuil minimal de réserves énergétiques et qu'ils doivent avoir assez de temps pour évaluer le niveau de risque (Ferrari *et al.* 2009). En effet, dans leur modèle, Lima et Bednekoff (1999b) considèrent que la relation entre la consommation d'énergie et la fitness dépend d'un seuil énergétique. Donc, un animal devrait rechercher juste assez de nourriture pour assurer ses besoins énergétiques. Le modèle suppose aussi que les proies doivent avoir une information parfaite sur le niveau de risque. Elles doivent donc savoir si elles sont actuellement en période de risque élevé ou faible. De plus, elles doivent déterminer de façon exacte la proportion de temps durant laquelle elles vont subir un risque élevé par rapport à un risque faible sur le long terme. Cependant, il semblerait que lorsque l'on donne aux animaux assez de temps pour évaluer le régime de risque, dans la plupart des cas, les résultats montrent au moins un accord partiel avec les prédictions du modèle (Ferrari *et al.* 2009). Il apparaît donc qu'en fonction de la variabilité temporelle du risque de prédation, les animaux vont devoir modifier le temps qu'ils allouent aux comportements anti-prédateurs et à la recherche alimentaire pour minimiser à la fois leurs risques de jeûne et de prédation.

La plupart des études théoriques et empiriques sur l'effet de la prédation se sont principalement focalisées sur le compromis entre la recherche alimentaire et les comportements anti-prédateurs (Steer et Doody 2009). Malgré cet intérêt tout particulier pour la recherche alimentaire, les animaux font aussi des compromis entre le risque de prédation et d'autres activités essentielles comme le sommeil, le toilettage ou boire (Lendrem 1983, Lima *et al.* 2005, Gagliardi *et al.* 2006, Fernandez-Juricic *et al.* 2007, Steer et Doody 2009). De façon générale, ces études mettent en évidence les mêmes ajustements que dans le cadre de la recherche alimentaire, à savoir une diminution de ces comportements au profit d'une augmentation de la vigilance. Dans le cadre d'une augmentation du risque de jeûne, on peut aussi observer des ajustements dans l'allocation du temps aux différents comportements. Par exemple, il a été montré que les oies et le manchot empereur (*Aptenodytes forsteri*) augmentent leur durée de sommeil au cours d'un jeûne afin d'économiser de l'énergie (Dewasmes *et al.* 1984, Dewasmes *et al.* 1989). De plus, les différents comportements anti-prédateurs ne seraient pas indépendants, donc l'allocation de ressources à un comportement anti-prédateur particulier permettrait d'allouer peu de ressources à un autre, ou vice-versa (Lind et Cresswell 2005). Par exemple, un animal va allouer peu de temps à la vigilance mais beaucoup à la défense de son territoire, ce qui lui procure de la sécurité contre les prédateurs. En effet, lorsqu'un oiseau se comporte d'une façon telle qu'il semble encourir un risque de prédation élevé pour l'observateur, en fait, ce même oiseau peut complètement compenser ce comportement apparemment risqué par un autre comportement (Lind et Cresswell 2006). C'est ce que Lind et Cresswell (2005) ont défini comme la compensation du risque de prédation. De façon générale, la fitness serait alors la conséquence de plusieurs comportements anti-prédateurs plutôt que d'un seul comportement comme généralement considéré dans la majorité des études (Lind et Cresswell 2005, 2006). Les conséquences relatives sur la fitness de l'allocation des ressources à différents comportements anti-prédateurs peuvent aussi dépendre des conditions écologiques ou de l'état interne de l'oiseau (Lind et Cresswell 2005). Par exemple, si un oiseau recherche de la nourriture loin du couvert qui lui sert de refuge lui permettant ainsi de détecter les prédateurs, alors l'endurance, la vitesse de décollage et peut être la manœuvrabilité peuvent être plus

importantes qu'une détection précoce du prédateur (Lind 2004). Par conséquent, les résultats des études qui mesurent la vulnérabilité relative à la prédation, en ne prenant en compte qu'un seul comportement anti-prédateur, et qui concluent par exemple que les animaux avec un taux de vigilance plus faible sont exposés à un risque plus important que ceux avec un taux plus élevé sont potentiellement erronées à cause des compensations possibles (Lind et Cresswell 2005). Enfin, il est possible que les modifications de comportement observées ne dépendent pas uniquement du risque de prédation mais aussi d'autres contraintes écologiques notamment le risque de jeûne (Lind et Cresswell 2005, Cresswell 2008). En effet, il a été montré qu'une augmentation du risque de jeûne peut augmenter la vulnérabilité à la prédation et en conséquence augmenter la mortalité due à la prédation. Dans ce cas, le facteur sous-jacent à l'augmentation de la mortalité par la prédation est donc l'augmentation du risque de jeûne (Watson *et al.* 2007, Cresswell et Whitfield 2008). Afin de prendre en compte les différentes contraintes évoquées précédemment, Lind et Cresswell (2005) proposent de mesurer les ajustements comportementaux dans le contexte du budget énergétique individuel. Cela permet de prendre en compte l'ensemble des comportements anti-prédateurs potentiels et que l'importance relative de chacun en termes de coût soit estimée. Le budget temps individuel est une composante importante du budget énergétique et probablement dans beaucoup de cas un indice correct du budget énergétique. Ainsi, le budget temps est peut-être le moyen le plus facile pour mesurer l'ensemble des comportements anti-prédateurs, les compensations possibles et leurs conséquences sur la fitness (Lind et Cresswell 2005).

Il apparaît donc que les oiseaux en ajustant leur comportement peuvent gérer leur niveau de risques de jeûne et de prédation. On peut donc faire l'hypothèse que ces ajustements comportementaux s'intègrent parfaitement dans le cadre du compromis entre ces deux risques. Cela plus particulièrement en réponse à une augmentation du risque de prédation car l'augmentation de l'investissement dans les comportements anti-prédateurs va notamment diminuer l'investissement dans d'autres activités essentielles. Ainsi, ces décisions comportementales augmentent la survie immédiate mais peuvent potentiellement entraîner des

coûts à plus long terme plus particulièrement sur la reproduction et donc sur la fitness (Lima et Dill 1990, Lima 1998a, b, Cresswell 2008).

### **3.4 Effets sur la reproduction et la fitness**

La période de reproduction est une phase cruciale dans le cycle de vie des animaux car elle permet aux individus de produire une descendance et ainsi d'assurer la pérennité de l'espèce. Cependant, la reproduction est une période risquée et coûteuse en énergie (Lima et Dill 1990, Magnhagen 1991, Stearns 1992). Selon la théorie des traits d'histoire de vie, ce coût de la reproduction est défini comme un compromis entre la reproduction en cours et la survie des parents qui pourront réinvestir dans une reproduction future (Stearns 1992). En effet, la reproduction est une période durant laquelle le risque de prédation des oiseaux est plus élevé en raison d'une augmentation de leur visibilité pour les prédateurs, d'une diminution de leur capacité de fuite ou d'une augmentation de la fréquence de rencontre avec les prédateurs (Lima et Dill 1990, Martin 1995, Lima 1998a, Kavaliers et Choleris 2001). Par ailleurs, la disponibilité alimentaire est un facteur important pour le succès de la reproduction (Martin 1995, Chalfoun et Martin 2007, Robb *et al.* 2008, Schoech *et al.* 2009). Il apparaît donc que le compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation puisse influencer la reproduction dans son ensemble c'est-à-dire du développement des gonades jusqu'au succès à l'envol des jeunes. Au cours de cette période, le risque de jeûne est moins élevé car la nourriture est plus abondante par rapport à la période d'hivernage (Martin 1987). Ainsi, durant la reproduction le problème ne serait pas d'obtenir de la nourriture pour éviter le risque de jeûne mais de trouver suffisamment de nourriture pour assurer la reproduction et l'élevage des jeunes. Cependant, dans ce cas les oiseaux vont également devoir adopter des comportements qui les exposent à la prédation pour assurer ces besoins (Bednekoff 1996). Enfin, la disponibilité alimentaire et le risque de prédation durant cette période peuvent avoir un effet direct sur la reproduction mais les conditions environnementales pendant l'hivernage peuvent aussi influencer les décisions prises au cours de la reproduction (Barboza et Jorde 2002, Robb *et al.* 2008).

### 3.4.1 Effets sur les hormones de la reproduction

Le cycle de reproduction des oiseaux implique une suite de comportements complexes tels que l'établissement et le maintien d'un territoire de reproduction, le choix du partenaire, les comportements de cour et copulation, et l'élevage des jeunes. Ce cycle est régulé par un ensemble de variables environnementales comprenant le changement de la photopériode, de la température ambiante, de la disponibilité alimentaire et des interactions entre les individus (Wingfield et Silverin 1986). Ces informations environnementales vont être principalement traduites sur le plan hormonal (Small *et al.* 2007). Ainsi, au début de la phase de reproduction, chez les mâles, la sécrétion de l'hormone lutéinisante (LH) et de l'hormone folliculo-stimulante (FSH) orchestre le développement des gonades et la sécrétion des androgènes (Chastel *et al.* 2005a). Ces androgènes sont les hormones sexuelles principales chez les mâles dont la testostérone est le plus important chez les oiseaux (Sturkie et Opel 1976). La testostérone permet notamment la mise en place des comportements territoriaux et de cour, des comportements agressifs et de la protection du partenaire, des caractères sexuels secondaires et de l'accouplement (Sturkie et Opel 1976, Wingfield *et al.* 1987, Mougeot *et al.* 2005, Fusani 2008). Chez les femelles, les œstrogènes, la progestérone et la LH vont induire la maturation des follicules et de l'oviducte et entraîner l'ovulation. Elles vont aussi exercer un rôle important dans l'expression des comportements de copulation et dans la construction du nid (Sturkie et Mueller 1976, Cherel *et al.* 1994, Leboucher *et al.* 2000). Lorsque le comportement d'incubation se met en place, les niveaux de LH et d'hormones gonadiques diminuent alors que le niveau de prolactine va augmenter, marquant ainsi le passage d'un comportement sexuel à un comportement d'attention parentale. La concentration en prolactine circulante augmente au début de l'incubation pour atteindre un niveau maximal au milieu de cette période, elle reste élevée durant la phase des soins parentaux et revient ensuite à un niveau basal au cours de la croissance des jeunes marquant la fin de la période de reproduction (Sharp *et al.* 1998, Vleck 1998, Sockman *et al.* 2006, Boos *et al.* 2007a). Ainsi, la prolactine est impliquée dans la mise en place des comportements parentaux et permet notamment leur maintien après l'éclosion (Buntin 1996) ce qui se reflète dans les différences de prolactinémie chez

les oiseaux qui présentent des soins parentaux différents (Angelier et Chastel 2009). Chez les espèces nidifuges, la prolactine plasmatique diminue légèrement après l'éclosion, se maintenant à un niveau modérément élevé durant la période d'élevage et diminue ensuite. En revanche, chez les espèces nidicoles, la prolactine circulante reste élevée après l'éclosion tandis que les jeunes sont activement nourris et gardés. D'autre part, parmi les espèces chez lesquelles la femelle s'occupe seule des jeunes, la prolactinémie est plus élevée que chez les mâles (revue dans Sharp *et al.* 1998, Vleck 1998).

Nous avons vu qu'une diminution de la disponibilité alimentaire ou une augmentation de la prédation peut entraîner une réponse au stress (Wingfield et Silverin 1986, Wingfield et Romero 2001, Wingfield 2003) et l'augmentation de la concentration en corticostérone peut alors modifier les concentrations des hormones sexuelles (Sapolsky *et al.* 2000, Wingfield et Sapolsky 2003). Il a ainsi été montré que l'augmentation de la corticostéronémie entraîne une diminution de la concentration en LH et FSH (Sapolsky *et al.* 2000, Sheriff *et al.* 2009). Ces effets s'observent chez de nombreux groupes d'animaux dont les mammifères où, par exemple, une augmentation du stress lié au risque de prédation par les loups (*Canis lupus*) entraîne une diminution de la concentration en progestérone chez l'élan (*Cervus elaphus*) (Creel *et al.* 2007). Il semble que, de manière générale, une augmentation de la corticostérone circulante conduise à une diminution de la concentration en œstrogènes et testostérone chez les mammifères (Wingfield et Sapolsky 2003). En revanche, chez les oiseaux, les résultats obtenus sont contrastés. En effet, dans certains cas une augmentation de la concentration en corticostérone va diminuer le niveau de testostérones, d'œstrogènes et/ou de LH (Etches *et al.* 1984, Wingfield 1985, Wingfield et Silverin 1986, Wingfield *et al.* 1994, Lynn *et al.* 2010, voir aussi Silverin 1998a). Dans d'autres études, le niveau des hormones sexuelles n'est pas affecté (Cherel *et al.* 1994, Astheimer *et al.* 2000, Groscolas *et al.* 2008, Landys *et al.* 2010). Enfin, une augmentation de la concentration en testostérone a été mise en évidence en réponse à un stress chez une race de poulet (Silverin 1998b, Heiblum *et al.* 2000). Ces différentes réponses peuvent être dues au fait que la période de stress n'a pas eu lieu au même moment du cycle dans



les différentes études et que le niveau de stress des populations étudiés était différent en fonction des conditions environnementales et sociales (Astheimer *et al.* 2000).

Concernant la prolactine, il a été démontré que lors d'une réponse au stress sa concentration augmente et que c'est une part de la réponse au stress classique chez les mammifères (dans Chastel *et al.* 2005b). En revanche, chez les oiseaux, le niveau de prolactine diminue en réponse à un stress aigu (Chastel *et al.* 2005b, Angelier *et al.* 2007a, Verreault *et al.* 2008, Angelier *et al.* 2009a). La diminution de la prolactine induite par le stress n'est pas linéaire. En effet, chez la mouette tridactyle (*Rissa tridactyla*) le niveau de prolactine augmente légèrement peu de temps après l'initiation du stress avant de diminuer significativement (Chastel *et al.* 2005b). Dans certaines conditions au cours de la reproduction, les oiseaux vont être exposés à un stress prolongé ou à des contraintes énergétiques. Ces perturbations peuvent être prédictibles (*e.g.* jeûne prolongé durant l'incubation des œufs) ou non prédictibles (*e.g.* réduction prolongée de la disponibilité alimentaire ou augmentation de la pression de prédation), il semble que les deux entraînent une diminution du niveau de prolactine (Angelier et Chastel 2009). L'effet négatif du jeûne prolongé sur les niveaux de prolactine est bien documenté. Ainsi, chez certains oiseaux marins et oiseaux d'eau, la prolactine circulante diminue en réponse à une déplétion importante des réserves énergétiques accompagnée d'une augmentation de la corticostéronémie durant l'incubation ou l'élevage des jeunes (Cherel *et al.* 1994, Criscuolo *et al.* 2002, Angelier *et al.* 2007b, Groscolas *et al.* 2008). D'autres contraintes environnementales de longue durée comme une sécheresse ou un stress chronique peuvent également affecter les niveaux de prolactine (Criscuolo *et al.* 2005, Angelier et Chastel 2009). On peut ainsi supposer qu'une augmentation du risque de prédation aura le même effet. Cette diminution des niveaux de prolactine pourrait indiquer une réduction de l'effort parental en réponse à une situation de stress (Cherel *et al.* 1994, Chastel *et al.* 2005b, Groscolas *et al.* 2008, Angelier *et al.* 2009b) diminution qui pourrait aller jusqu'à l'abandon du nid ou des jeunes (Cherel *et al.* 1994, Angelier *et al.* 2007a, Groscolas *et al.* 2008, Angelier *et al.* 2009b). De manière immédiate, une diminution de la prolactinémie en réponse à une augmentation des niveaux de corticostérone peut être considérée comme adaptative en

interrompant l'effort parental en cours afin d'assurer la survie des parents qui pourront investir dans une future reproduction (Kitaysky *et al.* 1999, Chastel *et al.* 2005b).

#### 3.4.2 Effets sur le développement des gonades, la formation des œufs et leurs coûts énergétiques

Le début de la phase de reproduction est marqué par le développement et la maturation des organes reproducteurs qui ne paraît pas très coûteuse énergétiquement (Kendeigh 1941). En revanche, c'est la formation des œufs qui, chez les femelles, implique l'investissement et le coût énergétique le plus important (Ward 1996, Meijer et Drent 1999, Bety *et al.* 2003, Pilz *et al.* 2003, Varpe *et al.* 2009, Willie *et al.*). La qualité des œufs formés et leur nombre dépendent principalement de la disponibilité alimentaire chez les reproducteurs sur appoint (*income breeders*) et de l'état des réserves énergétiques avant la ponte chez les reproducteurs sur capital (*capital breeders*) (Drent et Daan 1980, Stearns 1992, Meijer et Drent 1999). Il a par exemple été montré chez l'étourneau que les femelles ayant une meilleure condition corporelle investissent plus dans les œufs à travers un transfert plus important d'androgènes dans le jaune (Pilz *et al.* 2003). Sous certaines conditions, notamment météorologiques, une disponibilité alimentaire élevée et/ou une bonne condition corporelle en début de saison de reproduction peuvent permettre aux oiseaux de se reproduire plus tôt et de produire plus d'œufs. Cette reproduction précoce associée à une taille de couvée plus importante permet souvent un succès de reproduction supérieur par rapport à une reproduction tardive (Barbraud et Chastel 1999, Barboza et Jorde 2002, Bety *et al.* 2003, Blums *et al.* 2005, Guillemain *et al.* 2008, Robb *et al.* 2008, Schoech *et al.* 2009). Par ailleurs, il semblerait que l'effet du stress sur l'investissement dans la formation des œufs soit limité. Par exemple, une augmentation de la concentration en corticostérone chez des femelles diamant mandarin (*Taeniopygia guttata*) pendant la formation des œufs n'a pas d'effet sur leur composition, leur taille et celle de la couvée (Salvante et Williams 2003). Cependant, en réponse à une augmentation de la corticostéronémie, la ponte peut être différée chez le pinson des arbres et le diamant mandarin (Scheuerlein *et al.* 2001, Salvante et Williams 2003), alors que cet effet n'est pas observé chez le

geai à gorge blanche (*Aphelocoma coerulescens*) (Schoech *et al.* 2007). De manière similaire, une augmentation du risque de prédation peut également induire un retard de ponte (Lima 2009). Il a aussi été proposé que la taille de la couvée puisse être influencée par le risque de prédation sur les parents (Lima et Dill 1990, Lima 2009). Il est supposé qu'une diminution de la taille de la couvée lorsque le risque de prédation est accru permettrait aux parents d'économiser de l'énergie et ainsi d'assurer leur survie en vue d'une reproduction future. De surcroît, cela diminuerait également le nombre de visites au nid et sa vulnérabilité (Roff 1992, Martin 1995, Martin *et al.* 2000a, Martin *et al.* 2000b). Toutefois, il y a peu de preuves empiriques de cet effet, seule une étude chez le mésangeai imitateur (*Perisoreus infaustus*) montre qu'une augmentation du risque de prédation au cours de la reproduction entraîne une diminution de la taille de la couvée (Eggers *et al.* 2006).

Durant cette période de formation des œufs et de ponte, les performances de vol des femelles peuvent se détériorer pour deux raisons principales (Lee *et al.* 1996). Tout d'abord, la masse des femelles peut augmenter jusqu'à 30% en raison du développement des gonades et des œufs (Moreno 1989). D'autre part, des protéines provenant des muscles assurant le vol peuvent être allouées à la production des œufs (Houston *et al.* 1995). Ainsi, l'augmentation de la masse corporelle pendant la période de ponte en induisant une baisse de la vitesse et/ou l'angle de décollage comme cela a été montré chez l'étourneau et la mésange bleue (Lee *et al.* 1996, Kullberg *et al.* 2002a) peut diminuer les performances de vol et augmenter le risque de prédation. Par ailleurs, en augmentant expérimentalement le coût physiologique de la production des œufs, Veasey *et al.* (2000, 2001) ont constaté une diminution des capacités de fuite chez le diamant mandarin à travers une diminution de la masse des muscles impliqués dans le vol. Ces modifications des performances de vol sont indépendantes de la masse corporelle et seraient donc dues aux modifications physiologiques associées à la production des œufs. Il apparaît donc qu'il existe bien un risque de prédation lié au développement et au transport des œufs (Lind *et al.* sous presse). Toutefois, il a été montré chez le diamant mandarin que les femelles diminuent leur charge alaire à travers une réduction de la masse corporelle pendant la période de ponte ce qui leur permet d'augmenter leurs performances de vol (Kullberg *et al.* 2005).

### 3.4.3 Effets sur les soins aux jeunes et le succès reproducteur

Chez les oiseaux, la période de soins parentaux s'étend de l'incubation des œufs à la fin de la période d'élevage et a pour objectif d'assurer le développement des œufs et la survie des jeunes (Afton et Paulus 1992). Il est généralement admis que le succès reproducteur est déterminé par la disponibilité alimentaire durant cette période (Martin 1987). En effet, des études basées sur l'effet d'un supplément de nourriture ont mis en évidence une augmentation du succès reproducteur (Granbom et Smith 2006, Robb *et al.* 2008, Schoech *et al.* 2009). Ainsi les habitats ayant une disponibilité alimentaire importante et permettant de réduire le risque de jeûne des petits sont caractérisés par une augmentation du nombre de jeunes quittant le nid (Whittingham et Robertson 1994, Granbom et Smith 2006). Ainsi, les comportements de soins aux jeunes vont pouvoir être influencés par la disponibilité alimentaire. Par exemple, chez les traquets motteux (*Oenanthe oenanthe*) on observe une augmentation de la distance des vols de recherche alimentaire avec une augmentation de la dépense énergétique associée, dans les habitats présentant une disponibilité faible en nourriture. Cette différence de comportement entre des habitats riches ou pauvres conduit à une diminution de la survie des adultes en raison d'une augmentation de leur dépense énergétique (Low *et al.* 2010). Une disponibilité alimentaire élevée peut aussi diminuer l'investissement d'un des deux parents dans l'élevage des jeunes (Whittingham et Robertson 1994). Chez les espèces nidicoles, les variations de disponibilité alimentaire sont compensées par les parents qui augmentent l'intensité de recherche alimentaire ou changent de site de fourragement (Kosztolanyi *et al.* 2007). Chez les espèces nidifuges, les parents peuvent répondre à ces variations environnementales en conduisant les jeunes dans des habitats différents. Il a ainsi été montré chez le gravelot à collier interrompu (*Charadrius alexandrinus*) que les adultes qui conduisent leurs jeunes dans un habitat avec une disponibilité alimentaire importante ont un succès reproducteur supérieur et que les jeunes se développent plus vite (Kosztolanyi *et al.* 2007). Cependant, durant ces déplacements, la mortalité des poussins peut être importante en raison d'un risque de prédation élevé et d'une augmentation du risque de jeûne car les jeunes ont des réserves énergétiques très limitées. Néanmoins, la disponibilité alimentaire ne semble pas être le facteur le

plus important pour expliquer les variations entre les stratégies reproductrices chez les oiseaux (Martin 1995, Martin *et al.* 2000a).

Ainsi, il a été proposé que la prédation au nid soit la principale cause d'échec de reproduction et donc une force importante de sélection (Martin 1995). Chez les espèces nidicoles, au cours de l'incubation et de l'élevage des jeunes, l'activité des parents au niveau du nid peut alerter les prédateurs sur la localisation du nid (Martin *et al.* 2000a, Martin *et al.* 2000b, Eggers *et al.* 2005). Ainsi, si le risque de prédation pour le nid est important, les parents diminuent le nombre de visites au nid ou les répartissent au cours des périodes plus sûres et, pendant l'incubation, ils diminuent les périodes d'absence au nid (Conway et Martin 2000, Martin *et al.* 2000b, Eggers *et al.* 2005, Eggers *et al.* 2006, Eggers *et al.* 2008, Massaro *et al.* 2008) comme cela a été montré chez le mésangeai imitateur (Eggers *et al.* 2005, Eggers *et al.* 2006, Eggers *et al.* 2008). Chez ces derniers, afin de limiter le nombre de visites, il a été montré que les parents optimisent la quantité de nourriture transportée à chaque visite. Cette modification comportementale leur permet de réduire le risque de prédation mais leur succès reproducteur est plus faible que celui d'individus se reproduisant dans un habitat avec un risque de prédation faible. Il semble donc que cette réponse au risque de prédation ait un coût qui peut être une augmentation du risque de jeûne pour les poussins liés à la diminution du nombre de visites et à leurs irrégularités (Eggers *et al.* 2005, Eggers *et al.* 2006, Eggers *et al.* 2008). Cette diminution de l'activité en réponse au risque de prédation peut également entraîner un coût indirect pour les adultes en limitant leur propre acquisition de nourriture et celle de leurs jeunes (Verhulst *et al.* 2001, Fontaine et Martin 2006).

Un autre moyen de diminuer le risque de prédation est de surveiller ou de protéger le nid. Il a ainsi été mis en évidence qu'une augmentation du risque de prédation augmente l'intensité de ces comportements, mais ceux-ci diminuent le temps de recherche alimentaire (Komdeur et Kats 1999, Michl *et al.* 2000, Nordstrom *et al.* 2004). Komdeur et Kats (1999) ont ainsi montré que le mâle rousserolle des Seychelles (*Acrocephalus sechellensis*) ajuste sa durée de surveillance du nid selon la disponibilité alimentaire et le risque de prédation. Une augmentation de ces comportements permet de diminuer le risque de prédation des jeunes mais peut néanmoins

diminuer la probabilité de survie des adultes en les exposant à un risque de prédation plus important.

Chez les espèces nidifuges, le risque de prédation au cours de l'incubation peut être réduit en augmentant la présence au nid en réponse à ce risque comme chez l'oie empereur (*Chen canagica*) (Thompson et Raveling 1987) ou en synchronisant l'éclosion afin de limiter la durée d'incubation comme chez le canard colvert (*Anas platyrhynchos*) (Nilsson et Persson 2004). Chez les espèces nidifuges, au cours de la période d'élevage, les jeunes sont mobiles et donc soumis à un risque de prédation important. En présence d'un danger, dans la plupart des cas, les parents émettent un cri d'alarme et les jeunes répondent de manière différente selon les espèces soit en se regroupant près des parents, en se mettant à l'abri ou encore en restant complètement immobiles. De plus, chez certaines espèces, les parents défendent activement les jeunes ou feignent d'être blessés pour attirer l'attention sur eux (Afton et Paulus 1992). Enfin, en réponse à des événements de prédation il a été observé la mise en place de crèches collectives (Kear 1970, Eadie *et al.* 1988). Chez les espèces qui n'ont pas de comportements anti-prédateurs la formation de crèche peut diminuer le risque de prédation à travers un effet de dilution (Munro et Bédard 1977) et/ou par une augmentation de la détection des prédateurs (Eadie *et al.* 1988). En fait, la mise en place de ce comportement peut permettre aux femelles qui s'occupent de la surveillance des jeunes dans la crèche de diminuer leur durée individuelle de vigilance au profit de comportement de maintenance comme notamment la recherche alimentaire (Ost *et al.* 2002).

Il apparaît donc que la disponibilité alimentaire avant et au cours de la période de reproduction ainsi que le risque de prédation pendant cette période influencent la biologie de la reproduction des oiseaux aux différentes étapes de cette période. Face au risque de prédation ou à la perception de dérangement (Nisbet 2000), les oiseaux vont donc prendre des décisions quant à leur reproduction en fonction des coûts que ces facteurs leurs imposent afin d'assurer leur succès reproducteur et/ou leur survie et donc de maximiser leur fitness.

## 4. OBJECTIFS ET MODELES D'ETUDES

### 4.1 Objectifs

Nous avons vu que les risques de jeûne et de prédation peuvent influencer les stratégies d'histoires de vie des oiseaux. Ainsi, le compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation apparaît comme primordial chez les oiseaux (Van der Veen et Sivars 2000, MacLeod *et al.* 2007a). L'importance de ce compromis a été mise en évidence à la fois théoriquement et empiriquement, cependant, les principaux résultats proviennent uniquement d'études sur de petits passereaux (MacLeod *et al.* 2007a). **Par conséquent, le premier objectif de ce travail est de vérifier si les règles de gestion de ce compromis peuvent s'appliquer à des espèces ayant une masse corporelle plus importante que celle de passereaux afin de généraliser cette théorie à l'ensemble des oiseaux.**

Il a été mis en évidence que les passereaux répondent à ce compromis en ajustant leur masse corporelle et leur niveau de réserves énergétiques en fonction de l'importance relative de ces deux risques (Lima 1986, Witter et Cuthill 1993). Ces espèces possèdent des réserves énergétiques limitées qui ne leurs permettent pas de jeûner longtemps (Blem 1990). En revanche, les espèces avec une masse corporelle élevée peuvent stocker plus de réserves leur permettant de résister à des périodes de jeûnes plus longues (Cherel et Groscolas 1999). Dans ce travail, l'effet d'une augmentation du risque de prédation sur les variations de masse corporelle et de la consommation alimentaire a été étudié chez des espèces d'oiseaux ayant une masse corporelle au moins trois fois supérieure à celle des plus gros passereaux étudiés. **Le second objectif est par conséquent de déterminer l'effet des stratégies de gestion des réserves énergétiques sur ce compromis et d'évaluer les conséquences d'une augmentation du risque de prédation sur le niveau des réserves énergétiques et les capacités de vol chez des espèces accumulant des réserves énergétiques importantes.** Pour cela, l'effet d'une augmentation du risque de prédation sur la composition corporelle et sur la charge alaire a été mesuré. Nous faisons l'hypothèse qu'une augmentation du risque de prédation entraînerait une diminution plus importante de la masse corporelle chez les espèces de grande taille. De plus, cette diminution de la masse corporelle chez

ces dernières devrait davantage améliorer les capacités de vol du fait d'une marge de puissance de vol plus faible.

Les travaux menés chez les passereaux sur le compromis entre les risques de jeûne et de prédation concernent uniquement l'effet de ces facteurs sur la masse corporelle et les réserves énergétiques. Cependant, on peut supposer, comme nous l'avons vu, qu'une diminution des réserves énergétiques ainsi qu'une augmentation des rencontres avec un prédateur va influencer d'autres aspects de la biologie des oiseaux que ces aspects énergétiques. **Ainsi, le troisième objectif est de vérifier, à travers une approche intégrative, si et comment la gestion de ce compromis va affecter les différents aspects de la biologie des oiseaux.** Pour cela, parallèlement aux aspects énergétiques, l'effet d'une augmentation du risque de prédation a été étudié au niveau physiologique et comportemental. Ainsi, les effets sur le stress induit par cette augmentation du risque de prédation et ses effets éventuels sur le système immunitaire ont été déterminés. Les conséquences de cette augmentation ont également été analysées au niveau comportemental, à un niveau global sans se limiter uniquement à l'étude des comportements anti-prédateurs mais en considérant également les comportements de maintenance (sommeil, toilettage, alimentation) afin d'éviter certains biais (Lind et Cresswell 2005).

Enfin, nous avons vu que la prédation et la disponibilité alimentaire durant la reproduction peuvent affecter le succès reproducteur des oiseaux. Cependant, les études sur ce compromis ne se sont pas intéressées aux effets à long terme de la variation de ces risques au cours de l'hivernage. **En conséquence, le dernier objectif de cette thèse est de déterminer si la gestion du compromis entre les risques de jeûne et de prédation au cours de l'hivernage peut avoir des effets à long terme sur les différents aspects de la biologie des oiseaux.** Pour cela, un suivi de la reproduction au niveau hormonal et comportemental a été effectué et l'investissement dans la qualité des œufs a été évalué.



## 4.2 Choix des modèles d'études

Pour répondre à ces différents objectifs, les expériences ont été menées sur trois espèces d'Anatidés : le canard colvert (*Anas platyrhynchos*), la sarcelle d'hiver (*Anas crecca*) et le fuligule morillon (*Aythya fuligula*). Ces trois espèces ont tout d'abord été choisies car leur masse corporelle est 3 à 10 fois supérieure à celle des plus gros passereaux étudiés dans le cadre du compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation. De plus, elles constituent de plus grandes quantités de réserves énergétiques que les passereaux et ont une stratégie de gestion des réserves énergétiques différente de ces derniers. En effet, les passereaux vont stocker des réserves durant la journée et celle-ci seront en grande partie utilisées au cours de la nuit suivante. Par conséquent, le cycle journalier de variations de la masse corporelle, avec une augmentation journalière de 7 à 12% est d'une plus grande amplitude que le cycle d'engraissement hivernal avec une variation de masse corporelle de 2 à 8% (Haftorn 1989, Blem 1990). En revanche, sous nos latitudes, les Anatidés sont connus pour stocker des réserves corporelles en quantité plus élevée que nécessaire en début d'hiver afin d'anticiper les possibles périodes prolongée de vague de froid qui peuvent s'étendre sur plusieurs jours. De ce fait, les variations saisonnières de masse corporelle sont plus importantes chez ces espèces (de 5 à 20% Pattenden et Boag 1989, Loesch *et al.* 1992, Boos *et al.* 2007b) que chez les passereaux au cours du cycle d'engraissement hivernal. On peut supposer que les canards peuvent supporter une diminution plus importante de leur masse corporelle que les oiseaux de petite taille en réponse à une augmentation du risque de prédation, tout en maintenant une capacité à résister à un jeûne supérieure à celle des passereaux. De plus, les Anatidés font partie des familles d'oiseaux ayant une charge alaire parmi les plus élevées (Norberg 1996), un tel ajustement de la masse corporelle pourrait ainsi avoir des conséquences importantes sur la marge de puissance et, en conséquence, sur les performances de vol. On peut donc faire l'hypothèse que si le compromis entre les risques de jeûne et de prédation s'applique chez les canards, la réponse en termes de modification de la masse corporelle et/ou du comportement à la composante prédation de ce compromis sera plus importante que chez les passereaux. A l'inverse, chez ces derniers, la composante jeûne sera plus importante. Par conséquent, une augmentation du risque de prédation

devrait entraîner une diminution de masse plus importante chez les canards que chez les passereaux. Par ailleurs, les canards ont une écologie différente de celle des passereaux. Ils vivent dans des zones humides qui sont généralement des milieux ouverts ce qui les expose particulièrement à la prédation qu'elle soit d'origine terrestre ou aérienne (Sargeant *et al.* 1984, Owen et Black 1990, Del Hoyo *et al.* 1992, Tamisier et Dehorter 1999, Fritz *et al.* 2000, Dekker et Court 2003). Les canards apparaissent donc comme un modèle particulièrement intéressant pour étudier l'effet d'une augmentation du risque de prédation ou de dérangement. Enfin, les conditions environnementales que vont subir les canards durant l'hivernage influencent leur condition corporelle et plus tard, surtout au début de la période de reproduction, cet état des réserves, peut quant à lui influencer la reproduction et le succès reproducteur (Krapu 1981, Pattenden et Boag 1989, Guillemain *et al.* 2008). Le fait qu'une réduction de la condition corporelle puisse éventuellement affecter le futur succès reproducteur nous a conduit à étudier si une augmentation du risque de prédation au cours de la période d'hivernage et si les ajustements mis en place en réponse à l'augmentation de ce risque ont des effets à plus long terme.

L'étude de trois espèces permet également d'avoir une approche comparative qui autorise une généralisation plus importante des résultats, car elles diffèrent également entre elles dans leur fonctionnement écologique. Tout d'abord, du point de vue de l'écologie alimentaire, le canard colvert et la sarcelle d'hiver sont des canards de surface partiellement granivores alors que le fuligule morillon est un canard plongeur se nourrissant principalement d'items animaux (mollusques) riches en protéines. D'autre part, ces espèces n'ont pas la même taille structurale : le canard colvert est parmi les espèces les plus grandes alors que la sarcelle d'hiver est une des plus petites espèces d'Anatidés dans nos régions. Le fuligule morillon occupe une place intermédiaire. Ces différences permettront de déterminer si et comment ces facteurs liés à la biologie de l'espèce peuvent influencer la réponse à une augmentation du risque de prédation.

# **CHAPITRE 2 :**

# **MATERIEL ET METHODES**

"Tout grand progrès scientifique nait d'une  
nouvelle audace de l'imagination"

John Dewey

## 1. ANIMAUX ET CONDITIONS D'ÉLEVAGE

Les expériences ont été conduites sur trois espèces de canards : le canard colvert, la sarcelle d'hiver et le fuligule morillon. Les canards colvert provenaient du centre d'élevage de la Canarderie de la Ronde (Cère la Ronde, France). Les sarcelles d'hiver ont été fournies par le centre d'élevage Fauna Leroy (Westvleteren, Belgique). Les fuligules morillons sont issus du centre d'élevage "Les Canards de Mormal" (Jolimetz, France). Chez les canards colvert et les sarcelles d'hiver, trois groupes ont été formés alors que seuls deux groupes ont pu être mis en place chez les morillons en raison de difficultés d'approvisionnement en quantité suffisante. Chaque groupe était composé de 14 individus (7 femelles et 7 mâles) et chaque individu était identifié avec une bague de couleur en Sellotape® placée autour d'une patte. Les groupes étaient maintenus dans des volières extérieures d'une surface de 100 m<sup>2</sup> (20 x 5), d'une hauteur de 2,5 m et étaient soumis à la température ambiante et à la photopériode naturelle. Les volières étaient situées dans un parc jouxtant le laboratoire et protégées des prédateurs par une clôture électrique. Les volières étaient à 10-15 m l'une de l'autre et séparées par une barrière opaque pour éviter les contacts visuels entre les groupes (Figure 5). Chaque volière contenait un bassin de 4 m<sup>2</sup> de surface et d'une profondeur de 60 cm alimenté avec de l'eau courante (Figure 5). Une nourriture commerciale équilibrée (nourriture standard pour canard 7751, Sanders) était fournie *ad libitum*. Un complément enrichi en protéines (Teurlings premium pour canard) était aussi procuré *ad libitum* aux morillons en raison de leur régime alimentaire spécifique. La nourriture était dans des bacs placés sur une bâche de 2 x 2 m afin de pouvoir récupérer la nourriture éparpillée hors des bacs (Figure 5). Chacune des trois espèces a eu une période d'acclimatation d'au moins un mois à ces conditions. Les mêmes volières ont été utilisées pour les trois espèces, année après année.



Figure 5 : Photos de la disposition des 3 volières expérimentales et de leur agencement.

## 2. METHODOLOGIE GENERALE

Les expériences se sont déroulées sur une période de trois ans à raison d'une espèce par an en commençant par les canards colvert suivis des sarcelles d'hiver puis par les fuligules morillons. Le même protocole a été appliqué aux trois espèces avec 4 sessions de dérangement au cours de la période d'hivernage. Le déroulement de la reproduction a également été suivi.

### 2.1 Dérangement

Le risque de prédation perçu a été augmenté chez les trois espèces en les soumettant à un dérangement qui déclenche chez les animaux une réponse identique à celle manifestée face à un prédateur naturel (Frid et Dill 2002). Deux groupes de canards colvert et de sarcelles d'hiver et un groupe de morillons ont été dérangés durant une semaine quatre fois au cours de l'hiver et avant la nidification. Les sessions de dérangement étaient séparées entre elles d'environ un mois et demi (Tableau 1).

Tableau 1 : Dates (jj/mm/aa) de début et de fin des quatre sessions de dérangement pour chaque dérangé chez les canards colvert, les sarcelles d'hiver et les morillons.

		session 1		session 2		session 3		session 4	
		début	fin	début	fin	début	fin	début	fin
colverts	G1	29/09/06	06/10/06	22/11/06	28/11/06	04/01/07	10/01/07	07/03/07	13/03/07
	G2	07/10/06	13/10/06	29/11/06	05/12/06	11/01/07	17/01/07	14/03/07	20/03/07
sarcelles	G1	14/11/07	20/11/07	04/01/08	10/01/08	13/02/08	19/02/08	09/04/08	15/04/08
	G2	21/11/07	27/11/07	11/01/08	17/01/08	20/02/08	26/02/08	16/04/08	22/04/08
morillons	G2	26/11/08	02/12/08	10/01/09	16/01/09	18/02/09	24/02/09	16/04/09	22/04/09

Chez les canards colvert et les sarcelles d'hiver, le groupe 1 (G1) était dérangé durant 15 minutes deux fois par matinée. Chez les trois espèces, le groupe 2 (G2) était dérangé durant 15 minutes quatre fois par matinée. Les phases de dérangement avaient lieu aléatoirement entre 8h et 11h. Le dérangement chez G2 commençait le jour suivant la fin de celui de G1. Dans chaque espèce, un groupe considéré comme groupe témoin (GT) n'était pas dérangé. Les canards étaient dérangés à l'aide d'une voiture télécommandée (E-Zilla FWD Hot-bodies™) qui était dirigée vers les canards à vitesse élevée jusqu'à ce qu'ils décollent. Après le décollage, les expérimentateurs attendaient que les canards se posent, puis les rassemblaient en manœuvrant le véhicule et les faisaient décoller à

nouveau. Cette procédure était répétée durant chaque phase de dérangement. Cette méthode est la plus efficace pour entraîner un décollage simultané de tous les oiseaux du groupe afin d'induire une réaction identique à celle exprimée face à un prédateur, notamment car cela permettait d'effectuer des manœuvres brusques. Par ailleurs, nous cherchions à éviter que la source de dérangement ou de prédation puisse être confondue avec un expérimentateur d'autant que ce dernier même vêtu différemment intervenait chaque soir pour remplacer la nourriture. Enfin, nous voulions éviter que l'élément stressant puisse être confondu avec tout évènement de dérangement (individu humain notamment) qu'un canard aurait pu rencontrer au cours de son développement post-natal, sachant que l'expérience face à une source de prédation ou de dérangement durant le développement peut induire des réponses différentes au stress (Romero 2004). Tout au long des expériences, aucun canard n'a été heurté par la voiture. Les expérimentations ont été conduites suivant la charte de bien-être animal du CNRS relative à l'expérimentation animale. Au cours des phases de dérangement, deux expérimentateurs étaient situés près de la volière, l'un pour piloter le véhicule stressant et l'autre pour compter le nombre de décollage de chaque individu. Le dérangement dans un groupe ne modifiait pas le comportement des autres groupes grâce aux barrières opaques. Chaque volière était surveillée toute la nuit avec une caméra à vision nocturne pour s'assurer que les canards n'étaient pas dérangés par des facteurs externes.

## **2.2 Pesée, charge alaire et prélèvement de sang**

Les canards des groupes dérangés étaient capturés avec un filet et pesés ( $\pm 1$  g) dans une pièce à proximité des volières le jour précédant le début du dérangement de chaque session, 4 jours après le début et le dernier jour, immédiatement après la fin de la dernière phase de dérangement. Les animaux du groupe contrôle étaient pesés à la même fréquence que les groupes dérangés.

La surface alaire des oiseaux a été déterminée à partir du contour de chacune des ailes étendue, dessinée sur papier et ensuite numérisée, en utilisant le logiciel Sigma-Scan (version 5.0). La surface alaire totale correspond à la somme de l'aire des deux ailes. La charge alaire ( $\text{g.cm}^{-2}$ ) a été calculée en divisant la masse corporelle par la surface alaire totale.

Au moment de la capture le jour précédent le début du dérangement et le dernier jour de dérangement, du sang était prélevé sur chaque canard au niveau de la veine brachiale. Quatre ml de sang étaient prélevés chez les canards colvert. Ce volume a été réduit à 2 ml chez les sarcelles d'hiver et les morillons en raison de leur plus petite taille, ce qui représente pour chaque espèce un équivalent de 4-6 % du volume sanguin total. Dans chaque groupe, les femelles étaient prélevées en premier dans un ordre aléatoire entre 5 et 40 min après la capture et les prises de sang étaient ensuite effectuées chez les mâles avec le dernier prélèvement achevé entre 90 et 100 min après la capture. Le sang était immédiatement transféré dans un tube hépariné et conservé dans de la glace pillée jusqu'à ce qu'il soit centrifugé pendant 10 min à 3500 tours par minute. Les échantillons de sang étaient ensuite conservés à -20 °C jusqu'à leur analyse. Une partie du sang était transférée dans deux capillaires de 100 µl qui servaient de niveau de référence en isotopes stables pour la détermination de la composition corporelle et/ou de la dépense énergétique et, une autre partie dans deux capillaires à hématocrite. Ensuite, de l'eau enrichie en isotopes stables était injectée aux femelles après que la dose a été calculée en fonction de leur masse corporelle. Environ une heure après cette injection deux capillaires de sang étaient à nouveau prélevés chez les canes afin de déterminer l'enrichissement en deutérium et ou en  $^{18}\text{O}$  à l'équilibre. Les capillaires scellés étaient conservés au réfrigérateur jusqu'à leur analyse. Les capillaires à hématocrite étaient centrifugés pendant 10 min à 15000 rpm et l'hématocrite des individus était déterminé en faisant le rapport globules rouges sur sang total.

### **2.3 Consommation alimentaire**

La consommation alimentaire journalière de chaque groupe a été mesurée la semaine précédant le dérangement, pendant le dérangement et la semaine suivante pour chaque session. Tous les jours à 18h30, nous donnions 2 kg d'aliments chez les canards colvert, 1 kg chez les sarcelles d'hiver et 0.8 kg chez les morillons de nourriture fraîche déshydratée standard ainsi que 0.8 kg de complément chez les morillons. La nourriture restante des 24 h précédentes était retirée préalablement au nouvel apport et la nourriture renversée était ramassée. La nourriture donnée et récupérée dans

les bacs était déshydratée après étuvage pendant 24h à 40 °C pour éviter les erreurs d'estimation de la consommation alimentaire liées à des modifications de masse liées à des variations du contenu en eau, puis pesée

## **2.4 Observations comportementales**

Chaque groupe dérangé a été observé au cours de la semaine précédant le dérangement, la semaine de dérangement et la semaine suivant le dérangement à chaque session. Le groupe témoin était observé de la même façon au cours de ces périodes. Les observations avaient lieu tous les jours entre 11h30 et 17h sauf les jours de capture. Chaque individu était observé par la méthode d'échantillonnage par individu (*focal animal sampling*) durant 30 min par semaine (Altmann 1974). Le jour et l'heure d'observation des individus étaient déterminés par semi-randomisation pour éviter que le même canard soit observé le même jour à la même heure chaque semaine dans les 4 sessions. L'observateur (CZ) était placé à quelques mètres sous un abri (petite tente verte) disposée de façon identique à côté de chacune des volières. Les canards ont été habitués pendant deux semaines à la présence de l'observateur avant le début des expériences. Pour mesurer le budget-temps des individus, les durées de 8 comportements ont été enregistrées avec un chronomètre et la fréquence des comportements a été relevée. Les unités comportementales ont été divisées en 6 catégories différentes :

- recherche alimentaire : prendre des items alimentaires dans l'eau, sur le sol ou dans les bacs de nourriture
- comportements de vigilance : comportements d'alerte : le canard lève ou incline la tête avec le cou tendu. "Immobile, éveillé, debout" : le canard reste debout sans bouger à surveiller les environs. "Immobile, éveillé, couché" : le canard est couché sans bouger et surveille les environs.
- toilettage : nettoyage du plumage avec le bec ou immersion de la tête et du cou suivi d'un redressement rapide du corps pour s'asperger le dos.



- sommeil : la tête est placée sur le côté avec le bec en dessous des scapulaires ou la tête est penchée vers l'avant avec le bec posé sur le poitrail.
- Fréquence de coups d'œil : nombre d'ouverture d'un œil par individu au cours des périodes de sommeil.
- Autres comportements : locomotion : marche et vol,  
nage : déplacement dans l'eau.

## 2.5 Suivi de la reproduction

La reproduction a uniquement été suivie chez les canards colvert et les sarcelles car il n'y pas eu de reproduction chez les morillons probablement en raison des conditions de captivité (aucun œuf pondu chez aucune des femelles quel que soit le groupe). Chez ces deux premières espèces les œufs pondus pendant la dernière session de dérangement ont été ramassés et pesés puis conservés au congélateur (-20 °C) afin de déterminer leur contenu énergétique. Cette détermination a été effectuée avec une bombe calorimétrique adiabatique en utilisant de l'acide benzoïque comme standard.

A la fin de la dernière session de dérangement, des nids artificiels ont été placés dans les trois volières. L'évolution de la taille des couvées a été suivie jusqu'à ce que les femelles débutent l'incubation. A l'éclosion, la femelle et ses canetons étaient capturés. Une prise de sang était effectuée sur la femelle avant qu'elle ne soit pesée. Les jeunes étaient également pesés et la taille des tarse et du bec était déterminée à l'aide d'un pied à coulisse ( $\pm 0,1$  mm). Les canetons étaient ensuite marqués avec une bague de la même couleur que leur mère. Cette procédure était répétée tous les 10 jours pour chaque femelle et ses canetons jusqu'à la fin de la période de reproduction (début septembre). Le sang prélevé chez les femelles était ensuite centrifugé pendant 10 min à 3500 rpm et les échantillons de plasma conservés à -20 °C jusqu'à leur analyse. Les mesures prises chez les canetons ont permis d'évaluer leur vitesse de croissance.

Le comportement d'attention parentale des femelles qui avaient des canetons a été suivi. Pour cela, chaque femelle et ses canetons étaient filmés avec une caméra une heure par jour, trois

fois par semaine. L'observateur (CZ) était placé au même endroit que lors des observations effectuées au cours de l'hiver, au moment des sessions de dérangement. A partir des vidéos, la fréquence des comportements de vigilance (comportements d'alerte, immobile éveillé debout et immobile éveillé couché) et des comportements de maintenance (recherche alimentaire, sommeil, toilettage, locomotion et déplacement) étaient relevés par la méthode d'échantillonnage instantané (*scan sampling*) toutes les 2 minutes (Altmann 1974). Le leadership et les interactions agressives (évitement et coup de bec) de la cane et des canetons étaient relevés à chaque occurrence (*all-occurrence sampling*) (Altmann 1974). La durée de regroupement des canetons était relevée par la méthode d'échantillonnage par individu. Les canetons étaient considérés comme regroupés lorsque la distance entre eux était inférieure à 50 cm sinon ils étaient considérés comme dispersés. Les observations ont été effectuées jusqu'à ce que les canetons soient âgés de 7 semaines soit 2 semaines après la fin de la période d'élevage.

### **3. ANALYSE DES ECHANTILLONS**

#### **3.1 Hormones et facteurs immunitaires**

Différentes analyses ont été effectuées à partir des échantillons de plasma recueillis avant et après chacune des phases de dérangement et au cours de la reproduction. Sur les premiers, les niveaux de corticostérone, d'immunoglobuline Y (IgY), d'anticorps naturels (NAbs), d'hormones sexuelles (testostérone chez les mâles et œstradiol chez les femelles) et de métabolites plasmatiques (glucose, acide urique, triglycérides et acides gras libres) ont été déterminés. A partir des échantillons obtenus au cours de la reproduction, la concentration en prolactine circulante a été mesurée.

La concentration en corticostérone, testostérone et œstradiol a été déterminée par une méthode immunoenzymatique (dosage ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*)) sur le principe de compétition quantitative. Les dosages ont été effectués avec des kits commerciaux (corticostérone : AssayPro, AssayMax Corticosterone ELISA Kit, EC3001-1, testostérone totale :

Genway, Testosterone Enzyme Immunoassay Test kit, testostérone libre : Genway, Testosterone-free kit ELISA, œstradiol : Œstradiol E2-EASIA kit ELISA).

Le dosage des IgY plasmatiques permet d'estimer la réponse immunitaire à médiation humorale globale car ce sont les protéines plasmatiques les plus importantes impliquées dans cette réponse (Roitt *et al.* 2001). Ce dosage a été aussi effectué par méthode ELISA. Cette méthode utilise des anticorps commerciaux anti-poulet qui ont déjà été validés chez différentes espèces d'oiseaux (Martinez *et al.* 2003) dont des Anatidés (voir Bourgeon *et al.* 2006b) pour le protocole détaillé). La dilution du plasma nécessaire chez le canard colvert était connue (1/16000<sup>e</sup>) mais il a fallu déterminer celle appropriée chez les deux autres espèces afin de pouvoir appliquer le protocole. Pour la sarcelle, la dilution est de 1/12000<sup>e</sup> alors que chez le morillon elle est identique à celle du colvert (1/16000<sup>e</sup>).

Le niveau plasmatique de NAbs a été déterminé par un test d'hémagglutination. Les tests ont été effectués dans des plaques 96 puits en utilisant 50 µl de plasma pour chaque individu en suivant le protocole proposé par Matson *et al.* (2005). Vingt cinq µl de plasma étaient placés dans les colonnes 1 et 2 de la plaque puis ils étaient dilués en série (1/2) avec du tampon phosphate salin (PBS ; Sigma-Aldrich, France) de la colonne 2 jusqu'à 11. La colonne 12 était utilisée comme témoin négatif et ne contenait que du PBS. Ensuite, 25 µl d'une suspension de globules rouges de lapin à 1 % (RBCs) étaient ajoutés dans chaque puits avant que la plaque ne soit mise à incuber pendant 90 min à 37 °C. La RBCs était conservée dans une solution d'Alsever (Sigma-Aldrich, France) à 50 % et était lavée 4 fois avec du PBS comme décrit par Matson *et al.* (2005). L'hématocrite était vérifié en utilisant des capillaires à hématocrite et la RBCs était ajustée afin d'obtenir une concentration finale en cellules de 1 % dans du PBS. A la fin de l'incubation, la plaque était inclinée avec un angle de 45° durant 20 min à température ambiante afin de faciliter la visualisation de l'agglutination. Puis une photo de chaque plaque était prise et le score d'agglutination pour chaque individu était déterminé. Ce score reflète uniquement le niveau d'anticorps naturels (Matson *et al.* 2005). Cependant, comme le plasma a été dilué en série, le score de NAbs ne détermine pas directement la concentration plasmatique en NAbs.

Les niveaux plasmatiques de prolactine ont été mesurés en suivant la méthode de Guemene *et al.* (1994), à partir de 200 µl de plasma. La prolactine recombinante de dinde (rctPRL) utilisée pour l'iodation et comme standard a été fournie par le Dr. A. F. Parlow (National Hormone and Peptide Program, Harbor-UCLA Medical Center, Torrance, CA). Les échantillons sont incubés avec des anticorps de lapin anti rctPRL (dilution finale : 1/1000) pendant 24h à 4 °C. Le jour suivant, 15000 cpm de [<sup>125</sup>I] rctPRL sont ajoutés et les tubes sont mis à incuber pour 24h supplémentaires à 4 °C. Le troisième jour, des anticorps secondaires de chèvre anti-immunoglobulines de lapin (dilution finale : 1/1000) sont ajoutés et les tubes sont mis à incuber pendant 48h à 4 °C. Après dilution dans 1 ml de tampon phosphate (PBS), les immuno-complexes sont précipités par centrifugation à 3000 g pendant 30 minutes. Ils sont ensuite rincés une fois avec 1 ml de PBS et l'intensité de la radioactivité est déterminée à l'aide d'un compteur gamma. La concentration en prolactine (en ng.ml<sup>-1</sup>) des échantillons est calculée en utilisant une équation dose-réponse sigmoïdale à pente variable (GraphPad Prism version 4.03, GraphPad Software, San Diego, CA). Chaque dosage a été effectué en double. Les coefficients de variations intra- et inter-essais sont respectivement égaux à 5.8 % et à 0.5 %. Ces dosages ont été effectués au Département de Science Animale et Avicole de l'Université de Guelph (Canada), sous la direction du Pr. Gregoy Bedecarrats

## **3.2 Composition corporelle et dépense énergétique**

### *3.2.1 Estimation de la composition corporelle par dilution isotopique*

La dilution isotopique est une méthode de détermination de la composition corporelle *in vivo* non invasive qui permet ainsi un suivi longitudinal de l'état des réserves énergétiques. Elle est basée sur la détermination de la quantité d'eau corporelle de l'individu à partir d'eau marquée avec des isotopes stables (deutérium pour l'hydrogène, <sup>18</sup>O pour l'oxygène). Pour cela, une quantité précise d'eau marquée (pesée à ±10<sup>-4</sup> g) est injectée dans l'animal. Une fois que l'équilibre avec l'eau corporelle est atteint (1h00 à 1h30 selon nos tests), un second prélèvement de sang est effectué afin de pouvoir déterminer la concentration en isotopes de l'eau corporelle. Par calcul en tenant compte du niveau basal d'isotopes contenus naturellement dans l'organisme, on en déduit la

quantité totale d'eau contenu dans l'animal (Speakman 2001). Habituellement, en connaissant la masse corporelle de l'animal et la quantité d'eau corporelle totale et sachant que cette eau est quasi exclusivement dans la masse maigre, il est possible de calculer la masse de lipides à partir de la corrélation négative entre la quantité de lipides et celle de l'eau ou via la relation linéaire positive entre la masse sèche (masse corporelle - masse d'eau corporelle totale) et la masse de lipides. Toutefois, nous avons utilisé une méthode d'estimation plus précise et spécifique à chaque espèce en déterminant sur un groupe supplémentaire ( $n > 10$  pour chaque espèce) la relation entre les masses de lipides quantifiés par voie biochimiques (méthode modifiée de Folch ou par extraction à l'éther de pétrole) et la quantité d'eau corporelle estimées par la dilution isotopique.

Dans l'article suivant, l'application de cette méthode pour quantifier l'état de réserves énergétiques chez le canard colvert et la sarcelle a été validée. Les équations permettant de déterminer le niveau de réserves corporelles ont été déterminées à partir de régression entre les quantités de réserves énergétiques mesurées de façon biochimique et les données obtenues par dilution isotopique (Mata *et al.* 2006).

Concernant les morillons, les équations ont été déterminées de la même façon. L'équation pour calculer la masse de lipides de réserve est  $Y = 0.787 \text{ DMTOT } (^2\text{H}_2\text{O}) - 0.362 \text{ TBW } (^2\text{H}_2\text{O}) - 17.781$  ( $r^2 = 0.94$ ,  $\text{SE} = 7.44 \text{ g}$ ,  $\text{RE} = 13 \%$ ). L'équation pour calculer la masse de protéines totale est  $Y = 0.281 \text{ TBW } (^2\text{H}_2\text{O}) + 8.537$  ( $r^2 = 0.68$ ,  $\text{SE} = 6.15$ ,  $\text{RE} = 6 \%$ ).  $\text{DMTOT } (^2\text{H}_2\text{O})$  correspond à la masse sèche totale déterminée par dilution isotopique et  $\text{TBW } (^2\text{H}_2\text{O})$  à la masse d'eau corporelle totale déterminée par dilution isotopique.  $r^2$  est le coefficient de corrélation de la régression,  $\text{SE}$  est l'erreur standard en gramme et  $\text{RE}$  correspond à l'erreur relative.

### 3.2.2 Estimation de la dépense énergétique

La dépense énergétique totale a été estimée au cours d'une période de deux jours par la méthode de l'eau doublement marquée ( $^2\text{H}_2^{18}\text{O}$ ) (Schoeller *et al.* 1986). La dépense énergétique a été mesurée chez les femelles des trois espèces au cours de la session de dérangement de janvier, période correspondant généralement aux contraintes énergétiques les plus importantes. Lors de la

capture précédant le dérangement, du sang était prélevé et conservé dans un capillaire scellé pour déterminer l'enrichissement naturel en isotope. Ensuite, une dose d'eau doublement marquée égale à 0,69 g d'eau doublement marquée par kg estimé d'eau corporelle était injectée aux femelles. Environ 1h15 après cette injection, un second prélèvement dit "à l'équilibre" était fait et un dernier prélèvement deux jours après (durée maximale à laquelle l'eau enrichie n'est pas totalement éliminée dans l'organisme). Le sang était conservé dans des capillaires scellés jusqu'à analyse par spectrométrie de masse. A partir des résultats de spectrométrie de masse, la production de CO<sub>2</sub> est calculée selon la méthode proposée par Speakman (1997) et convertie en dépense énergétique totale grâce à l'équation Wier en utilisant un quotient alimentaire calculé à partir de la proportion en macronutriments du régime alimentaire et corrigé pour la perte de masse au cours des deux jours (voir article 5).

## **Article 1**

### **Comparison of two non-invasive methods to estimate body lipids in ducks.**

Zimmer Cédric<sup>1</sup>, Boos Mathieu<sup>2</sup>, Schricke Vincent<sup>3</sup>, Groscolas René<sup>1</sup> and Robin Jean-Patrice<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, Département Ecologie Physiologie et Ethologie, UMR 7178 CNRS/Université de Strasbourg; 23 rue Becquerel, 67087 Strasbourg Cedex 2, France

<sup>2</sup> Naturaconst@, Research Agency in Applied Ecology, 14 rue principale, 67270 Wilshausen, France

<sup>3</sup> Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage, 53, rue de Russeil, 44000 Nantes, France

Corresponding author: Cédric Zimmer

E-mail address: [cedric.zimmer@c-strasbourg.fr](mailto:cedric.zimmer@c-strasbourg.fr)

Phone number: +33 388106911

Fax number: +33 388106906

## Abstract

Determining the amount of an individual's body nutrient stores, especially lipids, is necessary for a better understanding of demographic processes in wildlife. It explains the increasing development of indirect methods to assess body lipids *in vivo*. However most of these methods are based on indirect estimation of lipids from data derived from the lean mass. In this study we aimed to check the validity and efficiency of the direct *in vivo* assessment of lipid stores from the measurement of fat cell diameter and to compare it with *in vivo* and postmortem indirect methods, i.e. isotope dilution, and data from freeze-drying. We examined body composition of 22 mallards and 20 common teals by these methods. Assessment of body nutrient stores in ducks can be significantly improved by fat cell size measurement or labeled water dilution as compared with body mass. However, estimating lipids from parameters directly related to body fat do not seem to improve significantly the reliability of the index. Nevertheless, each method presents specific constraints in the collection and analysis of the data. For example, to obtain a fat pad sample from the abdominal cavity needs a surgical intervention with the risk of health injuries whereas injection of stable isotope and blood sampling to determine body water mass is less invasive. It may also provide better estimates, the reliability being nevertheless species-dependent.

Keywords: body reserves, body composition, isotopic dilution, adipocyte, mallard, teal

## Introduction

Close interrelations between the body condition (or level of energy reserves) of an animal and its behaviour have already been demonstrated (Weller 1988; Robin et al. 1998). In birds, including Anatidae, the wintering period is generally characterized by a previous fat storing (Reinecke et al. 1982; Miller 1986; Smith and Sheeley 1993). Foraging strategy, i.e. habitat utilisation and choice of foraging area, may be dependent of the animal's energy reserves level



and of its nutritional needs (Jorde et al. 1984). These reserves depended from resources availability and of individual energy expenditure, both being modulated by ecosystem carrying capacity, by meteorological data and, potentially, by anthropogenic factors. Finally, the level of energy reserves acts directly on the animal's survival capacities and subsequently can influence population dynamics, such as during a prolonged starvation induced by exceptional harsh cold spells (Dobinson and Richards 1964; Harrison and Hudson 1964). Considering these interrelations, it appears crucial to determine the level of body reserves at the individual and population levels to improve the conservation goals especially among the anatidae.

Some studies aimed to understand the link between energy reserves and wintering strategies of Anatidae populations. They were essentially based on the analysis of killed individuals' body composition by direct methods based on biochemical analyses or on body composition indices using body mass corrected by body size indices (e.g. Owen and Cook 1977; Whyte et al. 1986; Heitmeyer 1988; Pawlina et al. 1993; Rhodes and Smith 1993; Boos et al. 2002; Ballard et al. 2006; Rhodes et al. 2006). Classic biochemical methods are costly, tedious and time-consuming and are generally restricted to a limited number of individuals. On the other hand, non validated body condition indices using body mass generally lack in precision to accurately distinguishing body lipids from body proteins amounts (Boos et al. 2000, Green 2001). Nevertheless, determining how birds store and build down body lipids and proteins is essential for understanding Anatidae individual behavioural strategies in detail. Different non invasive techniques like visual examination of subcutaneous adipose deposits distribution (fat scoring), imaging techniques (MRI), cyclopropane absorption, measurement of adipose deposit thickness by ultrasound scanning, determination of body water by TOBEC or by isotopic water dilution method were widely used to determine birds' body condition (Baldassarre et al. 1980; Groscolas et al. 1991; Skagen et al. 1993; Conway et al. 1994; Mata-Betancourt 2001; Rogers 2003). However, there are some differences between these techniques. Firstly, some of them are easier to apply on the field like fat scoring or weighing whereas others seemed to be more

difficult to use like MRI or cyclopropane absorption (Gessaman 1999). Secondly, lean mass was directly measured by these techniques whereas lipids mass was estimated by difference. Indeed, their precision in body fat reserves assessment is very variable, in some case less powerful than simply weighing the bird (Walsberg 1988; Krementz and Pendleton 1990; Gessaman 1999; Boos et al. 2000; Robin et al. 2002). Fat scoring method is fast and relatively easy to apply on the field for an experienced experimenter. The accuracy of estimation can be considered high in passerine birds (Kaiser 1993) but this technique can involve important biases between observers and its precision is species' dependant (Krementz and Pendleton 1990; Kaiser 1993). In ducks, such a method seems to be less reliable and suitable particularly because of the difficulty to assess subcutaneous fat thickness (Rogers 2003, Boos unpublished data).

The first objective of this methodological study was to check the validity and the efficiency of an *in vivo* direct method for assessment of lipid stores, the measurement of fat cells volume (Pond 1978). The second objective was to compare this method with two indirect methods, the isotopic water dilution non invasive method which is also an *in vivo* method and freeze-drying which was a post mortem method.

## Materials and methods

### Animals

Mallards (12 males and 10 females) and common teals (10 males and 10 females) from two registered breeding field stations ("La Canarderie de la Ronde" and "La Ferme de Beaumont", France) were kept in captivity in 20 m<sup>2</sup> enclosures in the Department of Ecology, Physiology and Ethology between March 2004 and January 2005. The animals were subjected to ambient temperature and photoperiod. A balanced commercial food for ducks (Sanders Corporation) and clear running water were provided *ad libitum*.

Experimentations on animals took place during the non-breeding season between September and March in order to consider a wide range of adiposity, knowing that Anatidae reached their maximum fattening degree between mi-December and mi-January.

#### Body water determination by isotopic water dilution

Immediately after catching, the bird was weighed ( $\pm 1$  g) and blood ( $<1$  ml) was taken from the brachial vein. The blood was stored in glass capillaries and flame-sealed before placing them in the fridge ( $+ 3$  °C) until isotopic analysis. This blood sample allowed measuring the basal and natural body water enrichment in deuterium. Immediately after blood sampling, birds were intraperitoneally injected with a 99.9 % deuterium solution ( $^2\text{H}_2\text{O}$ ) (Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA, USA) using 0.3 ml insulin syringes. The volume of deuterium injected was 0.15 mg for 1 kg of body water. The mass of body water was estimated at about 60% of the body mass of the bird. The actual mass of injected solution was determined by weighing each syringe before and after the injection to the nearest 0.1 mg. Preliminary tests showed that the equilibrium between injected water and body water was reached between 45 minutes and 1 hour 30 minutes (stable enrichment in deuterium). Thus blood samples called at equilibrium were performed between 1 hour and 1 hour 15 minutes after injection. Like the initial blood sample, the blood was stored inside flame-sealed glass capillaries in fridge until analysis by mass spectrometry.

Isotope  $^2\text{H}$  enrichment was measured in body water after cryodistillation of the blood. 0.1 $\mu\text{l}$  of the treated samples was injected in an elemental analyzer (Flash HT, ThermoFisher) connected to a continuous flow isotope ratio mass spectrometer (Delta V, ThermoFisher). Samples were reduced to  $\text{H}_2$  and CO at 1400°C on glassy carbon.  $\text{H}_2$  and CO were further separated at 104°C on a GC column before analysis of deuterium abundances. The results were scaled using two laboratory standards. Analyses were performed in quadruplicate and repeated if the SD exceeded 2 ‰.

Total Body Water (TBW, g) was calculated from the following equation:  $TBW = (\alpha * M_i / E) / 1.041$  where  $\alpha$  is the constant of the deuterium solution,  $M_i$  corresponds to the actual mass (g) of solution injected and  $E$  is the enrichment ( $\delta$  ‰) that is equal to difference between the enrichment at the equilibrium and the basal enrichment. Dry body mass was calculated by subtracting TBW to the total body mass.

### Measure of adipocytes volume

Using adipocytes volume as an indicator of lipid reserves mass was based on the principle that the mass of lipids contained in adipose tissues was equal to the product of adipocyte number in the tissue by the average lipid content of an adipocyte. Lipid content of an adipocyte, which can be compared to a sphere exclusively filled with lipids, was a direct function of its volume. Furthermore, it is generally assumed that adipocyte number in adipose deposit remains constant even strong variations of its mass, at least in natural fattening situations and that when fattening occurs it is the volume and not the number of adipocytes that increases (Booth et al. 1974; Mrosovsky et al. 1987; Dark et al. 1989). In these conditions, adipocyte volume variations should directly reflect lipid content variations in the tissue. However, this relation can depend of the tissue localization (Pond et al. 1984). Therefore, in this study adipocytes volume was determined in the two main fat pads in Anatidae: the subcutaneous and intra-abdominal adipose tissues.

After blood sampling, the bird was weighed again and then sacrificed. The blood lost during sacrifice was weighed. Two samples (about 0.2 g) of abdominal adipose tissue and subcutaneous adipose tissue were taken. According to Rodbell (1964), they were placed in a micro-tube containing a buffer solution (4% of bovine albumin at neutral pH) and collagenase (about 10 mg). Tubes were then placed in a shaking water bath at 36-37 °C during 1h15 in order to isolate fat cells. Cells were taken with a micro pipette and placed in a solution of physiological serum. Cells were observed with an optic microscope ( $\times 100$ ) equipped with a

camera and then photographed (figure 1). Photos were printed on paper for an easier visual examination. Diameter of cells was measured with a graduated ruler, reading error being lower than 0.5 mm that corresponded to 2  $\mu\text{m}$ . Cell volume was calculated according to the formula for sphere:  $\text{volume} = 4/3 \times \Pi \times (\text{diameter}/2)^3$ .

#### Dissection and biochemical analysis of the body composition

##### Determination of body water and lean mass by freeze-drying.

After sacrifice, birds were plucked and weighed ( $\pm 0.1$  g). The abdominal adipose deposit was dissected and weighed ( $\pm 0.1$  g) and then replaced in the carcass. Likewise, the gizzard and intestine content was removed from these organs and weighed ( $\pm 0.1$  g). The carcass (bird without feathers and without digestive tract content) was freeze-dried until constant dry mass. TBW mass was obtained by difference between fresh body mass (minus feathers and digestive tract content plus lost blood during sacrifice) and dry mass. Total dry mass was calculated by subtracting total water mass from the intact body mass of the animal in order to be close to field conditions when only intact body mass and body water obtained by isotopic water dilution can be determined. It is useful to know animal dry mass for estimate adipose reserves level with precision (Boos 2000).

##### Determination of body lipids reserves

To obtain a fine and homogeneous powder for analysis, freeze-dried carcasses were ground under liquid nitrogen two times.

Lipids were extracted from a 1g dry mass aliquot using 30 ml petroleum ether (Miller 1986). After 12 hours shaking, the petroleum ether and body lipid reserves solution was filtrated and separated from the lipid free part. Twice again, the remaining lipids were extracted from the previous "delipided" part in the same way. Then, after vacuum solvent evaporation, extracted lipids were determined by weighing ( $\pm 1$  mg). For each bird, body lipids reserves of a second

carcass sample were determined. When the difference in lipids content between the duplicates was lower than 4 %, the final value was the mean between the two values. Otherwise, a third analysis was made and the final value was taken as the mean of the two nearest values.

## Statistics

A preliminary analysis made on the measure of 300 fat cells showed that the measure of 50 cells randomly chosen was enough for estimating cells mean volume of an adipose deposit. For this study, all measurable cells were considered ( $n > 50$ ). For the 42 birds, about 480 cells of both adipose tissues were measured by bird. To take into consideration the distribution of the cells size, for each tissue two values were kept for characterizing adipocytes volume, the mean volume and the median volume. Values were expressed in  $\mu\text{m}^3$ .

A stepwise forward multiple regression procedure (Sigmastat, version 3) was used to estimate body lipids reserves (dependent variable). Only independent variables that contributed significantly ( $p < 0.05$ ) to explain the variation of the dependant variable were selected by regression analysis. An examination of residuals was performed to check the homogeneity of the variance and the linearity between the independent variable and each dependant variables of the model. Only equations for which multicollinearity between independent variables was low (VIF  $< 4$ ) were considered. According to Perdeck (1984), the standard and relative errors of estimate of the models were indicated. Errors between the two models were compared using the comparison test of variances (one-tailed). Means are  $\pm$  SE.

## Results

### Mallards

#### Global body composition

Intact body mass and body lipid reserves varied in a wide range between individuals. Mean intact body mass and body lipid reserves were respectively  $1069 \pm 53$  g and  $153.1 \pm 35.9$  g for

males and  $1028 \pm 43$  g and  $184.3 \pm 33.2$  g for female. Adiposity (body lipid/body mass, %) was highly variable, values ranging from 5 to 33 % in both sexes (Table 1). Mean adipocyte volume of intra-abdominal and subcutaneous adipose tissues was respectively  $305.2 \pm 165.6 \cdot 10^3 \mu\text{m}^3$  and  $158.3 \pm 83.3 \cdot 10^3 \mu\text{m}^3$  for males and  $399.7 \pm 214.3 \cdot 10^3 \mu\text{m}^3$  and  $297.3 \pm 104.0 \cdot 10^3 \mu\text{m}^3$  for females (Table 1). Inter-individual variability in adipocytes volume was high with a coefficient of variation between 70 and 180 %. Mean total body water determined by freeze-drying and by isotopic water dilution was respectively  $571.3 \pm 16.1$  g and  $601.3 \pm 16.4$  g for males and  $548.7 \pm 18.6$  g and  $577.8 \pm 19.3$  g for females (Table 1). Total body water estimated by isotopic water dilution was 3 % higher compared to values obtained by freeze-drying.

#### Estimation of body lipids

##### Intact Body Mass (IBM)

In both sexes, variation in lipids mass explained by IBM was only 75 %. Standard error was 56.9 g and relative error 34 % (Eqn L1, Table 2). At individual level, errors of estimate may reach 100%.

##### Adipocytes volume

Median adipocytes volume of intra-abdominal adipose tissue (Med\_Vol IAAT) alone explained 78 % of total lipid mass variation (Eqn L2, Table 2) but standard and relative errors were not improved ( $p > 0.05$ ) compared to IBM equation. Median adipocytes volume of intra-abdominal adipose tissue and intact body mass in combination explained 88 % of the lipid mass variation with a significant decrease in the error of estimate as compared to Eqn L1 (Eqn L3, Table 2). Although the coefficient of determination was increased in Eqn L3, standard error was not significantly improved as compared to median adipocytes volume of intra-abdominal adipose tissue alone (Eqn L2). Compared to the intra-abdominal tissue, the median or mean adipocytes

volume of subcutaneous adipose tissue didn't contribute significantly to explain the variation of total lipids mass.

### Total Body Water

Dry body mass (DBM) alone, obtained by freeze-drying or by isotopic water dilution, was highly correlated ( $r^2 > 0.94$ ) with total body lipids mass (Eqn L4 and L4', Table 2). Furthermore, dry body mass in combination with total body water mass highly improved the lipids mass assessment and were the most powerful lipid indices ( $r^2 > 0.96$ ; Eqn L5 and L5', Table 2). Only for freeze-drying method, the sex variable significantly contributed to explain more than 99 % of body lipid reserves variation (relative error = 5.4 %) but without adding any significant accuracy compared to the previous models (Eqn L6, Table 2).

Adiposity was highly correlated with the body water percent content for the two methods (freeze drying method:  $r^2 = 0.98$ , Eqn L7; isotopic water dilution method:  $r^2 = 0.93$ , Eqn L7', Table 2).

### Common teals

#### Global body composition

Like in mallards, intact body mass and body lipid reserves were highly variable between individuals. Mean intact body mass and body lipids mass were  $322 \pm 19$  g and  $52.1 \pm 13.6$  g for males and  $302 \pm 12.0$  g and  $50.5 \pm 12.9$  g for females. Adiposity was also highly variable ranging from 6.5 and 41 % in both sexes (Table 1). Mean volume of adipocytes from the intra-abdominal and subcutaneous fatty tissues was respectively  $76.8 \pm 18.7 \cdot 10^3 \mu\text{m}^3$  and  $250.0 \pm 121.8 \cdot 10^3 \mu\text{m}^3$  for males and  $224.8 \pm 53.6 \cdot 10^3 \mu\text{m}^3$  and  $208.4 \pm 53.9 \cdot 10^3 \mu\text{m}^3$  for females (Table 1). Total body water determined by freeze-drying and by isotopic water dilution was respectively  $176.1 \pm 5.1$  g and  $180.8 \pm 6.2$  g for males and  $161.0 \pm 6.4$  g and  $166.7 \pm 4.5$  g for females (Table 1). Total body water estimated by isotopic water dilution was on average 3 % higher compared to the values obtained by freeze-drying.



## Estimation of body lipids

### Intact Body Mass (IBM)

Intact body mass alone explained 80 % of body lipids mass with a standard error of 18.2 g and a relative error of 35.5 % (Eqn L1, Table 3). As in mallards, error can reach 100 % at individual level.

### Adipocytes volume

Mean adipocytes volume of the intra-abdominal adipose tissue (MEAN\_VOL IAAT) in combination with intact body mass explained 89 % of body lipids mass variation with a standard error of 13.4 g and a relative error of 26.1 % (Eqn L2, Table 3). Standard errors were significantly reduced compared to Eqn L1. Compared to the abdominal fat pad, median or mean adipocytes volume of subcutaneous adipose tissue did not significantly contribute to explain the variation of total lipid mass.

### Total Body Water

In teals, dry body mass was the only factor that significantly contributed to explain body lipids mass variation. Dry body mass determined by isotopic water dilution method explained 86 % of body lipids mass variation with a standard error of 15.4 g and a relative error of 29.9 % (Eqn L3', Table 3). Dry body mass determined by freeze-drying method was more strongly correlated ( $r^2 = 0.97$ ) with total lipid mass and standard error was significantly reduced (Eqn L3, Table 3). Adiposity was highly correlated ( $r^2 = 0.89$ ) with body water content determined by freeze-drying method (Eqn L4, Table 3) but the correlation was less powerful ( $r^2 = 0.63$ ) with the water estimated by the isotopic dilution method (Eqn L4', Table 3).

## Discussion

Body composition analysis in mallards and common teals revealed that body mass and body fat reserves can vary in a wide range among captive strained individuals. On average, body masses of studied animals were close to the values obtained among wild animals (Fox et al. 1992; Boos et al. 2000). However, maximum body masses in teals and body lipids masses in the two species were extraordinarily high. Particularly, adiposity reaching 33 % in mallards and 41 % in teals is largely higher to the values recorded in these species under free-living conditions for which the relative part of lipid reserves does not exceed 30 % of the body mass (Pawlina et al. 1993; Boos et al. 2002, Boos unpublished data). In our experimental conditions, easy access to industrial food provided *ad libitum*, with no predation pressure and limitation of energetically costly locomotor activities (fly was impossible) can explain a fattening superior from 10 to 30 % compared to natural situations. In fact, in free living conditions, storing too much lipids than is necessary involves a cost for transport, manoeuvrability and predator avoidance. Consequently, it is suggested that the level of body reserves is regulated according to the starvation-predation risk trade-off (Lima 1986; Houston and McNamara 1993; Witter and Cuthill 1993, Zimmer et al. in press). Moreover, proteins used as a source of energy during a prolonged fasting are optimally spared when fat mass at the onset of the fast do exceed 20 % of the body mass, (Cherel and Groscolas 1999).

The mass of total body water estimated by isotopic water dilution was on average 3 % higher than the value obtained by freeze-drying. This rate of total body water overestimation was in accordance with the values reported by Degen et al. (1981). This difference was probably due to the fact that a part of injected deuterium was trapped in non aqueous compartments like proteins leading to a decrease in the equilibrium concentration and thus to an overestimation of the total body water mass. In addition, total body water mass determination by freeze-drying can be slightly underestimated because of the loss of a part of the water during carcass preparation for grinding.

Body mass alone involves relative high errors of estimate and should not be used to assess the level of body lipid reserves. Globally, body lipid reserves were best estimated when explanatory variables corresponded to a further analysis of the carcass. Interestingly, the adipocyte volume of abdominal adipose tissue contributed more to explain body lipids variations than subcutaneous adipose tissue, whereas the latter represent about 80 % of the total adipose mass of the animal (Boos 2000). In a great number of Anatidae species, the importance of abdominal adipose tissue in lipids reserves estimation was largely emphasized. Alone or in combination with other variables, it allows a significantly more precise estimation of the body lipids reserves than body mass alone (Bailey 1979; Piersma 1984; Gauthier and Bedard 1985; Boos et al. 2000; DeVault et al. 2003). In the same way, dry and water body masses allow generally to obtain a more precise estimation of body lipids (Piersma 1984; Boos et al. 2000).

Total body water masses obtained by freeze-drying and isotopic water dilution were more strongly correlated in mallards than in teals. In the latter, the dispersion of the points was significantly more important in females than in males. This could be related to the degree of hydration (Gessaman 1999), teals had a relative water content 4 % higher than in mallards ( $p = 0.03$ ), or to differences in metabolism or water turnover between the two species and between sexes in teals. Handlings of both species were made identically and the same protocol was respected, so it does not seem that handling errors at injection or at blood sampling could explain this intra- and inter-specific difference of correlation between water obtained by freeze-drying and by isotopic water dilution. Subsequently, estimation of dry body mass determined by subtracting total body water from intact body mass was less accurate in teals than in mallards. Consequently, dry body mass determined by isotopic water dilution explained only 86 % of body lipids variation so a lower value than this obtained by freeze drying (97 %).

Both non invasive methods based on adipocyte volume and water determination by isotopic dilution were applicable on field and they allowed improving significantly the precision of body lipid reserves estimation based on the simple weighing of animal. Weighing is

associated to a great error margin because, particularly at the individual level, body mass can vary according to compartments different from energy reserves such as changes in body water mass associated to proteins, feather mass and digestive tract content.

Although, each method improved the precision of body lipid reserves estimation, both have advantages and drawbacks. Measure of cell volume implies to make a puncture in the skin at the abdominal level under the wishbone. This operation can be made by local anaesthesia of the incising zone. The sampling of a little fragment of adipose tissue did not seem traumatizing, but it is necessary to suture the skin. So, although it is non-destructive it remains invasive and possibly more stress full than blood sampling. Furthermore, it has to be followed by a specific technique of conservation and preparation of the cells in laboratory. Such an operation is less likely to be repeated on the same bird in the short time (less than one week) unless the first incision has cicatrized. Another procedure was tested too, a biopsy (Biopsipunch), but this method did not appear to be more efficient or less traumatizing compared to incising.

Overall, injection of water enriched in deuterium seems to be the method with the best trade-off between precision gain in body reserves assessment and its use in the field. However, this method requires maintaining the animal in captivity during at least one hour and both blood samplings during this period can be stressful for the animal. Nevertheless, since this operation is harmless and non-invasive it can be repeated within a few days. The estimation method of body composition by isotopic dilution is widely used on wild animals (Groscolas et al. 1991; Gessaman 1999). However, its validity and notably the relations between water content (or dry mass) and energy reserves have to be verified for each species (Gessaman 1999).

The two non-destructive methods used in this study on captive ducks add a significant gain in body reserves estimation notably for fat stores compared to the one based on body mass determination, at the population scale and more specifically at the individual level. When comparing both methods, isotopic water dilution is the most powerful and easy to use and the

costs of analysis are relatively restricted. It also allows to monitor changes of body condition on a same individual at different periods and thus to properly understand individual wintering strategies. However, because of the possible differences in regression coefficients between species and populations, it seems necessary to develop specific estimation models and, at least, by differentiating the non-breeding and breeding seasons assuming that the biological processes of annual cycle can lead to important modifications of body composition (e.g. variation of adiposity, of muscular mass and water content, reproductive organs development).

#### Acknowledgement

This study was funded by the Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage. We thank Alexandre Zahariev for the analysis of mass spectrometry.

#### References

- Bailey RO (1979) Methods of estimating total lipid-content in the redhead duck (*Aythya americana*) and an evaluation of condition indexes. *Can J Zool* 57 (9):1830-1833
- Baldassarre GA, Whyte RJ, Bolen EG (1980) Use of ultrasonic sound to estimate body fat depots in the mallard. *Prairie Nat* 12:79-86
- Ballard BM, Thompson JE, Petrie MJ (2006) Carcass composition and digestive-tract dynamics of northern pintails wintering along the lower Texas coast. *J Wildl Manag* 70 (5):1316-1324
- Boos M (2000) Modification des réserves énergétiques corporelles du canard colvert (*Anas platyrhynchos*) et de la bécasse des bois (*Scolopax rusticola*) au cours de leur hivernage : Aspects fonctionnels liés à la biologie de ces espèces et aux conditions du milieu. Dissertation, Université Louis Pasteur, Strasbourg

- Boos M, Zorn T, Koch A, Le Maho Y, Robin J-P (2000) Determining body fuels of wintering mallards. L'estimation des lipides et protéines corporels du canard colvert en hivernage. C R Acad Sci Life Sci 323 (2):183-193
- Boos M, Zorn T, Le Maho Y, Groscolas R, Robin JP (2002) Sex differences in body composition of wintering mallards (*Anas platyrhynchos*): Possible implications for survival and reproductive performance. Bird Study 49:212-218
- Booth MA, Booth MJ, Taylor AW (1974) Rat fat cell size and number with exercise training, detraining and weight loss. Fed Proc 33 (8):1959-1963
- Cherel Y, Groscolas R Relationships between nutrient storage and nutrient utilisation in long-term fasting birds and mammals. In: Adams NJ, Slotow RH (eds) In: Adams, N. J. and Slotow, R. H. (eds) Proceedings of the 22nd International Ornithological Congress, Durban: 17-34, 1999. Johannesburg: BirdLife South Africa, pp 17-34
- Conway CJ, Eddleman WR, Simpson KL (1994) Evaluation of lipid indexes of the wood-thrush. Condor 96 (3):783-790
- Dark J, Stern JS, Zucker I (1989) Adipose-tissue dynamics during cyclic weight-loss and weight-gain of ground-squirrels. Am J Physiol 256 (6):R1286-R1292
- Degen AA, Pinshow B, Alkon PU, Arnon H (1981) Tritiated-water for estimating total-body water and water turnover rate in birds. J Appl Physiol 51 (5):1183-1188
- DeVault TL, Rhodes OE, Smith LM (2003) Condition indices for wintering american wigeon. Wildl Soc Bull 31 (4):1132-1137
- Dobinson HM, Richards AJ (1964) The effects of the severe winter of 1962/63 on birds in britain. Br Birds 57:373-433
- Fox AD, King R, Watkin J (1992) Seasonal-variation in weight, body measurements and condition of free-living teal. Bird Study 39:53-62
- Gauthier G, Bedard J (1985) Fat reserves and condition indexes in greater snow geese. Can J Zool 63 (2):331-333

- Gessaman JA (1999) Evaluation of some nonlethal methods of estimating avian body fat and lean mass. In: Adams NJaS, R. H. (ed) In: Adams, N. J. and Slotow, R. H. (eds) Proceedings of the 22nd International Ornithological Congress, Durban: 2-16, 1999. Johannesburg: BirdLife South Africa, pp 2-16
- Green AJ (2001) Mass/length residuals: Measures of body condition or generators of spurious results? Ecology 82 (5):1473-1483
- Groscolas R, Schreiber L, Morin F (1991) The use of tritiated-water to determine protein and lipid utilization in fasting birds: a validation-study in incubating great-winged petrels, *Pterodroma macroptera*. Physiol Zool 64 (5):1217-1233
- Harrison J, Hudson M (1964) Some effects of severe weather on wildfowl in kent in 1962-63. Wildfowl Trust Annual Report 15:23-26
- Heitmeyer ME (1988) Body-composition of female mallards in winter in relation to annual cycle events. Condor 90 (3):669-680
- Houston AI, McNamara JM (1993) A theoretical investigation of the fat reserves and mortality levels of small birds in winter. Ornis Scand 24 (3):205-219
- Jorde DG, Krapu GL, Crawford RD, Hay MA (1984) Effects of weather on habitat selection and behavior of mallards wintering in nebraska. Condor 86 (3):258-265
- Kaiser A (1993) A new multi-category classification of subcutaneous fat deposits of songbirds. J Field Ornithol 64 (2):246-255
- Krementz DG, Pendleton GW (1990) Fat scoring - sources of variability. Condor 92 (2):500-507
- Lima SL (1986) Predation risk and unpredictable feeding conditions: Determinants of body-mass in birds. Ecology 67 (2):377-385
- Mata-Betancourt A (2001) Stratégie énergétique hivernale de la cigogne blanche (*Ciconia ciconia*). Dissertation, Université Louis Pasteur, Strasbourg

- Miller MR (1986) Northern pintail body condition during wet and dry winters in the Sacramento-Valley, California. *J Wildl Manag* 50 (2):189-198
- Mrosovsky N, Nash P, Faust IM (1987) Protection against fat-cell hyperplasia in a hibernator, *Glis glis*. *Am J Physiol* 253 (4):R580-R586
- Owen M, Cook WA (1977) Variations in body-weight, wing length and condition of mallard *Anas platyrhynchos platyrhynchos* and their relationship to environmental changes. *J Zool* 183:377-395
- Pawlina IM, Boag DA, Robinson FE (1993) Population-structure and changes in body-mass and composition of mallards (*Anas platyrhynchos*) wintering in edmonton, alberta. *Can J Zool* 71 (11):2275-2281
- Piersma T (1984) Estimating energy reserves of great crested grebes *podiceps-cristatus* on the basis of body dimensions. *Ardea* 72 (1):119-126
- Pond CM (1978) Morphological aspects and ecological and mechanical consequences of fat deposition in wild vertebrates. *Annu Rev Ecol Syst* 9:519-570
- Pond CM, Mattacks CA, Sadler D (1984) The effects of food restriction and exercise on site-specific differences in adipocyte volume and adipose-tissue cellularity in the guinea-pig .1. Superficial and intra-abdominal sites. *Br J Nutr* 51 (3):415-424
- Reinecke KJ, Stone TL, Owen RB (1982) Seasonal carcass composition and energy-balance of female black ducks in maine. *Condor* 84 (4):420-426
- Rhodes OE, Smith LM (1993) Relationships between genetic variation and carcass components in wintering american wigeons. *Auk* 110 (2):354-360
- Rhodes OE, DeVault TL, Smith LM (2006) Seasonal variation in carcass composition of american wigeon wintering in the southern high plains. *J Field Ornithol* 77 (2):220-228.
- Robin JP, Boucontet L, Chillet P, Groscolas R (1998) Behavioral changes in fasting emperor penguins: Evidence for a "Refeeding signal" Linked to a metabolic shift. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 43 (3):R746-R753



- Robin JP, Heitz A, Le Maho Y, Lignon J (2002) Physical limitations of the tobec method - accuracy and long-term stability. *Physiol Behav* 75 (1-2):105-118
- Rodbell M (1964) Metabolism of isolated fat cells. I. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. *J Biol Chem* 239 (2):375-380
- Rogers CM (2003) New and continuing issues with using visible fat classes to estimate fat stores of birds. *J Avian Biol* 34 (2):129-133
- Skagen SK, Knopf FL, Cade BS (1993) Estimation of lipids and lean mass of migrating sandpipers. *Condor* 95 (4):944-956
- Smith LM, Sheeley DG (1993) Factors affecting condition of northern pintails wintering in the southern high-plains. *J Wildl Manag* 57 (1):62-71
- Walsberg GE (1988) Evaluation of a nondestructive method for determining fat stores in small birds and mammals. *Physiol Zool* 61 (2):153-159
- Weller MW (ed) (1988) *Waterfowl in winter*. University of Minnesota Press, Minneapolis
- Whyte RJ, Baldassarre GA, Bolen EG (1986) Winter condition of mallards on the southern high-plains of Texas. *J Wildl Manag* 50 (1):52-57
- Witter MS, Cuthill IC (1993) The ecological costs of avian fat storage. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 340 (1291):73-92
- Zimmer C, Boos M, Petit O, Robin J-P (in press) Body mass variations in disturbed mallards fit to the mass-dependent starvation-predation risk trade-off. *J Avian Biol*

Table 1: Mean ( $\pm$  SE) body mass (g), body lipids (g) and relative body lipids content determined by biochemical analysis, total body water (TBW, g) determined by freeze-drying and isotopic dilution and adipocyte volume ( $\mu\text{m}^3$ ) in the intra-abdominal adipose tissue (IAAT) and in the subcutaneous adipose tissue (SCAT) males and females mallard and teal. Minimum and maximum values are provided for body mass and body lipids.

	Body mass, g	Body lipids, g	Body lipids, %	Freeze-drying TBW, g	Isotopic dilution TBW, g	Adipocyte vol. IAAT, $10^3 \cdot \mu\text{m}^3$	Adipocyte vol. SCAT, $10^3 \cdot \mu\text{m}^3$
Mallards ♂ (n=12)	1069 $\pm$ 53 869 – 1448	153.1 $\pm$ 35.9 45.3 – 400.1	13.4 $\pm$ 2.5 5.1 – 27.6	571.3 $\pm$ 16.1	601.3 $\pm$ 16.4	305.2 $\pm$ 165.6	158.3 $\pm$ 83.3
Mallards ♀ (n=10)	1028 $\pm$ 43 797 – 1318	184.3 $\pm$ 33.2 72.2 – 429.8	17.4 $\pm$ 2.4 7.5 – 32.6	548.7 $\pm$ 18.6	577.8 $\pm$ 19.3	399.7 $\pm$ 214.3	297.3 $\pm$ 104.0
Teals ♂ (n=10)	322 $\pm$ 19 270 – 463	52.1 $\pm$ 13.6 18.0 – 163.0	14.9 $\pm$ 2.7 6.6 – 35.2	176.1 $\pm$ 5.1	180.8 $\pm$ 6.2	76.8 $\pm$ 18.7	250.0 $\pm$ 121.8
Teals ♀ (n=10)	302 $\pm$ 12 260-391	50.5 $\pm$ 12.9 17.8 – 160.3	15.7 $\pm$ 3.1 6.5 – 41.0	161.0 $\pm$ 6.4	166.7 $\pm$ 4.5	224.8 $\pm$ 53.6	208.4 $\pm$ 53.9

Table 2: Equations for body lipids mass estimation for the different methods in mallards. For each equation the correlation coefficient, the p-value of the regression, the standard error and the relative error were provided.

Methods	Equations		r <sup>2</sup>	p	SE, g	RE, %
Adipocytes volume	$Y = 0,602 \times \mathbf{IBM} - 455.350$	Eqn L1	0.75	<0.001	56.9 <sup>a</sup>	34.0
	$Y = 0.00178 \times \mathbf{MED\_VOL IAAT} + 67.145$	Eqn L2	0.78	<0.001	53.3 <sup>a,b</sup>	31.9
	$Y = 0.323 \times \mathbf{IBM} + 0.00107 \times \mathbf{MED\_VOL TAA} - 226.760$	Eqn L3	0.88	<0.001	40.4 <sup>b</sup>	24.1
TBW, g	$Y = 0.858 \times \mathbf{DMTOT} - 239.34$	Eqn L4	0.95	<0.0001	25.5 <sup>c</sup>	15.2
	$Y = 0.822 \times \mathbf{DMTOT} (^2\mathbf{H}_2\mathbf{O}) - 197.842$	Eqn L4'	0.94	<0.0001	28.0 <sup>c</sup>	16.7
	$Y = 0.959 \times \mathbf{DMTOT} - 0.459 \times \mathbf{TBW} - 29.864$	Eqn L5	0.99	<0.0001	11.1 <sup>d</sup>	6.6
	$Y = 0.867 \times \mathbf{DMTOT} (^2\mathbf{H}_2\mathbf{O}) - 0.279 \times \mathbf{TBW} (^2\mathbf{H}_2\mathbf{O}) - 53.183$	Eqn L5'	0.96	<0.0001	23.8 <sup>c</sup>	14.2
	$Y = 0.950 \times \mathbf{DMTOT} - 0.425 \times \mathbf{TBW} + 12.760 \times \mathbf{SEX} - 50.224$	Eqn L6	0.99	<0.0001	9.2 <sup>d</sup>	5.4
TBW, %	$\% \mathbf{LIPIDS} = -1.459 \times \% \mathbf{TBW} + 1.136 \times \mathbf{SEX} + 94.721$	Eqn L7	0.98	<0.0001	1.0 %	6.6
	$\% \mathbf{LIPIDS} = -1.261 \times \% \mathbf{TBW} (^2\mathbf{H}_2\mathbf{O}) + 88.090$	Eqn L7'	0.93	<0.0001	2.2 %	14.5

IBM = intact body mass, MED\_VOL TAA = median adipocyte volume of the intra-abdominal adipose tissue, DMTOT = total body dry mass determined by freeze-drying, DMTOT (<sup>2</sup>H<sub>2</sub>O) = total body dry mass determined by isotopic dilution, TBW = total body water mass determined by freeze-drying, TBW (<sup>2</sup>H<sub>2</sub>O) = total body water mass determined by isotopic dilution, % LIPIDS = (body lipids mass / IBM) x 100, % TBW = (TBW mass determined by freeze-drying / IBM) x 100, TBW (<sup>2</sup>H<sub>2</sub>O) = (TBW mass determined by isotopic dilution / IBM) x 100. Different letters indicate significant differences.

Table 3: Equations for body lipids mass estimation for the different methods in teals. For each equation the correlation coefficient, the p-value of the regression, the standard error and the relative error were provided.

Methods	Equations		r <sup>2</sup>	P	SE, g	RE, %
Adipocyte volume	$Y = 0.738 \times \mathbf{IBM} - 179.290$	Eqn L1	0.80	<0.001	18.2 <sup>a</sup>	35.5
	$Y = 0.646 \times \mathbf{IBM} + 0.000091 \times \mathbf{MEAN\_VOL IAAT} - 164.148$	Eqn L2	0.89	<0.001	13.4 <sup>b</sup>	26.1
TBW, g	$Y = 0.835 \times \mathbf{DMTOT} - 68.659$	Eqn L3	0.97	<0.0001	7.0 <sup>c</sup>	13.6
	$Y = 0.774 \times \mathbf{DMTOT} (^2\mathbf{H}_2\mathbf{O}) - 55.791$	Eqn L3'	0.86	<0.001	15.4 <sup>a, b</sup>	29.9
TBW, %	$\% \mathbf{LIPIDS} = -1.113 \times \% \mathbf{TBW} + 76.350$	Eqn L4	0.89	<0.001	2.9 %	18.7
	$\% \mathbf{LIPIDS} = -0.839 \times \% \mathbf{TBW} (^2\mathbf{H}_2\mathbf{O}) + 62.781$	Eqn L4'	0.63	<0.001	5.4 %	34.8

IBM = intact body mass, MEAN\_VOL TAA = mean adipocyte volume of the intra-abdominal adipose tissue, DMTOT = total body dry mass determined by freeze-drying, DMTOT (<sup>2</sup>H<sub>2</sub>O) = total body dry mass determined by isotopic dilution, % LIPIDS = (body lipids mass / IBM) x 100, % TBW = (TBW mass determined by freeze-drying / IBM) x 100, TBW (<sup>2</sup>H<sub>2</sub>O) = (TBW mass determined by isotopic dilution / IBM) x 100. Different letters indicate significant differences.

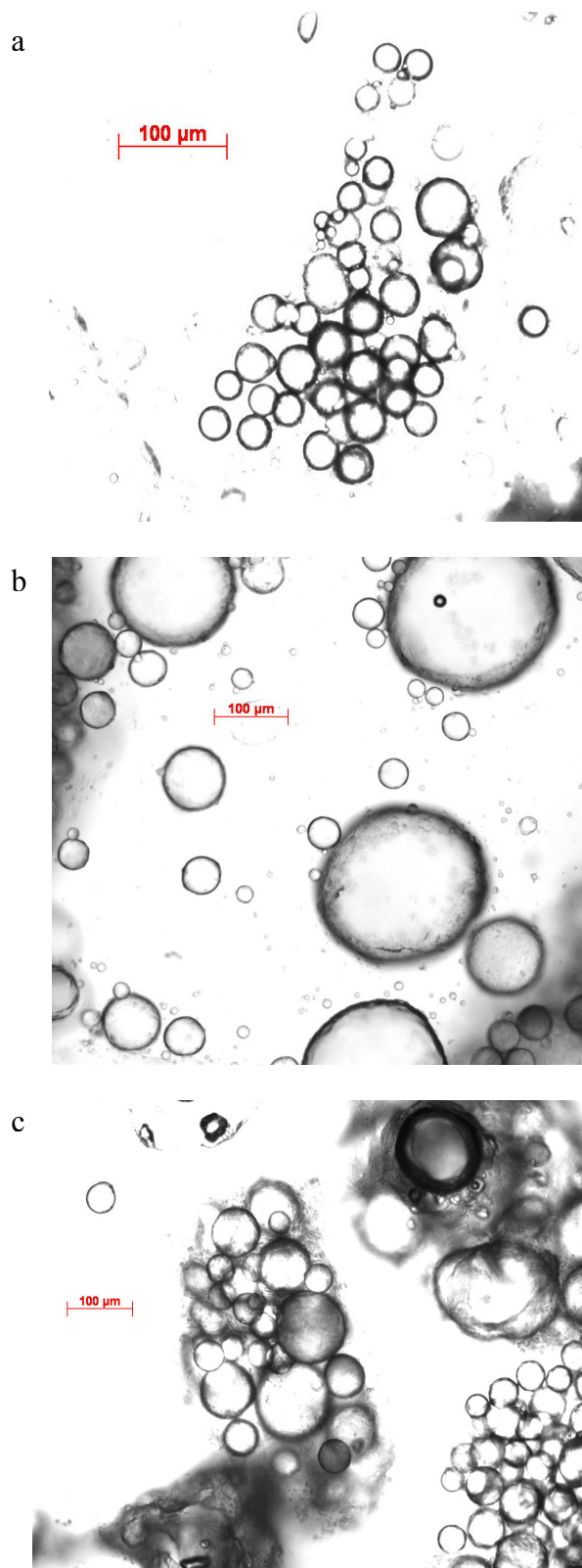


Figure 1: Photos of adipocytes after isolation with collagenase. Photos a and b correspond to the subcutaneous adipose tissue of two teals with different levels of body lipids. Photo c corresponds to intra-abdominal adipose tissue of the teal of photo b.



# **CHAPITRE 3 : EFFETS DE L'AUGMENTATION DU RISQUE DE PREDATION AU NIVEAU ENERGETIQUE**

---

"Un scientifique ne peut et ne doit jamais répondre qu'en fonction d'un savoir donné, des éléments dont il dispose, en traduisant sa réponse en terme de probabilités."

Jean-Pierre Petit

## **1. AJUSTEMENTS DE LA MASSE CORPORELLE ET DE LA CHARGE ALAIRE**

Nous avons vu que le compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation est un compromis important chez les oiseaux (MacLeod 2006, MacLeod *et al.* 2007a). Il est basé sur le fait que stocker des réserves énergétiques est avantageux pour répondre à des situations de déséquilibre énergétiques (augmentation de la dépense énergétique lié au froid et/ou restriction alimentaire) tant que cet avantage est supérieur aux coûts induits par une augmentation de la masse corporelle telles que l'élévation de la dépense énergétique et de la vulnérabilité à la prédation (Lima 1986, Houston *et al.* 1993, Witter et Cuthill 1993). Ainsi, lorsque le risque de prédation augmente les individus devraient maintenir leur masse corporelle au niveau le plus bas possible ce qui permet de réduire la durée d'exposition aux prédateurs et d'améliorer les capacités de vol (Houston et McNamara 1993, Houston *et al.* 1993, Witter et Cuthill 1993, Witter *et al.* 1994, Brodin 2001). Il a ainsi été montré chez différentes espèces de passereaux qu'ils régulent leur masse corporelle en fonction du risque de prédation perçu (Gosler *et al.* 1995, Lilliendahl 1997, Cresswell 1998, Gentle et Gosler 2001, Kullberg *et al.* 2005, MacLeod *et al.* 2005a, MacLeod *et al.* 2005b, MacLeod 2006). Cependant, les résultats expérimentaux concernant ce compromis proviennent uniquement d'expériences menées chez des espèces dont la masse n'excède pas 150 g (Cresswell 1998, MacLeod *et al.* 2005a, MacLeod *et al.* 2007a) et la question d'un effet du risque de prédation chez des oiseaux de taille plus importante n'a pas été abordée. On peut supposer que le risque de jeûne au cours de l'hivernage va être plus important pour des passereaux qui stockent peu de réserves énergétiques par rapport à des espèces plus corpulentes et aux réserves plus importantes dans l'absolu. A l'inverse, les variations de masse devraient avoir un effet plus important sur les performances de vol chez ces dernières en raison d'une marge de puissance plus faible (Norberg 1996) ce qui à priori les expose davantage au risque de prédation.

De plus, au cours de la période de reproduction, le risque de prédation augmente (Magnhagen 1991). Durant la reproduction, la masse des oiseaux augmente (Moreno 1989) ce qui peut affecter les performances de vol particulièrement chez les femelles en raison de la formation



et/ou du transport des œufs (Lee *et al.* 1996, Veasey *et al.* 2001, Kullberg *et al.* 2002a, Kullberg *et al.* 2002b).

Ainsi, le premier objectif de travail est de vérifier si le compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation peut s'appliquer chez des espèces ayant une masse corporelle au moins trois fois supérieure à celle des plus gros passereaux étudiés et en corollaire, ayant des réserves corporelles plus importantes. De plus, il a été vérifié si l'entrée en reproduction influence la réponse à ce compromis en raison de contraintes différentes. Pour cela trois espèces de canards ont été étudiées. Elles ont une stratégie de gestion des réserves énergétiques différente de celle des passereaux avec des variations saisonnières importantes et, en regard, des variations journalières limitées. Le risque de prédation perçu a été augmenté chez les trois espèces en dérangeant les canards avec une voiture télécommandée pendant une semaine et cela quatre fois au cours de la période d'hivernage, la dernière session de dérangement s'étant déroulée juste avant la ponte. Un groupe n'était pas dérangé et servait de témoin. Les canards étaient pesés avant et après la période de dérangement et leur charge alaire déterminée. De plus, la consommation alimentaire journalière était suivie.

Les articles 2 et 3 traitent respectivement de l'application du compromis entre les risques de jeûne et de prédation au cours de l'hiver chez le colvert puis chez les sarcelles et les morillons. Enfin, l'article 4 traite de l'effet de l'entrée en période de reproduction sur la réponse à ce compromis.



## **Article 2**

Body mass variations in disturbed mallards fit to the mass-dependent starvation-predation risk trade-off

Cédric Zimmer, Mathieu Boos, Odile Petit and Jean-Patrice Robin

C. Zimmer, O. Petit and J-P. Robin, Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, Département Ecologie Physiologie et Ethologie, UMR 7178 CNRS/UDS; 23 rue Becquerel, 67087 Strasbourg Cedex 2, France

M. Boos, Naturaconst@, Research Agency in Applied Ecology, 14 rue principale, 67270 Wilshausen, France

Corresponding author: Cédric Zimmer

E-mail address: cedric.zimmer@c-strasbourg.fr

## Abstract

For passerines the starvation-predation risk theory predicts that birds should decrease their body mass to improve escape flight performance, when predation pressure increases. To investigate whether this theory may apply to large birds, which manage body reserves differently from small passerines, we experimentally increased the predation risk in mallards (*Anas platyrhynchos*). Two groups were disturbed at different frequencies during experimental sessions lasting one week, while a control group was left undisturbed. We found that body mass loss and final wing loading were similar in both disturbed groups and significantly differed from the control group. Food intake in disturbed groups was reduced up to day four of the disturbance session and was lower than in the control group. Altogether our results suggest that disturbed mallards may adjust their body mass to reach a more favorable wing loading, supposedly to improve escape flight performance. Nevertheless, body mass loss in our mallards was double than what has been observed in passerines. This greater mass decrease might be explained by different strategies concerning energy storage. Furthermore, in large birds the predation component of the starvation-predation trade-off might be of greater importance. Hence, the observed relevance of this trade-off over a large size range suggests that the starvation-predation risk theory is of major ecological significance for many animal species.

Keywords: *Anas platyrhynchos*, body mass loss, disturbance, escape flights, food intake, mallard, power margin, passerine birds

Survival of wild birds depends on how they cope with changes in their abiotic environment, such as food availability and seasonal climate changes, but also how they manage biotic risks, like predation (Lima 1986, Witter and Cuthill 1993). In avian species, predation was considered as one of the most important selective pressure in the evolution of morphology and behavior (Lima 1998, Veasey et al. 1998). It has been proposed that predation risk was mass dependent in the context of the starvation-predation risk trade-off (Lima 1986, Witter and Cuthill 1993, Witter et al. 1994), which is a key challenge for individual fitness (MacLeod 2006, MacLeod and Gosler 2006, MacLeod et al. 2007a). Suggested benefits of high body mass associated to fat storage include body insulation, mechanical support, protection, buoyancy together with sexual and social signals (Pond 1978). Nevertheless, the most general and admitted benefit of fat storage is that lipids are the major energy reserves (Grimminger 1976). Indeed, birds have high metabolic rate and body temperature and use flapping flight which is the most energetically requiring mode of locomotion per unit time (Witter and Cuthill 1993).

Despite sufficient body reserves have to be kept in anticipation of unpredictable fluctuations in food availability, it has been also shown that fat storage has mass-dependent costs linked to energy expenditure and predation risk (Lima 1986, McNamara and Houston 1990, Witter and Cuthill 1993). In fact, the mass-dependent predation risk hypothesis predicts that body mass should be maintained as low as possible (Lima 1986, Houston and McNamara 1993, Houston et al. 1993). Carrying large body reserves increases predation exposure due to the greater foraging time required and/or to greater metabolic demands (McNamara and Houston 1990, Witter and Cuthill 1993, Bednekoff and Houston 1994, Brodin 2001). Moreover, it impairs flight maneuverability (Witter and Cuthill 1993, Witter et al. 1994). Actually, an enhanced body mass is also associated with a higher wing loading and, therefore, with greater energetic costs of transport. Moreover, despite controversial results in some studies (Kullberg 1998, Kullberg et al. 1998, Veasey et al. 1998, Van der Veen and Sivars 2000), it has been shown among several species that a higher body mass impairs take-off performances through a

smaller ascent angle or a lower speed (Witter et al. 1994, Metcalfe and Ure 1995, Kullberg et al. 2005, MacLeod 2006). In fact, different organ groups may contribute to body mass adjustments to improve flight capabilities. The reduction of the digestive tract mass has been shown to lower the energetic cost of flight (Piersma and Lindstrom 1997). Moreover, pectoral muscle size in ruddy turnstones (*Arenaria interpres*) increases independently of unchanged body mass in response to an increase in predation risk (van den Hout et al. 2006). Conversely, red knots (*Calidris canutus*) respond to predation risk increase by decreasing body mass, whilst the pectoral muscle mass remains unchanged (van den Hout et al. 2010). This difference in response is probably linked to specific escape strategies in both species. Ruddy turnstones are vulnerable to surprise attacks by raptors and they rely on speed based escape requiring high pectoral muscle power output. Red knots forage in open environments and detect predators early, so they rely on collective flight and maneuvers to escape, implying large turning maneuverability linked to low body mass (van den Hout et al. 2010).

A significant support for this mass-dependent starvation-predation risk trade-off has only come from studies on small passerines species (MacLeod et al. 2007a). These studies show that body mass is regulated on a daily basis, according to predation risk (Gosler et al. 1995, Lilliendahl 1997, Cresswell 1998, Gentle and Gosler 2001, Kullberg et al. 2005, MacLeod et al. 2005a, MacLeod et al. 2005b, MacLeod 2006). Field observations have shown that the body mass of British great tits (*Parus major*) increases in years when the density of their main predator, the sparrowhawk (*Accipiter nisus*), is low, while the reverse is true in years of high predator abundance (Gosler et al. 1995). Additionally, experimental studies have shown that when the perception of predation vulnerability increases or when birds are chased, food consumption is regulated in order to decrease body mass (Lilliendahl 1997, Carrascal and Polo 1999, Gentle and Gosler 2001). Such adjustments should maximize survival, since escape take-offs should be performed at a maximum power output, which increases with a decrease in body mass (Pennycuick 1989). Conversely, some studies found an increase in body mass in response

to the presence of predators (Fransson and Weber 1997, Lilliendahl 1998, Pravosudov and Grubb 1998, MacLeod et al. 2007b). Those results are in accordance with predictions of the interrupted foraging model in which birds gain mass in the presence of predator due to the uncertainty of getting food (McNamara et al. 1994, MacLeod et al. 2007b).

Dealing with this question of body mass variations under increased predation risk is strongly lacking among larger bird species that have to match several changes in environmental pressure during their annual cycle. Especially, non-passerine birds with a higher body mass manage their body reserves differently from passerine species, with little daily, but important seasonal mass changes (Haftorn 1989, Blem 1990, Loesch et al. 1992). Thus, one can hypothesize that, particularly during the wintering period, the starvation component of the starvation-predation risk trade-off should likely be regulated differently in larger birds when compared with passerines. Because larger species are less sensitive to starvation, they could show a larger proportional reduction in their body mass in response to increased predation pressure. Additionally, assuming that the ratio between the power available and the power required to fly (power margin) is lower in larger birds than in passerine birds (Norberg 1996), we can hypothesize that in larger species body mass variations should affect flight performance and, hence, escape chances from a predator more strongly than in small birds.

To give a further insight about the question of body mass changes under high risk situation we artificially increased predation risk in mallards (*Anas platyrhynchos*). This species is one of the most numerous and widespread duck species in the Northern hemisphere and lives in shallow waters, on marshes and on the ground (Owen and Black 1990, Del Hoyo et al. 1992). Thus, individuals can be attacked by terrestrial predators like red foxes (*Vulpes vulpes*) or mink (*Mustella vison*) (Sargeant et al. 1973, Sargeant et al. 1984), but also by raptors like marsh harriers (*Circus aeruginosus*), gyrfalcons (*Falco rusticolus*), bald eagles (*Haliaeetus leucocephalus*) or by the Caspian gull (*Larus cachinnans*) (Tamisier and Dehorter 1999, Fritz et al. 2000, Dekker and Court 2003). In response to these attacks mallards can dive but, most often

they fly away to reach a cover (high vegetation) or another pond (Tamisier and Dehorter 1999, Fritz et al. 2000, Dekker and Court 2003). Moreover mallards, among the larger ducks (with a body mass 7 to 100 times higher than that of passerines), have one of the highest wing loading to body mass ratio in birds and a very low power margin (Norberg 1996). This species is therefore of particular interest for investigating the response in body mass change to an increased predation risk associated to disturbance.

## **Methods**

### **Animals and Experimental Conditions**

The study was conducted on three groups of 14 mallards originating from the registered rearing centre of “la Canarderie de la Ronde” (Cère la Ronde/France). Each group (7 females and 7 males) was maintained in an outdoor tunnel-aviary of 100 m<sup>2</sup> (20 x 5m) with a height of 2.5 m and was subjected to ambient temperature and natural photoperiod. The aviaries, close to the laboratory, were protected against predators by an electric fence. Tunnels contained a 4m<sup>2</sup> pool (0.60 m depth), supplied with running water, that was situated at the same location in each tunnel, so that configuration was identical for all groups. A balanced commercial diet (Standard duck food 7751, Sanders Corporation) was provided *ad libitum* in feeders placed on 2x2m covers, to account for food spillage. The acclimation period to experimental conditions lasted one month (September 2006).

### **Experimental Procedure**

#### **Disturbance**

We experimentally increased the perceived predation risk of mallards by increasing human disturbance that triggers animal's responses typically evolved against natural predators (Frid and Dill 2002). Two groups were disturbed during three sessions lasting one week each, separated



by about 1.5 months. Group 1 (G1) was disturbed twice daily for 15 min (between 0800 and 1100 hours) for one week. These sessions began on 30 September 2006, 22 November 2006, and 4 January 2007. Group 2 (G2) was disturbed four times daily for 20 min periods (between 0800 and 1100 hours). Sessions for G2 started on the day after the G1 sessions ended. The third group was not disturbed and was used as the control group (CG). The disturbance was provoked by a radio-controlled toy car (E-Zilla FWD Hot-boddies™) that was steered with high speed towards the ducks, until they took off. After take-off, we waited until they had settled, then we gathered them together with the car and made them take off again. We repeated this procedure for 15 and 20 consecutive minutes in G1 and G2, respectively. Preliminary tests showed that this procedure was most efficient in inducing simultaneous take-off of all birds in the group. No ducks were hurt during these trials. During disturbance periods, two experimenters (C.Z, M.B) were near the aviaries to pilot the radio-controlled car and to quantify the number of take-offs. The aviaries, distant from each other by 10-15 m, were separated by opaque barriers. Moreover we checked that to disturb birds in a given group did not change the behavior of ducks in the other groups (self-maintenance or alert behavior). We placed night-view cameras in front of each tunnel to ensure that any other disturbances outside the disturbance periods would not go unnoticed. This work was performed under the governmental authorizations to conduct experiments on animals Numbers 67-99 and 67-285 and was approved by the Departmental Veterinary Services. The experiment complied with the "Principles of Animal Care" publication No. 86-23, revised 1985 of the National Institute of Health, and with current legislation (L87-848) on animal experimentation in France.

#### Weighing and wing loading

Ducks of the disturbed groups were caught with a net and weighed ( $\pm 0.1$  g) in a nearby room one day before the beginning of each disturbance session, four days after its start, and on the last day, immediately after the last disturbance period. Control animals were weighed at the same

frequency as disturbed groups. The birds of each group were released together in their respective aviary after weighing.

The wing area of the birds was determined from the outline of the stretched right wing, first drawn onto paper and then digitized using Sigma-Scan software (version 3.9). Total wing area was taken as double the right wing area. Wing loading ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) was determined by dividing body mass by total wing area.

#### Food intake

Daily food intake measurements began one week before each disturbance session and ended one week after its completion. Each day at 1800 hour, 2kg of fresh food was given to the birds, while the food remaining from the preceding 24h was removed. Food spilled on the covers was also collected. To avoid water content modifications, all food given to the birds and removed from the feeders was dried for 24h at 40 °C in an oven, before being weighed.

#### **Statistical Analysis**

Two-way and three-way ANOVAs were used to test for differences between sessions, groups and sexes. Within the same group and the same sex, differences in body mass and wing loading were tested with an ANOVA for repeated measures. Holm-Sidak test was used as a post-hoc test following all ANOVAs after checking for normality and homogeneity of variance (Sigmastat 3.0, SPSS Software). When normality and homogeneity of variance failed, Friedman for repeated measures or Kruskal Wallis non-parametric tests were conducted. Student's t-test was used when comparing two groups. Least squares correlations were conducted using Sigma Plot SPSS (11.0). All statistical tests were two-tailed, and probability levels  $< 0.05$  were considered as significant. Means values provided are given  $\pm$  SE.

## Results

On average, birds of G2 (the stronger disturbed group) performed nearly twice as many take-offs than those of G1 (the less disturbed group) ( $F_{1,83} = 408.9$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 1a). For each group, there was no difference between sexes ( $F_{1,41} < 0.53$ ,  $P > 0.45$ ; Fig. 1a). The number of daily take-offs did not differ between all sessions in G1 and in G2 ( $F_{2,83} < 2.13$ ,  $P = 0.13$ ).

For each sex in both disturbed groups body mass loss, final and initial wing loading were not significantly different between sessions ( $F_{2,83} < 1.62$ ,  $P > 0.21$ ). For males and females, body mass loss was significantly higher in G1 and G2 (between 8 and 11 % in females and between 6 and 7 % in males) than in the CG ( $t > 5.86$ ,  $df = 40$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 2). In the control group the body mass decrease (2%) was not significant ( $P > 0.18$ ) in any of the sessions. Final wing loading at the end of the disturbance sessions was lower ( $t > 2.82$ ,  $df = 40$ ,  $P < 0.05$ ) in G1 and G2 birds (between 0.99 and 1.06 g.cm<sup>-2</sup>) than in CG birds (1.17), although initial wing loading did not differ between groups ( $t < 1.16$ ,  $df = 40$ ,  $P > 0.82$ ).

Body mass loss and final wing loading were similar for G1 and G2 during all disturbance sessions ( $F_{1,41} < 3.10$ ,  $P > 0.12$ ). In the disturbed groups, mean daily body mass loss was higher during the first four days of disturbance than during the three following days ( $F_{1,41} > 6.0$ ,  $P < 0.05$ ; Fig. 1b). However, there was an exception for males of G1 during session 2, for which there was no difference ( $t = 1.21$ ,  $df = 40$ ,  $P = 0.10$ ). Although final wing loading was not different between sexes ( $F_{1,83} = 0.58$ ,  $P = 0.45$ ), body mass loss and initial wing loading were higher in females than in males for both disturbed groups and during all sessions ( $F_{1,83} > 5.98$ ,  $P < 0.02$ ; Fig. 2). Final wing loading was not related to body mass loss ( $R^2 = 0.08$ ,  $F_{2,11} = 0.56$ ,  $P = 0.47$ ) but initial wing loading was. When initial wing loading was higher, body mass loss was greater ( $R^2 = 0.67$ ,  $F_{2,11} = 9.01$ ,  $P = 0.007$ , Fig. 3). Moreover, initial wing loading was not related to body mass loss in the control group ( $F_{2,5} < 4.33$ ,  $P > 0.13$  Fig. 3).

When compared with the mean value recorded before disturbance (pre-D), daily food consumption during disturbance sessions differed between the control group and both disturbed groups ( $F_{1,80} > 13.15$ ,  $P < 0.001$ ), while it did not differ between the disturbed groups ( $F_{1,59} = 1.06$ ,  $P = 0.31$ ; Fig. 4). In G1 and G2, between day 1 and 4 of disturbance, food intake decreased between 40 and 47 %, respectively (ANOVA post hoc test  $P < 0.05$ ), when compared with the initial value and differed significantly ( $t > 2.45$ ,  $df = 10$ ,  $P < 0.05$ ) from that of control birds. After day 4 of disturbance, food intake increased in the disturbed groups and from day 5 of disturbance, it did not differ from the initial values (ANOVA post hoc test  $P > 0.05$ ).

## **Discussion**

We show here that disturbed mallards reduced their food consumption and body mass. As a result their power margin for flight increased and we suggest that it may improve their escape performances. The amplitude of these adjustments was independent of the disturbance intensity but unequivocally related to the pre-disturbance wing loading.

In this experiment, the body mass decrease of the two disturbed mallard groups was three to six times higher than in the control group. The limited body mass loss we observed in the control group was likely caused by handling stress (Lilliendahl 1997, Van der Veen and Sivars 2000, Macleod and Gosler 2006). The higher body mass loss in the disturbed groups rather resulted from mass-dependent costs associated with the disturbance. Actually, the body mass loss of birds was not related to the intensity of the disturbance or the frequency of take-offs (escape flights). Yet, energy expenditure during these short flights should be at least three times higher than during sustained flapping flights (Nudds and Bryant 2000, Videler 2005). If body mass loss would be explained by increased energetic costs associated with the increased number of escape flights in disturbed birds, one would expect that birds of G2 should have lost more mass than those of G1. Since this was not the case, we propose that the extent of body

mass loss in mallards was not primarily the result of an increased energy expenditure caused by the greater number of escape flights during disturbance. While sufficient energy stores are maintained such a strategy has an advantage since it may reduce exposure to predators and may improve escape flight performance. Indeed, it is proposed that a decrease in body mass results in a reduction of the energetic maintenance costs, foraging time, and wing loading (Houston and McNamara 1993, Houston et al. 1993, Bednekoff and Houston 1994, Witter et al. 1994, Brodin 2001). Our findings are therefore consistent with the prediction of the starvation-predation risk trade-off theory (Lima 1986, Houston et al. 1993, Witter and Cuthill 1993). Hence, it may allow extending this theory to birds with higher body masses than passerines although having a different strategy in managing body reserves and a different ecology.

In response to disturbance birds decreased their food intake, although food was provided *ad libitum* (Fig. 4). Food intake of disturbed birds was lower than in control birds but only between day one and four of each disturbance session. Moreover, for each session, mass loss was fast during the first four days and slowed down afterward. Consequently, we think that the increase of food intake after the day four did not result from a habituation to the disturbance but was rather associated to body mass loss that become lower from this day. Furthermore, astonishingly we found no difference in food intake between the two disturbed groups, despite the fact disturbance level in G2 was twice as high as in G1. Thus, mallards did not compensate for the higher immediate energy expenditure resulting from the induced escape flights by increasing their energy intake. Foraging in mallards typically occurs throughout the day and usually accounts for less than 35% of their time budget (Jorde et al. 1984). Since the maximum disturbance duration in our study was 80 minutes (i.e. 5% of the time budget) and occurred only during daytime, the disturbed mallards were not limited by the time potentially available for foraging. Hence, models of interrupted foraging (McNamara et al. 1994), which state that birds might gain weight because of a reduced probability to access food when disturbed, are not adequate in explaining the present observed response. According to Lilliendahl (1997) and

Carrascal and Polo (1999), we can therefore propose that the mechanism for the weight loss observed in our study rather resulted from an adjustment through a lowered food intake. Moreover, it has been suggested that birds might reduce the mass of some digestive compartments as an anticipatory mechanism to reduce the energetic costs of locomotion (Piersma and Lindstrom 1997). However, the decrease in body mass we observed was unlikely to result exclusively from the diminution of the digestive compartment. Thus, in long term fasted mallards (up to the end of phase II, see Robin et al. 1991 for details) the maximal decrease in body mass explained by a reduction of this compartment (organs plus digestive tract content) was about 40g (i.e. 4% of body mass) (Robin et al. 1991, Boos et al. 2007). The body mass reduction we observed in the disturbed groups was far greater and, in our experiments, the food intake was only partly reduced and birds were never fasted. This implies that other body compartments must have been affected. The mass loss we observed in both disturbed groups was higher in females than in males. Actually among mallards, females are known to have a higher fat/protein ratio than males (Boos et al. 2002). Hence, the body mass decline we observed may have affected body lipid amounts and muscle mass differently between sexes. It therefore would be relevant in this context, to investigate how disturbances might affect the actual body composition of birds and, in the long term, future reproductive success. In this context, it would be valuable to examine pectoral muscle size variation since its changes could be decoupled from body mass variations (van den Hout et al. 2006). According to the flocking behavior and gregarious ecology of mallards, we can assume, as in red knots (van den Hout et al. 2010), that pectoral muscle size should remain unchanged. Further studies are obviously needed to answer these questions.

Wing loading, which correlates negatively with flight speed, is a key variable in determining flight performance (Norberg 1996). High wing loading might impair the escape ability during predator attack by decreasing the take-off angle and aerial maneuverability (Witter et al. 1994, Macleod 2006). Although the final wing loading we measured was not

related to body mass loss, we found that body mass loss was greater when initial wing loading was high in all sessions. Furthermore, although initial wing loading values were different between sexes, final wing loading of each session in the two disturbed groups was similar for both sexes and lower than in the control group. Altogether, those results suggest that mallards adjusted their body mass to reach a more favorable wing loading that may enhance take-off speed and maneuverability at a low energetically cost and, thus, should improve escape performance during predator attack. This idea receives further support from the fact that body mass decline was not linear. This was concomitant with an increase in food intake after day four. These results suggest that mallards adaptively and spontaneously adjusted their body mass by controlling the amount of food intake in response to disturbance, regardless of its intensity. Importantly, our data underscore that body mass loss would be balanced according to the required mechanical power for flight and the need to maintain sufficient body fuels. Our results lend support to the fit-for-flight hypothesis, which predicts that mass is lost adaptively to prepare for predator escape (Van der Veen and Sivars 2000). They are also in agreement with the starvation-predation risk trade-off (Lima 1986, McNamara and Houston 1990). Although the wing loading reduction through body mass loss that we observed appears to be adaptive, we cannot conclude as yet that it is really an adaptation, i.e. that this trait was selected for its effect on predator avoidance. In fact, the increase in predation risk can also lead to behavioral changes (Lima and Dill 1990, Lima 1998). One can suppose that vigilance behavior might be increased in disturbed ducks, which could have led to the observed decrease of food intake. Additionally, ducks can use unihemispheric slow-wave sleep (USWS) when perceived risk increases. During USWS one hemisphere sleeps whereas the other remains awake with the contra-lateral open to allow predator detection (Rattenborg et al. 1999b, Rattenborg et al. 1999a). These behavioral modifications may possibly increase energy expenditure and lead to body mass loss. Nevertheless, it has been shown that although disturbance in fast-living species does not increase mean daily energy expenditure, it could be different for slow-living species (Bisson et

al. 2009). In our case, it appears that the observed body mass loss was not primarily due to an increase in energy expenditure because the global response was the same in both disturbed group, despite the fact that G2 was disturbed twice as much as G1 (see above). This underlines the fact that body mass loss seems to be an adaptive response to the increase in predation rather than a by-product of other processes. Nevertheless, directly measuring energy expenditure of the ducks in response to disturbance would better support this conclusion. It would be also relevant to study the associated behavioral adjustments. We intend to address these questions in greater details elsewhere to better appreciate whether or not the body mass loss we observed can be considered as an adaptation.

Several theoretical models related to the mass-dependent predation risk hypothesis have been developed for birds but they only received empirical support from studies on passerines, such as tits (Gosler et al. 1995, Carrascal and Polo 1999, Gentle and Gosler 2001, Macleod et al. 2005a), greenfinches (Lilliendahl 1997) and blackbirds (Cresswell 1998, Macleod et al. 2005b), with a body mass range between 10 and 150 g. Our study gives a new insight of this theory among larger birds such as mallards which are particularly exposed to predation and more generally to disturbance. Interestingly, we show in this species that the relative body mass loss associated with an increased predation risk was about twice as much as in small birds (6-11 % vs. 2-5 %, Gosler et al. 1995, Lilliendahl 1997, Carrascal and Polo 1999). Differences in the strategy of body reserve storage might explain this differential adjustment in body mass decrease between passerines and ducks. In the former, fat reserves built up during the day are burnt for energetic purposes during the following night (Haftorn 1989, Blem 1990). Consequently, the daily mass variation cycle, with a diurnal increase of about 7-12 %, is of greater amplitude than the winter fattening cycle (body mass variation: 2 to 8 %) (Haftorn 1989). By contrast, mallard ducks usually store larger body reserves than required to cope with common periods of several days cold spells. Thus, body mass changes are larger in this species (5 to 20 %, Pattenden and Boag 1989, Loesch et al. 1992, Boos et al. 2007) than in passerines



during the winter fattening cycle. Subsequently, we suggest that large birds can sustain a higher body mass (and body reserves) reduction in response to increased predation pressure than small birds, without adversely impairing their capacity to endure starvation as it would be the case in passerines. Additionally, in large avian species, especially ducks, which are among those having the highest wing-loading (Norberg 1996), such an adjustment could have important consequences for the power margin ratio (power available/power required). This ratio is important to characterize flight performance and is known to decrease as the body mass of a given species increases (Norberg 1996). In passerines, a body mass reduction of 2-5 % in response to increased predation pressure would correspond to a 0.3-0.8 % gain in power margin (calculated from Gosler et al. 1995, Lilliendahl 1997, Carrascal and Polo 1999). In mallards, reduction in body mass was twice as great (6-11 %) and would correspond to a 4 to 10 times greater gain in power margin (4.5 %), compared to passerines. Consequently, we suggest that the extent of the response to the starvation-predation risk trade-off is not solely species-specific but rather directly related to the size of the species.

To conclude, in this experimental study, we demonstrated that mallards seemed strategically to lose body mass, likely in an attempt to achieve a more favorable wing loading. The relationship between body mass loss and power margin we found for mallards is different from what has been reported for passerine species, most likely because of different size constraints. Considering the fundamental nature of the starvation-predation risk trade-off, we suggest that this size-dependent adjustment should be applicable to many animal species (not only birds), as it has also been suggested by a recent study on harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) (MacLeod et al. 2007a). Hence, the relevance of the mass-dependent predation risk hypothesis for animals of a wide size range (including birds and mammals) suggests that mass-dependent behavior is of great, not yet fully acknowledged, ecological significance for many animal species, regardless of size and habitat (MacLeod et al. 2007a). The significance of this idea should be better taken into account when addressing the conservation of animal populations.

### *Acknowledgments*

This study was supported by grants from “Région Alsace”, Naturaconst@, National Fund for Biological Research on Game and Wildlife Species and CNRS. The authors thank M. Enstipp, F. Criscuolo, J. Lignot and two previous anonymous reviewers for helpful comments on the manuscript and for language editing. We thank also A. Gosler for his critical reading of the manuscript.

## References

- Bednekoff, P. A. and Houston, A. I. 1994. Optimizing fat reserves over the entire winter: a dynamic model. - *Oikos* 71: 408-415.
- Bisson, I. A., Butler, L. K., Hayden, T. J., Romero, L. M. and Wikelski, M. C. 2009. No energetic cost of anthropogenic disturbance in a songbird. - *Proc. R. Soc. B* 276: 961-969.
- Blem, C. R. 1990. Avian energy storage. - *Curr. Ornithol.* 7: 59-113.
- Boos, M., Zorn, T., Le Maho, Y., Groscolas, R. and Robin, J. P. 2002. Sex differences in body composition of wintering Mallards (*Anas platyrhynchos*): possible implications for survival and reproductive performance. - *Bird Study* 49: 212-218.
- Boos, M., Zorn, T., Delacour, G. and Robin, J. P. 2007. Weather and body condition in wintering Mallards *Anas platyrhynchos*. - *Bird Study* 54: 154-159.
- Brodin, A. 2001. Mass-dependent predation and metabolic expenditure in wintering birds: is there a trade-off between different forms of predation? - *Anim. Behav.* 62: 993-999.
- Carrascal, L. M. and Polo, V. 1999. Coal tits, *Parus ater*, lose weight in response to chases by predators. - *Anim. Behav.* 58: 281-285.
- Cresswell, W. 1998. Diurnal and seasonal mass variation in blackbirds *Turdus merula*: consequences for mass-dependent predation risk. - *J. Anim. Ecol.* 67: 78-90.
- Dekker, D. and Court, G. 2003. Gyrfalcon predation on Mallards and the interaction of Bald Eagles wintering in central Alberta. - *J. Raptor Res.* 37: 161-163.
- Del Hoyo, J., Elliot, A. and Sargatal, J. 1992. Handbooks of the Birds of the World. Volume 1: Ostrich to Ducks. - Lynx Edicions, Barcelona.
- Fransson, T. and Weber, T. P. 1997. Migratory fuelling in blackcaps (*Sylvia atricapilla*) under perceived risk of predation. - *Behav. Ecol. Sociobiol.* 41: 75-80.

- Frid, A. and Dill, L. 2002. Human-caused disturbance stimuli as a form of predation risk. - *Conserv. Ecol.* 6: 11.
- Fritz, H., Guillemain, M. and Guerin, S. 2000. Changes in the frequency of prospecting flyovers by Marsh Harriers *Circus aeruginosus* in relation to short-term fluctuations in dabbling duck abundance. - *Ardea* 88: 9-16.
- Gentle, L. K. and Gosler, A. G. 2001. Fat reserves and perceived predation risk in the great tit, *Parus major*. - *Proc. R. Soc. B* 268: 487-491.
- Gosler, A. G., Greenwood, J. J. D. and Perrins, C. 1995. Predation risk and the cost of being fat. - *Nature* 377: 621-623.
- Grimminger, P. 1976. Lipid metabolism. - In: Sturkie, P. D. (ed.). *Avian physiology*. Springer-Verlag, New York, pp. 233-262.
- Haftorn, S. 1989. Seasonal and diurnal body-weight variations in titmice, based on analyses of individual birds. - *Wilson. Bull.* 101: 217-235.
- Houston, A. I. and McNamara, J. M. 1993. A theoretical investigation of the fat reserves and mortality levels of small birds in winter. - *Ornis Scand.* 24: 205-219.
- Houston, A. I., McNamara, J. M. and Hutchinson, J. M. C. 1993. General results concerning the trade-off between gaining energy and avoiding predation. - *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 341: 375-397.
- Jorde, D. G., Krapu, G. L., Crawford, R. D. and Hay, M. A. 1984. Effects of weather on habitat selection and behavior of mallards wintering in Nebraska. - *Condor* 86: 258-265.
- Kullberg, C. 1998. Does diurnal variation in body mass affect take-off ability in wintering willow tits? - *Anim. Behav.* 56: 227-233.
- Kullberg, C., Jakobsson, S. and Fransson, T. 1998. Predator-induced take-off strategy in great tits (*Parus major*). - *Proc. R. Soc. B* 265: 1659-1664.
- Kullberg, C., Jakobsson, S., Kaby, U. and Lind, J. 2005. Impaired flight ability prior to egg-laying: a cost of being a capital breeder. - *Funct. Ecol.* 19: 98-101.

- Lilliendahl, K. 1997. The effect of predator presence on body mass in captive greenfinches. - *Anim. Behav.* 53: 75-81.
- Lilliendahl, K. 1998. Yellowhammers get fatter in the presence of a predator. - *Anim. Behav.* 55: 1335-1340.
- Lima, S. L. 1986. Predation risk and unpredictable feeding conditions: determinants of body-mass in birds. - *Ecology* 67: 377-385.
- Lima, S. L. 1998. Stress and decision making under the risk of predation: Recent developments from behavioral, reproductive, and ecological perspectives. - *Adv. Study Behav.* 27: 215-290.
- Lima, S. L. and Dill, L. M. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. - *Can. J. Zool.* 68: 619-640.
- Loesch, C. R., Kaminski, R. M. and Richardson, D. M. 1992. Endogenous loss of body-mass by mallards in winter. - *J. Wildl. Manag.* 56: 735-739.
- Macleod, R. 2006. Why does diurnal mass change not appear to affect the flight performance of alarmed birds? - *Anim. Behav.* 71: 523-530.
- Macleod, R., Gosler, A. G. and Cresswell, W. 2005a. Diurnal mass gain strategies and perceived predation risk in the great tit *Parus major*. - *J. Anim. Ecol.* 74: 956-964.
- Macleod, R., Barnett, P., Clark, J. A. and Cresswell, W. 2005b. Body mass change strategies in blackbirds *Turdus merula*: the starvation-predation risk trade-off. - *J. Anim. Ecol.* 74: 292-302.
- Macleod, R. and Gosler, A. G. 2006. Capture and mass change: perceived predation risk or interrupted foraging? - *Anim. Behav.* 71: 1081-1087.
- MacLeod, R., MacLeod, C. D., Learmonth, J. A., Jepson, P. D., Reid, R. J., Deaville, R. and Pierce, G. J. 2007a. Mass-dependent predation risk and lethal dolphin porpoise interactions. - *Proc. R. Soc. B* 274: 2587-2593.

- MacLeod, R., Lind, J., Clark, J. and Cresswell, W. 2007b. Mass regulation in response to predation risk can indicate population declines. - *Ecol. Lett.* 10: 945-955.
- McNamara, J. M. and Houston, A. I. 1990. The value of fat reserves and the tradeoff between starvation and predation. - *Acta Biotheor.* 38: 37-61.
- McNamara, J. M., Houston, A. I. and Lima, S. L. 1994. Foraging routines of small birds in winter: a theoretical investigation. - *J. Avian Biol.* 25: 287-302.
- Metcalfe, N. B. and Ure, S. E. 1995. Diurnal variation in flight performance and hence potential predation risk in small birds. - *Proc. R. Soc. B* 261: 395-400.
- Norberg, U. M. 1996. Energetics of Flight. - In: Carey, C. (ed.). *Avian Energetics and Nutritional Ecology*. Chapman & Hall, New York, pp. 199-249.
- Nudds, R. L. and Bryant, D. M. 2000. The energetic cost of short flights in birds. - *J. Exp. Biol.* 203: 1561-1572.
- Owen, M. and Black, J. M. 1990. *Waterfowl ecology*. - Blackie, Glasgow.
- Pattenden, R. K. and Boag, D. A. 1989. Effects of body-mass on courtship, pairing, and reproduction in captive mallards. - *Can. J. Zool.* 67: 495-501.
- Pennycuik, C. J. 1989. *Bird Flight Performance*. - Oxford University Press, Oxford.
- Piersma, T. and Lindstrom, A. 1997. Rapid reversible changes in organ size as a component of adaptive behaviour. - *Trends Ecol. Evol.* 12: 134-138.
- Pond, C. M. 1978. Morphological aspects and ecological and mechanical consequences of fat deposition in wild vertebrates. - *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 9: 519-570.
- Pravosudov, V. V. and Grubb, T. C. 1998. Management of fat reserves in tufted titmice *Baeolophus bicolor* in relation to risk of predation. - *Anim. Behav.* 56: 49-54.
- Rattenborg, N. C., Lima, S. L. and Amlaner, C. J. 1999a. Facultative control of avian unihemispheric sleep under the risk of predation. - *Behav. Brain Res.* 105: 163-172.
- Rattenborg, N. C., Lima, S. L. and Amlaner, C. J. 1999b. Half-awake to the risk of predation. - *Nature* 397: 397-398.

- Robin, J. P., Zorn, T. and Lemaho, Y. 1991. Prolonged winter fast and subsequent refeeding in mallards: changes in nutrient reserves and in food intake. - C. R. Acad. Sci. Life Sci. 313: 529-535.
- Sargeant, A. B., Swanson, G. A. and Doty, H. A. 1973. Selective predation by mink, *Mustela vison*, on waterfowl. - Am. Midl. Nat. 89: 208-214.
- Sargeant, A. B., Allen, S. H. and Eberhardt, R. T. 1984. Red fox predation on breeding ducks in midcontinent North America. - Wildl. Monogr.: 1-41.
- Tamisier, A. and Dehorter, O. 1999. Camargue, canards et foulques. - Centre ornithologique du Gard, Nimes.
- van den Hout, P. J., Piersma, T., Dekinga, A., Lubbe, S. K. and Visser, G. H. 2006. Ruddy turnstones *Arenaria interpres* rapidly build pectoral muscle after raptor scares. - J. Avian Biol. 37: 425-430.
- van den Hout, P. J., Mathot, K. J., Maas, L. R. M. and Piersma, T. 2010. Predator escape tactics in birds: linking ecology and aerodynamics. - Behav. Ecol. 21: 16-25.
- Van der Veen, I. T. and Sivars, L. E. 2000. Causes and consequences of mass loss upon predator encounter: feeding interruption, stress or fit-for-flight? - Funct. Ecol. 14: 638-644.
- Veasey, J. S., Metcalfe, N. B. and Houston, D. C. 1998. A reassessment of the effect of body mass upon flight speed and predation risk in birds. - Anim. Behav. 56: 883-889.
- Videler, J. J. 2005. Avian Flight. - Oxford University Press, Oxford.
- Witter, M. S. and Cuthill, I. C. 1993. The ecological costs of avian fat storage. - Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. 340: 73-92.
- Witter, M. S., Cuthill, I. C. and Bonser, R. H. C. 1994. Experimental investigations of mass-dependent predation risk in the European starling, *Sturnus vulgaris*. - Anim. Behav. 48: 201-222.

## Figure Legends

Figure 1: Number of daily take-offs (a) and body mass decrease ( $\text{g}\cdot\text{day}^{-1}$ ) (b) averaged for the three disturbance sessions. Values are means  $\pm$  SE. Males of group 1 (G1) and group 2 (G2) are indicated in black and white, respectively, while females of G1 and G2 are indicated in hatched black and hatched white, respectively. (a) \*: G2 significantly different from G1 ( $P < 0.001$ ). (b) \*: days 5-7 significantly different from days 1-4 ( $P < 0.05$ ).

Figure 2: Mean body mass loss over the three sessions for each sex of the three groups. Values are means  $\pm$  SE. Males of CG, G1 and G2 are indicated by grey, black and white bars respectively, while females of CG, G1 and G2 are indicated in hatched grey, black and white bars respectively. Letters specify differences between the three groups. \* specify significant differences between sexes within groups.

Figure 3: Relationship between body mass loss during three disturbance sessions and initial wing loading (values given are means). CG females are indicated by grey circles, and G1 and G2 females by black and white circles, respectively. CG males are indicated by grey squares and males of G1 and G2 by black and white squares, respectively. The relationship in disturbed groups is best described by  $y = -0.9 x^{11.85} - 3.75$ ,  $R^2 = 0.67$ ,  $F = 9.01$ ,  $P = 0.007$  and indicates that body mass loss was greater, when the initial wing loading was higher. There is no significant relation in the control group ( $P > 0.13$ ).

Figure 4: Food intake (means) during three disturbance sessions and during the week following disturbance (post-D). Values are expressed in relation to the mean food intake before disturbance (pre-D, taken as 100%). G1 and G2 are indicated by black and white circles, respectively, while the control group (CG) is indicated by grey circles. \*: CG significantly differed from both disturbed groups for a given day ( $P < 0.05$ ).



Figure 1

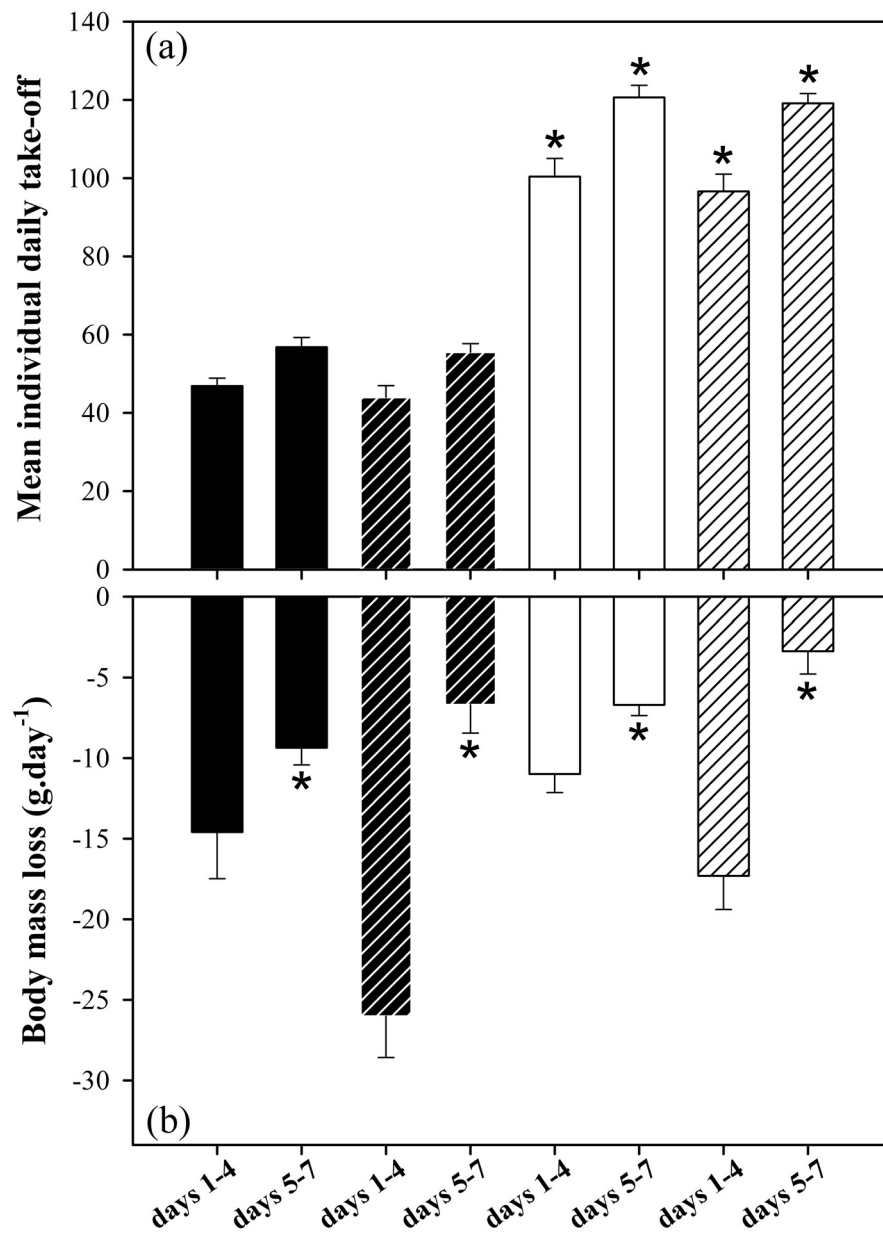


Figure 2

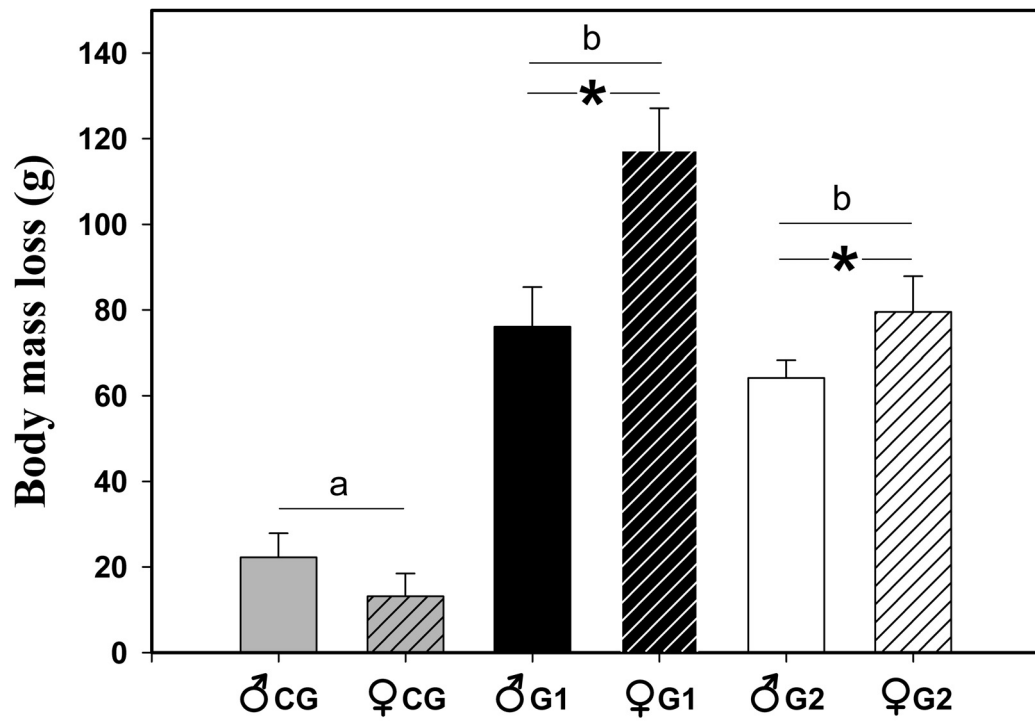


Figure 3

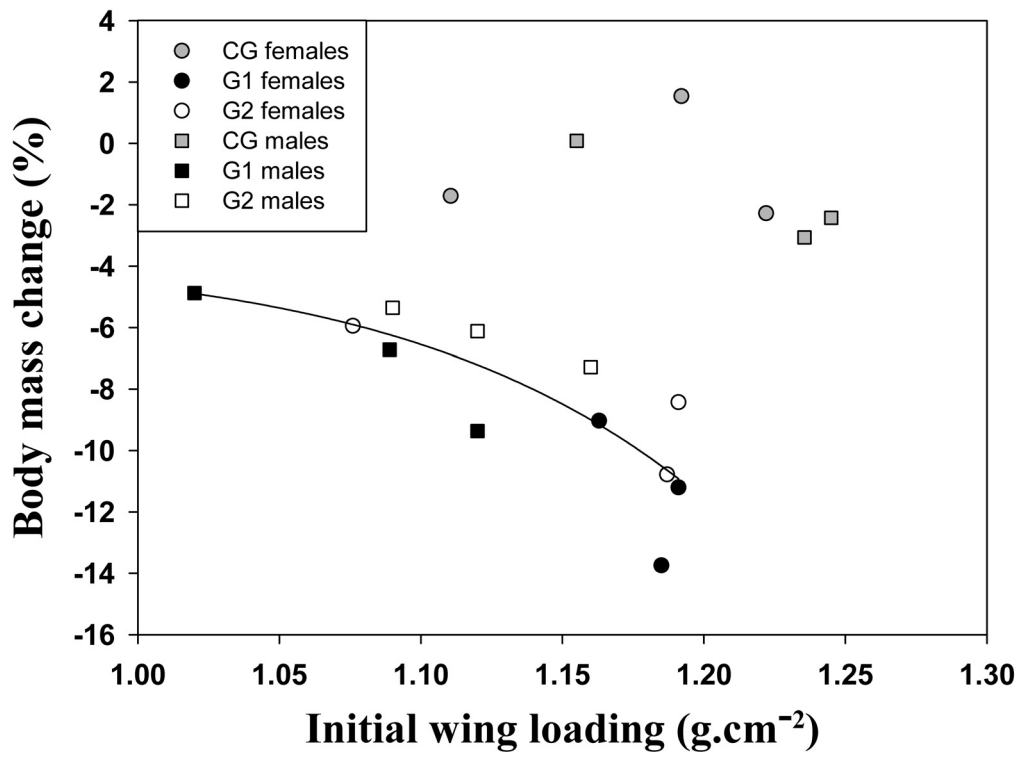
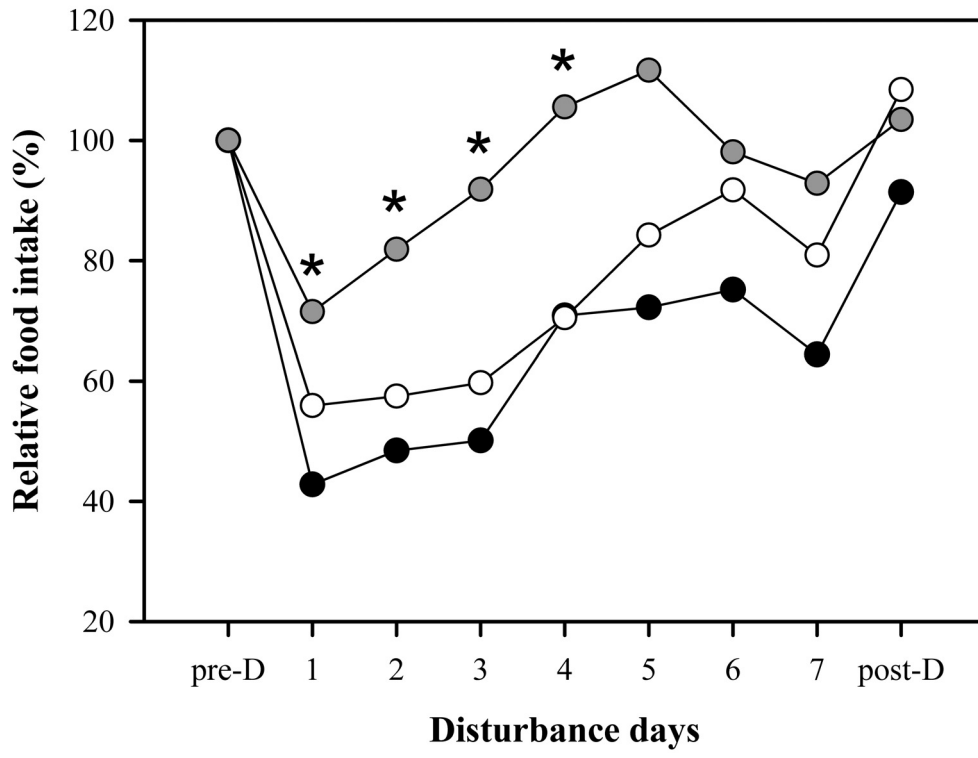


Figure 4



### **Article 3**

Generalization of the mass-dependent starvation-predation risk trade-off.

Zimmer Cédric<sup>1</sup>, Boos Mathieu<sup>2</sup>, Poulin Nicolas<sup>1</sup>, Gosler Andrew<sup>3</sup>, Petit Odile<sup>1</sup>, and Robin Jean-Patrice<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, Département Ecologie Physiologie et Ethologie, UMR 7178 CNRS/Université de Strasbourg; 23 rue Becquerel, 67087 Strasbourg Cedex 2, France

<sup>2</sup> Research Agency in Applied Ecology, 14 rue principale, 67270 Wilshausen, France

<sup>3</sup> Edward Grey Institute of Field Ornithology, Oxford University, South Parks Road, Oxford OX1 3PS, UK

Corresponding author: Cédric Zimmer

E-mail address: [cedric.zimmer@c-strasbourg.fr](mailto:cedric.zimmer@c-strasbourg.fr)

Phone number: +33 388106911

Fax number: +33 388106906

Running headline: Starvation-predation risk trade-off in ducks

Soumis

## Abstract

1. The trade-off between starvation and predation risks predicts that body mass should be decreased to improve flight performance when facing high predation risk. However, this trade-off was mostly validated in passerines that store limited body reserves and use them in the short-term. In the largest species (the mallard, *Anas platyrhynchos*) in which the trade-off has been investigated the magnitude of the response was more important than in passerines.

2. To verify whether this can be generalized to other birds with large body reserves we analysed the response to this trade-off in two other duck species, the common teal (*Anas crecca*) and the tufted duck (*Aythya fuligula*).

3. Predation risk was increased using the same experimental design previously used in mallards. Ducks of disturbed groups were compared to control non-disturbed birds.

4. In both species, food intake and body mass were decreased in disturbed groups during the period of high risk to a greater extent than in the control group. This body mass loss allows reaching optimal more favourable wing loading and a gain in power for flight that should enhance flight performances and reduce predation risk. Moreover, as in mallards, body mass loss and power margin gain were greater than in passerines.

5. Our results suggest that the starvation-predation risk trade-off is one of the major life history traits underlying body mass adjustments and allows generalization of these findings to all birds facing predation. Additionally, the magnitude of the response seems to be influenced by the strategy of body reserve management.

Keywords: body mass loss, body reserves, escape flight, food intake, passerines, power margin, teal, tufted duck, wing loading

## **Introduction**

The competition between two or more processes for the allocation of limited resources generally results in a trade-off that underlies different life-history traits (Stearns 1992). One important trade-off is acquiring food while avoiding predation (MacLeod et al. 2007; Van der Veen and Sivers 2000). Animals have to build up or maintain body fuel reserves which are an important buffer against starvation, especially when harsh weather conditions in winter involve food unpredictability and energy requirements (Blem 1990). However, surprisingly, birds often maintain a level of body reserves under the maximum possible (Blem 1976). Assuming that maintaining a high level of body fuel, i.e. a high body mass, also has a significant cost in terms of enhanced mortality risk due to predation vulnerability (Lima 1986), the amount of body reserves that a bird carries has been viewed as a trade-off between the risk of starvation and the risk of predation (Lima 1986; McNamara and Houston 1990). Body mass adjustment is considered as the consequence of this trade-off.

In this context, the mass-dependent predation risk theory predicts that if the probability of an individual being caught by a predator depends on its body mass, its weight should be held as low as possible in order to reduce its predation mortality risk (Houston, McNamara and Hutchinson 1993; Lima 1986; Witter and Cuthill 1993). Such an adjustment of body mass has the advantage of improving flight performance and reducing the associated metabolic demands. It also results in a lower investment in foraging time and exposure to predation (Bednekoff and Houston 1994; McNamara and Houston 1990; Witter and Cuthill 1993). A high body mass is correlated with high wing loading and also with a greater cost of flight that could impair flight performance particularly during take-off due to a smaller angle of ascent and a lower speed (Burns and Ydenberg 2002; Hedenstrom 1992; Kullberg, Fransson and Jakobsson 1996; Kullberg et al. 2005; Macleod 2006; Metcalfe and Ure 1995; Witter and Cuthill 1993; Witter, Cuthill and Bonser 1994). Conversely, birds have to keep an adequate level of body reserves to limit the risk of starvation (Lima 1986; Witter and Cuthill 1993). Under such a strategy, it has

been assumed that animals would carry greater body reserves when starvation risk is high and vice versa (Bednekoff and Houston 1994; Lima 1986). Nevertheless, empirical data on the starvation-predation risk trade-off showing that individuals decrease their body mass when under higher predation risks have only come from studies on small passerine birds (e.g. Carrascal and Polo 1999; Cresswell 1998; Gentle and Gosler 2001b; Gosler, Greenwood and Perrins 1995; Lilliendahl 1997; MacLeod et al. 2005a; MacLeod, Gosler and Cresswell 2005b; MacLeod et al. 2007). Furthermore, experimental studies have demonstrated that when predation risk was increased or when predator attacks were simulated by chasing birds, food consumption decreased in order to adjust body mass (Carrascal and Polo 1999; Gentle and Gosler 2001; Lilliendahl 1997). This body mass adjustment improves take-off performance because the available power for flying increases when body mass declines (Pennycuick 2008) and this ultimately maximizes survival.

To our knowledge the only studies undertaken on the starvation-predation risk trade-off in species other than passerines were conducted on the redshank (*Tringa totanus*) (Cresswell and Whitfield 2008), on one larger species, the mallard (*Anas platyrhynchos*) (Zimmer et al. in press) and on one non-bird species, the harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) (MacLeod et al. 2007). In the two last species, it has been shown that body mass or body reserves were linked to the predation risk. In mallards, the relative body mass decrease was twice as high as in passerines (Zimmer et al. in press) and it was hypothesized that this was due to a difference between mallard and passerines in the amount and management of body reserves. Actually, passerines build up body reserves during the day and use them during the following night for energetic purposes (Blem 1990; Haftorn 1989) whereas mallards store more body reserves than required immediately in order to cope with possible future periods of cold spells (Boos et al. 2007; Loesch, Kaminski and Richardson 1992; Pattenden and Boag 1989). Thus, large birds can sustain greater body mass variations than small ones (greater surface to volume ratio) without impairing their starvation capacity. Moreover, this is consistent with the idea that greater body



mass loss allows a greater power margin gain in mallard than in passerine. Therefore, it seems that the magnitude of the response to predation risk increase depends of the species size (Zimmer et al. in press).

In the present study, undertaken on a small and a medium-sized duck species, the common teal (*Anas crecca*) and the tufted duck (*Aythya fuligula*) respectively, we applied the same protocol as previously used with mallards by artificially increasing predation risk in order to generalize the starvation-predation risk trade-off in large birds. We chose these two species because they are exposed to similar predation as other duck species sharing the same habitat (see Zimmer et al. in press). Moreover, teal globally manage their body reserves in a similar way to mallards (Fox, King and Watkin 1992), and while diving ducks show a similar body weight variation to dabbling ducks during winter (Ryan 1972), they are intermediate in size between teal and mallards. They also differ from passerines in size and body fuel storage strategy with little daily but important seasonal mass variations (Blem 1990; Fox et al. 1992; Haftorn 1989; Ryan 1972). We predicted that the extent of body mass loss in these two duck species should be greater than in passerines because although they need to improve their escape performance, the response should be about the same as that of the mallard because the three species have the same relative amount of body reserves (Baldassarre, Whyte and Bolen 1986; Rave and Baldassarre 1991).

## **Materials and methods**

### **Animals and experimental conditions**

The study was conducted on three groups of common teal from the Fauna Leroy rearing centre (Westvleteren/Belgium) and on two groups of tufted ducks from the “Les Canards de Morma” rearing centre (Jolimetz/France). Only two groups of tufted ducks were studied because we were unable to obtain enough animals in the same season to form the three planned groups. Each group had 14 individuals (7 females and 7 males) and was maintained in an outdoor tunnel

aviary of 100 m<sup>2</sup> (20 x 5 x 2.5 m). Each aviary contained a 4 m<sup>2</sup> pool (0.60 m depth) with clear running water and was situated at the same location in each tunnel. Birds were subjected to natural photoperiod and ambient temperature. A species-specific balanced commercial diet (Standard duck food 7751, Sanders Corporation; Teurlings premium duck food) was provided *ad libitum*. The food was provided in feeders placed on 2 x 2 m covers to account for food spillage. The aviaries, which were close to the laboratory, were protected against predators by an electric fence and were visually separated by opaque barriers. For each species the acclimation period to the aviaries lasted two months (September-October 2007 for teal, September-October 2008 for tufted ducks).

This work was performed under the governmental authorizations to conduct experiments on animals Numbers 67-99 and 67-285 and was approved by the Departmental Veterinary Services. The experiment complied with the "Principles of Animal Care" publication No. 86-23, revised 1985 of the National Institute of Health, and with current legislation (L87-848) on animal experimentation in France. After the study, ducks were released in the field with the authorization of the "Office Nationale de la Chasse et de la Faune Sauvage".

## Experimental procedure

### Disturbance

Two groups of teal and one group of tufted ducks were disturbed during one week at three times during the winter period at about 1.5 month intervals (Table 1). Group 1 (G1), teal only, was disturbed twice daily for 15 minutes between 08:00 and 11:00. In the two species, group 2 (G2) was disturbed four times daily for 15 minutes during the same time period. In each species one control group (CG) was not disturbed. Each aviary was monitored throughout the night, by using a night-view camera, during disturbance sessions to ensure that the ducks were not disturbed by any other external factors.

The disturbance was provoked by a radio-controlled car (E-Zilla FWD Hot-boddies™) that was steered with high speed towards the ducks, until they took off. This method was the most effective to induce simultaneous take-off flights of all birds in the group and to lead to a predator attack like response (Zimmer et al. in press). No ducks were hurt by the car during these experiments. During disturbance phases, two experimenters (C.Z, M.B.) were near the aviaries to control the radio-controlled car and to record the number of individuals' take-offs.

#### Weighing and wing loading

In the two species, ducks of disturbed groups were caught with a net and weighed ( $\pm 1$  g) in a nearby room the day before the beginning of each disturbance, on the fourth day and the last day immediately after the end of the last disturbance. Control groups were weighed at the same frequency as disturbed groups. The birds of each group were released together in their respective aviary after weighing.

The wing area of the birds was determined from the outline of the stretched two wings, drawn onto paper. After they were scanned, the wing area of each wing was measured using Sigma-Scan software (version 5.0). Total wing area was obtained by adding the wing area of the left and the right wing of each individual. Wing loading ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) was determined by dividing body mass by total wing area.

#### Power Margin

Power margin was calculated from the power available (Pa) and the power requirement (Pr) for flight for all disturbed individuals before and after disturbance sessions. Equations for calculating Pa and Pr were derived from Norberg (1996). The equations are  $\text{Pa} = 21.94 \times m^{(2/3)}$  and  $\text{Pr} = 6.333 \times m^{(7/6)}$  where m denotes the body mass in kg and the power is in watts. The power margin (PM) is the ratio of the power available divided by the power required for flight ( $\text{Pa}/\text{Pr}$ ). The PM gain is the difference between the PM after and before the disturbance.

## Food intake

Daily food intake determination began one week before each disturbance session and ended one week after its completion. Each day at 18:00 the food remaining from the preceding 24 h was removed and food spilled on the cover was collected. Then, one kg of standard duck fresh food (teal) and 0.8 kg of standard duck fresh food *plus* 0.8 kg of premium duck food (tufted duck) was given to birds. The food given to the birds and removed from feeders was dried in an oven for 24 h at +40 °C before being weighed to avoid errors due to changes in water content.

## Statistical analysis

Two-way repeated measures ANOVAs were used to test for differences in the number of individual daily flights between sessions and groups in teal and between sessions and sexes in tufted duck. We used general linear mixed models (GLMM) to examine the effects of disturbance on body mass and wing loading changes. Session, group, sex and state (before disturbance and after disturbance) were included as fixed factors. Session and state were also specified as repeated factors. Individuals were defined as a random factor to account for inter-individual variability. To examine the effect of disturbance on body mass loss a GLMM was performed with session, group and sex as fixed factors. Session was specified as a repeated factor and individuals as random factor. For each disturbed group, we used a GLMM to test the difference in daily body mass loss between the first four days and the last three days of disturbance with session, sex and state (daily body mass loss during the first fourth days and daily body mass loss during the last third days). Session and state were used as repeated factors and individuals as a random factor. In teal, a GLMM was fitted to compare PM gain between the two disturbed groups. Session, group and sex were specified as fixed factors, session was also stated as a repeated factor and individuals as a random factor. In tufted ducks, the same model without the factor group was run to study PM gain in the disturbed group. For each

GLMM, Tukey-Kramer multiple comparison adjustment was applied to obtain corrected p-values. Proc Mixed in SAS 9.1.3 (SAS Institute Corporation) was used to fit GLMM.

Daily food intake measurements have been investigated as time series. For each group and each session the autocorrelation functions (ACF) have been calculated for all lags between -10 and 10. These functions give the correlation between the signal and itself with an increasing lag (i.e. correlation between the response at time  $t$  and the response at time  $t + l$  lag). This allowed us to investigate periodicity in the time series. In order to assess if a series is drawn at random, we used Ljung-Box test that is a portemanteau test whose null hypothesis is “data are random” (the name portemanteau test refers to a test that is made for each lag). The tests were performed for each group and each session at each lag. Time series analyses were conducting using R 2.9.2. Probability levels  $< 0.05$  were considered as significant. Mean values are reported  $\pm$  S.E.

## Results

In neither species, escape flights, body mass, wing loading and body mass loss did not differ between sexes ( $F_{1,41} < 3.77$ ,  $p > 0.10$ ).

### Teal

On average, birds of G2 performed 1.5-fold more escape flights than those of G1 ( $F_{1,41} = 163.65$ ,  $p < 0.0001$ , Fig. 1a). Individual daily flights did not differ between sessions in G1 ( $p > 0.055$ ) but did in G2 with more flights during session 3 ( $p < 0.0001$ ) (Fig. 1a).

Body mass, wing loading and body mass loss differed over time between groups (interactions session  $\times$  group  $\times$  state,  $F_{1,52} > 20.43$ ,  $p < 0.0001$  and session  $\times$  group,  $F_{4,41} = 22.69$ ,  $p < 0.0001$ ).

During disturbance, body mass loss was significant in the three groups ( $t < -6.38$ ,  $df = 34$ ,  $p < 0.0001$ ) and differed significantly between the three sessions with a greater loss in the

first session ( $F_{2,35} = 89.17$ ,  $p < 0.0001$ , Fig. 1a). Body mass loss was at least twice as great in both treatment groups than in the control group ( $t < -8.46$ ,  $df = 18$ ,  $p < 0.0001$ , Table 2), moreover, it was greater in G2 than in G1 ( $t = 2.55$ ,  $df = 19$ ,  $p = 0.049$ ). In disturbed groups, mean daily body mass loss was not linear over the sessions, being higher during the first four days of disturbance (G1 =  $-8.04 \pm 0.62$  g.day<sup>-1</sup>, G2 =  $-10.38 \pm 0.83$  g.day<sup>-1</sup>) than during the three last days (G1 =  $-2.77 \pm 0.45$  g.day<sup>-1</sup>, G2 =  $-3.55 \pm 0.74$  g.day<sup>-1</sup>) ( $F_{1,28} = 258.86$ ,  $p < 0.0001$ ).

Although initial wing loading did not differ between groups ( $t > -1.25$ ,  $df = 30$ ,  $p > 0.81$ ), final wing loading was lower in G1 and G2 than in the control group at the end of the disturbance sessions ( $t < -3.43$ ,  $df = 24$ ,  $p < 0.018$ , Table 2). For all sessions, final wing loading was similar in both disturbed groups ( $t = 1.07$ ,  $df = 25$ ,  $p = 0.89$ , Table 2).

Body mass loss was not related to final wing loading ( $R^2 = 0.09$ ,  $F_{2,11} = 1.54$ ,  $p = 0.27$ ), but the greater the initial wing loading, the greater the body mass loss ( $R^2 = 0.88$ ,  $F_{2,11} = 37.36$ ,  $p < 0.0001$ , Fig. 2a).

Power margin gain was greater during the first session ( $0.76 \pm 0.03$ ) and decreased over the following sessions (session 2:  $0.43 \pm 0.03$  and session 3:  $0.31 \pm 0.03$ ). Power margin gain was greater in G2 than in G1 (interaction session x group,  $F_{2,23} = 3.63$ ,  $p = 0.043$ ) but the difference was only significant for the first session (G1:  $0.65 \pm 0.04$ ; G2:  $0.87 \pm 0.05$ ;  $t = -3.25$ ,  $df = 24$ ,  $p = 0.036$ ).

The food intake of the control group was random, that is to say not dependent on the previous food consumption (Fig. 3). The food intake for the disturbed groups was dependent on those of the 2 previous days. These results were confirmed by Ljung-box test (see supplementary material). When comparing the food intake of the day with the one of the same day of the previous or next week, correlations were stronger in G2 than in G1 (Fig. 3). All correlations were negative meaning that when the food intake was high one day it will be low 7 days later and vice versa. That is, food intake decreased during the disturbance and returned to normal values following the disturbance; this decrease was greater in G2 than in G1 (Fig. 4a).

## Tufted ducks

The number of daily escape flights in the disturbed group increased throughout the three sessions ( $F_{2,41} = 118.08$ ,  $p < 0.001$ , Fig. 1b). Body mass, wing loading changes and body mass loss were different over time between the disturbed and the control group (interactions session x group x state,  $F_{2,29} > 8.88$ ,  $p < 0.001$  and group x session  $F_{2,23} = 12.04$ ,  $p = 0.0003$ ).

Body mass significantly decreased during the disturbance session in both groups, but was three times greater in the disturbed than in the control group ( $F_{1,16} = 41.68$ ,  $p < 0.0001$ , Table 2). Body mass loss was greater in the first than in the third session in the disturbed group ( $t = -5.06$ ,  $df = 24$ ,  $p = 0.0005$ ), whereas it did not differ between sessions in the control group ( $t < 2.01$ ,  $df = 24$ ,  $p > 0.37$ , Fig. 1b). In G2 mean daily body mass loss was greater during the first four days of disturbance ( $-25.48 \pm 1.24$  g.day<sup>-1</sup>) than during the last three days ( $2.06 \pm 1.74$  g.day<sup>-1</sup>) ( $F_{1,15} = 353.56$ ,  $p < 0.0001$ ).

Initial wing loading did not differ between groups ( $t = -1.33$ ,  $df = 41$ ,  $p = 0.55$ , Table 2). Final wing loading at the end of disturbance in G2 did not differ between sessions ( $t < 2.64$ ,  $df = 39$ ,  $p > 0.30$ ) and was significantly lower than in the control group ( $t = -6.80$ ,  $df = 27$ ,  $p < 0.0001$ , Table 2).

Although, there was no relationship between final wing loading and body mass loss ( $R^2 = 0.75$ ,  $F_{2,5} = 8.75$ ,  $p = 0.06$ ), the greater the initial wing loading was the greater the body mass loss ( $R^2 = 0.93$ ,  $F_{2,5} = 34.80$ ,  $p = 0.008$ , Fig. 2b).

Disturbance led to a mean power margin gain of  $9.6 \pm 0.7$  % in G2. The power margin gain differed between sessions ( $F_{2,11} = 4.04$ ,  $p = 0.048$ ), values being higher in the first ( $0.47 \pm 0.04$ ) and lower in the third one ( $0.35 \pm 0.04$ ) ( $t = 2.96$ ,  $df = 12$ ,  $p = 0.032$ ).

The food intake depended on intake of the previous day (Fig. 5). In the disturbed group, food intake was dependent on that of the 2 previous days. These results were confirmed by Ljung-box test (see supplementary material). When comparing the food intake of a specific day with that on the same day of the previous or next week, correlations were negative meaning that

when the food intake was high one day it will be low 7 days later and vice versa. That is, food intake decreased during the disturbance and came back to its normal value after the disturbance ended (Fig. 4b).

## **Discussion**

We show in this experimental study that teal and tufted ducks responded to an increased predation risk by reducing food consumption and body mass. This strategy is consistent with an improved escape capability achieved by reducing wing loading. In addition, it confirms that the response to the starvation-predation risk trade-off depends on the body reserve management strategy.

In both species, the relative body mass decrease was at least twice as high in the disturbed groups as in the control one. We suggest that this loss probably resulted from mass-dependent costs associated with disturbance. This result is in accordance with findings obtained in mallards and in passerines exposed to an increased predation risk (Gosler et al. 1995, Lilliendahl 1997, Cresswell 1998, Gentle and Gosler 2001, Kullberg et al. 2005, Macleod et al. 2005a, Macleod et al. 2005b, Macleod 2006, Zimmer et al. in press). Such a body mass decrease should be advantageous since it reduces energetic maintenance costs, foraging time and wing loading. In natural conditions those factors would allow reduced exposure to predators and enhanced escape capabilities (Bednekoff and Houston 1994; Brodin 2001; Houston et al. 1993; Witter et al. 1994). Therefore, our results support the starvation-predation risk trade-off theory which assumes that an increase in predation pressure leads to a decrease of body mass (Houston et al. 1993; Lima 1986; Witter and Cuthill 1993). Similarly, Nebel and Ydenberg (2005) have shown that wing loading of non-breeding waterbirds is linked to predation risk.

Control groups of teal and tufted duck lost significant weight, probably as a direct consequence of handling stress (Lilliendahl 1997; Macleod and Gosler 2006; Van der Veen and Sivars 2000; Gosler 2001). Moreover, the body mass loss was also greater in the disturbed



groups of both species during the first than during the other sessions, whereas no session effect was detected in mallards (Zimmer et al. in press). This could be related to a stress response associated with the novelty of the disturbance situation. During the first session, stress response associated with a disturbance's mass-dependent costs may result in a greater body mass loss. Thus, we suggest that both species were more reactive than mallards to novel and highly stressful situations. Another assumption requiring scrutiny is that it cannot be excluded that teal and tufted ducks started the first session with relatively larger fat stores than did mallards so that mass-dependent costs of disturbance flights were greater.

In tufted ducks, body mass loss was greatest during the first session when there were also the fewest daily escape flights. Interestingly, the converse was observed during the third session (Fig. 1b). A similar result was found in teal from the G2 disturbed group (Fig. 1a). Escape flights require at least three times greater energy expenditure than do sustained flapping flights (Nudds and Bryant 2000; Videler 2005). Thus, if body mass loss is directly related to an increase of energy expenditure in response to the number of escape flights, one would expect that a greater body mass decrease would result from a larger number of flights. Therefore, as in mallards (Zimmer et al. in press), the extent of the body mass loss in disturbed groups for these two species is not consistent with an increase in the energy expenditure associated with escape flights.

Food intake was decreased during the week of disturbance in the treatment groups of both species although food was provided *ad libitum* (Fig. 4). The food intake of disturbed groups was not random, depending at least on the consumption during the previous day. Thus, teal and tufted ducks did not compensate for the increased energy expenditure due to take-off flights by an increased energy intake. Both species are mainly nocturnal foragers with diurnal foraging representing only about 10% of their time budget (Marsden 2000; Nilsson 1970; Pedroli 1982; Tamisier 1972). Since our maximum disturbance duration was 1 hour, (i.e. less than 12% of the daytime) we assume that ducks were not hindered in their available foraging

time. The decrease in food intake does not fit the interrupted foraging theory which predicts that birds should gain weight as a compensation mechanism in response to a reduced probability of getting food when predation risk rises (McNamara, Houston and Lima 1994). In teal, the dynamic of food consumption was the same in both disturbed groups despite body mass loss being pronounced in G2. Consequently, the decrease in food intake should result in a decreased body mass in order to gain efficiency in escape flights (Lilliendahl 1997; Carrascal and Polo 1999; Zimmer et al. in press). Improvement of flight capabilities could be achieved by adjusting the mass of different organ groups such as digestive compartments or pectoral muscle (Piersma and Lindstrom 1997; van den Hout et al. 2006). Nevertheless, it is unlikely that the weight loss in teal and tufted duck could be solely explained by a reduction in the digestive compartment since birds never fasted. However, it would be valuable to verify whether variation of pectoral muscle size could be decoupled from body mass variations (van den Hout et al. 2006). As suggested by van den Hout et al. (2010) for other waterbirds, variation of pectoral muscle size could be due to the predator-escape tactic and should not occur in gregarious species. Due to the gregarious behaviour of both species in this study (Del Hoyo, Elliot and Sargatal 1992) it is likely that muscle size would remain stable, but detailed studies on body composition variation during disturbance are needed to give conclusive answers.

Flight mechanic theory and experimental studies show that a high body mass and the associated high wing loading can impair flight capabilities during predator attack by decreasing the speed and the angle at take-off and aerial manoeuvrability (Burns and Ydenberg 2002; Hedenstrom 1992; Hedenstrom and Alerstam 1992; Kullberg et al. 1996; Kullberg et al. 2005; Metcalfe and Ure 1995; Pennycuick 1989; Witter and Cuthill 1993). Indeed, wing loading is a major issue for flight performance and is mainly negatively related to flight speed (Norberg 1996). Interestingly, we showed that body mass loss was positively linked to the initial wing loading and not to the final wing loading (Fig. 2). In teal, although body mass loss differed between disturbed groups and sessions, final wing loadings were never different and were lower

than in the control group. In tufted ducks, similar results have been obtained. Therefore, it seems that ducks under disturbance attempt to reach a definite wing loading by adjusting body mass through the control of food intake. Furthermore, final wing loading did not differ among groups and sessions despite the different number of take-off flights. Thus, these results argue against the idea that training would have a major impact on flight performance, but importantly they suggest that wing loading at the beginning of an increased risk period is the main factor driving body mass regulation. The latter conclusion is also supported by the fact that body mass loss reached its highest values during the first part of each disturbance session. Overall, disturbed ducks increased their power margin by 7 to 10 % during disturbance sessions and consequently they had more energy available for flying. This helps birds to be more manoeuvrable and to climb more easily (Pennycuick 2008). Overall, these results agree with those obtained for mallard (Zimmer et al. in press) and argue for an optimal adjustment of body mass and flight performance among different duck species in response to an increase in predation risk. Our results are therefore in accordance with the starvation-predation risk trade-off and its related theory: the fit-for-flight hypothesis (Lima 1986; McNamara and Houston 1990; Van der Veen and Sivars 2000), suggesting that this is a general mechanism driving body mass and wing loading changes under different predation risks (see also Nebel and Ydenberg 2005).

In Anatidaes, according to the results we obtained in a representative set of species (tufted ducks and teal, this study; mallards, Zimmer et al. in press) the overall response to the aforementioned trade-off is broadly similar as it relates to body mass and food intake regulation. In such large animals, the power margin is relatively low because the power available for flight is increased with body mass at a slower rate than the required power (Pennycuick 2008). As a result, significant gains in power margin, a key for increased flight maneuverability during predator attacks, is through large body mass loss as shown in these three ducks species (the current study and Zimmer et al. in press). However, in birds laying down significant amounts of body reserves, predation risk is minimized without dramatically increasing starvation risk, thus

the predation risks could be considered of greater importance than starvation. In contrast, in small birds like passerines, the achievement of the trade-off between both risks is quite different and, as shown in several studies, body mass loss in response to enhanced predation risk is more limited (Carrascal and Polo 1999; Cresswell 1998; Gentle and Gosler 2001; Gosler et al. 1995; Lilliendahl 1997; Macleod et al. 2005a; Macleod et al. 2005b). In fact as passerines store limited amounts of body reserves that only allow a short-term defense against fasting (Blem 1990; Haftorn 1989) starvation risk is of greater importance than predation risk. This phenomenon is amplified by their high specific metabolism due to a small size and to the high proportion of lean mass which is energetically more costly than the fat mass (Schmidt-Nielsen 1983). Furthermore, in passerines the power margin and consequently the maneuverability are very high as compared with larger ducks, and body mass reductions are of minor impact on these parameters (see Kullberg 1998; Kullberg, Jakobsson and Fransson 1998; Van der Veen and Lindstrom 2000; Veasey, Metcalfe and Houston 1998). Therefore, we suggest that the relative importance of starvation and predation and the response to the trade-off between these risks are dependent of the strategy of body reserve management (Fig. 6).

To conclude, we showed that an increase in the predation risk led to a strategic body mass loss in teal and tufted duck most likely in order to reach a more favourable wing loading. This result is in accordance with the one already obtained in mallard (Zimmer et al. in press) and with that it is observed in passerines (Carrascal and Polo 1999; Gentle and Gosler 2001; Lilliendahl 1997). Thus, the starvation-predation risk trade-off seems to be one of the major life history traits underlying optimal body mass adjustment in a variety of duck species and we expect that these findings can be generalized to all birds facing events of disturbance or predation. However, the relationship between the power margin gain and the body mass decrease differed between duck species and passerines probably because of different strategies in body reserve management. To confirm these results it will be necessary to measure directly the impact of wing loading adjustment on flight performance and body fuel amount. Overall,

body mass decline under disturbance is not implicitly deleterious when birds, relative to their body fuel reserves and metabolism changes, are more efficient in escaping. Finally, as shown in shorebirds (Nebel and Ydenberg 2005), the benefits of wing loading adjustments and associated behaviour changes should be better addressed when dealing with the impact of disturbance on the fitness of birds especially among waterfowl species.

#### Acknowledgements

This study was supported by grants from “Région Alsace”, Naturaconst@, National Fund for Biological Research on Game and Wildlife Species and CNRS. We sincerely thank G. Herzberg for his comments on the manuscript and for language editing.

#### References

- Baldassarre, G. A., Whyte, R. J. & Bolen, E. G. (1986) Body-weight and carcass composition of nonbreeding green-winged teal on the southern high-plains of Texas. *Journal of Wildlife Management*, **50**, 420-426.
- Bednekoff, P. A. & Houston, A. I. (1994) Optimizing fat reserves over the entire winter: a dynamic-model. *Oikos*, **71**, 408-415.
- Blem, C. R. (1976) Patterns of lipid storage and utilization in birds. *American Zoologist*, **16**, 671-684.
- Blem, C. R. (1990) Avian energy storage. *Current Ornithology*, **7**, 59-113.
- Boos, M., Zorn, T., Delacour, G. & Robin, J. P. (2007) Weather and body condition in wintering Mallards *Anas platyrhynchos*. *Bird Study*, **54**, 154-159.
- Brodin, A. (2001) Mass-dependent predation and metabolic expenditure in wintering birds: is there a trade-off between different forms of predation? *Animal Behaviour*, **62**, 993-999.

- Burns, J. G. & Ydenberg, R. C. (2002) The effects of wing loading and gender on the escape flights of least sandpipers (*Calidris minutilla*) and western sandpipers (*Calidris mauri*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **52**, 128-136.
- Carrascal, L. M. & Polo, V. (1999) Coal tits, *Parus ater*, lose weight in response to chases by predators. *Animal Behaviour*, **58**, 281-285.
- Cresswell, W. (1998) Diurnal and seasonal mass variation in blackbirds *Turdus merula*: consequences for mass-dependent predation risk. *Journal of Animal Ecology*, **67**, 78-90.
- Cresswell, W. & Whitfield, D. P. (2008) How starvation risk in Redshanks *Tringa totanus* results in predation mortality from Sparrowhawks *Accipiter nisus*. *Ibis*, **150**, 209-218.
- Del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J. (1992) *Handbooks of the Birds of the World. Volume 1: Ostrich to Ducks*, Lynx Edicions, Barcelona.
- Fox, A. D., King, R. & Watkin, J. (1992) Seasonal-variation in weight, body measurements and condition of free-living teal. *Bird Study*, **39**, 53-62.
- Gentle, L. K. & Gosler, A. G. (2001) Fat reserves and perceived predation risk in the great tit, *Parus major*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **268**, 487-491.
- Gosler, A. G. (2001) The effects of trapping on the perception, and trade-off, of risks in the Great Tit *Parus major*. *Ardea*, **89**, 75-84.
- Gosler, A. G., Greenwood, J. J. D. & Perrins, C. (1995) Predation risk and the cost of being fat. *Nature*, **377**, 621-623.
- Haftorn, S. (1989) Seasonal and diurnal body-weight variations in titmice, based on analyses of individual birds. *Wilson Bulletin*, **101**, 217-235.
- Hedenstrom, A. (1992) Flight performance in relation to fuel load in birds. *Journal of Theoretical Biology*, **158**, 535-537.

- Hedenstrom, A. & Alerstam, T. (1992) Climbing performance of migrating birds as a basis for estimating limits for fuel-carrying capacity and muscle work. *Journal of Experimental Biology*, **164**, 19-38.
- Houston, A. I., McNamara, J. M. & Hutchinson, J. M. C. (1993) General results concerning the trade-off between gaining energy and avoiding predation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **341**, 375-397.
- Kullberg, C. (1998) Does diurnal variation in body mass affect take-off ability in wintering willow tits? *Animal Behaviour*, **56**, 227-233.
- Kullberg, C., Fransson, T. & Jakobsson, S. (1996) Impaired predator evasion in fat blackcaps (*Sylvia atricapilla*). *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **263**, 1671-1675.
- Kullberg, C., Jakobsson, S. & Fransson, T. (1998) Predator-induced take-off strategy in great tits (*Parus major*). *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **265**, 1659-1664.
- Kullberg, C., Jakobsson, S., Kaby, U. & Lind, J. (2005) Impaired flight ability prior to egg-laying: a cost of being a capital breeder. *Functional Ecology*, **19**, 98-101.
- Lilliendahl, K. (1997) The effect of predator presence on body mass in captive greenfinches. *Animal Behaviour*, **53**, 75-81.
- Lima, S. L. (1986) Predation risk and unpredictable feeding conditions: determinants of body-mass in birds. *Ecology*, **67**, 377-385.
- Loesch, C. R., Kaminski, R. M. & Richardson, D. M. (1992) Endogenous loss of body-mass by mallards in winter. *Journal of Wildlife Management*, **56**, 735-739.
- Macleod, R. (2006) Why does diurnal mass change not appear to affect the flight performance of alarmed birds? *Animal Behaviour*, **71**, 523-530.

- Macleod, R., Barnett, P., Clark, J. A. & Cresswell, W. (2005a) Body mass change strategies in blackbirds *Turdus merula*: the starvation-predation risk trade-off. *Journal of Animal Ecology*, **74**, 292-302.
- Macleod, R., Gosler, A. G. & Cresswell, W. (2005b) Diurnal mass gain strategies and perceived predation risk in the great tit *Parus major*. *Journal of Animal Ecology*, **74**, 956-964.
- Macleod, R. & Gosler, A. G. (2006) Capture and mass change: perceived predation risk or interrupted foraging? *Animal Behaviour*, **71**, 1081-1087.
- MacLeod, R., MacLeod, C. D., Learmonth, J. A., Jepson, P. D., Reid, R. J., Deaville, R. & Pierce, G. J. (2007) Mass-dependent predation risk and lethal dolphin porpoise interactions. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **274**, 2587-2593.
- Marsden, S. J. (2000) Impact of disturbance on waterfowl wintering in a UK dockland redevelopment area. *Environmental Management*, **26**, 207-213.
- McNamara, J. M. & Houston, A. I. (1990) The value of fat reserves and the tradeoff between starvation and predation. *Acta Biotheoretica*, **38**, 37-61.
- McNamara, J. M., Houston, A. I. & Lima, S. L. (1994) Foraging routines of small birds in winter: a theoretical investigation. *Journal of Avian Biology*, **25**, 287-302.
- Metcalf, N. B. & Ure, S. E. (1995) Diurnal variation in flight performance and hence potential predation risk in small birds. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **261**, 395-400.
- Nebel, S. & Ydenberg, R. (2005) Differential predator escape performance contributes to a latitudinal sex ratio cline in a migratory shorebird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **59**, 44-50.
- Nilsson, L. (1970) Food-seeking activity of south Swedish diving ducks in non-breeding season. *Oikos*, **21**, 145-154.
- Norberg, U. M. (1996) Energetics of Flight. *Avian Energetics and Nutritional Ecology* (ed C. Carey), pp. 199-249. Chapman & Hall, New York.



- Nudds, R. L. & Bryant, D. M. (2000) The energetic cost of short flights in birds. *Journal of Experimental Biology*, **203**, 1561-1572.
- Pattenden, R. K. & Boag, D. A. (1989) Effects of body-mass on courtship, pairing, and reproduction in captive mallards. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **67**, 495-501.
- Pedroli, J. C. (1982) Activity and time budget of tufted ducks on Swiss lakes during winter. *Wildfowl*, **33**, 105-112.
- Pennycuik, C. J. (1989) *Bird Flight Performance*, Oxford University Press, Oxford.
- Pennycuik, C. J. (2008) *Modelling the flying bird*, Academic Press, London.
- Piersma, T. & Lindstrom, A. (1997) Rapid reversible changes in organ size as a component of adaptive behaviour. *Trends in Ecology & Evolution*, **12**, 134-138.
- Rave, D. P. & Baldassarre, G. A. (1991) Carcass mass and composition of green-winged teal wintering in Louisiana and Texas. *Journal of Wildlife Management*, **55**, 457-461.
- Ryan, R. R. (1972) Body weight and weight changes of wintering diving ducks. *Journal of Wildlife Management*, **36**, 759-&.
- Schmidt-Nielsen, K. (1983) *Animal physiology: Adaptation and environment*, Cambridge University Press, New York.
- Stearns, S. C. (1992) *The evolution of life histories*, Oxford University Press, New York.
- Tamisier, A. (1972) Rythmes nycthémeraux des sarcelles d'hiver pendant leur hivernage en Camargue. *Alauda*, **10**, 107-135 and 235-256.
- van den Hout, P. J., Mathot, K. J., Maas, L. R. M. & Piersma, T. (2010) Predator escape tactics in birds: linking ecology and aerodynamics. *Behavioral Ecology*, **21**, 16-25.
- van den Hout, P. J., Piersma, T., Dekinga, A., Lubbe, S. K. & Visser, G. H. (2006) Ruddy turnstones *Arenaria interpres* rapidly build pectoral muscle after raptor scares. *Journal of Avian Biology*, **37**, 425-430.

- Van der Veen, I. T. & Lindstrom, K. M. (2000) Escape flights of yellowhammers and greenfinches: more than just physics. *Animal Behaviour*, **59**, 593-601.
- Van der Veen, I. T. & Sivars, L. E. (2000) Causes and consequences of mass loss upon predator encounter: feeding interruption, stress or fit-for-flight? *Functional Ecology*, **14**, 638-644.
- Veasey, J. S., Metcalfe, N. B. & Houston, D. C. (1998) A reassessment of the effect of body mass upon flight speed and predation risk in birds. *Animal Behaviour*, **56**, 883-889.
- Videler, J. J. (2005) *Avian Flight*, Oxford University Press, Oxford.
- Witter, M. S. & Cuthill, I. C. (1993) The ecological costs of avian fat storage. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **340**, 73-92.
- Witter, M. S., Cuthill, I. C. & Bonser, R. H. C. (1994) Experimental investigations of mass-dependent predation risk in the European starling, *Sturnus vulgaris*. *Animal Behaviour*, **48**, 201-222.
- Zimmer, C., Boos, M., Petit, O. & Robin, J-P. (in press). Body mass variations in disturbed mallards fit to the mass-dependent starvation-predation risk trade-off. *Journal of Avian Biology*

Table 1: Date (mm/dd/yy) of the beginning and the end of the three disturbance sessions for each group in teals and tufted ducks.

		session 1		session 2		session 3	
		beginning	end	beginning	end	beginning	end
teals	G1	11/14/07	11/20/07	01/04/08	01/10/08	02/13/08	02/19/08
	G2	11/21/07	11/27/07	01/11/08	01/17/08	02/20/08	02/26/08
tufted ducks	G2	11/26/08	12/02/08	01/10/09	01/16/09	02/18/09	02/24/08

Table 2: Mean ( $\pm$  SE) body mass loss (g), initial and final wing loading ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) for each group and mean ( $\pm$  SE) power margin gain and relative power margin gain for the disturbed groups in the two species for all sessions.

		body mass loss (g)	initial wing loading ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ )	final wing loading ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ )	power margin gain	power margin gain (%)
teals	G1	45.0 $\pm$ 2.4	0.90 $\pm$ 0.02	0.78 $\pm$ 0.02	0.43 $\pm$ 0.03	7.3 $\pm$ 0.4
	G2	57.3 $\pm$ 4.1	0.90 $\pm$ 0.02	0.75 $\pm$ 0.02	0.57 $\pm$ 0.04	9.6 $\pm$ 0.7
	CG	19.3 $\pm$ 1.7	0.94 $\pm$ 0.03	0.89 $\pm$ 0.03		
tufted ducks	G2	117.4 $\pm$ 8.8	1.43 $\pm$ 0.02	1.19 $\pm$ 0.01	0.39 $\pm$ 0.03	9.6 $\pm$ 0.7
	CG	36.0 $\pm$ 3.7	1.48 $\pm$ 0.01	1.41 $\pm$ 0.01		

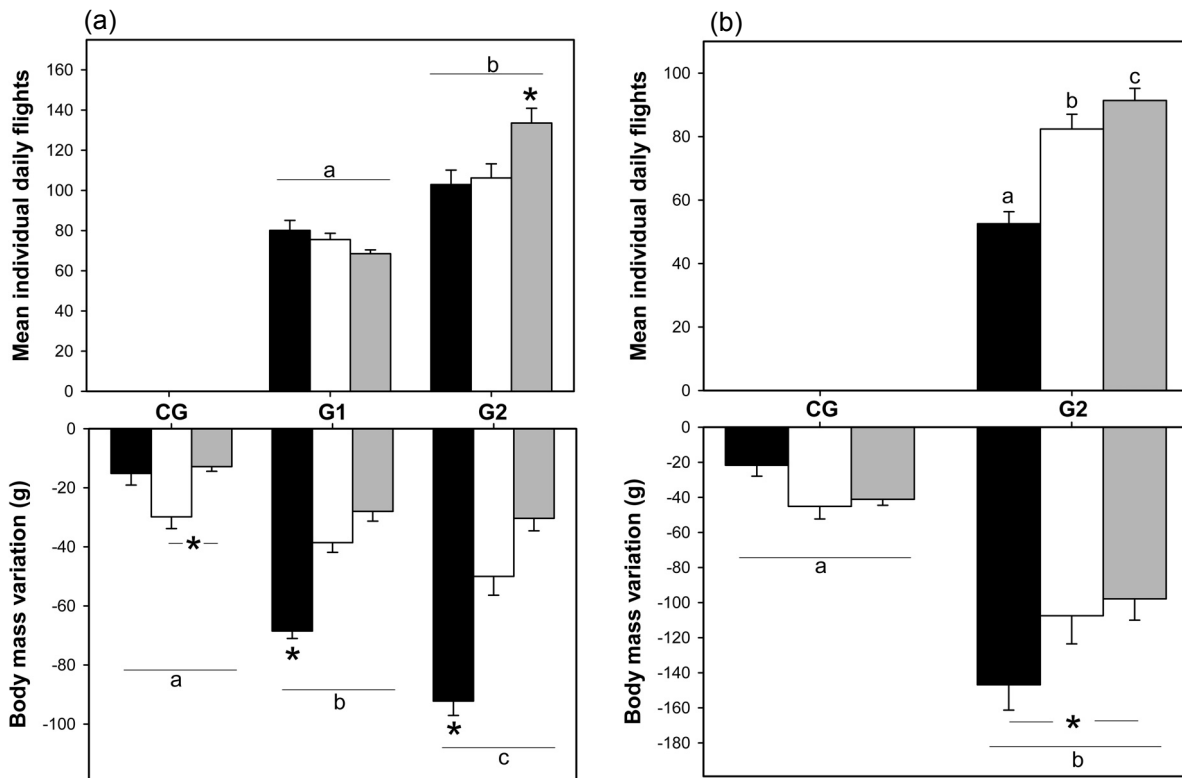


Figure 1: Mean number ( $\pm$  SE) of daily escape flights for the three sessions in disturbed groups and body mass variation (g) averaged for the three disturbance sessions in the control and in the disturbed groups in teals (a) and tufted ducks (b). In each group, black bars corresponded to the first session, white bars to the second session and gray bars to the third session. Letters indicate significant difference between groups. \* indicate differences between session in the different groups.

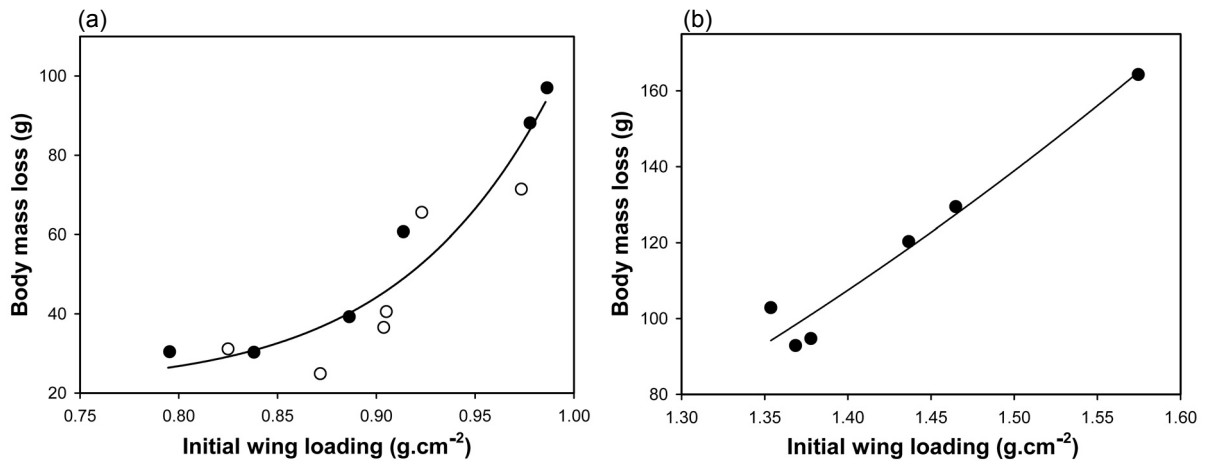


Figure 2: Relationship between body mass loss (g) and initial wing loading (g.cm<sup>-2</sup>) for the three disturbance sessions for disturbed groups in teals (a) and in tufted ducks (b) (values given are means). Individuals of G1 and G2 are indicated by open and closed circles, respectively. The relationship is best described by  $y = 85.31 x^{12.86} + 21.92$ ,  $R^2 = 0.88$ ,  $F_{2,11} = 37.36$ ,  $p < 0.0001$  in teals and by  $y = 58.68 x^{2.77} - 41.65$ ,  $R^2 = 0.93$ ,  $F_{2,5} = 34.73$ ,  $p = 0.008$  in tufted ducks. It indicates that body mass loss was greater, when the initial wing loading was higher.

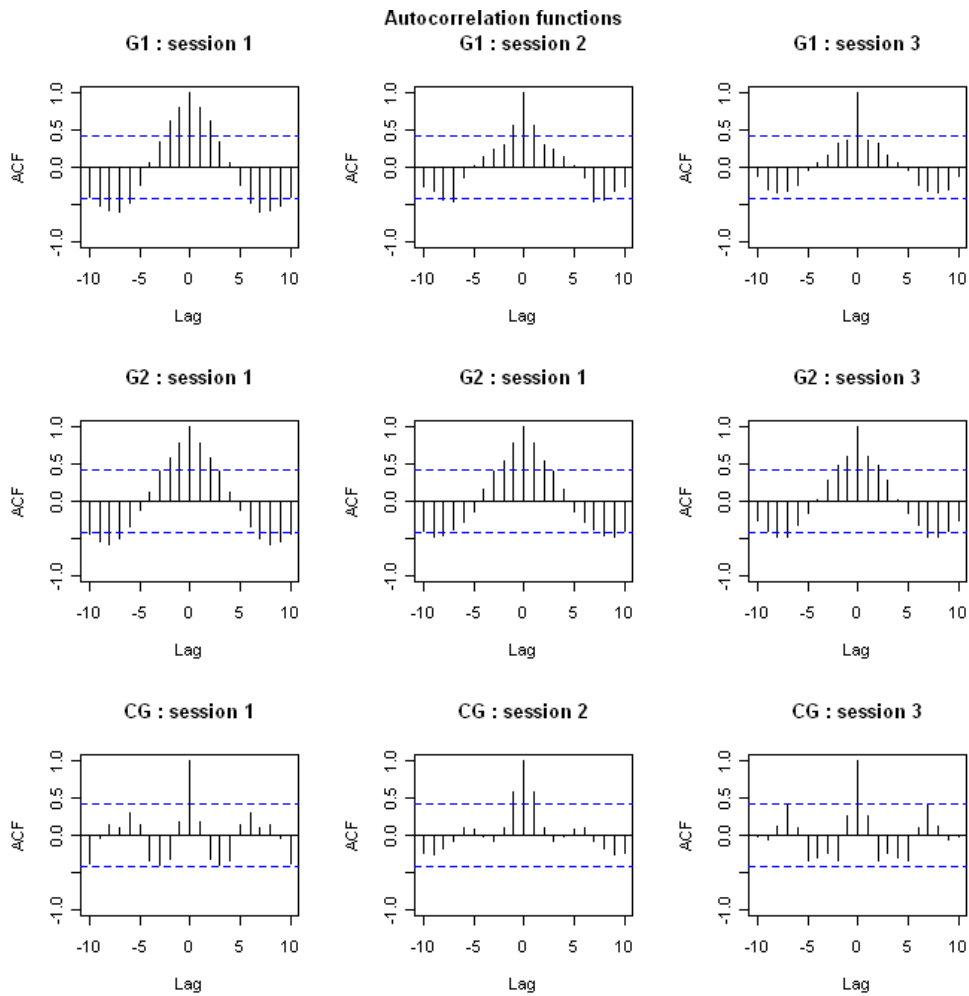


Figure 3: Autocorrelation functions relative to the daily food intake for each sessions of the three groups in teal. Blue dashed-lines represent the limit of the significantly differences from 0 for the correlations. For example, as regards positive correlations, each correlation that is above the blue line is significantly different from 0 whereas each correlation that is below the blue dashed-line is not significantly different from 0.

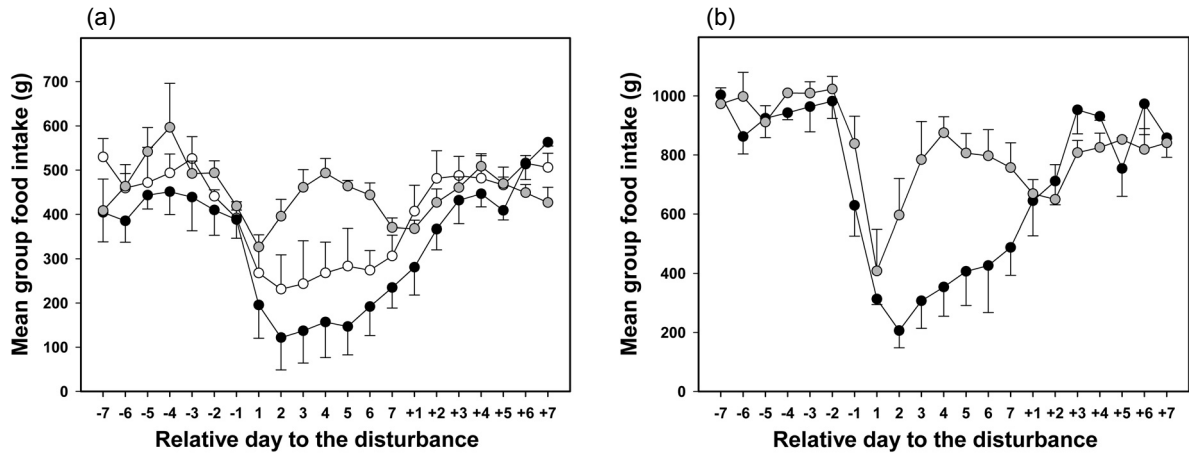


Figure 4: Evolution of the mean food intake relatively to the day of the beginning of the disturbance in teals (a) and tufted ducks (b). Data were the mean value  $\pm$  SE for the three sessions in control group (grey circles), group 2 (black circles) and group 1 (white circles). 1 corresponded to the first day of disturbance.

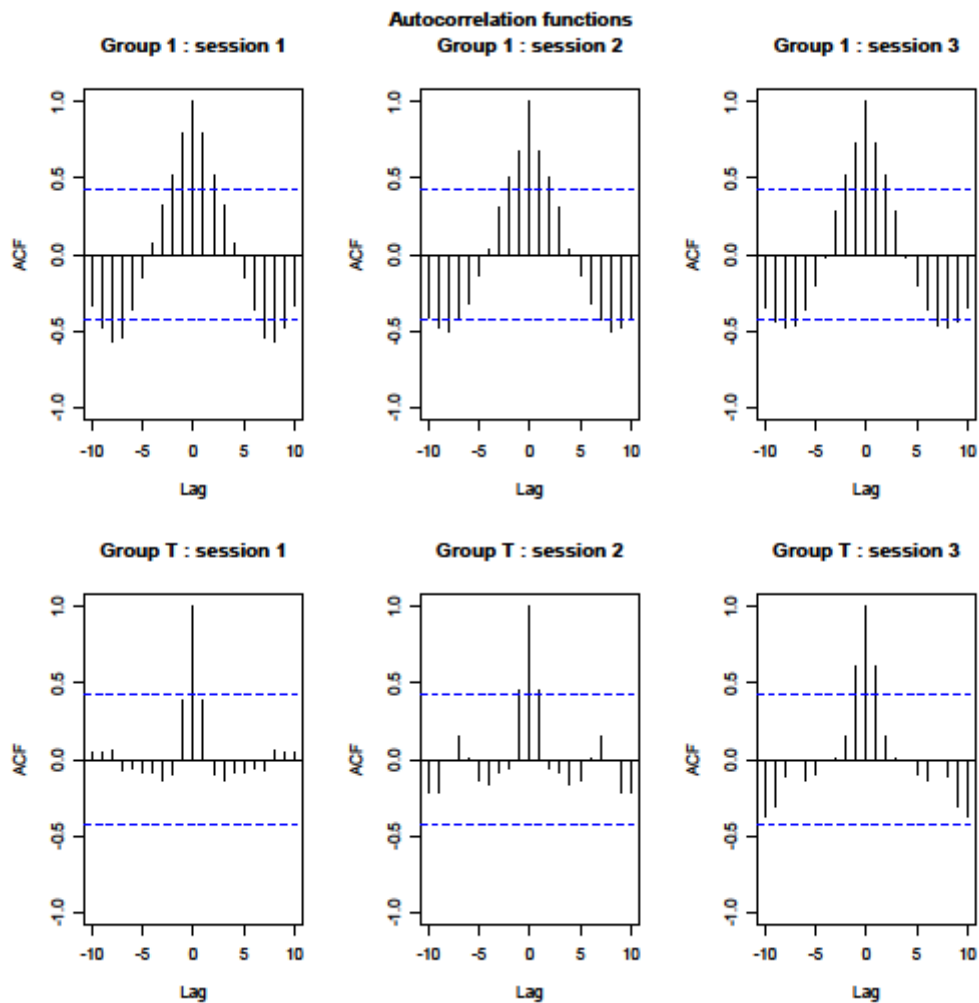


Figure 5: Autocorrelation functions relative to food intake for each sessions of the two groups in tufted ducks. Blue dashed-lines represent the limit of the significantly differences from 0 for the correlations. For example, as regards positive correlations, each correlation that is above the blue line is significantly different from 0 whereas each correlation that is below the blue dashed-line is not significantly different from 0.



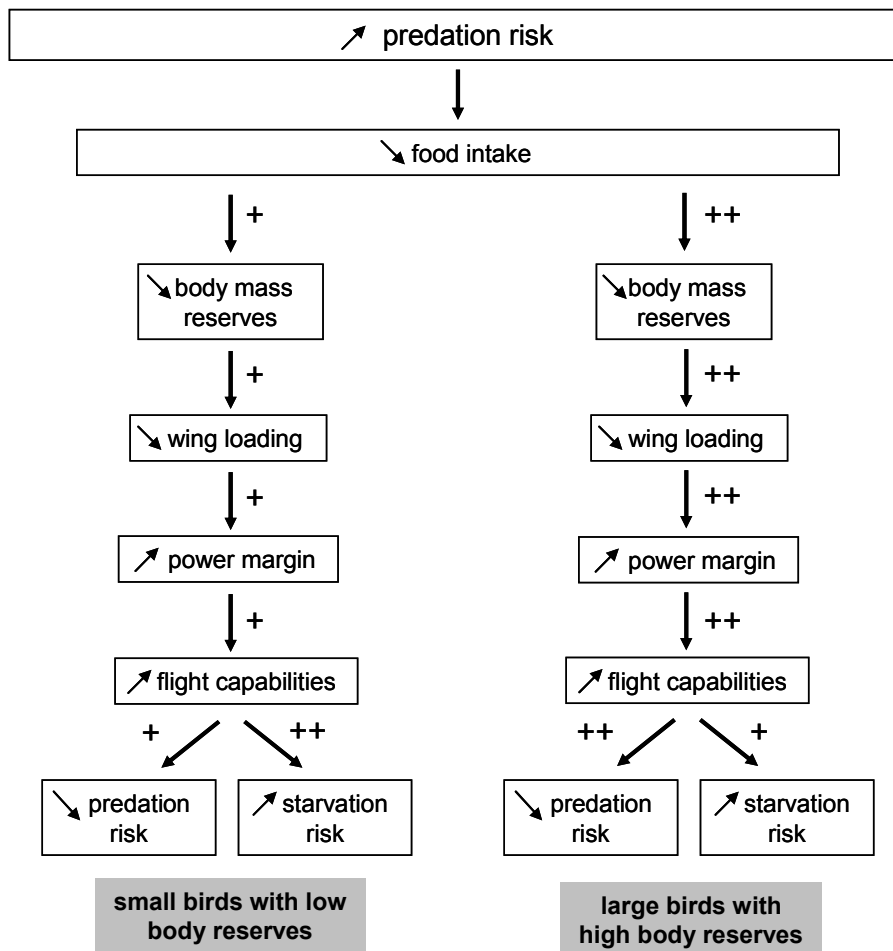


Figure 6: Diagram of the hypothetical effect responses to an increase of predation risk in different types of bird species according to their theoretical mean amount of body reserves.



#### **Article 4**

Does predation risk at breeding initiation modify the response to starvation-predation risk trade-off in ducks?

Zimmer Cédric<sup>1</sup>, Boos Mathieu<sup>2</sup>, Poulin Nicolas<sup>1</sup>, Petit Odile<sup>1</sup>, and Robin Jean-Patrice<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, Département Ecologie Physiologie et Ethologie, UMR 7178 CNRS/Université de Strasbourg; 23 rue Becquerel, 67087 Strasbourg Cedex 2, France

<sup>2</sup> Research Agency in Applied Ecology, 14 rue principale, 67270 Wilshausen, France

Corresponding author: Cédric Zimmer

E-mail address: [cedric.zimmer@c-strasbourg.fr](mailto:cedric.zimmer@c-strasbourg.fr)

Phone number: +33 388106911

Fax number: +33 388106906

En préparation

## Abstract

During predation events, birds' flight performances are important to escape successfully. Thus, individuals should maintain a low body mass when predation risk is high. However, during reproduction birds' body mass increases with gonad development, especially with eggs formation and transport in females. In this study, we tested if the different constraints imposed by reproduction compared to those during winter modify body mass regulation in response to increased predation risk. We experimentally increased the risk of predation at the beginning of the reproductive period in three duck species, the mallard, the common teal and the tufted duck. In response to a higher predation risk, ducks decreased their food intake and body mass that increase power margin and essential to enhance flight performances. However, the decrease of food intake was lower and final wing loading higher during the reproductive period than during wintering season in mallards and teals whereas there were no differences in tufted ducks probably due failed breeding initiation in this latter species. Ducks are rather income breeders and rely on external nutrients for reproduction. During reproduction food is abundant so the decrease in food intake and consequently in body mass might rather reduce the ability to breed successfully rather than increase starvation risk. Nevertheless, failing to adjust body mass and the associated wing loading properly also involves a higher vulnerability to predation risk that can exclude individuals from reproduction. The present results therefore suggest that during reproduction, body mass is balanced according to the trade-off between the investment in reproduction and predation risk rather than to the starvation-predation risk trade-off prevailing during the non breeding season.

Keywords: reproductive investment, income breeder, escape flight, mallard, teal, tufted duck

## Introduction

In birds, predation can be considered as one of the most powerful factor for selection of morphological and behavioural characters (Lima 1998; Veasey et al. 1998). Escaping successfully from predators is thus relevant for fitness of all preys. Birds principally use flight as escape mode from predators. Flight performances are known to be mass dependent and negatively correlated with wing loading especially at take-off through the angle of ascent and the speed (Pennycuick 1989; Hedenstrom 1992; Witter et al. 1994; Metcalfe and Ure 1995; Burns and Ydenberg 2002; Macleod 2006). In this way, it has been suggested that body mass changes in bird are highly dependent from predation risk, i.e. the probability for an individual of being killed by a predator is affected by its body mass. Indeed, body mass should be maintained at a low level in order to reduce predation mortality risk (Lima 1986; Houston et al. 1993; Witter and Cuthill 1993). Moreover, it has been shown that body mass or body reserves level could be affected by an increase in predation risk (Gosler et al. 1995; Lilliendahl 1997; Cresswell 1998; Carrascal and Polo 1999; Gentle and Gosler 2001; Macleod et al. 2005a; Macleod et al. 2005b; Zimmer et al. in press). Like in small birds, we showed that ducks responded to an increase in predation risk during wintering period by strategically reducing their food intake in order to decrease and properly adjust body mass. This decrease should allow ducks to reach a more favourable wing loading and to gain power margin that should enhance escape flight capabilities (Zimmer et al. in press, submitted).

During the breeding period, life history theories propose that current reproductive investment should be balanced between current reproduction and future probability of survival and reproduction (Stearns 1992). Reproductive activities could increase predation risk (reviewed in Magnhagen 1991). Since, failing to escape from a predator leads to the death and exclude individuals from future reproduction, it should be adaptive to maintain body mass as low as possible. However, birds increase their body mass during breeding period due to gonads development and eggs formation (Moreno 1989). This increase in body mass should weaken

individuals' flight performances (Lee et al. 1996) and raised the risk of being predated. For example, it has been shown that angle or speed at take-off are lower in starling females (*Sturnus vulgaris*), zebra finch (*Taeniopygia guttata*) and blue tit (*Parus caeruleus*) during egg laying or just after the completion of the clutch therefore resulting in an increase in the risk of predation (Lee et al. 1996; Veasey et al. 2000, 2001; Kullberg et al. 2002). On the contrary, Kullberg et al. (2005) showed that breeding females zebra finches decrease their wing loading that improved by 12% their flight speed without reducing the angle at take-off during egg laying and finally reduced predation risk.

So, it seems that reproduction imposes different constraints on body mass regulation and thus on flight performances than do winter conditions. Although endogenous body lipids reserves at arrival on the breeding grounds positively affect nesting capabilities, ducks are typically income breeders since they heavily rely on nutrients (especially proteinic items) ingested daily to develop their sexual organs and follicles and to incubate eggs (Krapu 1981; Afton and Paulus 1992; Alisauskas and Ankney 1992; Baldassarre and Bolen 2006). Food availability being less restricted than during the wintering season, we can make the hypothesis that ducks' should respond differently to the predation risk during reproduction period.

In order to verify this hypothesis, we experimentally increased the risk of predation at the beginning of the reproductive period in mallards (*Anas platythynchos*), common teals (*Anas crecca*) and tufted ducks (*Aythya fuligula*). During this period, ducks should develop their gonads that would be nutritionally costly since their size increase at least ten times in mallard (Johnson 1961). Moreover, since these three species are rather income breeders they must rely on their immediate diet to acquire enough energy and nutrients for gonadal maturation and egg formation. As a consequence, we predict that at the beginning of the breeding season ducks should modify their food intake and body mass differently than during winter.

## Materiel and methods

### Animals and experimental conditions

The study was conducted on three duck species: the mallard, the common teal and the tufted duck. Mallards originated from the registered rearing centre of “la Canarderie de la Ronde” (Cère la Ronde/France), common teals originated from the rearing centre Fauna Leroy (Westvletren/Belguim) and tufted ducks originated from the rearing centre of “Les canards de Mormal” (Jolimetz/France). In mallards and common teals three groups of 14 individuals (7 females and 7 males) were constituted whereas only two groups of the same composition were formed in tufted ducks because of provisioning problems. Ducks were maintained in 100 m<sup>2</sup> (20 x 5 x 2.5 m) outdoor tunnel aviaries and were subjected to ambient temperature and natural photoperiod. The aviaries were located near the laboratory and were protected against predator thanks to an electric fence. Groups were visually separated by opaque barriers in order to avoid visual contact. Each aviary contained a 4 m<sup>2</sup> pool (0.60 m depth) with clear running water and was situated at the same location in each tunnel. A balance commercial diet (Standard duck food 7751, Sanders Corporation) was provided *ad libitum* and for tufted ducks a more protein-rich supplement (Teurlings premium duck food) was also provided *ad libitum*. The food was in feeders placed on a 2 x 2 m cover to account for food spillage.

### Experimental procedure

#### Disturbance

Duck's perceived predation risk was experimentally increased by increasing human disturbance that elicits the same response than against natural predators (Frid and Dill 2002). The disturbance was provoked by a radio-controlled car (E-Zilla FWD Hot-boddies<sup>TM</sup>) that was steered with high speed towards the ducks, until they took off. This method was the most efficient to lead to take-off of the entire group and induce predator attack like response (Zimmer et al. in press). No ducks were hurt by the car during the experiment. During the disturbance

phases, two experimenters (C.Z., M.B.) were in a corner of the aviaries to pilot the radio-controlled car and to note the number of individuals' take-offs. Disturbance in one group did not modify vigilance and self-maintenance duck behaviours in other groups thanks to opaque barriers.

Just before the laying period, two groups in mallards and teals and only one in tufted ducks were disturbed during one week. These ducks were already subjected to that disturbance during wintering period. In mallards and common teals, group 1 (G1) was disturbed twice daily during 15 minutes. In the three species, group 2 (G) was disturbed four times by day also during 15 minutes. Disturbance took place between 0800 h and 1100 h. Disturbance began on March 7<sup>th</sup> 2007 for G1 and on March 14<sup>th</sup> 2007 for G2 in mallards, on April 9<sup>th</sup> 2008 for G1 and on April 16<sup>th</sup> 2008 for G2 in teals and on April 16<sup>th</sup> 2009 in tufted ducks. In the three species, one group was not disturbed and was used as a control group (CG). Each aviary was monitored during the night thanks to night-view camera to ensure that ducks were not disturbed by external cues.

#### Weighing, wing loading and power margin

In the three species, ducks of disturbed groups were caught with a net and brought in a nearby room where they were weighted ( $\pm 1$  g) the day before the beginning of the disturbance, on the fourth day and the last day immediately after the end of the last disturbance phase. Control groups were weighted accordingly. Each group was weighted once at the end of the wintering period. Birds of each group were released together in their respective aviary after weighing.

The outline of the stretched two wings was drawn onto paper. After scanning, the total wing area was measured using Sigma-scan software (version 5.0). Wing loading ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) was determined by dividing body mass by total wing area.

The power margin corresponds to ratio between the power available and the power required for flight. Power available and power required for flight were calculated from the



equations determined by Zimmer et al. (submitted). The power margin gain was the difference between the power margin at the end of the disturbance and the one before disturbance.

### Food intake

Daily food intake measurement began one week before the disturbance and ended one week after its completion. Each day at 1800 h, birds were given fresh food, 2 kg for mallards, 1 kg for teals and 0.8 kg for tufted ducks with a supplement of 0.8 kg after the removing of the food remaining from the previous 24 h. Food spill on the cover was also collected. To avoid water content modification, all food given to the ducks and removed from the feeders was dried 24 h at 40 °C in an oven before being weighed.

### Statistical analysis

A two-way ANOVA was used to test differences in the number of individual daily take-off flights between groups and sexes in mallards and one-way ANOVAs were used to test differences between groups in common teals and between sexes in tufted ducks. For each species, we used general linear mixed models (GLMM) to examine the effects of the increase in predation risk on body mass and wing loading changes. Group, sex, and state (end of wintering, before disturbance and after disturbance) were included as fixed factors and state was also specified as repeated factor. Individuals were defined as random factor to account for inter-individual variability. To examine the effect of the disturbance on body mass loss and on power margin gain general linear models (GLM) were performed with group and sex as fixed factors and individual was specified as random factor. Differences in daily body mass loss between the first four days and the last three days of disturbance were tested thanks to a GLMM with group, sex and state (daily body mass loss during the first four days and daily body mass loss during the last three days) as fixed factors. State was also used as repeated factor and individuals were specified as random factor. For each model, Tukey-Kramer multiple comparison adjustment was

applied to obtain corrected p-value. Models were performed with SAS 9.2 (SAS Institute Corporation). We used Pearson correlation to examine correlations between body mass loss and initial wing loading and final wing loading (Sigmaplot 11). Daily food intake measurements have been investigated as time series. For each group the autocorrelation functions (ACF) have been calculated for all lags between -10 and 10. These functions give the correlation between the signal and itself with an increasing lag (i.e. correlation between the response at time  $t$  and the response at time  $t + \text{lag}$ ). This allowed us to investigate periodicity in the time series. In order to assess if a series is drawn at random, we used Ljung-Box test that is a portemanteau test whose null hypothesis is “data are random”. The tests were performed for each group at each lag. Time series analyses were conducting using R.2.9.2. Probability levels  $< 0.05$  were considered as significant. Means values provided are given  $\pm$  SE.

## Results

### Mallards

The number of daily take-off flights was about twice higher in G2 than in G1 ( $F_{1,27} = 414.52$ ,  $p < 0.0001$ ) with no difference between males and females ( $F_{1,27} = 0.52$ ,  $p = 0.48$ ) (Figure 1a).

Body mass did not differ between sexes ( $F_{1,30} = 0.10$ ,  $p = 0.76$ ) whereas wing loading and body mass loss were significantly higher in females than in males ( $F_{1,36} > 6.27$ ,  $p < 0.017$ ) (Table 1). Body mass and wing loading were different between sexes over time in the three groups (interaction group  $\times$  state  $\times$  sex,  $F_{4,41} > 3.64$ ,  $p < 0.013$ , Table 1). Body mass and wing loading in male of the disturbed group at the end of the wintering period were higher compared to the values recorded at the beginning of the disturbance session corresponding to period of breeding initiation ( $t > 3.73$ ,  $df = 36$ ,  $p < 0.048$ ). Body mass of females in G1 was higher than in G2 at the beginning of the disturbance session ( $t = 2.26$ ,  $df = 72$ ,  $p = 0.033$ ). Body mass loss during the disturbance was significantly different between the three groups ( $F_{2,22} = 13.59$ ,  $p = 0.0001$ ). Body mass loss was at least twice higher in G1 and G2 than in CG ( $t > 2.51$ ,  $df = 22$ ,  $p$

< 0.05). Body mass loss was also slightly significantly higher in G1 than in G2 ( $t = 2.57$ ,  $df = 24$ ,  $p = 0.044$ ) (Figure 1a). Body mass decrease was not significant in CG ( $t = 1.94$ ,  $df = 72$ ,  $p = 0.59$ ). Body mass loss between groups differed by sex (interaction group  $\times$  sexes,  $F_{2,22} = 6.53$ ,  $p = 0.006$ ). Especially females of G1 lost more body mass than males of G1 and females and males of G2 and CG ( $t > 3.54$ ,  $df = 25$ ,  $p < 0.019$ , Figure 1a). In disturbed groups, final wing loading was lower than the initial one at the beginning of the disturbance ( $t > 4.20$ ,  $df = 36$ ,  $p < 0.004$ ). Final wing loading was lower in both disturbed groups than in the control one ( $t > 2.88$ ,  $df = 24$ ,  $p < 0.05$ ) but initial wing loading was not different between the three groups ( $t < 2.38$ ,  $df = 28$ ,  $p > 0.32$ ). Moreover, while initial wing loading was different between sexes ( $t = 3.44$ ,  $df = 36$ ,  $p = 0.018$ ) final wing loading was similar ( $t = 2.38$ ,  $df = 36$ ,  $p = 0.19$ ) (Table 1). Additionally, final wing loading was not correlated to body mass loss ( $R = -0.13$ ,  $n = 28$ ,  $p = 0.52$ ) whereas initial wing loading was negatively correlated with body mass loss ( $R = -0.60$ ,  $n = 28$ ,  $p = 0.0008$ ). Furthermore, in disturbed groups mean daily body mass loss was higher during the first four days ( $-13.13 \pm 2.42 \text{ g.day}^{-1}$ ) than during the last three days of disturbance ( $-4.89 \pm 1.98 \text{ g.day}^{-1}$ ) ( $F_{1,36} = 11.59$ ,  $p < 0.0001$ ). Differences between states in daily body mass loss varied by sex (interaction state  $\times$  sex,  $F_{1,36} = 11.57$ ,  $p = 0.002$ ). Mean daily body mass loss was higher during the first four days in females ( $-20.98 \pm 3.60 \text{ g.day}^{-1}$ ) than during the three following days ( $-4.52 \pm 3.70 \text{ g.day}^{-1}$ ) and than during the first four days of disturbance in males ( $-5.27 \pm 1.35 \text{ g.day}^{-1}$ ) ( $t > 4.54$ ,  $df = 48$ ,  $p < 0.0001$ ). In disturbed groups, power margin gain was different between G1 and G2 and varied by sex (interaction group  $\times$  sex,  $F_{1,24} = 6.48$ ,  $p = 0.18$ ). In fact, power margin gain was higher in G1 females than in G1 males and than both sexes of G2 ( $t > 3.60$ ,  $df = 24$ ,  $p < 0.008$ , Table 1).

Food intake of disturbed mallards depended on the food intake of the previous day (significant correlations at lag -1 and lag 1) and about 10 days earlier (at lags -10 and 10 and at lags -9 and 9 in G1). Moreover these correlations are negative meaning that if the food intake was quite high (respectively low) one day it will be quite low (respectively high) 10 days later

(and at least for 2 days) and stronger in G1 than in G2 (Figure 2a). Globally, food intake decreased during the disturbance in treatment groups and reached initial values after the completion of the disturbance (Figure 3a). In control group, correlation was also significant at lag -1 and 1 (Figure 2a). However, Ljung-box test indicated that the null hypothesis cannot be rejected except for small lags so we can consider that these data are drawn at random. Conversely, in disturbed groups p-values are very low showing that food intake was not drawn at random (Figure 4a). Moreover, even if not significant, one can see the difference in shape between the ACF of the disturbed groups and the one of the control group. The ACF for the disturbed groups is quite typical of periodic time series which seemed corresponding to the period of the disturbance (Figure 2a). Unfortunately, due to the design of the experiment, the times series are not observed long enough to determine the period.

#### Common teals

The number of daily escape flights was about twice higher in G2 than in G1 ( $F_{1,13} = 64.23$ ,  $p < 0.0001$ , Figure 1b).

Globally, body mass and wing loading were higher in males than in females ( $F_{1,36} > 9.43$ ,  $p < 0.004$ ) and were different over time between the three groups (interaction group  $\times$  state,  $F_{4,41} > 12.62$ ,  $p < 0.0001$ ). Body mass and wing loading were not different between the three groups at the end of the wintering period and at the beginning of the disturbance and between the two periods in each group ( $t < 3.24$ ,  $df = 36$ ,  $p > 0.054$ ) (Table 1). Mean body mass loss significantly differed between the three groups ( $F_{2,19} = 41.46$ ,  $p < 0.0001$ ). Body mass loss was at least ten times higher in disturbed groups than in the control one ( $t > 5.39$ ,  $df = 15$ ,  $p < 0.0001$ ) in which the decrease was not significant ( $t = 0.52$ ,  $df = 36$ ,  $p = 0.99$ ) (Figure 1b). In both disturbed groups, final wing loading was lower than the initial one at the beginning of the disturbance session ( $t > 6.91$ ,  $df = 36$ ,  $p < 0.0001$ ) but final wing loading was only lower in G2 than in CG ( $t = 3.83$ ,  $df = 25$ ,  $p = 0.012$ ). Body mass loss and final wing loading were not different between

both disturbed groups ( $t < 2.23$ ,  $df = 24$ ,  $p > 0.091$ ) (Table 1). Body mass loss was not correlated to initial wing loading ( $R = -0.26$ ,  $n = 28$ ,  $p = 0.18$ ) nor to final wing loading ( $R = 0.18$ ,  $n = 28$ ,  $p = 0.36$ ). In disturbed groups, mean daily body mass loss during the first four days and the last three days of disturbance was different ( $F_{1,24} = 21.94$ ,  $p < 0.0001$ ) and depended of the group (interaction group  $\times$  state,  $F_{1,24} = 6.29$ ,  $p = 0.019$ ). Actually, daily body mass loss in G2 was higher during the first four day ( $-7.93 \pm 0.62 \text{ g}\cdot\text{day}^{-1}$ ) than during the three following days ( $-3.41 \pm 0.95 \text{ g}\cdot\text{day}^{-1}$ ) and higher than in G1 over the two periods ( $-4.54 \pm 0.87 \text{ g}\cdot\text{day}^{-1}$  and  $-3.17 \pm 0.64 \text{ g}\cdot\text{day}^{-1}$  respectively) ( $t > 3.05$ ,  $df = 42$ ,  $p < 0.026$ ). Power margin gain was twice higher in G2 than in G1 ( $F_{1,23} = 9.20$ ,  $p = 0.006$ , Table 1).

Correlations relative to food intake were not significant in the control group. On the contrary, for the disturbed groups, the correlations at lag -1 and 1 were significant. So the food intake of one day was dependent on the food intake of the previous and of the next day. In G2, the correlations were still significantly different from 0 at lags -2 and 2. There are also significant from lags -8 to -6 and from 6 to 8. Moreover, all these correlations are negative and therefore reveal that if the food intake was quite high (respectively low) on one day, it will be quite low (respectively high) 6 days later and this, at least for 2 days (Figure 2b). This means that food intake decreased during the week of disturbance and after the end, values increased until they reach their initial level. Moreover, this decrease of food intake was more important in G2 (Figure 3b). Even if not significant, the ACF for the disturbed groups were quite typical of periodic time series. It is supported by the results of the Ljung-Box tests. In CG, for all lags, the null hypothesis cannot be rejected so that we can consider that these data were totally drawn at random. It was the opposite for both disturbed groups, for every lag, the p-value is smaller than 0.05 so we can conclude that there was a pattern in food intake (Figure 4b). Unfortunately, due to the design of the experiment, the times series were not observed long enough to determine the period (which seems to be around 14 days).

## Tufted ducks

The mean number of daily take-off flights did not differ significantly between females and males ( $F_{1,13} = 0.49$ ,  $p = 0.50$ , Figure 1c).

Globally, males had a higher body mass than females ( $F_{1,24} = 7.84$ ,  $p = 0.010$ ), but there was no difference in wing loading between sexes ( $F_{1,24} = 1.42$ ,  $p = 0.25$ ). Body mass and wing loading significantly changed over time between groups (interaction group  $\times$  state,  $F_{2,48} > 67.67$ ,  $p < 0.0001$ ). Body mass at the end of wintering period was lower in the disturbed group than in the control one ( $t = 3.87$ ,  $df = 24$ ,  $p = 0.009$ ) while wing loading was not ( $t = 2.91$ ,  $df = 30$ ,  $p = 0.058$ ). However, at the beginning of the disturbance body mass and wing loading did not differ between both groups ( $t < 1.73$ ,  $df = 24$ ,  $p > 0.73$ ). For each group body mass and wing loading were not different between the end of the wintering period and the initiation of breeding ( $t < 2.62$ ,  $df = 48$ ,  $p > 0.11$ ) (Table 1). Mean body mass loss was eighteen times higher in the disturbed group than in the control group ( $F_{1,17} = 116.18$ ,  $p < 0.0001$ ) and the body mass decrease in CG was not significant ( $t = 0.89$ ,  $df = 24$ ,  $p = 0.95$ ) (Figure 1c). Final wing loading in the disturbed group was lower than initial wing loading measured at the beginning of the disturbance ( $t = 17.03$ ,  $df = 48$ ,  $p < 0.0001$ ) and than the final wing loading of the control group ( $t = 7.60$ ,  $df = 30$ ,  $p < 0.0001$ ) (Table 1). Moreover, while body mass loss was not correlated to final wing loading ( $R = 0.01$ ,  $n = 14$ ,  $p = 0.98$ ) it was negatively correlated to initial wing loading ( $R = -0.71$ ,  $n = 14$ ,  $p = 0.005$ ). Furthermore, in the disturbed group mean daily body mass loss was higher during the first four days of disturbance ( $-28.89 \pm 1.54 \text{ g.day}^{-1}$ ) than during the three following days ( $-5.26 \pm 2.08 \text{ g.day}^{-1}$ ) ( $F_{1,18} = 123.37$ ,  $p < 0.0001$ ).

Concerning food intake, none of the correlations were significant in the control group. Conversely in the disturbed group, most of the correlations were significant. All the correlations involving the disturbed group were still significant at lag 2 (respectively -2). At lags -10 to -7 and 7 to 10 autocorrelations were significantly different from 0 for this group. Moreover, all these correlations were negative so we can conclude that if the food intake was quite high

(respectively low) one day, it will be quite low (respectively high) 7 days later and at least for 3 days (Figure 2c). In fact, like in both other species, food intake in the disturbed group decreased during disturbance and increased after to reach pre-disturbance values (Figure 3c). Even if not significant, there is a clear difference in shape between the ACF of the disturbed group and the one of the control group. The ACF for the disturbed group is quite typical of periodic time series. This is reinforced by the fact that for all lags the null hypothesis in the Ljung-box tests can not be rejected in the control group. So, we can consider that food intake is totally drawn at random in the control group. On the contrary, in the disturbed group, p-values were smaller than 0.05 for each lag so there was a pattern in this data (Figure 4c). Unfortunately, due to the design of the experiment, the times series were not observed long enough to determine the period (which seems to be around 14 days).

## Discussion

In this experimental study, we show that ducks decreased their food intake and their body mass in response to an increase in the predation risk at the beginning of the reproductive period. This allows birds to increase their power margin that should enhance their escape flight performances. However, these adjustments are to some extent different from those occurring during the wintering period in mallards and common teals but not in tufted ducks.

Our results show that in response to an increase in predation risk at the start of the reproductive period, ducks of disturbed groups decreased their body mass at least twice as much as in control groups. Moreover, the very limited body mass loss in the control groups in the three species was not significant. Nevertheless, the higher body mass loss in disturbed groups likely resulted from mass-dependent costs associated to the increase in predation risk (Lima 1986; Houston et al. 1993; Witter and Cuthill 1993). In mallards, although the number of daily escape flight was about twice higher in G2 than in G1, body mass loss was surprisingly higher in the low disturbed level group compared to the highly disturbed one. Similarly, in common

teals, the number of take-off flights was also about twice higher in the highly disturbed group but body mass loss was similar in both disturbed groups. Such take-off flights requires a high and short energy and mechanical power supply and much than sustained flapping flight (Nudds and Bryant 2000; Videler 2005). Thus, if body mass loss would be related to energy expenditure in response to the raise of escape flights, one would expect that body mass loss would be higher in the more disturbed groups. Since this was not the case in both species tested with two levels of disturbance, we believe that body mass loss in the three species was not primarily due to an increase in energy expenditure. This result is in accordance with the results obtained during the wintering period in the same three species (Zimmer et al. in press, submitted).

In those ducks, food intake decreased in disturbed groups in response to the increase in predation risk, although food was provided *ad libitum* (Figure 3). Indeed, daily food intake in disturbed groups seemed to be periodic and depended at least of the consumption of the previous day and influenced the one of the following day. Furthermore, in disturbed groups, daily food intake was negatively correlated with that recorded 7 to 10 days before or after, respectively to the species considered. Disturbance affected foraging behaviour by decreasing food intake compared to the values recorded before and after the disturbance. These results were in agreement with those obtained during the wintering period in the same species (Zimmer et al. in press, submitted). At the beginning of the reproductive period, like in winter, ducks did not compensate the energetic costs of the disturbance by increasing their food intake, despite the nutritional cost of gonads maturation and follicule development (Johnson 1961). However, the decrease of food intake was less pronounced in mallards and common teals at the beginning of the reproductive period than during winter. As previously proposed (Zimmer et al. in press, submitted), we believe that ducks were not hindered by the time potentially available for foraging because day length increased and exposure to disturbance only represented 5 % of the daily time budget. Moreover, common teals and tufted ducks are mainly nocturnal feeders



(Tamisier 1972; Pedroli 1982; Marsden 2000) while foraging in mallards occurs throughout the day but it corresponds to less than 35 % of their time budget (Jorde et al. 1984). Astonishingly, food intake was more reduced in G1 than in G2 in mallards. This could explain why body mass loss was higher in the former than in the latter disturbed group in this species. Globally, the mechanism of body mass loss by spontaneously adjusting food intake is similar as during the wintering period (Zimmer et al. in press, submitted) and in some passerine species (Lilliendahl 1997; Carrascal and Polo 1999). Moreover, these results on food intake do not support the interrupted foraging theory which predicts that birds should increase their body mass in response to the increase of predation risk and the unpredictability of getting food (McNamara et al. 1994). Additionally, it confirms the idea previously developed (Zimmer et al. in press, submitted) stating that the extent of body mass decrease could not be solely due to the reduction of some digestive organs, since the ducks did not fast.

During predator attacks, the flight mechanic theory and experimental studies predict that a high body mass and associated wing loading should impair escape flight capabilities by decreasing the angle and/or the speed at take-off and aerial manoeuvrability (Pennycuik 1989, 2008; Hedenstrom 1992; Hedenstrom and Alerstam 1992; Witter et al. 1994; Kullberg et al. 1996; Burns and Ydenberg 2002). Consequently, wing loading is an important feature of flight performance and is mostly negatively correlated with it (Norberg 1996). It could particularly be the case during the reproductive period and especially for females in which body mass typically increases by 7-30 % before the laying due to the gonad development and egg formation (Moreno 1989). On the contrary, at this time male may lose mass as a response to time and energy devoted to courtship activity (Moreno 1989). In females, extra body mass could impair flight abilities during this period as it has already been shown in starling, zebra finch and blue tit females (Lee et al. 1996; Veasey et al. 2000, 2001; Kullberg et al. 2002). In mallards, body mass loss was higher in females of G1 than in females of G2 and than in males of both groups. This result could be explained by the fact females in G1 were heavier than those of G2 at the

beginning of the disturbance session. In mallards, body mass is low at the beginning of the reproductive period in females and increases afterward until the end of the laying period (Owen and Cook 1977; Krapu 1981). Since mean initial body mass of females of G1 was higher than in females of G2 we can suppose that the former were in the increase phase. Interestingly, final wing loading was similar in females and males in both disturbed groups, despite a higher initial wing loading in females. Additionally, final wing loading was lower in disturbed groups compared to control group. This result highlights the fact that the body mass loss is largely driven by optimizing flight performances through a proper wing loading. In tufted ducks, body mass loss was not different between sexes in the disturbed group and final wing loading was lower than in control group and than initially. In common teals, body mass loss did not differ between sexes. Final wing loading did not differ between both disturbed groups but was only significantly lower in the highly disturbed group than in control one. Furthermore, in the three species, final wing loading was about the same than during the wintering period (Zimmer et al. in press, submitted), slightly higher in mallards and common teals and a little lower in tufted ducks. However, in common teals, contrary to the other species and to the non-breeding period, body mass loss was not correlated to initial wing loading. Additionally, in the three species, body mass loss was higher during the first four days of the disturbance than during the three following days but it was only true for females in mallards. Lowering of body mass and wing loading allowed ducks to increase their power margin between 2.5 and 11 % and gave more potential energy for flight to birds that allows them to be more manoeuvrable and to climb easier (Pennycuick 2008). Overall such a strategy of controlled body mass reduction helps to minimize energetic maintenance costs, foraging time and wing loading which in turn enhances individuals' flight capacities and improves escape performances when attacked (Houston et al. 1993; Bednekoff and Houston 1994; Witter et al. 1994; Brodin 2001).

It has been shown in some passerines that flight performances were reduced in females during egg laying (Lee et al. 1996; Veasey et al. 2000, 2001; Kullberg et al. 2002). However, in

the zebra finch, laying females decrease their body mass and thus wing loading to gain in flight speed (Kullberg et al. 2005). In comparison with our previous results obtained over wintering and during which body mass loss was more pronounced, we can hypothesize that the response to an increase in predation risk is likely different between the non-breeding and reproductive season. Overall, in mallards and common teals, final wing loading was a little higher than during the wintering period except in male mallards which already started with a lower body mass than during winter. Moreover, food intake decrease and body mass loss were also lower than during wintering period (Zimmer et al. in press, submitted) and in common teals, contrary to wintering period (Zimmer et al. submitted) body mass loss was not correlated with initial wing loading. We can therefore suggest that the decrease of the wing loading was buffered by the energetic needs to develop gonads in both species. Hence, the response to an increase in predation risk is slightly different from the one exhibited during the non-breeding season in both species (Zimmer et al. in press, submitted). Assuming that ducks are mainly income breeders, they need to find enough food to reproduce during gonad maturation and egg formation. Consequently, food scarcity could contribute to the failure of reproduction in ducks (in Krapu and Reinecke 1992). Usually during reproduction food is more abundant than during the winter, even considered as superabundant (see Martin 1987). Therefore, during breeding the problem is not to get food to avoid starvation but rather to find enough food in order to be able to reproduce. According to our results we hypothesize that ducks may not decrease their food intake and so their body mass at the same level than during winter without impairing their possibility to reproduce. An other non exclusive hypothesis is that egg formation and gonadal maturation were already engaged when we started the disturbance experiments and that it was impossible for ducks to further reduce body mass by gonadal and follicular resorption. Both hypothesis pleads for the fact that ducks maintain sufficient body reserves by limiting body mass loss during the second half of the disturbance session and are supported by the fact tufted ducks (from control and disturbed groups) which did not laid any egg nor exhibited any courtship

behaviour during the normal breeding season (Zimmer unpublished data), perhaps as a result of sexual immaturity, showed a higher body mass loss than dabbling duck species and a similar pattern as in winter. In consequence, it seems that during reproduction the trade-off between the risk of starvation and predation become a trade-off between the investment in reproduction and the risk of predation. However, we may suppose that under usual natural circumstances this trade-off also apply in tufted ducks that reproduce.

To conclude, we show in this experimental study in ducks that the response to an increase in predation risk at the start of the reproductive period leads to a decrease in the food intake in order to decrease wing loading. It results in an increase in power margin that should improve flight performance. However, this response was slightly different than during wintering period in mallards and common teals. It seems that during reproduction the starvation-predation risk trade-off shifts toward a trade-off between predation risk and reproductive investment. Consequently, ducks could not decrease their body mass at the same level than during winter even if it leads to a lower improvement of flight performance than during winter. This interpretation is reinforced by the fact that tufted duck displayed the same response as during wintering period probably because they did not develop sexual organs.

#### Acknowledgements

This study was supported by grants from “Région Alsace”, Naturaconst@, National Fund for Biological Research on Game and Wildlife Species and CNRS.

## References

- Afton, A. D. & Paulus, S. L.** 1992. Incubation and brood care. In: *The Ecology and Management of Breeding Waterfowl* (Ed. by Batt, B. D. J., Afton, A. D., Anderson, M. G., Ankney, C. D., Johnson, D. H., Kadlec, J. A. & Krapu, G. L.), pp. 62-108. Minneapolis: University of Minnesota Press.
- Alisauskas, R. T. & Ankney, C. D.** 1992. The cost of egg laying and its relationship to nutrient reserves in waterfowl. In: *Ecology and Management of Breeding Waterfowl* (Ed. by Batt, B. D. J., Afton, A. D., Anderson, M. G., Ankney, C. D., Johnson, D. H., Kadlec, J. A. & Krapu, G. L.), pp. 30-61. Minneapolis: University of Minnesota Press.
- Baldassarre, G. A. & Bolen, E. G.** 2006. *Waterfowl Ecology and Management*, 2nd edn. Malabar: Krieger Publishing Company.
- Bednekoff, P. A. & Houston, A. I.** 1994. Optimizing fat reserves over the entire winter: a dynamic-model. *Oikos*, 71, 408-415.
- Brodin, A.** 2001. Mass-dependent predation and metabolic expenditure in wintering birds: is there a trade-off between different forms of predation? *Animal Behaviour*, 62, 993-999.
- Burns, J. G. & Ydenberg, R. C.** 2002. The effects of wing loading and gender on the escape flights of least sandpipers (*Calidris minutilla*) and western sandpipers (*Calidris mauri*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 52, 128-136.
- Carrascal, L. M. & Polo, V.** 1999. Coal tits, *Parus ater*, lose weight in response to chases by predators. *Animal Behaviour*, 58, 281-285.
- Cresswell, W.** 1998. Diurnal and seasonal mass variation in blackbirds *Turdus merula*: consequences for mass-dependent predation risk. *Journal of Animal Ecology*, 67, 78-90.
- Frid, A. & Dill, L.** 2002. Human-caused disturbance stimuli as a form of predation risk. *Conservation Ecology*, 6, 11.

- Gentle, L. K. & Gosler, A. G.** 2001. Fat reserves and perceived predation risk in the great tit, *Parus major*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences*, 268, 487-491.
- Gosler, A. G., Greenwood, J. J. D. & Perrins, C.** 1995. Predation risk and the cost of being fat. *Nature*, 377, 621-623.
- Hedenstrom, A.** 1992. Flight performance in relation to fuel load in birds. *Journal of Theoretical Biology*, 158, 535-537.
- Hedenstrom, A. & Alerstam, T.** 1992. Climbing performance of migrating birds as a basis for estimating limits for fuel-carrying capacity and muscle work. *Journal of Experimental Biology*, 164, 19-38.
- Houston, A. I., McNamara, J. M. & Hutchinson, J. M. C.** 1993. General results concerning the trade-off between gaining energy and avoiding predation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 341, 375-397.
- Johnson, O. W.** 1961. Reproductive cycle of the mallard duck. *Condor*, 63, 351-364.
- Jorde, D. G., Krapu, G. L., Crawford, R. D. & Hay, M. A.** 1984. Effects of weather on habitat selection and behavior of mallards wintering in nebraska. *Condor*, 86, 258-265.
- Krapu, G. L.** 1981. The role of nutrient reserves in mallard reproduction. *Auk*, 98, 29-38.
- Krapu, G. L. & Reinecke, K. J.** 1992. Foraging ecology and Nutrition. In: *Ecology and Management of Breeding Waterfowl* (Ed. by Batt, B. D. J., Afton, A. D., Anderson, M. G., Ankney, C. D., Johnson, D. H., Kadlec, J. A. & Krapu, G. L.), pp. 1-29. Minneapolis: University of Minnesota Press.
- Kullberg, C., Fransson, T. & Jakobsson, S.** 1996. Impaired predator evasion in fat blackcaps (*Sylvia atricapilla*). *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences*, 263, 1671-1675.
- Kullberg, C., Houston, D. C. & Metcalfe, N. B.** 2002. Impaired flight ability - a cost of reproduction in female blue tits. *Behav. Ecol.*, 13, 575-579.

- Kullberg, C., Jakobsson, S., Kaby, U. & Lind, J.** 2005. Impaired flight ability prior to egg-laying: a cost of being a capital breeder. *Functional Ecology*, 19, 98-101.
- Lee, S. J., Witter, M. S., Cuthill, I. C. & Goldsmith, A. R.** 1996. Reduction in Escape Performance as a Cost of Reproduction in Gravid Starlings, *Sturnus vulgaris*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 263, 619-623.
- Lilliendahl, K.** 1997. The effect of predator presence on body mass in captive greenfinches. *Animal Behaviour*, 53, 75-81.
- Lima, S. L.** 1986. Predation risk and unpredictable feeding conditions: determinants of body-mass in birds. *Ecology*, 67, 377-385.
- Lima, S. L.** 1998. Stress and decision making under the risk of predation: Recent developments from behavioral, reproductive, and ecological perspectives. *Advances in the Study of Behavior*, 27, 215-290.
- Macleod, R.** 2006. Why does diurnal mass change not appear to affect the flight performance of alarmed birds? *Animal Behaviour*, 71, 523-530.
- Macleod, R., Barnett, P., Clark, J. A. & Cresswell, W.** 2005a. Body mass change strategies in blackbirds *Turdus merula*: the starvation-predation risk trade-off. *Journal of Animal Ecology*, 74, 292-302.
- Macleod, R. & Gosler, A. G.** 2006. Capture and mass change: perceived predation risk or interrupted foraging? *Animal Behaviour*, 71, 1081-1087.
- Macleod, R., Gosler, A. G. & Cresswell, W.** 2005b. Diurnal mass gain strategies and perceived predation risk in the great tit *Parus major*. *Journal of Animal Ecology*, 74, 956-964.
- Magnhagen, C.** 1991. Predation risk as a cost of reproduction. *Trends in Ecology & Evolution*, 6, 183-185.
- Marsden, S. J.** 2000. Impact of disturbance on waterfowl wintering in a UK dockland redevelopment area. *Environmental Management*, 26, 207-213.

- Martin, T. E.** 1987. Food as a Limit on Breeding Birds: A Life-History Perspective. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 453-487.
- McNamara, J. M., Houston, A. I. & Lima, S. L.** 1994. Foraging routines of small birds in winter: a theoretical investigation. *Journal of Avian Biology*, 25, 287-302.
- Metcalf, N. B. & Ure, S. E.** 1995. Diurnal variation in flight performance and hence potential predation risk in small birds. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 261, 395-400.
- Moreno, J.** 1989. Strategies of mass change in breeding birds. *Biological Journal of the Linnean Society*, 37, 297-310.
- Norberg, U. M.** 1996. Energetics of Flight. In: *Avian Energetics and Nutritional Ecology* (Ed. by Carey, C.), pp. 199-249. New York: Chapman & Hall.
- Nudds, R. L. & Bryant, D. M.** 2000. The energetic cost of short flights in birds. *Journal of Experimental Biology*, 203, 1561-1572.
- Owen, M. & Cook, W. A.** 1977. Variations in body-weight, wing length and condition of mallard *Anas-platyrhynchos platyrhynchos* and their relationship to environmental changes. *Journal of Zoology*, 183, 377-395.
- Pedroli, J. C.** 1982. Activity and time budget of tufted ducks on Swiss lakes during winter. *Wildfowl*, 33, 105-112.
- Pennycuik, C. J.** 1989. *Bird Flight Performance*. Oxford: Oxford University Press.
- Pennycuik, C. J.** 2008. *Modelling the flying bird*. London: Academic Press.
- Stearns, S. C.** 1992. *The evolution of life histories*. New York: Oxford University Press.
- Tamisier, A.** 1972. Rythmes nyctéméraux des sarcelles d'hiver pendant leur hivernage en Camargue. *Alauda*, 10, 107-135 and 235-256.
- Van der Veen, I. T. & Sivars, L. E.** 2000. Causes and consequences of mass loss upon predator encounter: feeding interruption, stress or fit-for-flight? *Functional Ecology*, 14, 638-644.



- Veasey, J. S., Houston, D. C. & Metcalfe, N. B.** 2000. Flight muscle atrophy and predation risk in breeding birds. *Functional Ecology*, 14, 115-121.
- Veasey, J. S., Houston, D. C. & Metcalfe, N. B.** 2001. A hidden cost of reproduction: the trade-off between clutch size and escape take-off speed in female zebra finches. *Journal of Animal Ecology*, 70, 20-24.
- Veasey, J. S., Metcalfe, N. B. & Houston, D. C.** 1998. A reassessment of the effect of body mass upon flight speed and predation risk in birds. *Animal Behaviour*, 56, 883-889.
- Videler, J. J.** 2005. *Avian Flight*. Oxford: Oxford University Press.
- Witter, M. S. & Cuthill, I. C.** 1993. The ecological costs of avian fat storage. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 340, 73-92.
- Witter, M. S., Cuthill, I. C. & Bonser, R. H. C.** 1994. Experimental investigations of mass-dependent predation risk in the European starling, *Sturnus vulgaris*. *Animal Behaviour*, 48, 201-222.
- Zimmer C., Boos M., Petit O. & Robin J-P.** in press. Body mass variations in disturbed mallards fit to the mass-dependent starvation-predation risk trade-off. *Journal of Avian Biology*

Table 1: Mean body mass (g) and wing loading ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ ) at the end of the wintering period, at the beginning of the disturbance and at the end of the disturbance for each sex of each group of the three species and mean power margin gain for each sex of the disturbed groups in the three species.

			Body mass (g)			Wing loading ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ )			Power margin gain
			winter end	initial	final	winter end	initial	final	
mallards	females	CG	974 ± 41	1011 ± 50	990 ± 43	1.21 ± 0.04	1.25 ± 0.05	1.23 ± 0.04	
		G1	1063 ± 38	1077 ± 37	934 ± 33	1.21 ± 0.03	1.23 ± 0.04	1.06 ± 0.03	0.25 ± 0.04
		G2	965 ± 46	959 ± 39	908 ± 34	1.19 ± 0.06	1.18 ± 0.06	1.11 ± 0.05	0.10 ± 0.04
	males	CG	1035 ± 65	1018 ± 60	994 ± 56	1.21 ± 0.05	1.19 ± 0.05	1.17 ± 0.05	
		G1	1048 ± 54	981 ± 46	943 ± 41	1.07 ± 0.06	1.00 ± 0.05	0.96 ± 0.04	0.07 ± 0.01
		G2	1045 ± 21	975 ± 18	939 ± 16	1.15 ± 0.05	1.07 ± 0.02	1.03 ± 0.02	0.07 ± 0.01
common teals	females	CG	331 ± 17	340 ± 18	338 ± 17	0.86 ± 0.04	0.89 ± 0.04	0.88 ± 0.04	
		G1	336 ± 22	345 ± 21	322 ± 21	0.87 ± 0.04	0.89 ± 0.04	0.83 ± 0.04	0.21 ± 0.05
		G2	314 ± 18	319 ± 18	279 ± 20	0.82 ± 0.04	0.84 ± 0.04	0.73 ± 0.04	0.44 ± 0.06
	males	CG	370 ± 13	375 ± 12	374 ± 13	0.95 ± 0.01	0.96 ± 0.01	0.96 ± 0.02	
		G1	371 ± 09	386 ± 07	353 ± 06	0.97 ± 0.03	1.01 ± 0.02	0.93 ± 0.01	0.26 ± 0.06
		G2	349 ± 12	365 ± 12	321 ± 17	0.92 ± 0.04	0.96 ± 0.04	0.84 ± 0.04	0.39 ± 0.08
tufted ducks	females	CG	704 ± 18	691 ± 16	682 ± 21	1.44 ± 0.04	1.41 ± 0.04	1.39 ± 0.05	
		G2	639 ± 24	656 ± 19	525 ± 20	1.32 ± 0.04	1.36 ± 0.03	1.09 ± 0.03	0.51 ± 0.06
	males	CG	759 ± 14	731 ± 17	725 ± 16	1.48 ± 0.03	1.42 ± 0.04	1.41 ± 0.03	
		G2	690 ± 11	710 ± 26	578 ± 16	1.38 ± 0.02	1.42 ± 0.05	1.15 ± 0.03	0.44 ± 0.04

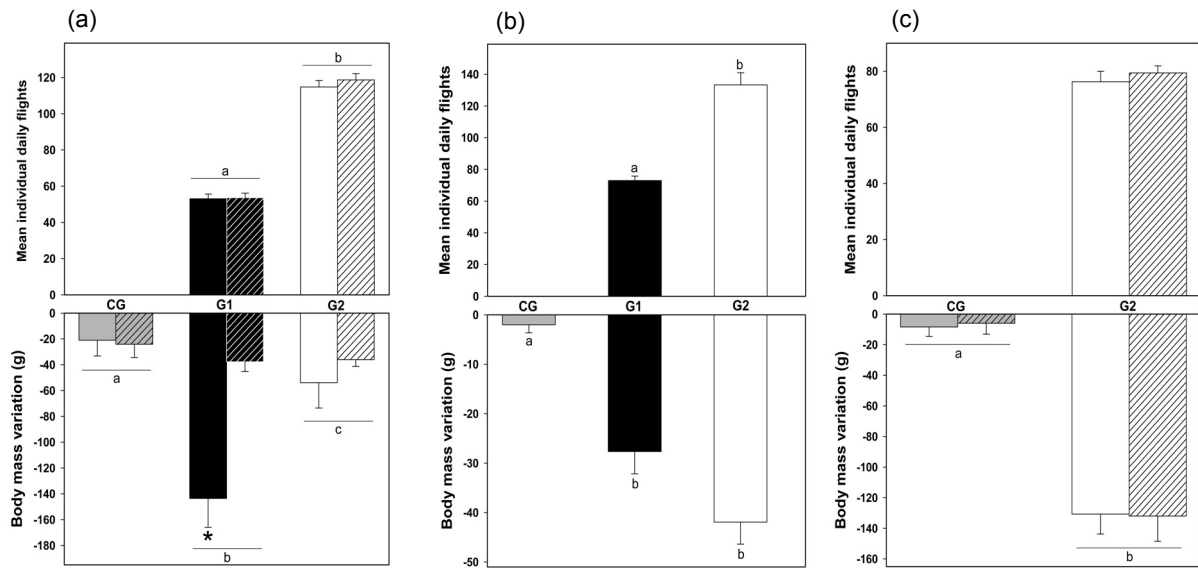


Figure 1: Mean number of individual escape flights in disturbed groups and body mass variation (g) in the disturbed groups and in the control groups in mallards (a), common teals (b) and tufted ducks (c). Control group is represented by gray bars, the moderate disturbed group (G1) by black bars and the highly disturbed group (G2) by white bars. In (a) and (c), females are represented by plain bars and males by hatched bars. Letters indicated differences between groups. \* indicated differences between sexes in the different groups.

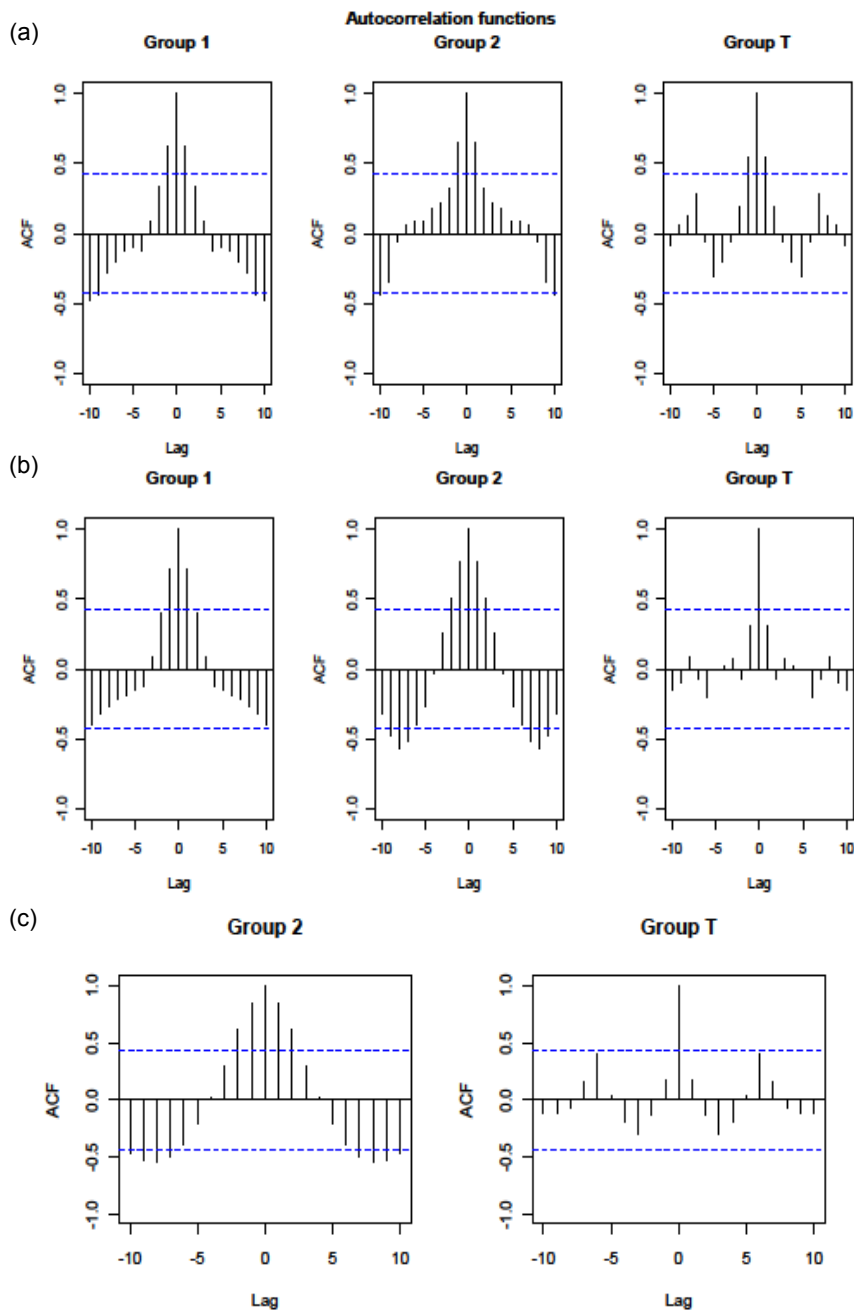


Figure 2: Autocorrelation functions concerning the daily food intake for each group in mallards (a), common teals (b) and tufted ducks (c). Here the dashed-lines represent the limit of the significantly differences from 0 for the correlations. For example, as regards positive correlations, each correlation that is above the blue line is significantly different from 0 whereas each correlation that is below the blue dashed-line is not significantly different from 0. The blue dashed line is quite high due to the lack of power of the test as we only have 21 observations per time series.

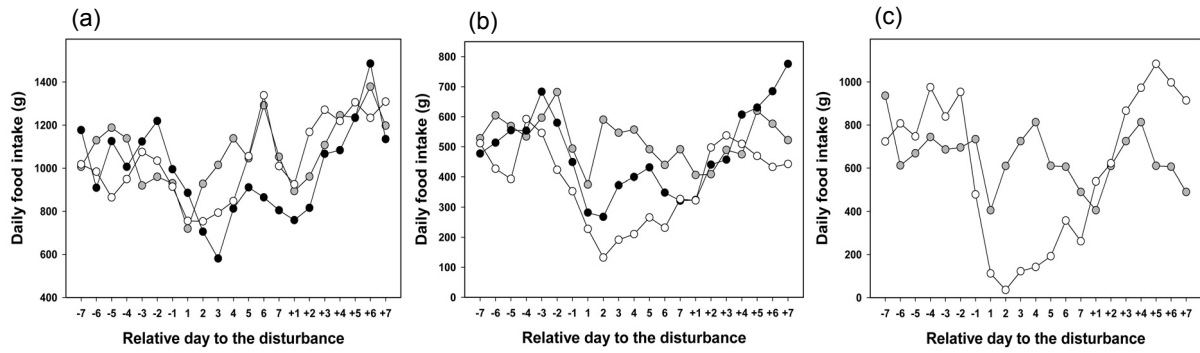


Figure 3: Evolution of the daily food intake of each group relatively to the day of the beginning of the disturbance in mallards (a), common teals (b) and tufted ducks (c). Control group is represented by grey circles, group 1 (black circles) and group 2 (white circles). 1 corresponded to the first day of disturbance.

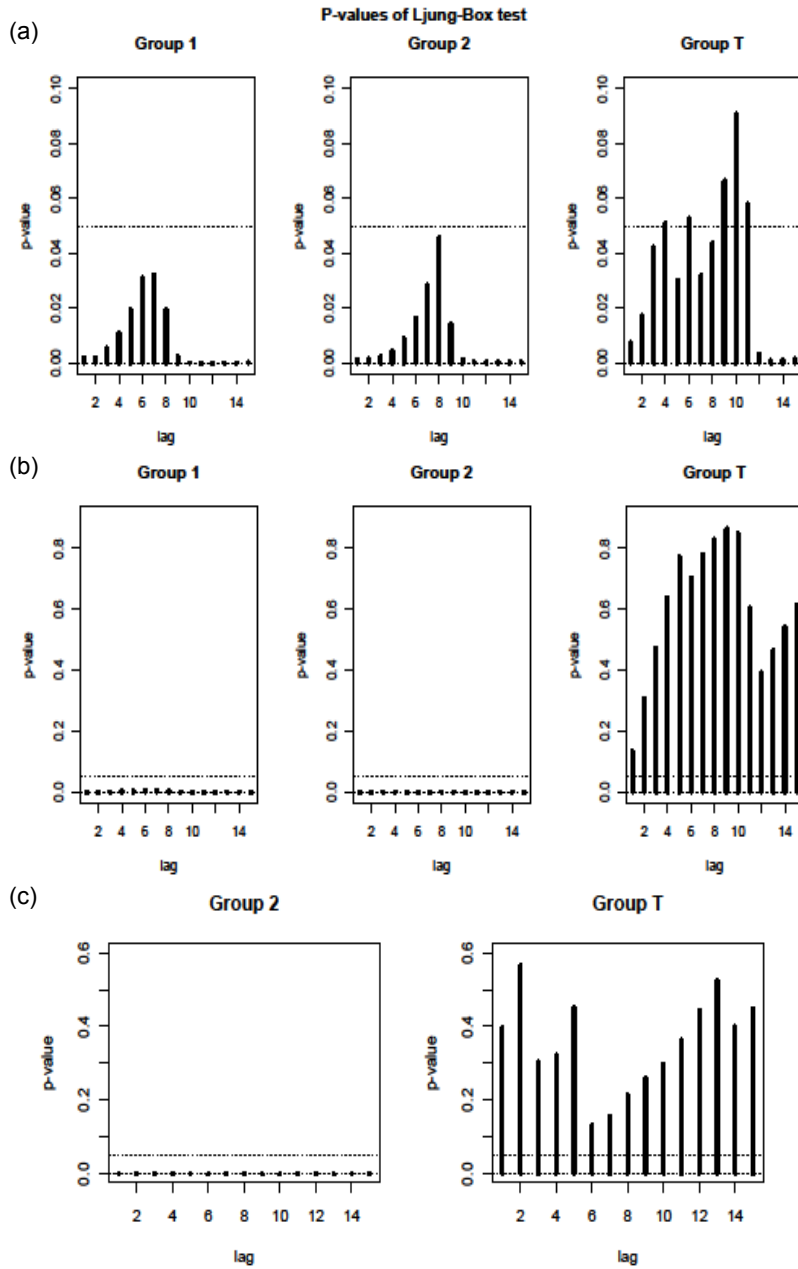


Figure 4: Results of Ljung-box test for each group in mallards (a), common teals (b) and tufted ducks (c) at each lag. The dash lines correspond to the p-value.

Dans cette partie, nous avons vu que nos trois espèces de canard répondent à une augmentation du risque de prédation par une diminution plus importante de leur consommation alimentaire par rapport au groupe témoin. Ce qui aboutit logiquement à une diminution de leur masse corporelle plus importante que chez les témoins. La légère diminution de la masse corporelle chez les témoins est probablement due au stress de capture et de manipulation. Ainsi, cette perte de masse supérieure chez les groupes dérangés semble résulter des coûts du dérangement et non du coût énergétique du vol. Selon nos résultats sur la prise alimentaire, le nombre d'envol et la perte de masse plus réduite en deuxième moitié de semaine, on peut en déduire que les canards ajustent leur masse corporelle pour réduire de manière stratégique les coûts liés à l'effort de vol. Ces ajustements de la masse corporelle sont d'une amplitude plus importante chez les Anatidés que ceux observés chez les passereaux (Gosler *et al.* 1995, Lilliendahl 1997, Cresswell 1998, Carrascal et Polo 1999, Gentle et Gosler 2001, MacLeod *et al.* 2005a, MacLeod *et al.* 2005b). Cette différence est probablement liée à des stratégies de gestion des réserves corporelles propres à des groupes d'espèces. En effet, les passereaux stockent une quantité limitée de réserves énergétiques ce qui leur confère une faible résistance au jeûne (Haftorn 1989, Blem 1990). De plus, les diminutions de masse observées chez ces petits oiseaux ont un effet très limitées sur l'amélioration des performances de vol (voir Kullberg 1998, Kullberg *et al.* 1998, Veasey *et al.* 1998, Van der Veen et Lindstrom 2000). Ainsi, le risque de jeûne est plus important que celui de prédation chez ces espèces. En revanche, les Anatidés qui transportent une quantité de réserves corporelles plus importante (Pattenden et Boag 1989, Loesch *et al.* 1992, Boos *et al.* 2007b) peuvent diminuer leur masse corporelle sans pour autant compromettre leur capacité de résistance au jeûne. Par conséquent, il semble que nos résultats soient en accord avec la théorie du compromis entre les risques de jeûne et de prédation précédemment proposée chez les passereaux (Lima 1986, Houston *et al.* 1993, Witter et Cuthill 1993). Nous pouvons donc étendre cette théorie aux oiseaux de plus grande corpulence par rapport à celle des passereaux et dont la gestion des réserves énergétiques diffère de celle de ces derniers. Il semblerait donc que ce compromis constitue une règle majeure sous-tendant la régulation stratégique de la masse

corporelle chez tous les oiseaux faisant face à des évènements de prédation ou de dérangement. De manière étonnante, la réponse au risque de prédation au début de la période de reproduction est moins marquée que lors de la période d'hivernage. Cette différence résulte probablement des contraintes imposées par la reproduction qui transfère le compromis entre les risques de jeûne et de prédation vers un compromis entre l'investissement dans la reproduction et le risque de prédation durant cette période.

Le compromis entre les risques de jeûne et de prédation implique que la diminution de la masse corporelle résulte principalement d'une diminution des réserves lipidiques. Cependant, différents compartiments corporels peuvent être affectés comme le système digestif ou les muscles. Il apparaît donc nécessaire de vérifier quels compartiments des réserves corporelles sont affectés par les pertes de masses observées.

## **2. EFFETS SUR LA DEPENSE ENERGETIQUE ET LES RESERVES ENERGETIQUES**

Dans la partie précédente, il a été mis en évidence que les canards montrent une diminution de leur masse corporelle en réponse à l'augmentation du risque de prédation. La principale hypothèse de ce compromis est que les oiseaux modifient leur masse corporelle en fonction de l'importance de ces risques notamment en modulant leurs réserves lipidiques, compartiments corporel considéré comme particulièrement labile (Lima 1986, Houston *et al.* 1993, Witter et Cuthill 1993). Cependant, la plupart des études menées chez les passereaux sur ce compromis n'ont pas directement mesuré les variations des réserves énergétiques mais uniquement celles de la masse corporelle (Gosler *et al.* 1995, Lilliendahl 1997, Cresswell 1998, Carrascal et Polo 1999, MacLeod *et al.* 2005a, MacLeod *et al.* 2005b). Elles supposent ainsi que les variations de la masse corporelle reflètent uniquement une diminution de la masse lipidique. Par ailleurs, selon l'intensité de l'exercice physique et du stress induit par l'évènement menaçant, le compartiment protéique peut soit augmenter soit diminuer (Goldberg 1969, George *et al.* 1987, Goldspink 1991). A ce jour, une seule étude a mesuré les variations des réserves énergétiques en réponse à une augmentation du risque de prédation. Ainsi, Gentle et Gosler (2001) ont montré que les mésanges charbonnières



transportent moins de réserves corporelles lorsque la situation est risquée. Cependant, leur estimation des réserves graisseuses est relativement imprécise car elle est basée sur un score visuel d'état des réserves adipeuses. De plus, cette méthode ne permet pas de déterminer si d'autres compartiments corporels étaient affectés par la baisse de la masse corporelle. En effet, une diminution de la masse peut aussi être due à la réduction de la masse d'autres organes comme le système digestif ou des muscles tels que les pectoraux (Piersma et Lindstrom 1997, van den Hout *et al.* 2006).

Les oiseaux vont dans la plupart des cas fuir un prédateur en s'envolant (van den Hout *et al.* 2010). Le vol est un moyen de transport très coûteux énergétiquement par unité de temps mais très avantageux lorsqu'il est exprimé par unité de distance parcourue (Norberg 1996). Ce coût du vol augmente avec la masse des espèces et des individus (Pennycuick 1989, 2008, Norberg 1996, Videler 2005) et les canards font parties des espèces qui ont une des charges alaires les plus élevée (Norberg 1996). On peut donc supposer que l'augmentation du nombre de vols liée au risque élevé de prédation puisse accentuer la dépense énergétique.

L'objectif de cette partie est tout d'abord de vérifier si le nombre élevé d'envol en réponse au dérangement va entraîner une augmentation de la dépense énergétique chez les colverts et les morillons. Ensuite, il a été vérifié si la diminution de la masse corporelle en réponse à l'augmentation du risque de prédation est effectivement due à une réduction des réserves énergétiques. Pour cela, la dépense énergétique a été déterminée avec la méthode de l'eau doublement marquée uniquement chez les femelles pour lesquelles les contraintes énergétiques et nutritionnelles en milieu d'hiver sont habituellement les plus fortes. Les variations de composition corporelle ont été mesurées en utilisant la méthode de la dilution isotopique chez les deux sexes. Ces mesures ont été effectuées au cours de la session de janvier car c'est à cette période que les contraintes énergétiques et les réserves corporelles sont les plus importantes (Boos *et al.* 2007b).



## Article 5

Predation risk leads to limited body reserves decrease but not to higher energy expenditure in ducks.

Zimmer Cédric, Boos Mathieu, Blanc Stéphane, Petit Odile, Robin Jean-Patrice

En préparation

### Introduction

Predation is an important evolutionary factor that can affect behaviour and physiology of animals. Exposed to predator threats, animals have many potential responses; in birds flight is the principal escape mode (van den Hout *et al.* 2010). Flight is the most energy consuming transport mode per time unit (Norberg 1996). Thus, evading predator attacks or disturbance events may lead to an increase in energy expenditure. For example, in Brent geese (*Branta bernicla*) daytime hourly energy expenditure, estimated by time budget changes, may increase by 11% under human disturbance that force the geese to fly more frequently (Riddington *et al.* 1996). Therefore, to compensate these changes, authors suggested that birds may feed at night in order to balance their daily energetic cost. On the other hand, it is known that high body mass increases energetic requirement for flight (Pennycuick 1989, 2008, Norberg 1996, Videler 2005) and also decreases flight performances through a lower angle of ascent, speed or manoeuvrability (Hedenstrom 1992, Hedenstrom et Alerstam 1992, Witter *et al.* 1994, Kullberg *et al.* 1996, Burns and Ydenberg 2002, Kullberg *et al.* 2005, Macleod 2006). Therefore, carrying high levels of energy reserves is not advantageous to match predation risk (Houston *et al.* 1993, Witter and Cuthill 1993). Nevertheless, body reserves are an important buffer against starvation risk especially during winter when food becomes scarce and energetic requirement is high

(Blem 1990). Consequently, the level of fat storage is viewed as a trade-off between the risk of starvation and the risk of predation (Lima 1986, McNamara and Houston 1990).

When predation risk is high, the starvation-predation risk trade-off predicts that birds should decrease their body reserves to reach a lower body mass that reduces the risk of predation although without adversely affecting fasting endurance (Lima 1986, Houston *et al.* 1993, Witter and Cuthill 1993). This decrease of body mass through a reduction of body reserves should reduce metabolic energy requirement, exposure to predation while foraging to maintain the level of body fuels and improve escape flight capabilities (McNamara et Houston 1990, Witter and Cuthill 1993, Bednekoff and Houston 1994a, Lind 2004). It has been shown that passerines reduce their body mass when predation risk increases (Gosler *et al.* 1995, Lilliendahl 1997, Cresswell 1998, Carrascal and Polo 1999, Gentle and Gosler 2001, Macleod *et al.* 2005a, Macleod *et al.* 2005b) through a reduction of food intake (Lilliendahl 1997, Carrascal and Polo 1999, Gentle and Gosler 2001). The same results have been found in ducks that carry more fat reserves than small birds (Zimmer *et al.* in press, submitted). However, the amplitude of the response differed between these species with a more important body mass decline in ducks than in passerines. It has been proposed that this discrepancy results from the difference in the body reserves amount and management strategies between large and small birds (Zimmer *et al.* in press, submitted). Nevertheless, none of the previous studies have directly checked whether the observed body mass loss corresponded to a decrease in fat reserves, which is assumed by the starvation-predation risk trade-off. The only exception is the study of Gentle and Gosler (2001) showing in great tits (*Parus major*) fat that depots decrease in response to higher predation risk. Particularly, body mass variation can mask the modification of several body compartments, like organs from digestive tract or locomotor muscles (Piersma and Lindstrom 1997, van den Hout *et al.* 2006). ). Protein masses for example can increase when an animal performs a higher locomotor activity that needs important muscle power during a short time

(sprinter on the opposite to a marathonian) (Dohm *et al.* 1980, George *et al.* 1987). Conversely stress induced activity can decrease protein synthesis and increase protein degradation and muscle atrophy (Goldberg 1969, see also Abbott *et al.* 2005)

In this study we applied the same protocol of disturbance than in previous studies on starvation-predation risk trade-off in ducks. It has already been shown that body mass adjustment in mallards (*Anas platyrhynchos*) and in tufted ducks (*Aythya fuligula*) is in accordance with expectations from that trade-off (Zimmer *et al.* in press, submitted). Here, we examine the impact on energy expenditure of the high flight frequency elicited by the disturbance events. We also determined how fat and protein masses are affected by the decrease in body mass in response to the increase of predation risk. We predicted that energy expenditure should increase with the increase in flight frequency and that body mass decrease should result in a reduction of fat mass whereas lean mass should be affected in a lesser extend.

## Material and methods

### Animals and experimental conditions

The study was conducted on three groups of mallards originating from the registered rearing centre of “La Canarderie de la Rone” (Cère la Ronde; France) and on two groups of tufted ducks originating from the rearing centre of “Les Canards de Mormal” (Jolimetz; France). Only two groups of tufted ducks were constituted due to a supply problem. Each group was constituted of 14 individuals (7 females and 7 males) and was maintained in an outdoor aviary of 100 m<sup>2</sup> (20 x 5 x 2.5 m) and was thus subjected to natural photoperiod and ambient temperature. Each aviary contained a 4 m<sup>2</sup> pool (0.60 m depth) with clear running situated at the same location in each aviary. A species-specific balanced commercial diet (Standard duck food 7751, Sanders Corporation; Teurlings premium duck food) was provided *ad libitum*. The aviaries, close to the

laboratory, were protected against predator by an electric fence and were visually separated by opaque barriers.

## Experimental procedure

### Disturbance

Two groups of mallards and one group of tufted ducks were disturbed during one week at mid-winter. Group 1 (G1), only in mallards, was disturbed twice daily for 15 minutes between January 4<sup>th</sup> 2007 and January 10<sup>th</sup> 2007. In the two species, group 2 (G2) was disturbed four times daily for 15 minutes between January 11<sup>th</sup> 2007 and January 17<sup>th</sup> 2007 in mallards and between January 10<sup>th</sup> 2009 and January 16<sup>th</sup> 2009 in tufted ducks. Disturbances took place randomly between 08:00 and 11:00. In both species, one control group (CG) was not disturbed. Each aviary was monitored throughout the night, by using night-view camera, during disturbance sessions to ensure that ducks were not disturbed by any other external cues.

We used a radio-controlled car (E-Zilla FWD Hot-bodies<sup>TM</sup>) to disturb the ducks by steering it with high speed towards the ducks until they took off. After take off, we waited until they had settled, then we gathered them together with the car and made them take off again. This procedure was repeated throughout each disturbance phase. This method was the most efficient to induce both simultaneous take off of all birds in the group and predator attack-like response (Zimmer *et al.* in press). No ducks were hurt by the car during these experiments. During disturbance phases, two experimenters (C.Z, M.B.) were in the aviaries to pilot the radio-controlled car and to notice the number of individuals' take-offs. This study was performed under the governmental authorizations and was approved by the Departmental Veterinary Services. The experiment complied with the "Principles of animal Care" publication No. 86-23, revised in 1985 of the National Institute of Health, and with current legislation (L87-848) on animal experimentation in France).

## Total energy expenditure and body composition determination

In all animals, the body composition was regularly assessed by hydrometry. At specific time points in the disturbance protocol, the total energy expenditure (TEE) was determined in females during a 2-day period by the two-point doubly labelled water (DLW) method (Schoeller *et al.* 1986). In all animals, body composition was derived from the dilution space of deuterated water.

In both species the day before the beginning of disturbance, females of disturbed groups were caught with a net and weighted ( $\pm 1$  g) in a nearby room. Then, blood was collected from the brachial vein to assess baseline levels of natural isotope ( $^2\text{H}$  and  $^{18}\text{O}$ ) enrichments in the body fluids. A  $0.69 \text{ g.kg}^{-1}$  body mass premixed DLW dose was intraperitoneally injected. The dose was composed of a mixture of 94 %  $\text{H}_2^{18}\text{O}$  (Rotem Industries Ltd., Israel) and 99.9 %  $^2\text{H}_2\text{O}$  (Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA, USA) and calculated to ensure an *in vivo* enrichment of about 255 and 992 ‰ for  $^{18}\text{O}$ -oxygen and deuterium, respectively [ $\delta$  ‰ (delta per mil) =  $(R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}} - 1) * 1000$  with R being the ratio  $^2\text{H}/^1\text{H}$  in case of hydrogen)]. The DLW dose was weighted to the nearest 0.1mg. Isotopic equilibration in body water was determined through a second blood sample collected at 1-h post-dose. A pilot study showed that 1 hour is the appropriate lapse time required for isotopic equilibration following injection (Zimmer *et al.* in prep). Two days after injection, females were recaptured and blood was collected to complete DLW calculations.

To assess body composition, the day before the beginning of disturbance in males and the last day of disturbance in males and females individuals were injected intraperitoneally with  $0.15 \text{ g.kg}^{-1}$  body mass of a 99.9 % enriched deuterium solution ( $^2\text{H}_2\text{O}$ ) (Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA, USA). The deuterium dose was weighed to the nearest 0.1mg. Isotopic equilibration in body water was determined through a second blood sample collected at 1-h post-dose.

Control females and males were injected and sampled in the same way as disturbed females and females respectively. Immediately after blood collection, blood was flame-sealed in glass capillaries until analysis by isotope ratio mass spectrometry.

Isotope ratio  $^{18}\text{O}$  and  $^2\text{H}$  enrichment was measured in body water after cryodistillation of the blood. 0.1 $\mu\text{l}$  of the treated samples was injected in an elemental analyzer (Flash HT, ThermoFisher) connected to a continuous flow isotope ratio mass spectrometer (Delta V, ThermoFisher). Samples were reduced to  $\text{H}_2$  and  $\text{CO}$  at 1400  $^\circ\text{C}$  on glassy carbon.  $\text{H}_2$  and  $\text{CO}$  were further separated at 104  $^\circ\text{C}$  on a GC column before sequential analysis of deuterium and 18-oxygen isotopic abundances. The results were scaled using two laboratory standards and expressed against V-SMOW. Analyses were performed in quadruplicate and repeated if the SD exceeded 2 ‰ for deuterium and 0.5 ‰ for 18- oxygen.  $\text{CO}_2$  production was calculated according to the single pool equation of Speakman (1997) and converted to TEE using Wier's equation assuming food quotients (FQ) derived from the diets. The dilution pool was corrected for the change in body mass using the initial percent body water inferred to the final mass (Blanc *et al.* 2000). The FQs were 0.750 in disturbed mallards, 0.804 in control mallards and 0.789 in tufted ducks. FQs were corrected for the observed decrease in body mass and changes in body composition.

TBW was calculated from the dilution space of  $^2\text{H}$ . Dry body mass (DBM) was calculated by subtracting TBW to the total body mass. Body lipids mass was derived from specific equation previously determined for each species from regression between lipid and protein masses measured by biochemical analysis and data obtained by isotopic dilution (Zimmer *et al.* in prep). In mallards, the equation for estimating body lipids mass is  $Y = 0.929*\text{DBM} - 0.293*\text{TBW} - 52.697$  ( $r^2 = 0.96$ , standard error (SE) = 9.2 g, relative error (RE) = 5.4 %). In tufted ducks, the equation is  $Y = 0.787*\text{DBM} - 0.362*\text{TBW} - 17.781$  ( $r^2 = 0.94$ , SE



= 7.44 g, RE = 13 %). Body proteins mass is determined by dividing TBW by 3.3; that factor corresponded to the hydration degree of protein in ducks (Boos *et al.* 2000).

### Statistical analysis

In order to compare TEE between species, TEE ( $\text{kJ}\cdot\text{day}^{-1}$ ) was normalised by the body mass raised to the power of 0.75 and values were compared using a general linear mixed model (GLMM) with species and group as fixed factors and individuals as random factor.

In each species, body mass loss over the 2-day period between groups and total body mass loss during the week of disturbance between groups and sex were compared with a GLMM. To examine the effect of disturbance on estimated body lipid mass and body protein mass were performed GLMM with group, sex and state (before disturbance and after disturbance) as fixed factors. State was included as repeated factor and individuals as random factor. GLMM were fitted using proc Mixed in SAS 9.2 (SAS Institute Corporation). The REML (Restricted Maximum Likelihood) technique was used as the estimation method. For each GLMM, Tukey-Kramer multiple comparison adjustment was applied to obtain corrected p-values and the normality of residuals was checked.

Probability levels  $< 0.05$  were considered as significant. Means values provided are given  $\pm$  SE.

### Results

#### TEE

The interaction between species and group was significant ( $F_{1,22} = 4.7$ ,  $p = 0.04$ ) however multiple comparisons showed that there is no difference in TEE between groups within and between species ( $t < 2.1$ ,  $p > 0.25$ ,  $df = 22$ ; table 1). In mallards body mass loss during the 2-days period was different between groups ( $F_{2,11} = 6.2$ ,  $p = 0.02$ ; table 1) with a higher body mass

loss in G1 than in CG ( $t = 3.6$ ,  $p = 0.01$ ,  $df = 11$ ). In tufted ducks body mass loss was higher in G2 than CG ( $F_{1,8} = 5.9$ ,  $p = 0.04$ ; table 1).

## Body composition

### Mallards

Total body mass loss was significantly different between the three groups ( $F_{2,41} = 36.6$ ,  $p < 0.0001$ ) with higher values in G1 than in both other groups ( $t > 4.1$ ,  $p < 0.0006$ ; table 1) and higher body mass loss in G2 than in CG ( $t = 4.4$ ,  $p = 0.0002$ ; table 1). Body lipid mass differed significantly between groups, sexes and states (interaction of these factors:  $F_{2,35} = 14.0$ ,  $p < 0.0001$ ). Multiple comparisons indicated that body lipid mass was lower at the end of disturbance compared to the period before disturbance in females of G1 and G2 and in males of G1 ( $t < -5.4$ ,  $p < 0.003$ ,  $df = 20$ ; figure 1). For body protein mass the interaction group\*sex\*state was also significant ( $F_{2, 35} = 10.9$ ,  $p = 0.0002$ ). However, the only significant difference was between the body protein mass in females of G2 at the beginning of disturbance and those in males of G2 at the same period ( $t = 3.57$ ,  $p = 0.04$ ,  $df = 22$ ; figure 2).

### Tufted ducks

Total body mass loss was higher in the disturbed group than in the control one ( $F_{1,27} = 19.0$ ,  $p = 0.0002$ ; table 1). Body lipid mass was significantly different between groups and states (interaction group\*state:  $F_{1,24} = 22.2$ ,  $p < 0.001$ ). In G2, final body lipid mass was lower than at the beginning of the disturbance session and than the two states in CG ( $t < -3.7$ ,  $p < 0.005$ ,  $df = 31$ ; figure 3). Globally, body protein mass was lower in G2 ( $109.0 \pm 1.7$  g) than in CG ( $116.2 \pm 1.5$  g) ( $F_{1,23} = 12.8$ ,  $p = 0.001$ ). Body protein amount was also lower in females ( $107.2 \pm 1.3$  g) than in males ( $118.1 \pm 1.4$ g) ( $F_{1,23} = 29.5$ ,  $p < 0.0001$ ). Finally, body protein mass was higher at

the beginning of disturbance ( $115.0 \pm 1.7$  g) than at its end ( $110.3 \pm 1.7$  g) ( $F_{1,24} = 17.4$ ,  $p = 0.0003$ ) for both groups.

## Discussion

In this study, we showed that the increase in predation risk through disturbance that forced ducks to fly did not affect total energy expenditure in both species. This result was unexpected but is in accordance with findings obtained in breeding white-eyed vireo (*Vireo griseus*) (Bisson *et al.* 2009). In this species, human disturbance consisting of continuous birds chasing during at least one hour, did not elevate average energy expenditure. A possible explanation is that our disturbance did not lead to an increase in energy expenditure because maximum daily flight duration was low (3 minutes cumulated by day of take-off flights). However, flight induced by human disturbance was estimated to increase energy expenditure of Brent geese whereas the proportion of daily flying time was also low (Riddington *et al.* 1996). Flight is energetically costly (Norberg 1996) and energy requirement increases with increasing body mass (Pennycuik 1989, 2008, Norberg 1996, Videler 2005). Moreover, measurements of energetic costs for very short flights result in at least a three times higher energy expenditure than commonly predicted from continuous flapping flight (Nudds and Bryant 2000, Videler 2005). Consequently, we expected that the high frequency of flights (at least 50 flight by individual by day, see Zimmer *et al.* in press, submitted) we observed should have an effect on energy expenditure. The absence of effect of these short flights in the present study could be due to the estimation method of energy expenditure. DLW method does not give an instantaneous estimation of energy expenditure but gives an average over the measurement period (Bevan *et al.* 1995, Engel *et al.* 2006). Thus, during the 2-days period, compared to the control group, the effect of flight frequency on energy expenditure could have been compensated by physiological and/or behavioural adjustments. Decrease in body mass observed during this period can lead to a

reduction of the total energy expenditure (Witter and Cuthill 1993, Brodin 2001). Although mean body mass loss over the two first days was at least twice higher in disturbed birds of both species, mean TEE was similar in disturbed than in control groups. Thus, part of the energy expenditure induced by the take off flights could have been compensated by the higher body mass decrease in the disturbed group. We observed that ducks in disturbed groups increased their sleep duration during the week of disturbance (Zimmer *et al.* submitted) and one function of sleep is actually energy saving (Berger and Phillips 1995). Furthermore, the energy required for food assimilation and tissue synthesis may also have been reduced with the reduction of the quantity of food ingested (Wiens and Farmer 1996). So, probably a combination of several factors, such as adjustments of body mass, sleep duration and energy required for digestion and tissues synthesis may have contributed to compensate the energy expenditure associated to the higher flight frequencies and duration in disturbed groups of both species.

These results on energy expenditure confidently confirm that body mass loss in response to an increase in predation risk is not due to the rise of energy expenditure associated to flights (Zimmer *et al.* in press, submitted). This result agrees with findings obtained in a songbird bird (Bisson *et al.* 2009) and clearly contradicts most assumptions suggesting or estimating by time budget changes that flights induced by predator attacks or disturbance events affect body condition and fitness on the long term by dramatically elevating energy expenditure (Riddington *et al.* 1996, Thiel *et al.* 2007, see also Bisson *et al.* 2009). Moreover, our result showed that the observed body mass decrease was mainly due to a decrease in body lipid reserves that were extraordinarily high at the beginning. This reinforces the fact that body lipids remain the most labile energetic compartment. In mallards, body lipid mass decreases significantly in disturbed groups except in G2 males, which can be explained by the lower body mass loss. Interestingly, body protein mass changed in a lesser extent even if males in G2 had a higher protein mass at the beginning of disturbance than G2 females. Males are known to carry more protein and

females more lipids per unit body mass in mallards (Boos *et al.* 2002). We observed the same result in tufted ducks where females had a lower protein mass than males. Protein mass was also higher in CG than in G2 as well as at the beginning of disturbance compared to the end, but mean differences were less than 5%. Furthermore, the variation of protein mass was not different between the two groups. Consequently, protein masses, which have to be spared as long as possible were relatively protected. Since we detected no additional energetic cost associated to disturbance flights, this result gives a strong evidence to our previous idea that body mass decline was mainly driven through the controlled reduction of food intake (Zimmer *et al.* in press, submitted). The starvation-predation risk trade-off predicts that exposed to a high predation risk birds should decrease their body reserves in order to reduce their body mass (Lima 1986, Houston *et al.* 1993, Witter and Cuthill 1993). We have shown that ducks decrease their body mass and especially their high lipid stores in response to a high risk (Zimmer *et al.* in press, submitted) like in passerines (Gosler *et al.* 1995, Lilliendahl 1997, Cresswell 1998, Carrascal and Polo 1999, Gentle and Gosler 2001, Macleod *et al.* 2005a, Macleod *et al.* 2005b).

We show that ducks decrease their fat reserves but maintained them at a secured level (final adiposity was above 15% in the mean in both groups) that may allow them to resist to a decrease in food availability. This final level is also similar to the values obtained in free ranging mallards living on a refuge (low disturbance) on the Rhine River at proximity to our study area (Boos *et al.* 2002, 2007b). Overall, ducks can accept a higher body reserves reduction of their body fuels in response to increased predation pressure than small birds, without adversely impairing their capacity to endure starvation as it would be the case in passerines (Zimmer *et al.* in press, submitted). Moreover, a limited decrease in lipid reserves without modifications of the protein content should be an important benefit for improving flight performances (Norberg 1996). Our results also show that protein degradation due to possible stress induced response did not occur or did overlap protein synthesis (Goldberg 1969). It has

been shown in ruddy turnstones that in response to predation pectoral muscle size increases whereas lean mass remained unchanged (van den Hout *et al.* 2006). On the contrary, in red knots body mass decrease and pectoral muscle mass stay unchanged (van den Hout *et al.* 2010). This difference would be due to differences in their ecology and escape tactics (van den Hout *et al.* 2010). It should therefore be interesting to verify how pectoral muscles change relatively to other proteic and non proteic compartments during body composition adjustment in ducks.

To conclude, this study is the first showing that the strategic body mass loss in response to increased predation risk was only due to a limited decrease in lipid reserves like it is postulated by the starvation-predation risk trade-off. Importantly it demonstrates that food intake reduction (and not energy expenditure) is the major factor driving to body mass loss, that body mass loss in combination other factors contributes to compensate for the additional energetic cost of flight frequency and that even under reduced foraging protein masses remain unchanged. All these results reveal that ducks are able to cope efficiently with increased predation risk and that all these physiological changes converge to maximize fitness. Ducks have evolved in a dynamic environment and have to cope continuously with changing environmental conditions such as predation pressure, disturbance levels and food availability all the more when they migrate twice a year over large distances with stopovers in areas that are managed differently across north Western Europe countries. Thus, the strategies and adjustment mechanisms highlighted here are probably also applicable in the wild in most environmental conditions, or would be less pronounced assuming that wild birds usually carry less fat relatively to their body mass and flight mechanics. However thorough experiences need to be further conducted to confirm this assumption.

Table 1: Mean ( $\pm$  SE) of the daily total energy expenditure, of the inter-specific total energy expenditure, of the body mass loss over the 2-day period of TEE measurement, and of total body mass loss for the groups in mallards and the two groups in tufted ducks.

	mallards			tufted ducks	
	CG	G1	G2	CG	G2
TEE ( $\text{kJ}\cdot\text{day}^{-1}\cdot\text{kg}^{-0.75}$ )	$4.7 \pm 0.2$	$4.9 \pm 0.3$	$4.4 \pm 0.2$	$5.1 \pm 0.1$	$6.0 \pm 0.4$
2-day BM loss (g)	$-19.4 \pm 9.2$	$-61.1 \pm 6.2$	$-47.3 \pm 6.2$	$-27.9 \pm 14.3$	$-65.7 \pm 6.2$
total BM loss (g)	$-31.6 \pm 4.1$	$-111.3 \pm 10.0$	$-72.9 \pm 4.6$	$-41.1 \pm 3.5$	$-97.9 \pm 1.5$

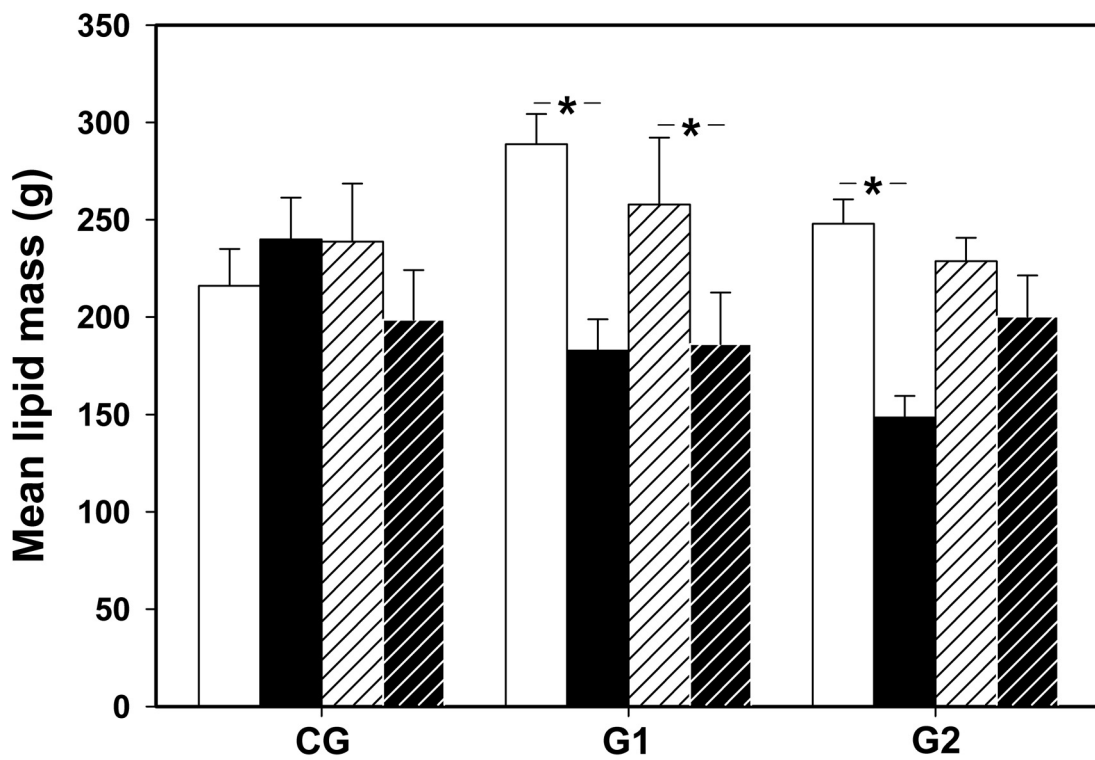


Figure 1: Mean lipid mass before the disturbance (white bar) and at the end of the disturbance (black bar) in females (plain bar) and males (hatched bar) in the group of mallards. \* indicated significant differences.



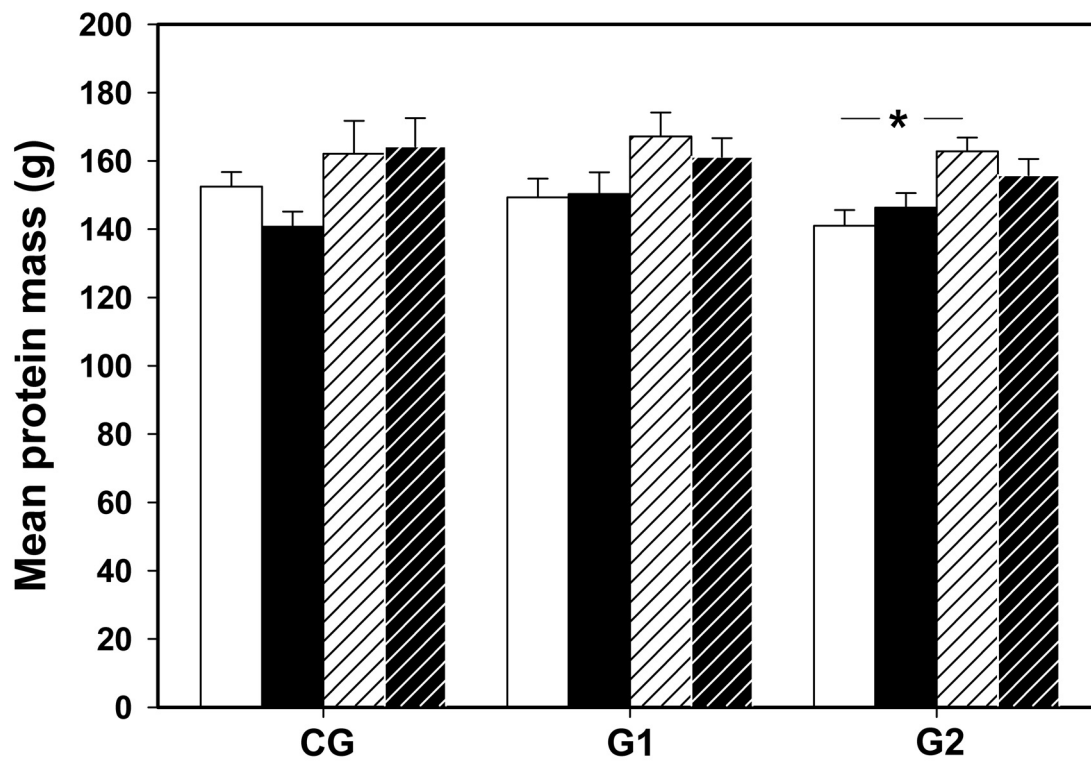


Figure 2: Mean protein mass before the disturbance (white bar) and at the end of the disturbance (black bar) in females (plain bar) and males (hatched bar) in the group of mallards. \* indicated significant differences.

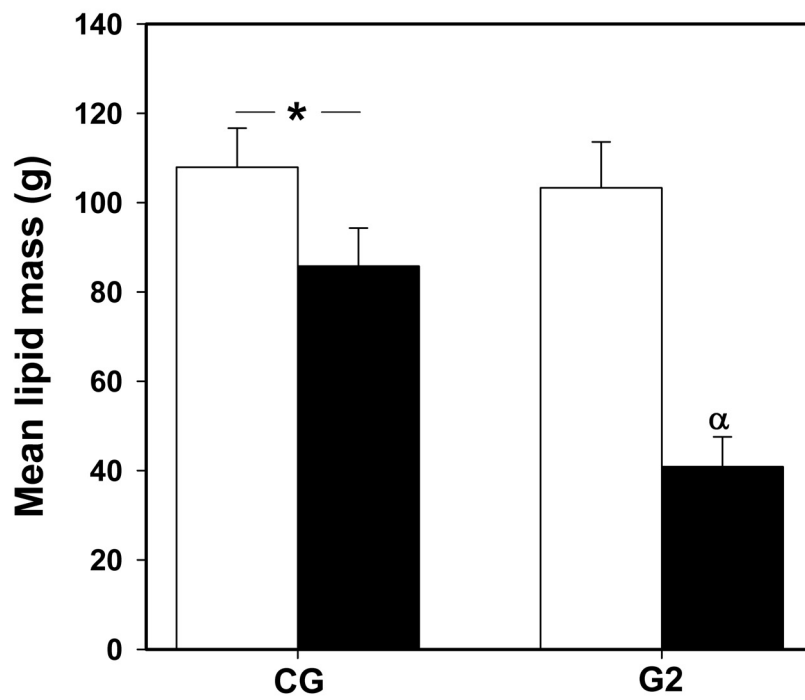


Figure 3: Mean lipid mass before the disturbance (white bar) and at the end of the disturbance (black bar) in females (plain bar) and males (hatched bar) in the two group of tufted ducks. \* indicated significant differences within a group.  $\alpha$  indicated that final in G2 differed significantly from its initial state and from both state in CG.

Dans cette partie, nous avons vu que le nombre élevé d'envols imposé aux femelles colverts et morillons n'entraîne pas d'augmentation de la dépense énergétique. Ce résultat était inattendu puisque le vol est un moyen de déplacement coûteux en énergie (Norberg 1996) et plus particulièrement les vols courts à faible vitesse, semblables à ceux que nous avons provoqué. En effet, ils demandent une quantité d'énergie au moins trois fois supérieure à celle prédite par la théorie classique du vol continu et battu (Nudds et Bryant 2000, Videler 2005). Il semblerait ainsi qu'il existe des mécanismes qui permettent de compenser la dépense énergétique associée au dérangement. Ces mécanismes peuvent être physiologiques et comportementaux telle qu'une diminution de la masse corporelle, une augmentation de la durée de sommeil, une diminution de la prise alimentaire et donc de l'énergie nécessaire à la digestion ou à la synthèse des tissus ce qui permettrait d'économiser de l'énergie (Berger et Phillips 1995, Wiens et Farmer 1996).

Les résultats de l'analyse de la composition corporelle indiquent que la perte de masse chez les colverts et les morillons est uniquement due à une diminution limitée des réserves adipeuses, considérées également comme le compartiment énergétique le plus labile (Blem 1990). Ces résultats sont en accord avec les prédictions du compromis entre les risques de jeûne et de prédation (Lima 1986, Houston *et al.* 1993, Witter et Cuthill 1993). De plus, cela confirme que la perte de masse corporelle en réponse à l'augmentation du risque de prédation ne résulte pas d'une augmentation de la dépense énergétique. Enfin, ces résultats corroborent l'hypothèse d'un effet de la stratégie de gestion des réserves énergétiques sur la réduction de la masse corporelle lorsque le risque de prédation augmente. En effet, les canards réduisent de manière contrôlée leur quantité importante de réserves lipidiques de départ mais en les maintenant au final à un niveau qui leur permet tout de même de faire face à une diminution de la disponibilité alimentaire sur une période plus longue que les passereaux. Cela montre enfin que mesurer les effets d'une exposition à des événements dérangeants perçus par l'oiseau comme risqués doit s'effectuer avec des méthodes appropriées de détermination de la dépense énergétique et de la composition corporelle et sur un pas de temps suffisamment long (une semaine au moins dans notre cas répartie sur plusieurs mois).

Nous avons vu dans ce chapitre que nos trois espèces de canard répondent à une augmentation du risque de prédation par une diminution de leur masse corporelle à travers une réduction contrôlée de leurs réserves lipidiques. Ces résultats sont en accord avec la gestion du compromis entre les risques de jeûne et de prédation (Lima 1986, Witter et Cuthill 1993). Il apparaît donc que ce compromis s'applique chez les espèces possédant des réserves corporelles importantes. Afin de poursuivre cette généralisation du compromis, il semble maintenant nécessaire de vérifier comment cette augmentation du risque de prédation s'articule avec d'autres aspects, notamment physiologiques et comportementaux, de la biologie des oiseaux.

# CHAPITRE 4 : EFFETS DE L'AUGMENTATION DU RISQUE DE PREDATION AU NIVEAU PHYSIOLOGIQUE

---

"La charge de la preuve revient toujours à celui qui affirme quelque chose de nouveau et plus la chose affirmée sort du cadre des lois établies, a fortiori si elle entre en conflit avec ces lois, plus les preuves apportées pour étayer cette proposition doivent être robustes."

Georges Charpak et Henri Broch

Nous avons vu que le compromis entre les risques de jeûne et de prédation s'applique chez les trois espèces étudiées. Généralement, l'approche utilisée classiquement pour étudier ce compromis se cantonne à l'analyse des paramètres énergétiques évoqués précédemment à savoir la masse corporelle et les réserves énergétiques et aux variations de consommation alimentaire. Cependant, la variation de la disponibilité alimentaire et les attaques ou la présence de prédateurs peut influencer d'autres aspects de la biologie des oiseaux. Dans cette partie, nous allons nous intéresser plus particulièrement aux effets de l'augmentation du risque de prédation sur des facteurs physiologiques endocriniens. En effet, les oiseaux vont répondre à une attaque de prédateur par une réponse physiologique qui consiste principalement en l'activation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-corticosurrénalien (HHCS) résultant en la libération de corticostérone (Wingfield *et al.* 1997, Wingfield *et al.* 1998, Romero 2004). Cette libération de corticostérone fait entrer l'individu dans un stade d'urgence qui va favoriser la survie immédiate. Cependant, une augmentation répétée et durable de la concentration en corticostérone peut être délétère (Wingfield *et al.* 1998, Wingfield et Romero 2001). De plus, l'augmentation du risque de prédation ou le stress qui lui est associé peut conduire à une dépression du système immunitaire (Apanius 1998, Sapolsky *et al.* 2000, Navarro *et al.* 2004). Le maintien et la mise en place d'une réponse immunitaire étant coûteux en énergie, il pourrait donc exister des compromis entre le système immunitaire et les autres traits d'histoire de vie pour l'allocation des ressources énergétiques (Sheldon et Verhulst 1996, Råberg *et al.* 1998, Lochmiller et Deerenberg 2000, Viney *et al.* 2005).

Afin de tester l'effet de l'augmentation du risque de prédation au niveau physiologique chez les trois espèces étudiées, des prélèvements de sang ont été effectués avant et à la fin de chaque période de dérangement. A partir des échantillons de plasma, les niveaux de corticostérone, d'immunoglobuline Y et d'anticorps naturels ont été mesurés. Les immunoglobulines Y correspondent au facteur immunitaire impliqué dans l'immunité acquise le plus important chez les oiseaux (Roitt *et al.* 2001). Les anticorps naturels sont impliqués dans l'immunité innée qui est la première ligne de défense contre les pathogènes (Matson *et al.* 2005).

## Article 6

Coping with repeated predation risk in ducks is paired with an immunoredistribution

Zimmer Cédric<sup>1</sup>, Boos Mathieu<sup>2</sup>, Arrivé Mathilde<sup>1</sup>, Petit Odile<sup>1</sup>, and Robin Jean-Patrice<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, Département Ecologie Physiologie et Ethologie, UMR 7178 CNRS/Université de Strasbourg; 23 rue Becquerel, 67087 Strasbourg Cedex 2, France

<sup>2</sup> Research Agency in Applied Ecology, 14 rue principale, 67270 Wilshausen, France

Corresponding author: Cédric Zimmer

E-mail address: [cedric.zimmer@c-strasbourg.fr](mailto:cedric.zimmer@c-strasbourg.fr)

Phone number: +33 388106911

Fax number: +33 388106906

En préparation

## Abstract

In birds, predation events involve the release of corticosterone in order to guarantee immediate survival. Although beneficial on short term, repeated increase in corticosterone levels could be detrimental. Moreover, predation and stress can depress the immune system activity. In this study, we aim to determine the effects of a repeated increase in predation risk on the stress response and on immunity in three ducks species. We artificially increased predation risk by disturbing two groups of mallards and teals at different frequencies, and one group of tufted ducks with a radio-controlled car during the wintering period. We measured plasma corticosterone concentration, immunoglobulin Y and natural antibodies levels before and after the disturbance. We showed that, in all three species, the increase in predation risk did not affect stress-induced corticosterone level. Furthermore, in response to disturbance we observed a decrease in immunoglobulin Y whereas level of natural antibodies increased. The lack of corticosterone stress concentration increase or attenuation indicates that ducks cope with frequent events of predation. The reduction of the acquired immune system is compensated by the enhancement of the innate one. Therefore, it seems that predation in birds lead to an immunoredistribution rather than to an immunosuppression. This immunoredistribution allows ducks to reduce investment in immune system and thus save energy but to maintain an effective protection against pathogens. Finally, this study interestingly gives a new insight into the debate about the effects of predation risk on the stress and immune response and we propose that stress and at least both immune parameters adjustments should be included in the more general framework of the starvation-predation risk trade-off.

Keywords: stress, corticosterone, immunity, immunoglobulin, natural antibodies, starvation-predation risk trade-off



## Introduction

Birds exposed to predation events reacted with behavioural and physiological responses. Behavioural responses include fleeing, habitat shifting, increasing vigilance or decreasing foraging (Lima 1998; Frid and Dill 2002). Physiological responses consist mainly in the activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis which is the typical response to unpredictable events among vertebrates (Wingfield et al. 1998; Romero 2004). This activation of the HPA axis results in the release of glucocorticoids, mostly corticosterone (CORT) in birds, placing the individuals into an emergency life-history stage (Wingfield et al. 1998). Short-term increase of CORT level in response to predator presence may influence physiological functions and behaviour in an adaptive way that promote immediate survival and restoration of homeostasis (Wingfield et al. 1998; Wingfield and Romero 2001; Wingfield and Kitaysky 2002; McEwen and Wingfield 2003). For example, sight of predator in great tits (*Parus major*) initiates a stress response associated to an increase time spent flying (Cockrem and Silverin 2002). Although beneficial in the short term, a repeated or long term increase in CORT concentration could have deleterious effects and become a threat for individual survival (Wingfield et al. 1998; Sapolsky et al. 2000; Wingfield and Romero 2001).

Predation risk can also influence immune system. Indeed, Moller and Erritzoe (2000) showed that small passerines captured by cats have significantly smaller spleen than birds that die for other reasons, suggesting a weak immune system. Moreover, short exposures to a predator decrease T-cell response in captive house sparrows (*Passer domesticus*) and in wild ones when the predator was placed in proximity of the nest-box. This depression of immune response was probably due to an increase in CORT levels (Navarro et al. 2004). In fact, a high level of CORT can induce an immunosuppression and thus it has been proposed that CORT regulates immune function (McEwen et al. 1997; Apanius 1998; Råberg et al. 1998; Wingfield et al. 1998; Martin et al. 2008). Nevertheless, although an experimental increase in plasma

CORT levels downregulates immunoglobulin level in captive common eiders (*Somateria mollissima*) (Bourgeon and Raclot 2006), variations in immune system activity in barn swallows (*Hirundo rustica*) are not mediated by CORT (Saino et al. 2002). On the other hand, the decrease in immunity during stressful period should allow redirecting resources and energy towards activities that are more immediately life enhancing (Sapolsky et al. 2000). It is the consequence of trade-offs between immunocompetence and other life-history traits for access to limited resources assuming that immune system maintenance and deployment are energetically costly (Sheldon and Verhulst 1996; Råberg et al. 1998; Lochmiller and Deerenberg 2000; Norris and Evans 2000; Demas et al. 2003; Viney et al. 2005). Nevertheless, although immune defence is one key physiological component that could be affected by predation induced stress (Slos et al. 2009) there are only few studies on this subject in birds.

Vertebrates' immune system is complex and composed of innate and adaptive immune axis. Thus, it has been proposed that the measure of immunity should include simultaneous measurements of immune parameters from both axis (Adamo 2004). The innate immune system represents the first line of fast defence against parasite attacks, natural antibodies (NABs) being one component of this defence (Matson et al. 2005; Davison et al. 2008). These antibodies are mostly immunoglobulin M that serve as a recognition molecule and can initiate the complement enzyme cascade that could end in cell lysis. NABs are connected to adaptive immunity and are an important link between the innate and the acquired immune arms (Carroll and Prodeus 1998; Ochsenein and Zinkernagel 2000). Furthermore, NABs react to a diversity of antigens making them useful to determine individuals' immunocompetence levels (Matson et al. 2005). When innate immunity is not able to defend the organism, adaptive immunity is required to eliminate the pathogens and is characterized by an immunologic memory that allows a protection in case of repeated expositions to the same pathogen (von Holst 1998; Erf 2004). In birds, the main antibodies of the adaptive immune system are immunoglobulin Y (IgY) (Lundqvist et al. 2006;

Davison et al. 2008). IgY are involved in complement fixation and in tissue sensitizing and are maternally transferred to offspring in egg yolk (Lundqvist et al. 2006). Moreover, IgY levels reflect the interaction between individuals and their environmental conditions (Apanius and Nisbet 2006).

Among birds, ducks are particularly exposed to predation, since they live in open water and terrestrial sites without cover (Owen and Black 1990; Del Hoyo et al. 1992; Roth et al. 2006). However, ducks species differ in their ecology and body size for example. To take into account potential effects of these differences, we used a comparative approach by studying three representative species of Anatidae: the mallard (*Anas platyrhynchos*), the common teal (*Anas crecca*, hereafter referred to as “teal”), and the tufted duck (*Aythya fuligula*). Mallards and teals are among the largest and smallest duck species, respectively. Moreover, dabbling ducks such as mallards and teals do not have the same ecology as diving tufted ducks. In this study we tested how an increase in predation risk affected stress response and its potential effects on immunocompetence. This was done by experimentally exposing birds to a repeated disturbance in which we simulated attacks from a predator. We assessed CORT, IgY and NAbs levels before and after the increase in risk during wintering period in order to take into account possible different responses to stress of innate and adaptive immune systems throughout the season. We predicted that the increased predation risk should have a negative impact on immunocompetence due to an increase in CORT levels.

## Material and methods

### Animals and experimental conditions

The study was conducted over a three-year period as follows: the first year on three groups of mallards, the second year on three groups of teals and the last year on two groups of tufted ducks. Mallards were provided by the “La Canarderie de la Ronde” rearing centre (Cère la

Ronde, France). Teals came from the Fauna Leroy rearing centre (Westvleteren, Belgium). Tufted ducks were obtained from the “Les Canards de Mormal” rearing centre (Jolimetz, France). Due to a supply problem, only two groups of tufted ducks were available for this study. Ducks were individually identified using colour rings of Sellotape® which were loosely placed around one leg. Each group was composed of 7 females and was maintained in an outdoor tunnel-aviary of 100 m<sup>2</sup> (20 x 5 x 2.5 m) subjected to ambient temperature and natural photoperiod. The aviaries were located near to the laboratory and were protected against predators by an electric fence. The tunnels were at 10-15 m from each other and were separated by opaque barriers to avoid visual contact between groups. All aviaries contained a 4 m<sup>2</sup> pool (0.60 m depth) supplied with running water. A balanced commercial food (Standard duck food 7751, Sanders Corporation) was provided *ad libitum*. A richer protein food supplement (Teurlings premium duck food) was given *ad libitum* to tufted ducks because of their specific diet. All three species had at least one month’s acclimation period to experimental conditions before testing. The same aviaries were used for each species every year.

## Experimental procedure

### Disturbance

We experimentally increased the perceived predation risk in the three species by increasing disturbance that trigger animal’s response typically evolved against natural predators (Frid and Dill 2002). Two groups of mallards and teals and one group of tufted ducks were disturbed during one week period four times over the wintering period (table 1). Disturbance sessions were separated by approximately one and a half months. In mallards and teals, group 1 (G1) was disturbed twice daily for 15 minutes. In the three species, group 2 (G2) was disturbed four times daily for 15 minutes. Disturbance took place randomly between 8:00 and 11:00. In each species, one group was left undisturbed and was used as control group (CG). We used a radio-controlled

car (E-Zilla FWD Hot-bodies™) to disturb the ducks by steering it with high speed towards the ducks until they took off. After take off, we waited until ducks had settled, then we gathered them together with the car and made them taking off again. This procedure was repeated throughout each disturbance phase. This method was the most efficient to induce both simultaneous take offs of all birds in the group and predator attack-like response (Zimmer et al. in press). During these experiments, no duck was hurt by the car. During disturbance phases, two experimenters (C. Z., M. B.) were near the aviary to pilot the radio-controlled car and noted the number of individuals taking off. Disturbance in one group did not modify the behaviour of ducks in the other groups thanks to the opaque barriers. Each aviary was monitored throughout the night with night-view camera to ensure that ducks were not disturbed by any other external disturbance. This study was performed under the governmental authorizations and was approved by the Departmental Veterinary Services. The experiment complied with the “Principles of animal Care” publication No. 86-23, revised in 1985 of the National Institute of Health, and with current legislation (L87-848) on animal experimentation in France.

### Blood sampling

The day before the beginning and the last day of each disturbance session, ducks of disturbed groups were caught with a net and were taken to a nearby room. Two ml of blood were sampled from the brachial vein of each duck randomly between 5 and 40 min after the capture. Birds of the control group were sampled at the same frequency as disturbed groups. Blood was then immediately transferred into heparinised tubes and kept on ice until being centrifuged for 10 min at 3500 rpm. Plasma samples were stored at -20°C and subsequently used to assess CORT, IgY and NAbs levels.

## Assessment of corticosterone, immunoglobulin Y and natural antibodies

Corticosterone concentrations were determined by a quantitative competitive sandwich enzyme immunoassay technique (AssayPro, AssayMax Corticosterone ELISA Kit, EC3001-1). Corticosterone measurements had an intra-assay variability of 5.2% and an inter-assay variability of 8.3%.

The amount of total IgY in plasma (diluted to 1/16000 for mallards and tufted ducks and to 1/12000 for teals in carbonate-bicarbonate buffer, 0.1 M, pH = 9.6) of the three species has been assessed by a sensitive ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) method. This method using commercial anti-chicken antibodies has been validated in several avian species (Martinez et al. 2003), including Anatidae (see Bourgeon et al. 2006a for the detailed protocol). Plasma immunoglobulins Y were used to assess the overall humoral immune response because they are the most important serum proteins involved in this response (Roitt et al. 2001).

Plasmatic natural antibodies levels were determined by hemagglutination assay. Assays were carried out in 96-well plate using 50 µl of plasma for each individual following Matson et al. (2005). Twenty five microliters of plasma samples were placed in column 1 and 2 of the plate and plasma were serially diluted (1:2) with phosphate buffer saline (PBS; Sigma-Aldrich, France) from column 2 through column 11. Column 12 was used as negative control and contained only PBS. Then, 25 µl of a 1% rabbit blood cell suspension (RBCs) was added to each well before the plate was incubated for 90 min at 37°C. The RBCs was kept in 50% Alsever solution (Sigma-Aldrich, France) and washed 4 times with PBS as described in Matson et al. (2005). The hematocrit was checked using capillary tubes and the RBCs were adjusted in order to obtain a final cell concentration of 1% in PBS. At the end of the incubation, plates were tilted to an angle of 45° during 20 min at room temperature to enhance visualisation of agglutination. Then, a picture of each plate was taken and agglutination titer (or Nab score) for each individual was scored from the picture by the same experimenter (M. A.) and reflects only

natural antibodies' levels (Matson et al. 2005). However, since plasma samples were serially diluted, NAbs scores do not directly determine NAbs' plasmatic concentration. The inter-assay variability was 3.2%

### Statistical analysis

Variations in IgY levels were analyzed with linear mixed effects models using the Mixed procedure in SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, USA). Variations in corticosterone levels and NAbs scores were modelled with generalized linear mixed effects models because models' residuals do not follow a normal law using the GLIMMIX procedure in SAS. Models for corticosterone levels and NAbs scores changes were fitted with a Gamma distribution and a Poisson distribution respectively. For each species, sessions, groups and states (initial: at the beginning of disturbance and final: at the end of disturbance) were included as fixed factors. In models for CORT levels analysis, time of sample was added as covariable to into account the effect of time after capture on CORT concentration. In order to take into account the repletion of the sessions and of the states, these two factors was specified as repeated factors. To account for pseudo-replication in the analysis, the repeated measurements within individuals were added as random effect. The MSPL (Maximum Subject-specific Pseudo-Likelihood) technique was used as the estimation method. Tukey-Kramer multiple comparison adjustment was applied to obtain corrected p-value. Probability levels  $< 0.05$  were considered as significant and mean are provided  $\pm$  SE.

## Results

### Mallards

CORT levels differed significantly between sessions ( $F_{3,76} = 15.7$ ,  $p < 0.0001$ ) with higher values during session 1 than in three other sessions ( $t > 3.5$ ,  $p < 0.005$ ,  $df = 63$ , table 2). CORT

concentration was different between the three groups ( $F_{2,22} = 4.8$ ,  $p = 0.019$ ), G2 showing lower CORT level than CG ( $t = -3.1$ ,  $p = 0.014$ ,  $df = 22$ , Figure 1).

IgY concentration was significantly different between sessions ( $F_{3,34} = 7.2$ ,  $p = 0.0007$ ). Values between all sessions differed from each other with the lowest value for session 3 and the highest for session 4 ( $t > 3.0$ ,  $p < 0.021$ ,  $df = 25$ , table 2). The interaction between groups and states was significant ( $F_{2,15} = 6.1$ ,  $p = 0.012$ ). More precisely, IgY levels decreased between the beginning and the end of disturbance in G2 ( $t = -3.3$ ,  $p = 0.045$ ,  $df = 14$ , figure 2).

NAbs scores differed also significantly between sessions ( $F_{3,76} = 168.5$ ,  $p < 0.0001$ ) with higher values during session 3 than in three other sessions ( $t > 9.8$ ,  $p < 0.0001$ ,  $df = 53$ , table 2) and session 4 score was higher than these of both session 1 and 2 ( $t > 7.7$ ,  $p < 0.0001$ ,  $df = 65$ , table 2). Finally, NAbs scores increased between the beginning ( $7.3 \pm 0.2$ ) and the end ( $7.8 \pm 0.2$ ) of disturbance ( $F_{1,110} = 6.3$ ,  $p = 0.014$ ).

## Teals

CORT concentrations differed significantly between the four sessions ( $F_{3,65} = 11.3$ ,  $p < 0.0001$ ) with higher values for session 4 than for the three other sessions ( $t > 3.6$ ,  $p < 0.0003$ ,  $df = 69$ , table 2). The interaction between groups and states was significant ( $F_{2,110} = 14.6$ ,  $p < 0.0001$ ) but following multiple comparisons did not show any significant difference (figure 3).

IgY concentrations were different between sessions ( $F_{3,39} = 4.0$ ,  $p = 0.014$ ). Like in mallards, IgY level was significantly higher during session 4 than during the three other sessions ( $t > 4.06$ ,  $p < 0.001$ ,  $df = 17$ , table 2). The interaction between groups and states was significant ( $F_{2,45} = 4.4$ ,  $p = 0.019$ , figure 4) but like for CORT following multiple comparisons did not show any significant difference.

NAbs scores were different between the three groups ( $F_{2,31} = 8.9$ ,  $p = 0.0009$ ) with higher value in both disturbed groups than in control one ( $t > 2.93$ ,  $p < 0.017$ ,  $df = 35$ , figure 5).



Moreover, NAbs scores were higher at the end ( $7.1 \pm 0.4$ ) than at the beginning ( $6.0 \pm 0.4$ ) of disturbance ( $F_{1,114} = 0.011$ , figure 5).

#### Tufted ducks

Like in the two previous species, CORT concentrations differed significantly between sessions ( $F_{3,57} = 0.002$ ) with lower value for session 1 than for sessions 2 and 3 ( $t < -3.0$ ,  $p < 0.02$ ,  $df = 55$ , table 2). CORT levels were higher in the disturbed group ( $35.6 \pm 2.1 \text{ ng.ml}^{-1}$ ) than in the control one ( $29.1 \pm 1.9 \text{ ng.ml}^{-1}$ ) ( $F_{1,15} = 5.1$ ,  $p = 0.039$ ).

IgY concentrations in the four sessions were significantly different ( $F_{3,16} = 6.0$ ,  $p = 0.006$ ). IgY level was higher during session 2 than in the three other sessions ( $t > 2.9$ ,  $p < 0.046$ ,  $df = 18$ , table 2). The interaction between groups and states was also significant ( $F_{1,15} = 9.7$ ;  $p = 0.007$ ). We observed a decrease in IgY level between the beginning and the end of disturbance in the disturbed group ( $t = -4.26$ ,  $p = 0.004$ ,  $df = 15$ , figure 6).

Finally, NAbs scores differed significantly between sessions ( $F_{3,49} = 20.4$ ,  $p < 0.0001$ ) with lower value during session 3 than in other sessions ( $t < -3.08$ ,  $p < 0.017$ ,  $df = 34$ , table 2). Finally, the interaction between groups and states was also significant ( $F_{1,81} = 10.9$ ,  $p = 0.001$ ). More precisely, NAbs score after disturbance in the disturbed group was higher than at the beginning of disturbance and than at both states in the control group ( $t > 2.81$ ,  $p < 0.031$ ,  $df = 18$ , figure 7).

#### Discussion

In our experimental conditions, measured CORT concentrations corresponded to stress-induced levels induced by capture and restraint since ducks were sampled more than 3 minutes after capture (Romero and Romero 2002) and kept in a black box until the blood sampling. Moreover, blood samples were taken between 5 and 40 minutes after capture which corresponds

to the period of maximum response to stress in these species (Zimmer et al. unpublished data). In the three species, we observed a difference in the stress-induced level of CORT between sessions. These differences would likely reflect seasonal variations of stress CORT concentrations observed in birds (Romero 2002). However, these seasonal changes were different between the three species. Mallards showed a higher level of CORT during the first session that corresponds to the fattening period (October) whereas teals had a higher level just before the reproduction (April). In tufted ducks, CORT levels were higher during session 2 and 3 which was the period of harsh conditions characterizing mid-winter (January-February).

Contrary to our prediction, we did not observe any significant variation (between the beginning and the end of the sessions) in stress-induced plasma levels of corticosterone in response to disturbance among the three species and whatever the disturbed group and the session. One may expect that stress response to capture after the disturbance would be higher in disturbed groups compared to the control group due to the already expected high level of CORT in response to increased predation risk. Indeed, presence or attacks by a predator is known to lead to an increase in CORT concentration (Wingfield et al. 1998; Scheuerlein et al. 2001; Cockrem and Silverin 2002; Clinchy et al. 2004). Moreover, if the increase in predation risk can enhance the stress response to a novel stressor through a facilitation effect (Romero 2004), the stress response to capture should be higher at the end of disturbance. For example, yellow-eyed penguins exposed to tourism have a higher stress response to a capture stress protocol than undisturbed penguins (Ellenberg et al. 2007). On the contrary, repeated exposure to a same stressor can lead to a decrease of the stress response and this reduction of the stress response to another threatened event may be due to habituation or to desensitization of the stress response (Busch et al. 2008; Cyr and Romero 2009). For example, repeated short-term corticosterone administration in the white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys gambelii*) decreases the endogenous CORT levels in response to capture and restraint stress. Magellanic penguins

*(Spheniscus magellanicus)* in touristic areas show a lower stress response than when nesting away from tourist trail (Walker et al. 2006). In our conditions, it seems that habituation did not appear because the response in all groups was the same whatever the session and the group despite variations in global CORT levels between sessions. Moreover, if habituation to disturbance is invoked, stress response in disturbed group should have been higher in the first session than in other sessions since birds were naïve at that first session (Cyr and Romero 2009). Consequently, since we did not observe any of these latter effects (elevation or attenuation of the stress response) we can suggest that ducks coped with the repeated increase in predation risk by a proper control of CORT release. Indeed, ducks live and have evolved in dynamic environments (Owen and Black 1990), thus as proposed for shorebirds (Peters and Otis 2007), they might be able to compensate environmental changes perceived as threatened events. Globally, in mallards and tufted ducks, we observed a difference in stress response between G2 and CG with a higher level of CORT in GC than in G2 in mallards and the converse in tufted ducks. These differences were likely due to interindividuals variations between the different groups in CORT response (Cockrem 2005) since the response to capture in the different groups was not different between the four sessions. This constancy of the response rather results from an individual trait (Ellenberg et al. 2009) that can explain the observed differences.

Concerning immunological parameters, we also observed differences between sessions that likely reflected seasonal variation of immune function (Nelson and Demas 1996; Buehler et al. 2008). That IgY levels were higher before reproductive period was probably due to the egg formation because, in birds, IgY is the principle class of immunoglobulin transferred in eggs (Ardia and Schat 2008; Boulinier and Staszewski 2008). An other evidence is that this pattern was not observed in tufted ducks most likely because they did not lay any eggs. In the three species, we also observed seasonal variations in NAb scores that differed between species. Immune activity tended to be elevated during winter (Nelson and Demas 1996; Martin et al.

2008) but environmental conditions like low temperatures could decrease immune activity (Martin 2009). Moreover, a comparison of 13 immune indices in 10 Anseriform species showed differences in immune profiles between species (Matson et al. 2006).

Globally, in response to disturbance, we observed a decreased in IgY levels in the three species, particularly in the highly disturbed group (G2). It has been shown that predation risk can lead to a decrease in immune activity (Rigby and Jokela 2000; Zhang et al. 2003; Navarro et al. 2004; Stoks et al. 2006; Mikolajewski et al. 2008). Short-term exposures to a predator reduce the cell mediated immune response in house sparrow (*Passer domesticus*) and this reduction of the immune response was probably due to stress response when facing predators (Navarro et al. 2004). It is widely acknowledged that stress could induce immunosuppression through CORT activity (Apanius 1998; Råberg et al. 1998; Wingfield et al. 1998; Sapolsky et al. 2000). In accordance, increased CORT level suppressed immune activity in Galapagos marine iguana (*Amblyrhynchus cristatus*) and in house sparrow (Berger et al. 2005; Martin et al. 2005). Nevertheless, our CORT results suggested that CORT was not the mediator of this response since there was no difference in stress response between to the increase in predation risk between disturbed and control groups. Contrary to IgY, NAbs seemed to increase in disturbed groups in response to a rising predation risk. NAbs levels are also higher in birds that take greater predation risk when singing (Moller et al. 2008). Alternatively, predation could have no effect or even enhances immunity (Slos et al. 2009). In damselfly (*Coenagrion puella*), females increased their investment in both cellular and humoral component of the immune system in presence of predators (Joop and Rolff 2004). Furthermore, stress could be advantageous in improving resistance to bacterial but not to viral infections (Zulkifli and Siegel 1995). For example, high level of social stress in chickens enhance defences against *Escherichia coli* while decreasing resistance to mycoplasmal infection (Gross and Siegel 1981).

These results indicate that the increase in predation risk leads to an immunoredistribution rather than to an immunosuppression due to trade-offs within the immune system (Martin et al. 2006). It has been proposed that physiological plasma CORT concentrations contribute more to an immunoredistribution than to a true immunosuppression (Braude et al. 1999), but in our study it seems that the observed immunoredistribution in disturbed groups was not mediated by CORT since its levels before and after the disturbance were not different in disturbed groups and final levels were similar between disturbed and control groups. We could therefore suggest that immunoredistribution was disconnected from the plasma circulating CORT or that the concentrations we measured whatever the group, the state and the session were at levels that mask any cause-effect relationship. The maintenance and the deployment of the immune system are supposed to be energetically costly (Lochmiller and Deerenberg 2000; Viney et al. 2005; Martin 2009). Under life threatening conditions, energy invested in immune system should be reallocated to more life enhancing activities that should lead to a decrease in immunity (Sheldon and Verhulst 1996; Råberg et al. 1998; Norris and Evans 2000). However, trade-offs between immune system and other energy demanding activity may not apply equally on different branches of immune system (Norris and Evans 2000; Klasing 2004; Viney et al. 2005). It seems that the activation of the innate constitutive immune system is less energy-consuming than the activation of the humoral acquired immunity (Bourgeon et al. 2007; Buehler et al. 2009). Furthermore, constitutive innate arms of the immune system would be more important for survival since an immune challenge would probably not persist more than few hours or days before individual would die in response to predation or starvation (Lochmiller and Deerenberg 2000). It has also been suggested that birds should keep a higher innate barrier to compensate the loss of the acquired immunity that permits elimination of pathogens before the acquired components are activated (Roitt et al. 2001). Thus, in our conditions of increased predation risk, the active increase in innate immunity to compensate the decrease in humoral acquired

immunity appears to be adaptive since it allows maintaining an effective immune protection and energy saving.

Immunity and stress response could be also affected in response to a scarcity of food or according to the individual's energy reserves (Rogers et al. 1993; Moret and Schmid-Hempel 2000; Wingfield and Romero 2001; Demas 2004; Demas and Sakaria 2005; Bourgeon et al. 2006b). We have previously shown that in response to the increase in predation risk ducks reduce their food intake and their body mass despite food is available *ad libitum*, which in turn may enhance the starvation risk (Zimmer et al. in press, submitted). Concerning immunity, we cannot directly determine whether the observed immunoredistribution was due to direct effect of the raise of predation risk or to an indirect effect of it through an increase in starvation risk or an additive effect of both risks. Interestingly, in captive strained mallards both IgY and NAb levels were depressed during prolonged fasting with the lowest levels being achieved during the phase of high protein catabolism (Bourgeon et al. submitted). We can so assume that the immunoredistribution in our situation was mostly driven by the predation than by the starvation risk, since birds were not fasting and did not reach high levels of body reserve depletion (Zimmer et al. unpublished data). Whatever the risk that led to the immunoredistribution, it would allow energy to be saved that could compensate for the risk of starvation, and/or it could be reallocated to anti-predator behaviour while the most important immune function was ensured. Moreover, since ducks cope with the increase in predation risk, it seems that the reduced food intake was not a sufficient stressor to raise the risk of starvation in our conditions. The starvation-predation risk trade-off predicts that high body mass requires greater foraging and metabolic demands and impairs escape flight capacities. However, birds should maintain sufficient body reserves to limit starvation risk (Lima 1986; Houston et al. 1993; Witter and Cuthill 1993). The immune system adjustment and stress response we observed fit with this trade-off.

In this experimental study, we showed that ducks can cope with a repeated high level of predation particularly through the capacity of immunoredistribution. However, the mediator role of the CORT level in this redistribution process needs further investigations and a combined or indirect effect of body condition changes is not excluded. The privileged activation of the innate immune system and the concomitant attenuation of the acquired immunity should maintain a minimal but important protection against pathogens besides the improvement of energy saving that could be reallocated to decrease starvation and/or predation risks. It seems therefore useful to give higher consideration to the adjustments of immune and stress responses when dealing with the starvation-predation risk trade-off. To generalize results obtained in controlled conditions, it seems crucial to verify whether the same adjustments exist in natural systems where it is possible for birds to fly away and avoid predators. It would be also interesting to study the long term effects of these adjustments on health and survival.

## References

- Adamo, S. A.** 2004. How should behavioural ecologists interpret measurements of immunity? *Animal Behaviour*, 68, 1443-1449.
- Apanius, V.** 1998. Stress and immune defense. *Advances in the Study of Behavior*, 27, 133-153.
- Apanius, V. & Nisbet, I. C. T.** 2006. Serum immunoglobulin G levels are positively related to reproductive performance in a long-lived seabird, the common tern (*Sterna hirundo*). *Oecologia*, 147, 12-23.
- Ardia, D. R. & Schat, K. A.** 2008. Ecoimmunology. In: *Avian immunology* (Ed. by Davison, F., Kaspers, B. & Schat, K. A.), pp. 421-441. London: Academic press.
- Berger, S., Martin Ii, L. B., Wikelski, M., Romero, L. M., Kalko, E. K. V., Vitousek, M. N. & Rödl, T.** 2005. Corticosterone suppresses immune activity in territorial Galápagos marine iguanas during reproduction. *Hormones and Behavior*, 47, 419-429.

- Boulinier, T. & Staszewski, V.** 2008. Maternal transfer of antibodies: raising immuno-ecology issues. *Trends in Ecology & Evolution*, 23, 282-288.
- Bourgeon, S., Criscuolo, F., Le Maho, Y. & Raclot, T.** 2006a. Phytohemagglutinin response and immunoglobulin index decrease during incubation fasting in female common eiders. *Physiological and Biochemical Zoology*, 79, 793-800.
- Bourgeon, S., Martínez, J., Criscuolo, F., Maho, Y. L. & Raclot, T.** 2006b. Fasting-induced changes of immunological and stress indicators in breeding female eiders. *General and Comparative Endocrinology*, 147, 336-342.
- Bourgeon, S. & Raclot, T.** 2006. Corticosterone selectively decreases humoral immunity in female eiders during incubation. *Journal of Experimental Biology*, 209, 4957-4965.
- Bourgeon, S., Raclot, T., Le Maho, Y., Ricquier, D. & Criscuolo, F.** 2007. Innate immunity, assessed by plasma NO measurements, is not suppressed during the incubation fast in eiders. *Developmental & Comparative Immunology*, 31, 720-728.
- Braude, S., Tang-Martinez, Z. & Taylor, G. T.** 1999. Stress, testosterone, and the immunoredistribution hypothesis. *Behavioral Ecology*, 10, 345-350.
- Buehler, D. M., Piersma, T., Matson, K. & Tieleman, B. I.** 2008. Seasonal Redistribution of Immune Function in a Migrant Shorebird: Annual-Cycle Effects Override Adjustments to Thermal Regime. *American naturalist*, 172, 783-796.
- Buehler, D. M., Encinas-Viso, F., Petit, M., Vezina, F., Tieleman, B. I. & Piersma, T.** 2009. Limited Access to Food and Physiological Trade-Offs in a Long-Distance Migrant Shorebird. II. Constitutive Immune Function and the Acute-Phase Response. *Physiological and Biochemical Zoology*, 82, 561-571.
- Busch, D. S., Sperry, T. S., Wingfield, J. C. & Boyd, E. H.** 2008. Effects of repeated, short-term, corticosterone administration on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis of the white-



crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys gambelii*). *General and Comparative Endocrinology*, 158, 211-223.

**Carroll, M. C. & Prodeus, A. P.** 1998. Linkages of innate and adaptive immunity. *Current Opinion in Immunology*, 10, 36-40.

**Clinchy, M., Zanette, L., Boonstra, R., Wingfield, J. C. & Smith, J. N. M.** 2004. Balancing food and predator pressure induces chronic stress in songbirds. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 271, 2473-2479.

**Cockrem, J. F.** 2005. Conservation and behavioral neuroendocrinology. *Hormones and Behavior*, 48, 492-501.

**Cockrem, J. F. & Silverin, B.** 2002. Sight of a Predator Can Stimulate a Corticosterone Response in the Great Tit (*Parus major*). *General and Comparative Endocrinology*, 125, 248-255.

**Cyr, N. E. & Romero, L. M.** 2009. Identifying hormonal habituation in field studies of stress. *General and Comparative Endocrinology*, 161, 295-303.

**Davison, F., Katharine, E. M. & Kaspers, B.** 2008. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: *Avian Immunology* (Ed. by Davison, F., Kaspers, B. & Schat, K. A.), pp. 107-128. London: Academic Press.

**Del Hoyo, J., Elliot, A. & Sargatal, J.** 1992. *Handbooks of the Birds of the World. Volume 1: Ostrich to Ducks*. Barcelona: Lynx Edicions.

**Demas, G. E.** 2004. The energetics of immunity: a neuroendocrine link between energy balance and immune function. *Hormones and Behavior*, 45, 173-180.

**Demas, G. E., Drazen, D. L. & Nelson, R. J.** 2003. Reductions in total body fat decrease humoral immunity. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 270, 905-911.

**Demas, G. E. & Sakaria, S.** 2005. Leptin regulates energetic tradeoffs between body fat and humoral immunity. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 272, 1845-1850.

- Ellenberg, U., Setiawan, A. N., Cree, A., Houston, D. M. & Seddon, P. J.** 2007. Elevated hormonal stress response and reduced reproductive output in Yellow-eyed penguins exposed to unregulated tourism. *General and Comparative Endocrinology*, 152, 54-63.
- Ellenberg, U., Mattern, T. & Seddon, P. J.** 2009. Habituation potential of yellow-eyed penguins depends on sex, character and previous experience with humans. *Animal Behaviour*, 77, 289-296.
- Erf, G. F.** 2004. Cell-mediated immunity in poultry. *Poultry Science*, 83, 580-590.
- Frid, A. & Dill, L.** 2002. Human-caused disturbance stimuli as a form of predation risk. *Conservation Ecology*, 6, 11.
- Gross, W. B. & Siegel, P. B.** 1981. Long-term exposure of chickens to three levels of social stress. *Avian Diseases*, 25, 312-325.
- Houston, A. I., McNamara, J. M. & Hutchinson, J. M. C.** 1993. General results concerning the trade-off between gaining energy and avoiding predation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 341, 375-397.
- Joop, G. & Rolff, J.** 2004. Plasticity of immune function and condition under the risk of predation and parasitism. *Evolutionary Ecology Research*, 6, 1051-1062.
- Klasing, K. C.** 2004. The costs of immunity. *Acta Zoologica Sinica*, 50, 961-969.
- Lima, S. L.** 1986. Predation risk and unpredictable feeding conditions: determinants of body-mass in birds. *Ecology*, 67, 377-385.
- Lima, S. L.** 1998. Stress and decision making under the risk of predation: Recent developments from behavioral, reproductive, and ecological perspectives. *Advances in the Study of Behavior*, 27, 215-290.
- Lochmiller, R. L. & Deerenberg, C.** 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos*, 88, 87-98.

- Lundqvist, M. L., Middleton, D. L., Radford, C., Warr, G. W. & Magor, K. E.** 2006. Immunoglobulins of the non-galliform birds: Antibody expression and repertoire in the duck. *Developmental and Comparative Immunology*, 30, 93-100.
- Martin, L. B.** 2009. Stress and immunity in wild vertebrates: Timing is everything. *General and Comparative Endocrinology*, 163, 70-76.
- Martin, L. B., Gilliam, J., Han, P., Lee, K. & Wikelski, M.** 2005. Corticosterone suppresses cutaneous immune function in temperate but not tropical House Sparrows, *Passer domesticus*. *General and Comparative Endocrinology*, 140, 126-135.
- Martin, L. B., Weil, Z. M., Kuhlman, J. R. & Nelson, R. J.** 2006. Trade-offs within the immune systems of female White-footed Mice, *Peromyscus leucopus*. *Functional Ecology*, 20, 630-636.
- Martin, L. B., Weil, Z. M. & Nelson, R. J.** 2008. Seasonal changes in vertebrate immune activity: mediation by physiological trade-offs. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 363, 321-339.
- Martinez, J., Tomas, G., Merino, S., Arriero, E. & Moreno, J.** 2003. Detection of serum immunoglobulins in wild birds by direct ELISA: a methodological study to validate the technique in different species using antichickens antibodies. *Functional Ecology*, 17, 700-706.
- Matson, K. D., Ricklefs, R. E. & Klasing, K. C.** 2005. A hemolysis-hemagglutination assay for characterizing constitutive innate humoral immunity in wild and domestic birds. *Developmental and Comparative Immunology*, 29, 275-286.
- Matson, K. D., Cohen, A. A., Klasing, K. C., Ricklefs, R. E. & Scheuerlein, A.** 2006. No simple answers for ecological immunology: relationships among immune indices at the individual level break down at the species level in waterfowl. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 273, 815-822.

- McEwen, B. S., Biron, C. A., Brunson, K. W., Bulloch, K., Chambers, W. H., Dhabhar, F. S., Goldfarb, R. H., Kitson, R. P., Miller, A. H., Spencer, R. L. & Weiss, J. M.** 1997. The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: Neural, endocrine and immune interactions. *Brain Research Reviews*, 23, 79-133.
- McEwen, B. S. & Wingfield, J. C.** 2003. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and Behavior*, 43, 2-15.
- Mikolajewski, D. J., Stoks, R., Rolff, J. & Joop, G.** 2008. Predators and cannibals modulate sex-specific plasticity in life-history and immune traits. *Functional Ecology*, 22, 114-120.
- Moller, A. P. & Erritzoe, J.** 2000. Predation against birds with low immunocompetence. *Oecologia*, 122, 500-504.
- Moller, A. P., Nielsen, J. T. & Garamzegi, L. Z.** 2008. Risk taking by singing males. *Behavioral Ecology*, 19, 41-53.
- Moret, Y. & Schmid-Hempel, P.** 2000. Survival for immunity: The price of immune system activation for bumblebee workers. *Science*, 290, 1166-1168.
- Navarro, C., de Lope, F., Marzal, A. & Moller, A. P.** 2004. Predation risk, host immune response, and parasitism. *Behavioral Ecology*, 15, 629-635.
- Nelson, R. J. & Demas, G. E.** 1996. Seasonal changes in immune function. *Quarterly Review of Biology*, 71, 511-548.
- Norris, K. & Evans, M. R.** 2000. Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. *Behavioral Ecology*, 11, 19-26.
- Ochsenbein, A. F. & Zinkernagel, R. M.** 2000. Natural antibodies and complement link innate and acquired immunity. *Immunology Today*, 21, 624-630.
- Owen, M. & Black, J. M.** 1990. *Waterfowl ecology*. Glasgow: Blackie.
- Peters, K. A. & Otis, D. L.** 2007. Shorebird roost-site selection at two temporal scales: is human disturbance a factor? *Journal of Applied Ecology*, 44, 196-209.

- Råberg, L., Grahn, M., Hasselquist, D. & Svensson, E.** 1998. On the adaptive significance of stress-induced immunosuppression. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 265, 1637-1641.
- Rigby, M. C. & Jokela, J.** 2000. Predator avoidance and immune defence: costs and trade-offs in snails. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 267, 171-176.
- Rogers, C. M., Ramenofsky, M., Ketterson, E. D., Nolan, V. & Wingfield, J. C.** 1993. Plasma corticosterone, adrenal mass, winter weather, and season in nonbreeding populations of Dark-Eyed Juncos (*Junco hyemalis hyemalis*). *Auk*, 110, 279-285.
- Roitt, I. M., Brostoff, J. & Male, D. K.** 2001. *Immunology*. London: Mosby-Harcourt.
- Romero, M. L.** 2002. Seasonal changes in plasma glucocorticoid concentrations in free-living vertebrates. *General and Comparative Endocrinology*, 128, 1-24.
- Romero, L. M. & Romero, R. C.** 2002. Corticosterone responses in wild birds: The importance of rapid initial sampling. *Condor*, 104, 129-135.
- Romero, L. M.** 2004. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends in Ecology & Evolution*, 19, 249-255.
- Roth, T. C., Lesku, J. A., Amlaner, C. J. & Lima, S. L.** 2006. A phylogenetic analysis of the correlates of sleep in birds. *Journal of Sleep Research*, 15, 395-402.
- Saino, N., Incagli, M., Martinelli, R. & Moller, A. P.** 2002. Immune response of male barn swallows in relation to parental effort, corticosterone plasma levels, and sexual ornamentation. *Behavioral Ecology*, 13, 169-174.
- Sapolsky, R. M., Romero, L. M. & Munck, A. U.** 2000. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocrine Reviews*, 21, 55-89.

- Scheuerlein, A., Van't Hof, T. & Gwinner, E.** 2001. Predators as stressors? Physiological and reproductive consequences of predation risk in tropical stonechats (*Saxicola torquata axillaris*). *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 268, 1575-1582.
- Sheldon, B. C. & Verhulst, S.** 1996. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 11, 317-321.
- Slos, S., De Meester, L. & Stoks, R.** 2009. Food level and sex shape predator-induced physiological stress: immune defence and antioxidant defence. *Oecologia*, 161, 461-467.
- Stoks, R., Block, M. D., Slos, S., Doorslaer, W. V. & Rolff, J.** 2006. Time constraints mediate predator-induced plasticity in immune function, condition, and life history. *Ecology*, 87, 809-815.
- Viney, M. E., Riley, E. M. & Buchanan, K. L.** 2005. Optimal immune responses: immunocompetence revisited. *Trends in Ecology & Evolution*, 20, 665-669.
- von Holst, D.** 1998. The concept of stress and its relevance for animal behavior. *Advances in the Study of Behavior*, 27, 1-131.
- Walker, B. G., Boersma, P. D. & Wingfield, J. C.** 2006. Habituation of adult magellanic penguins to human visitation as expressed through behavior and corticosterone secretion. *Conservation Biology*, 20, 146-154.
- Wingfield, J. C., Maney, D. L., Breuner, C. W., Jacobs, J. D., Lynn, S., Ramenofsky, M. & Richardson, R. D.** 1998. Ecological bases of hormone-behavior interactions: The "emergency life history stage". *American Zoologist*, 38, 191-206.
- Wingfield, J. C. & Romero, L. M.** 2001. Adrenocortical responses to stress and their modulation in free-living vertebrates. In: *Handbook of Physiology; Section 7: The Endocrine System; Volume IV: Coping with the Environment: Neural and Endocrine Mechanisms* (Ed. by McEwen, B. S. & Goodman, H. M.), pp. 211-234. New York: Oxford University Press.

- Wingfield, J. C. & Kitaysky, A. S.** 2002. Endocrine responses to unpredictable environmental events: Stress or anti-stress hormones? *Integrative and Comparative Biology*, 42, 600-609.
- Witter, M. S. & Cuthill, I. C.** 1993. The ecological costs of avian fat storage. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 340, 73-92.
- Zhang, J.-X., Cao, C., Gao, H., Yang, Z.-S., Sun, L., Zhang, Z.-B. & Wang, Z.-W.** 2003. Effects of weasel odor on behavior and physiology of two hamster species. *Physiology & Behavior*, 79, 549-552.
- Zimmer C., Boos M., Petit O. & Robin J-P.** in press. Body mass variations in disturbed mallards fit to the mass-dependent starvation-predation risk trade-off. *Journal of Avian Biology*
- Zulkifli, I. & Siegel, P. B.** 1995. Is there a positive side to stress. *Worlds Poultry Science Journal*, 51, 63-76.

Table 1: Dates (mm/dd/yy) of the beginning and the end of the four disturbance sessions for each disturbed group in mallards, teals and tufted ducks.

		session 1		session 2		session 3		session 4	
		beginning	end	beginning	end	beginning	end	beginning	end
mallards	G1	09/29/06	10/06/06	11/22/06	11/28/06	01/04/07	01/10/07	03/07/07	03/13/07
	G2	10/07/06	10/10/06	11/29/06	12/05/06	01/11/07	01/17/07	03/14/07	03/20/07
teals	G1	11/14/07	11/20/07	01/04/08	01/10/08	02/13/08	02/19/08	04/09/08	04/15/08
	G2	11/21/07	11/27/07	01/11/08	01/17/08	02/20/08	02/26/08	04/16/08	04/22/08
tufted ducks	G2	11/26/08	12/02/08	01/10/09	01/16/09	02/18/09	02/24/09	04/16/09	04/22/09

Table 2: Mean ( $\pm$  SE) corticosterone (CORT) and immunoglobulin Y (IgY) levels and mean natural antibodies (NAbs) scores for the four sessions in mallards, teals and tufted ducks. Different letters indicate significant differences between values.

Session	Mallards			Teals			Tufted ducks		
	CORT	IgY	NAbs	CORT	IgY	NAbs	CORT	IgY	NAbs
1	42.9 $\pm$ 6.0 <sup>a</sup>	0.66 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	6.2 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	31.9 $\pm$ 8.4 <sup>a</sup>	0.31 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	6.0 $\pm$ 0.3	27.6 $\pm$ 2.8 <sup>a</sup>	0.35 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	9.7 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>
2	21.0 $\pm$ 1.8 <sup>b</sup>	0.59 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	5.7 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	30.8 $\pm$ 4.0 <sup>a</sup>	0.30 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	5.8 $\pm$ 0.3	37.3 $\pm$ 2.8 <sup>b</sup>	0.43 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	9.6 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>
3	29.9 $\pm$ 4.2 <sup>b</sup>	0.55 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	10.0 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	38.2 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>	0.31 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	6.3 $\pm$ 0.7	35.8 $\pm$ 2.8 <sup>b</sup>	0.41 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	8.1 $\pm$ 0.4 <sup>b</sup>
4	28.4 $\pm$ 3.5 <sup>b</sup>	0.81 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	8.3 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	55.3 $\pm$ 4.4 <sup>b</sup>	0.38 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	8.1 $\pm$ 0.7	28.6 $\pm$ 3.0 <sup>ab</sup>	0.37 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	8.9 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>



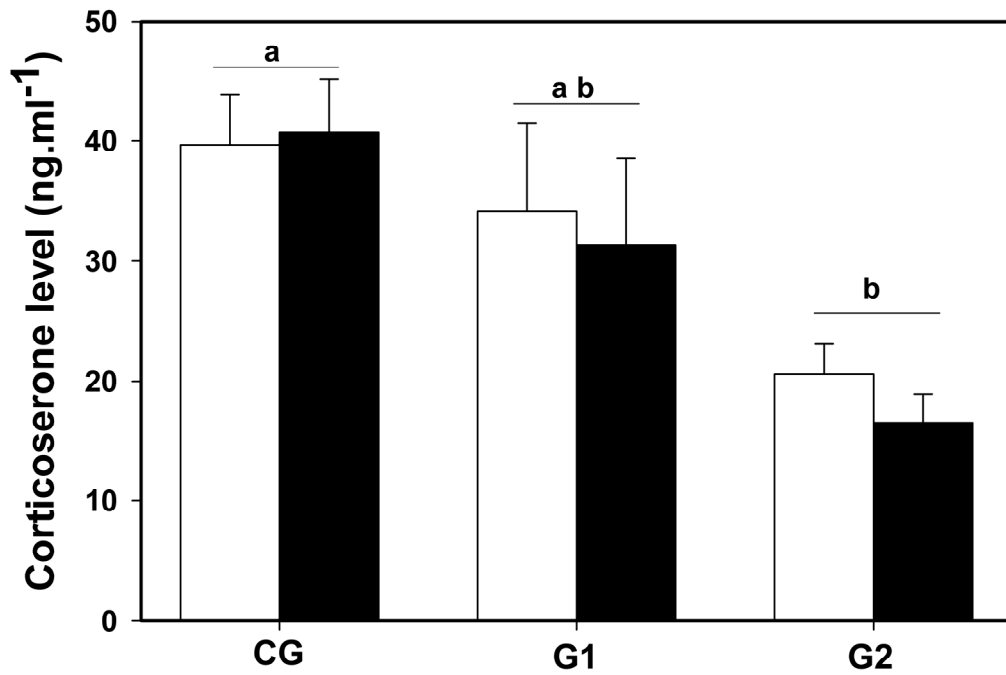


Figure 1: Mean ( $\pm$  SE) corticosterone levels in  $\text{ng.ml}^{-1}$  for the control group (CG), group 1 (G1) and group 2 (G2) at the beginning (white bar) and at the end (black bar) of disturbance sessions in mallards. Letters indicate significant differences between groups.

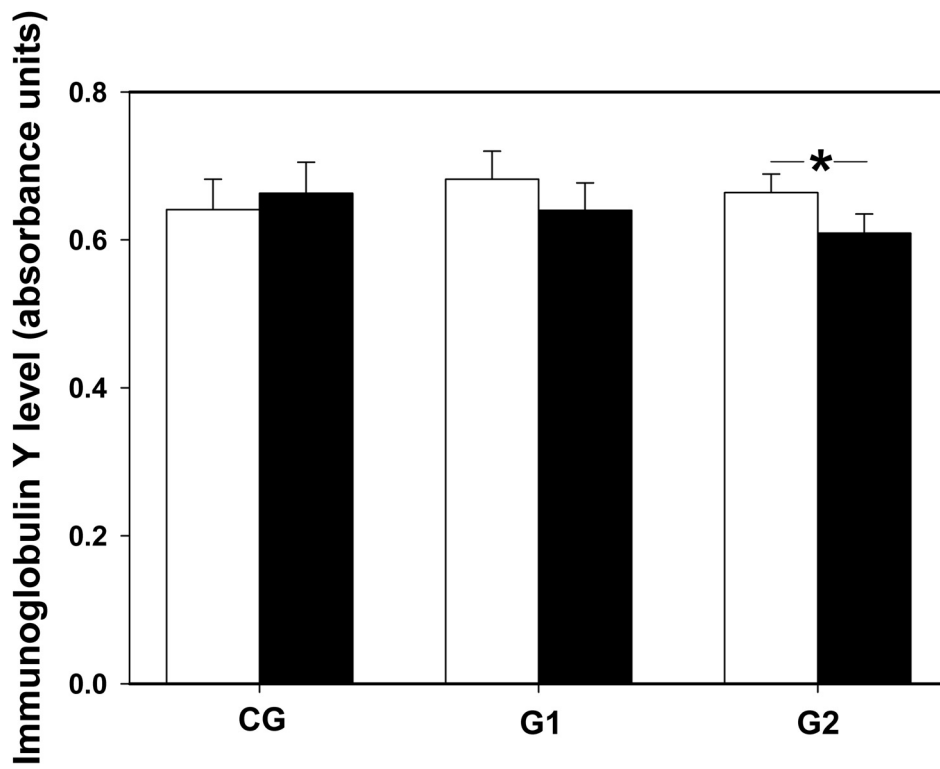


Figure 2: Mean ( $\pm$  SE) immunoglobulin Y levels in absorbance units for the control group (CG), group 1 (G1) and group 2 (G2) at the beginning (white bar) and at the end (black bar) of disturbance sessions in mallards. \* indicate significant differences between states.

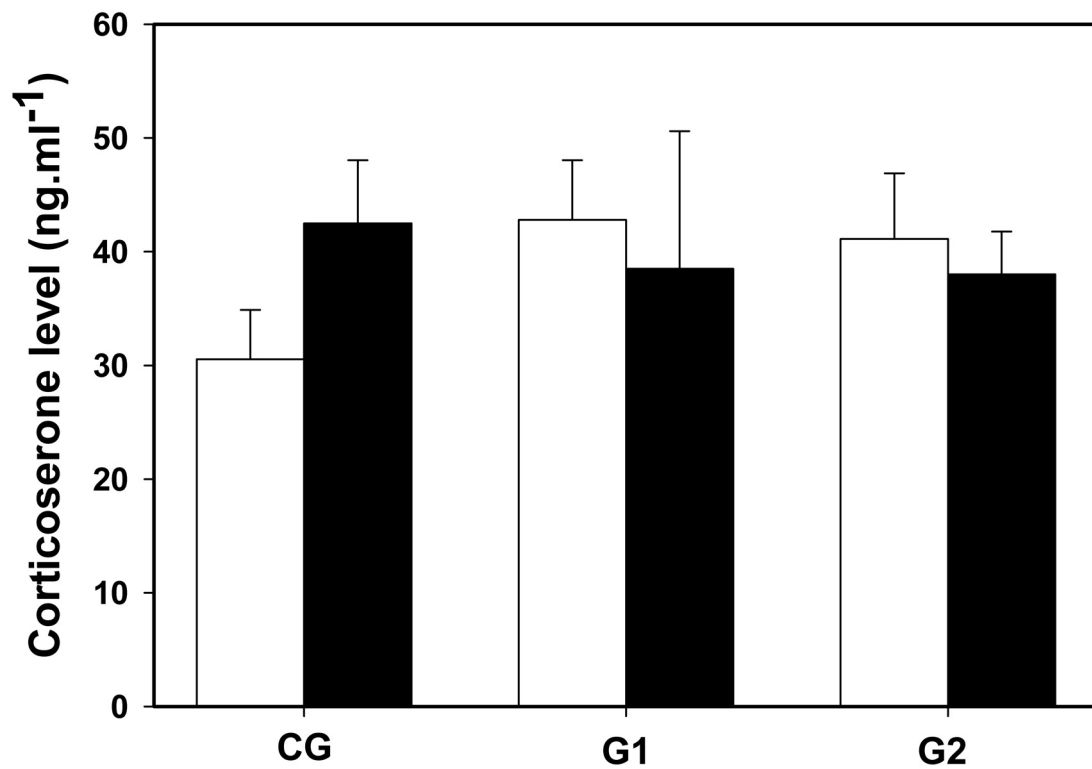


Figure 3: Mean ( $\pm$  SE) corticosterone levels in ng.ml<sup>-1</sup> for the control group (CG), group 1 (G1) and group 2 (G2) at the beginning (white bar) and at the end (black bar) of disturbance sessions in teals.

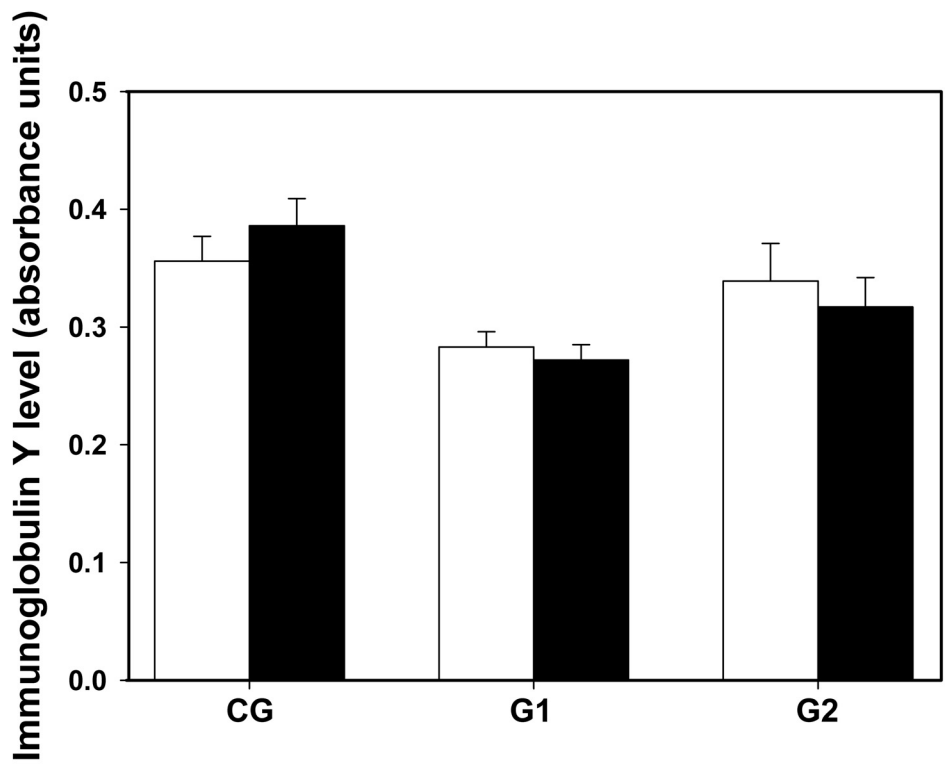


Figure 4: Mean ( $\pm$  SE) immunoglobulin Y levels in absorbance units for the control group (CG), group 1 (G1) and group 2 (G2) at the beginning (white bar) and at the end (black bar) of disturbance sessions in teals.

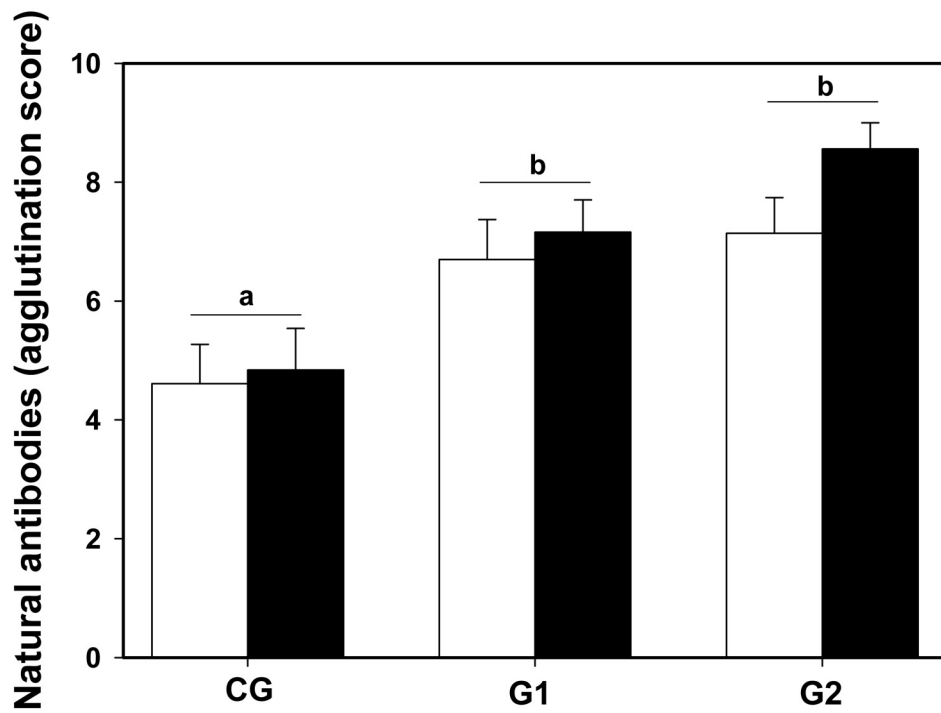


Figure 5: Mean ( $\pm$  SE) natural antibodies agglutination scores for the control group (CG), group 1 (G1) and group 2 (G2) at the beginning (white bar) and at the end (black bar) of disturbance sessions in teals. Letters indicate significant differences between groups.

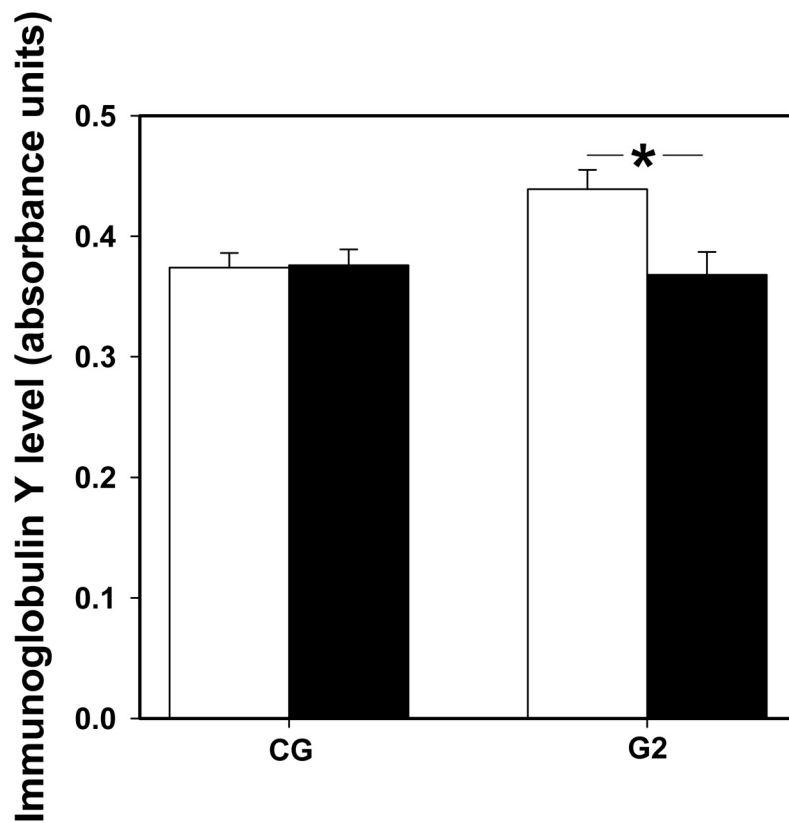


Figure 6: Mean ( $\pm$  SE) immunoglobulin Y levels in absorbance units for the control group (CG) and group 2 (G2) at the beginning (white bar) and at the end (black bar) of disturbance sessions in tufted ducks. \* indicate significant differences.

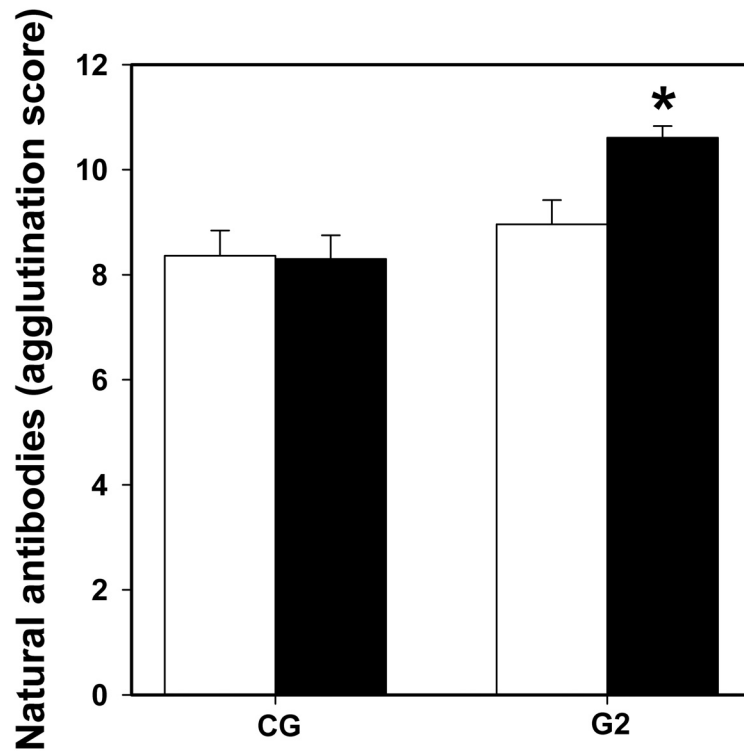


Figure 7: Mean ( $\pm$  SE) natural antibodies agglutination scores for the control group (CG) and group 2 (G2) at the beginning (white bar) and at the end (black bar) of disturbance sessions in tufted ducks. \* indicate that G2 final state was significantly different from the other G2 initial state and from CG initial and final states.

Dans cette partie, nous avons vu que l'augmentation du risque de prédation ne modifie pas la réponse adrénocorticale à un stress de capture. De plus, au niveau du système immunitaire, on remarque une diminution des niveaux d'immunoglobuline Y (IgY) chez les groupes dérangés alors que les scores d'anticorps naturels (NABs) sont plus élevés chez ces derniers et notamment en fin de dérangement.

En réponse à un stress aigu répété, on pouvait s'attendre soit à une augmentation de la réponse au stress soit à une atténuation de cette réponse. En effet, la réponse adrénocorticale à un événement stressant peut augmenter la réponse à un autre événement stressant par un effet de facilitation (Romero 2004). A l'inverse, la répétition du même événement stressant perçu comme menaçant peut conduire à une diminution de la réponse au stress qui peut être due à un phénomène d'habituation ou à une désensibilisation de la réponse de l'axe HHCS (Busch *et al.* 2008, Cyr et Romero 2009). Aucune de ces réponses n'a été observée, ce qui semble indiquer que les canards ont réussi à faire face au stress engendré par le dérangement en contrôlant de manière appropriée la sécrétion de corticostérone.

Concernant les facteurs immunologiques, il semble que l'augmentation du risque de prédation conduise à une immunoredistribution puisque les IgY diminuent alors que les NABs augmentent et ce, probablement grâce à des compromis à l'intérieur du système immunitaire (Martin *et al.* 2006). De plus, le maintien et le déploiement du système immunitaire sont supposés être coûteux énergétiquement (Lochmiller et Deerenberg 2000, Viney *et al.* 2005), ce qui entraîne une réallocation de l'énergie allouée au système immunitaire vers des activités plus importantes pour la survie en cas de menace de cette dernière (Sheldon et Verhulst 1996, Råberg *et al.* 1998, Norris et Evans 2000). Ainsi, il semblerait que l'activation du système immunitaire inné constitutif soit moins coûteuse énergétiquement que celle du système immunitaire acquis (Bourgeon *et al.* 2007, Buehler *et al.* 2009) et que le premier soit plus important pour la survie (Lochmiller et Deerenberg 2000). Par conséquent, cette immunoredistribution permettrait à la fois de maintenir une protection efficace contre les pathogènes et d'économiser de l'énergie. Cette économie d'énergie pourrait permettre de diminuer le risque de jeûne et/ou être réallouée à des



comportements anti-prédateurs. Il apparaît donc intéressant d'intégrer les ajustements physiologiques dans le contexte du compromis entre les risques de jeûne et de prédation.



**CHAPITRE 5 :**  
**EFFETS DE**  
**L'AUGMENTATION DU**  
**RISQUE DE PREDATION AU**  
**NIVEAU COMPORTEMENTAL**

---

"Une expérience scientifique est une expérience  
qui contredit l'expérience commune."

Gaston Bachelard

Face à un prédateur, un oiseau va mettre en place une réponse physiologique comme nous venons de le voir et ces ajustements physiologiques peuvent s'intégrer dans la réponse au compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation. Dans la majorité des cas, cette réponse physiologique est associée ou entraîne également une réponse comportementale. Cette réponse comportementale a pour finalité d'augmenter la survie immédiate mais peut entraîner des coûts à long terme (Lima et Dill 1990, Lima 1998a). Une telle réponse doit être ajustée au mieux car si elle est inutile ou extrême elle risque d'entraîner une perte de temps ou d'énergie (Ydenberg et Dill 1986, Belden *et al.* 2000). Par conséquent, il existe un compromis entre les comportements anti-prédateurs et les autres activités comportementales allouées à la maintenance ou à la reproduction (Lima et Dill 1990, Lind et Cresswell 2005).

Les effets de la prédation sur le comportement sont majoritairement étudiés en considérant un compromis entre un comportement anti-prédateur et un autre comportement tel que la recherche alimentaire ou l'investissement parental (pour une revue, voir Lima et Dill 1990, Lima 1998a, Frid et Dill 2002). Ainsi, le temps alloué aux comportements anti-prédateurs augmente au détriment de celui alloué aux autres comportements. Cependant, les différents comportements ne sont pas nécessairement indépendants et il peut donc y avoir des compensations possibles entre eux (Lind et Cresswell 2005, 2006). De plus, l'allocation différentielle du temps entre les comportements peut être influencée par d'autres facteurs que le risque de prédation (Lind et Cresswell 2005, Cresswell 2008).

Afin de tester l'effet de l'augmentation du risque de prédation sur le comportement chez les trois espèces étudiées, le budget temps diurne de chaque individu a été mesuré avant, durant et après la semaine de dérangement à chaque session. Le budget temps individuel global a été relevé afin d'éviter les erreurs dues aux compensations possibles entre les comportements.

## Article 7

Optimal behavioral adjustment in response to increased predation risk: a study in three duck species.

Cédric Zimmer<sup>a</sup>, Mathieu Boos<sup>b</sup>, Frédéric Bertrand<sup>c</sup>, Jean-Patrice Robin<sup>a</sup> and Odile Petit<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Département Ecologie Physiologie et Ethologie, Université de Strasbourg, IPHC, 23 rue Becquerel 67087 Strasbourg, France, CNRS, UMR7178, 67037 Strasbourg, France

<sup>b</sup>Naturaconst@, Research Agency in Applied Ecology, 14 rue principale, 67270 Wilshausen, France

<sup>c</sup>Institut de Recherche Mathématique Avancée, Université de Strasbourg, CNRS, UMR 7501, 7 rue René Descartes 67084 Strasbourg cedex, France

Corresponding author:

Cédric Zimmer

Département Ecologie, Physiologie et Ethologie, IPHC

23 rue Becquerel

67087 Strasbourg

Telephone: +33 388106911

e-mail: cedric.zimmer@c-strasbourg.fr

Running title: Behavioral adjustment to an increase in predation risk

Soumis

## Abstract

Predation directly triggers behavioral decisions designed to increase immediate survival. However, these behavioral modifications can have long term costs. There is therefore a trade-off between antipredator behaviors and other activities. This trade-off is generally considered between vigilance and only one other behavior, thus neglecting potential compensations. In this study, we considered the effect of an increase in predation risk on the time-budget of three captive duck species during the wintering period. We artificially increased predation risk by disturbing two groups of mallard and teals at different frequencies, and one group of tufted ducks with a radio-controlled car. We recorded foraging, vigilance, preening and sleeping durations and calculated the number of peeks occurring the week before, during and after disturbance sessions. Disturbed groups were compared to an undisturbed control group. We showed that in all three species, the increase in predation resulted in a decrease in foraging and preening and led to an increase in sleeping. It is important to note that contrary to common observations, vigilance did not increase. However, ducks are known to be vigilant while sleeping. This complex behavioral adjustment therefore seems to be optimal as it may allow ducks to reduce their predation risk. Our results highlight the fact that it is necessary to encompass the whole individual time-budget when studying behavioral modifications under predation risk. Finally, we propose that studies of behavioral time-budget changes under predation risk should be included in the more general framework of the starvation-predation risk trade-off.

*Key words:* disturbance, time-budget, starvation-predation risk trade-off, antipredator behavior, foraging, Anatidae

All animals potentially face predation events. Indeed, predation clearly appears to be an important factor for the selection of morphological and behavioral characters (Lima and Dill 1990; Lima 1998; Frid and Dill 2002). In response to an increase in predation risk, animals usually alter their behavior to avoid being caught by predators or to keep them away (Lima and Dill 1990; Frid and Dill 2002; Lind and Cresswell 2005; Mirza et al. 2006; Beale 2007; Cresswell 2008). Although these behavioral decisions increase immediate survival, they could have potential costs such as decreased access to food and less probability to find mates, or lead to shift to possible less suitable habitats. Consequently, the increase of immediate survival could have long-term effects by decreasing growth rate or reproductive output (Lima and Dill 1990; Werner and Anholt 1993; Lima 1998; Cresswell 2008). Thus, a useless or extreme response can also be a waste of time or energy for prey (Ydenberg and Dill 1986; Belden et al. 2000). There is therefore a trade-off between antipredator behaviors, which increase immediate survival, and other behavioral activities (Lima and Dill 1990; Lind and Cresswell 2005).

The majority of previous studies on the effects of predation risk on behavioral modifications have focused solely on the trade-off between an antipredator behavior, usually vigilance, and one other activity such as foraging, sleeping, drinking, mating or parental investment (Lendrem 1983; Lima and Dill 1990; Houston et al. 1993; Werner and Anholt 1993; Anholt and Werner 1995; Brown 1999; Lima and Bednekoff 1999; Hamilton and Heithaus 2001; Frid and Dill 2002; Lima et al. 2005; Steer and Doody 2009). These studies show an increase in the time allocated to antipredator behaviors at the expense of time allocated to other behaviors. However, because behaviors are not independent from each other, potential more complex compensations may occur (Lind and Cresswell 2005, 2006). Moreover, time allocation for different behaviors may depend on other ecological constraints such as starvation risk, and thus may not be a response to predation risk alone (Lind and Cresswell 2005; Cresswell 2008). The measurement of time-budget in individuals therefore appears necessary in order to take into

account the different constraints at work and understand optimal behavioral adjustment, if any (Lind and Cresswell 2005, 2006).

Birds are a useful model when studying how predation risk affects behavior, as vigilance can easily be distinguished from other activities (Lima and Dill 1990). Moreover, non-lethal effects of predation risk appear to be particularly present in the avian lineage (Cresswell 2008). Among birds, waterfowl - and especially ducks - are particularly exposed to predation, since they live in open water and terrestrial sites without cover (Owen and Black 1990; Del Hoyo et al. 1992; Roth et al. 2006). Individuals can be attacked by terrestrial predators but also by raptors or even gulls. Ducks can dive in response to these attacks, but most often they fly away to reach cover (high vegetation) or another pond (Sargeant et al. 1973; Sargeant et al. 1984; Tamisier and Dehorter 1999; Fritz et al. 2000; Dekker and Court 2003). However, ducks species differ in their ecology, body size or response to disturbance (Laursen et al. 2005; Arzel et al. 2007; C Zimmer, personal communication). As far as we know, however, little information is available about how these differences between ducks species may affect their behavioral responses to predation risk. To take these potential differences into account, we used a comparative approach with the study of three representative species of Anatidae: the mallard (*Anas platyrhynchos*), the common teal (*Anas crecca*, hereafter referred to as “teal”), and the tufted duck (*Aythya fuligula*). Mallards and teals are among the largest and smallest duck species, respectively. Moreover, dabbling mallards and teals do not have the same ecology as diving tufted ducks. In order to study the relationships between predation risk and behavior in these species we experimentally increased the risk of predation by exposing birds to a chronic disturbance in which we simulated attacks from a predator. Experiments were conducted under controlled conditions with the same protocol to ensure that the context was the same for the three species (Beale 2007). We encompassed the time-budget for each duck in order to take into account the possibility of compensations between different behaviors. We therefore predicted



that in the given situation, ducks would reduce behaviors that enhance predation risk and increase those decreasing predation risk.

## MATERIALS AND METHODS

### Animals and experimental conditions

The study was conducted over a three-year period as follows: the first year on three groups of mallards, the second year on three groups of teals and the last year on two groups of tufted ducks. Mallards were provided by the “La Canarderie de la Ronde” rearing centre (Cère la Ronde, France). Teals came from the Fauna Leroy rearing centre (Westvleteren, Belgium). Tufted ducks were obtained from the “Les Canards de Mormal” rearing centre (Jolimetz, France). Due to a supply problem, only two groups of tufted ducks were available for this study. Ducks were identified using individual color rings of Sellotape® which were loosely placed around one leg. Each group was composed of 14 individuals (7 females and 7 males) and was maintained in an outdoor tunnel-aviary of 100 m<sup>2</sup> (20 x 5 x 2.5 m) subjected to ambient temperature and natural photoperiod. The aviaries were located near the laboratory and were protected against predators by an electric fence. The tunnels were 10-15 m from each other and were separated by opaque barriers to avoid visual contact between groups. All aviaries contained a 4 m<sup>2</sup> pool (0.60 m depth) supplied with running water and placed in the same position in each tunnel, making the configuration identical for all groups. A balanced commercial food (Standard duck food 7751, Sanders Corporation) was provided *ad libitum* in feeders placed on 2 x 2 m covers to avoid food spillage. A richer protein food supplement (Teurlings premium duck food) was given *ad libitum* to tufted ducks because of their specific diet. All three species had at least one month’s acclimation period for experimental conditions. The same aviaries were used for each species every year.

## Experimental procedure

### Disturbance

We experimentally increased predation risk by increasing disturbance, therefore triggering typically evolved responses against natural predators (Frid and Dill 2002). We used a radio-controlled car (E-Zilla FWD Hot-bodies™) to disturb the ducks by steering it towards the ducks at high speed until they took-off. This was the most efficient method to induce both simultaneous take-off of all birds in the group and predator attack-like response. No duck was hurt by the car during these experiments. During disturbance phases, two experimenters (C.Z., M.B.) piloted the radio-controlled car from a corner of the aviary and noted the number of individuals taking off. Disturbance in one group did not modify the behavior of ducks in the other groups thanks to the opaque barriers.

Two groups of mallards and teals and one group of tufted ducks were disturbed over a one-week period four times during the wintering period. Approximately one and a half months was left between two successive disturbance sessions. In mallards and teals, group 1 (G1) was disturbed twice daily for 15 minutes. In all three species, group 2 (G2) was disturbed four times per day for 15 minutes. Disturbance phases took place randomly between 8:00 and 11:00. In all three species, a control group (CG) was left undisturbed. During disturbance sessions, each aviary was monitored throughout the night with a night-view camera to ensure that ducks were not disturbed by any other external factors.

### Observations

In all three species, each disturbed group was observed over the week before, during and after disturbance. The control group was observed in the same way during this period. Each individual was observed with the focal animal sampling method (Altmann 1974) for 30 minutes every week. Observations took place between 11:30 and 17:00. The day and time for

observation of individuals were determined by semi-randomization to avoid any risk of observing the same duck the same day of each week and at the same time in the four sessions. The observer (C.Z.) was located inside a small tent placed in identical position near to each of the three aviaries. Ducks were habituated to the observer's presence before the experiment began. To measure the time-budget of the three groups, the durations of nine behaviors were recorded with a stopwatch. The behavioral units were divided into six different categories:

- Foraging: taking food items in water, on the ground and from the feeders.
- Vigilance behaviors: alert behaviors: duck raised its head or inclined the head with a stretched neck. "Motionless, awake, upright": duck remained upright without moving and observed its surroundings. "Motionless, awake, lying down": duck lay without moving and observed its surroundings.
- Preening: cleaning the plumage with the bill or immersion of the head and the neck followed by a rapid raise of the body to sprinkle the back.
- Sleeping: head placed on the back with bill under the scapulars or head bended with the bill placed on the plastron.
- Peeking rate: number of peeks per 30-minute observation period. A peek corresponds to short head raising and eye opening by birds during sleeping in order to scan their environment (Lendrem 1983)
- Other behaviors: locomotion: walking and flying  
swimming: locomotion in water

The three behaviors included in the last category account for less than 10 % of the total time budget ( $9.0 \pm 0.8$  %) whatever the week and the species concerned. Moreover, these activities were often performed in association with other behaviors such as vigilance and foraging. These behaviors do not provide us with any new information and are not linked to the disturbance. They have therefore been excluded from the analysis.

## Statistical analysis

Differences in the time allocated to each behavior class and variation in pecking rate in response to the disturbance were both modeled with a generalized linear mixed model (GLMM). In each model, session, group, sex and week (before, during and after the disturbance) were included as fixed factors. In order to take the repetition of the sessions and of the weeks within a session into account, these two factors were included as repeated factors with the week nested in the session. To account for pseudo-replication in the analysis, the repeated measurements within individuals were added as a random effect. Models were fitted with a gamma distribution for variations in behavior duration and a Poisson distribution was used for changes in pecking rate using the GLIMMIX procedure (SAS 9.1.3). The INITGLM option was used to enable models to converge, using the estimates from a generalized linear model fit as the starting value for the generalized linear mixed model. The MSPL (Maximum Subject-specific Pseudo-Likelihood) technique was used as the estimation method. Tukey-Kramer multiple comparison adjustment was applied to obtain corrected p-value. Only significant effects were reported in the results section. Probability levels  $< 0.05$  were considered as significant. Mean duration values and pecking rates provided are given in seconds (s)  $\pm$  SE.

## RESULTS

### General effects

The only significant effect of the sex on behaviors was recorded in mallards. In this species, foraging time was higher in females ( $333 \pm 35$  s) than in males ( $187 \pm 17$  s) ( $F_{1,28} = 4.94$ ,  $p = 0.037$ ), and vigilance duration was lower in females ( $288 \pm 17$  s) than in males ( $393 \pm 19$  s) ( $F_{1,44} = 22.40$ ,  $p < 0.0001$ ). Moreover, no significant behavioral modifications were observed between weeks in any of the three control groups for all sessions ( $p > 0.05$ ).

## Mallards

Globally, foraging time was significantly different in the three groups ( $F_{2,26} = 6.57$ ,  $p = 0.0049$ ), being higher in the CG ( $333 \pm 30$  s) than in the two disturbed groups (G1:  $203 \pm 21$  s; G2:  $241 \pm 28$  s) ( $t < -2.22$ ,  $p < 0.039$ ,  $df = 19$ ). Foraging was also different over the three weeks of observation ( $F_{2,293} = 9.88$ ,  $p < 0.0001$ ) with lower durations during the week of disturbance ( $187 \pm 30$  s) compared to the pre- ( $309 \pm 31$  s) and post-disturbance weeks ( $281 \pm 29$  s) ( $t > 3.31$ ;  $p < 0.003$ ,  $df = 284$ ) (figure 1a).

Vigilance duration differed significantly between sessions ( $F_{3,266} = 6.26$ ,  $p = 0.0004$ ), with higher values during the third session than during the first and second ( $t < -2.85$ ,  $p < 0.025$ ,  $df = 240$ ). Vigilance time also differed among groups ( $F_{2,44} = 8.35$ ,  $p = 0.0008$ ). It was lower in G2 ( $285 \pm 21$  s) than in G1 ( $360 \pm 23$  s) and in the CG ( $376 \pm 23$  s) ( $t < -3.17$ ,  $p < 0.0076$ ,  $df = 44$ ). A difference in vigilance duration was observed between weeks ( $F_{2,316} = 4.88$ ,  $p = 0.0081$ ) with higher values during the weeks preceding ( $357 \pm 23$  s) and following ( $379 \pm 24$  s) the disturbance week ( $283 \pm 19$  s) ( $t > 2.74$ ,  $p < 0.018$ ,  $df = 312$ ) (figure 1b).

Preening duration was significantly different between sessions ( $F_{3,267} = 8.95$ ,  $p < 0.0001$ ); values were higher during sessions 1 ( $265 \pm 28$  s) and 2 ( $246 \pm 23$  s) than during session 3 ( $183 \pm 23$  s) and 4 ( $181 \pm 20$  s) ( $t > 2.83$ ,  $p < 0.026$ ,  $df = 242$ ). It also differed significantly according to weeks ( $F_{2,317} = 3.83$ ,  $p = 0.023$ ), with higher values recorded before disturbance than during disturbance ( $251 \pm 26$  s vs  $161 \pm 34$  s;  $t = 2.77$ ,  $p = 0.016$ ,  $df = 316$ ). Moreover, less preening was observed in G1 ( $166 \pm 20$  s) than in either of the other groups (G2:  $223 \pm 23$  s; CG:  $266 \pm 28$  s,  $t < -2.90$ ,  $p < 0.017$ ,  $df = 44$ ). Lastly, the interaction between weeks and groups was significant ( $F_{4,352} = 4.98$ ,  $p = 0.0006$ ). During disturbance week in G1, less preening occurred than during the two other weeks ( $t < -3.25$ ,  $p < 0.034$ ,  $df = 316$ ) and less preening was observed than in the CG ( $t = 5.50$ ,  $p < 0.0001$ ,  $df = 143$ ) (figure 1c).

Sleeping duration was lower in the CG ( $601 \pm 52$  s) than in disturbed groups (G1:  $925 \pm 50$  s; G2:  $920 \pm 52$  s) ( $t > 4.02$ ,  $p < 0.0006$ ,  $df = 49$ ). There was also a significant difference in sleeping duration between weeks ( $F_{2,306} = 8.50$ ,  $p = 0.0003$ ), with higher values during the week of disturbance ( $996 \pm 55$  s) than in the other weeks (before disturbance:  $691 \pm 53$ s; after disturbance:  $761 \pm 47$  s) ( $t > 2.29$ ,  $p < 0.05$ ,  $df = 285$ ) (figure 1d).

Peeking rate was significantly different between the four sessions ( $F_{3,232} = 5.11$ ,  $p = 0.002$ ) with higher frequencies during the first session ( $2.01 \pm 0.2$ ) than during the second ( $1.34 \pm 0.16$ ) and the third ( $1.2 \pm 0.13$ ) sessions ( $t > 3.14$ ,  $p < 0.01$ ,  $df = 212$ ). The number of peeks also differed significantly between the three groups ( $F_{2,34} = 8.40$ ,  $p = 0.001$ ). Peeking rate was higher in G1 ( $1.95 \pm 0.15$ ) and G2 ( $1.67 \pm 0.15$ ) than in the CG ( $0.96 \pm 0.11$ ) ( $t > 3.46$ ,  $p < 0.004$ ,  $df = 24$ ). Finally, the peek number was different between the three weeks of observation ( $F_{2,281} = 4.28$ ,  $p = 0.015$ ) with lower frequencies before disturbance ( $1.30 \pm 0.15$ ) than during disturbance ( $1.78 \pm 0.15$ ) ( $t = -2.90$ ,  $p = 0.011$ ,  $df = 285$ ) (figure 2a).

### Teals

Foraging duration differed significantly between sessions ( $F_{3,229} = 5.51$ ,  $p = 0.002$ ) with higher values during the first ( $285 \pm 33$  s) and second ( $261 \pm 30$  s) sessions than during the third one ( $160 \pm 21$  s) ( $t > 3.09$ ,  $p < 0.015$ ,  $df = 68$ ). It also differed according to observation weeks ( $F_{2,285} = 14.74$ ,  $p < 0.0001$ ). Foraging duration was approximately 2-fold lower during the disturbance week ( $135 \pm 19$  s) than during the preceding ( $323 \pm 29$  s) and following weeks ( $232 \pm 24$  s) ( $t < -3.33$ ,  $p < 0.004$ ,  $df = 66$ ). Moreover, the interaction between weeks and groups was significant ( $F_{4,320} = 2.95$ ,  $p = 0.0259$ ). In G2, foraging during the week of disturbance was lower than during the week before and was also lower than in the CG ( $t < -2.62$ ,  $p < 0.05$ ,  $df = 81$ ) (figure 3a).

Vigilance duration differed significantly between the three groups ( $F_{2,44} = 6.93$ ,  $p = 0.0024$ ), being lower in G2 ( $152 \pm 11$  s) than in G1 ( $204 \pm 13$  s) and the CG ( $202 \pm 14$  s) ( $t < -3.19$ ,  $p < 0.007$ ,  $df = 44$ ). Vigilance time was also significantly different between the three weeks ( $F_{2,312} = 7.08$ ,  $p = 0.001$ ). It was higher before ( $212 \pm 13$  s) and after ( $193 \pm 13$  s) than during the disturbance ( $155 \pm 13$  s) ( $t > 2.78$ ,  $p < 0.016$ ,  $df = 315$ ) (figure 3b).

Preening duration was different according to weeks ( $F_{2,290} = 8.68$ ,  $p = 0.0002$ ), being lower during the week of disturbance ( $167 \pm 19$  s) compared to other weeks (before:  $239 \pm 21$  s; after:  $244 \pm 26$  s) ( $t < -3.32$ ,  $p < 0.0029$ ,  $df = 305$ ). Interaction between weeks and groups was significant ( $F_{4,325} = 5.79$ ,  $p = 0.0002$ ). In G2, preening time was lower during the week of disturbance than the week after ( $t = -3.73$ ,  $p = 0.007$ ,  $df = 305$ ) (figure 2c). In G1, the decrease was more pronounced since it was lower during disturbance than both before and after ( $t < -3.60$ ,  $p < 0.01$ ,  $df = 305$ ) (figure 2c). Lastly, during the disturbance week, preening duration was higher in the CG than in G1 and G2 ( $t > 3.21$ ,  $p < 0.032$ ,  $df = 123$ ) (figure 3c).

Sleeping behavior only varied significantly according to weeks ( $F_{2,287} = 10.79$ ,  $p < 0.0001$ ). Sleeping duration was higher during the disturbance week ( $1062 \pm 54$  s) compared to the weeks before ( $690 \pm 56$  s) and after ( $820 \pm 57$  s) the disturbance ( $t > 2.92$ ,  $p < 0.01$ ,  $df = 273$ ) (figure 3d).

Peeking rate differed significantly between the three weeks of observation ( $F_{2,264} = 4.40$ ,  $p = 0.013$ ) with lower frequencies during the week preceding disturbance ( $1.01 \pm 0.13$ ) than during the week of disturbance ( $1.42 \pm 0.13$ ) ( $t = -2.66$ ,  $p = 0.022$ ,  $df = 229$ ). Interaction between weeks and groups was also significant ( $F_{4,290} = 5.28$ ,  $p = 0.0004$ ). In G2, peeking rate was higher during the week of disturbance ( $1.68 \pm 0.23$ ) compared to the preceding ( $0.84 \pm 0.17$ ) and following ( $0.78 \pm 0.15$ ) weeks ( $t > 3.08$ ,  $p < 0.05$ ,  $df = 173$ ) (figure 2b).

## Tufted ducks

Foraging duration was significantly different between the control group ( $308 \pm 26$  s) and the disturbed group ( $154 \pm 19$  s) ( $F_{1,33} = 22.56$ ,  $p < 0.0001$ ). Interaction between weeks and groups was also significant ( $F_{2,188} = 5.99$ ,  $p = 0.005$ ). In G2, foraging time was lower during and after the disturbance than before it ( $t < -3.31$ ,  $p < 0.022$ ,  $df = 42$ ). Moreover, it was lower in G2 than in the CG over these last two weeks of observation ( $t > 3.99$ ,  $p < 0.003$ ,  $df = 45$ ) (figure 4a).

Vigilance duration was significantly higher in the control group ( $520 \pm 25$  s) than in the disturbed group ( $424 \pm 27$  s) ( $F_{1,39} = 13.19$ ,  $p = 0.0008$ ). The interaction between weeks and groups was significant ( $F_{2,194} = 15.76$ ,  $p < 0.0001$ ). In G2, vigilance was lower during the week following disturbance than in the two previous weeks ( $t < -6.22$ ,  $p < 0.0001$ ,  $df = 187$ ). Furthermore, after disturbance, vigilance was higher in control group than in disturbed one ( $t = 5.82$ ,  $p < 0.0001$ ,  $df = 103$ ) (figure 4b).

Preening duration was significantly lower in the disturbed group ( $275 \pm 31$  s) compared to the control group ( $354 \pm 28$  s) ( $F_{1,32} = 10.52$ ,  $p = 0.003$ ) and also differed significantly between weeks ( $F_{2,191} = 4.72$ ,  $p = 0.01$ ). Preening time was higher during the week before disturbance ( $374 \pm 31$  s) than during the two other weeks (disturbance:  $280 \pm 25$  s; after:  $289 \pm 32$  s) ( $t > 2.46$ ,  $p < 0.04$ ,  $df = 190$ ) (figure 4c).

Sleeping duration significantly differed according to sessions ( $F_{3,141} = 5.81$ ,  $p = 0.0009$ ) with higher values during the fourth session ( $745 \pm 67$  s) than during the first ( $532 \pm 59$  s) and the second ( $507 \pm 54$  s) ones ( $t > 3.00$ ,  $p < 0.017$ ,  $df = 114$ ). Sleeping was also higher in the disturbed group ( $794 \pm 52$  s) compared to the control group ( $410 \pm 43$  s) ( $F_{1,27} = 18.65$ ,  $p = 0.0002$ ). Moreover, the interaction between weeks and groups was significant ( $F_{2,181} = 4.96$ ,  $p = 0.008$ ). In G2, sleeping duration was lower before disturbance than after ( $t = -4.21$ ,  $p = 0.0006$ ,  $df = 155$ ). In addition, sleeping time was higher in G2 than in the CG ( $t > 4.06$ ,  $p < 0.001$ ,  $df = 68$ ) throughout the weeks during and after disturbance (figure 4c).



Peeking rate was higher in the disturbed group ( $1.63 \pm 0.12$ ) than in the control group ( $1.19 \pm 0.13$ ) ( $F_{1,31} = 4.33$ ,  $p = 0.046$ ) (figure 2c).

## DISCUSSION

We show here that an increased predation risk consistently affected time-budget in ducks through decreasing preening, vigilance and foraging with a concomitant increase of sleep duration. These adjustments in time-budget were approximately equivalent in the three species and were not simply an increase in vigilance at the expense of other behaviors.

Before any disturbance, tufted ducks allocated less time to sleeping and more time to vigilance and preening than mallards and teals (Figure 5). Overall, these time-budgets correspond to those described in the wild (see Paulus 1988) for all three species. However, we noticed a higher amount of time allocated to sleeping at the expense of foraging, probably because ducks in our study had access to food *ad libitum*. Mallards and teals responded to the increase in predation risk by globally exhibiting the same behavioral adjustments, namely an increase of sleeping duration at the expense of other behaviors such as foraging and vigilance. Similarly, sleeping time also increased in tufted ducks although vigilance in this species was maintained at the same level. In the three species, foraging was the behavior seen to decrease the most (Figure 5). We observed different adjustments between the two disturbed groups in mallards and teals. It is interesting to note that vigilance duration was lower in G2 (highly disturbed group) during the week of disturbance, whereas the decrease in preening duration was highest in G1 (moderately disturbed group). One explanation could be that more time was allocated to plumage maintenance at the expense of vigilance in response to higher plumage disorder in G2. Indeed, plumage maintenance is essential to fly and for bird's survival (Murphy 1996). The week following disturbance, mallards and teals almost returned to their initial state (figure 5). Therefore, their behavioral adjustment seemed to be transitional and a direct response

to the increase in predation risk. Conversely, this direct response was less marked in tufted ducks but behavioral adjustments persisted after the risk had ceased (Figure 5).

As a whole, we found that general activity was reduced in disturbed groups of ducks during increased predation risk events, as previously observed in other species (reviewed in Lima and Dill 1990; Lima 1998). Indeed, the decreasing of activity reduces the probability of being detected or encountered by a predator, therefore limiting the risk of predation (Lima and Dill 1990; Lima 1998). Moreover, under a high predation risk, antipredator behaviors such as an increase in vigilance in order to reduce the risk of predation (Frid and Dill 2002) seem to be the most convenient adaptation. This type of response, associated with decreased or frequently interrupted sleep, has been widely described in different free-living bird species (Lendrem 1983, 1984; Lima and Dill 1990; Gauthier-Clerc et al. 1998, 2000; Lima 1998; Frid and Dill 2002; Gagliardi et al. 2006; Fernandez-Juricic et al. 2007). However, the time assigned to vigilance behaviors cannot be allocated to other activities and, in fact, a trade-off between antipredator and other behaviors has already been evidenced in animals (Lima and Dill 1990; Lind and Cresswell 2005). Paradoxically, we found that the time allocated to vigilance did not increase whereas sleep increased in response to disturbance in our three species. To our knowledge, only two previous studies led to similar results: Firstly, mammals living in more risky sites increase their sleeping time (Capellini et al. 2008). Secondly, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) frequently exposed to high risk situations displayed a lower level of antipredator behavior (i.e. decreased vigilance) compared to those infrequently exposed to risk (Mirza et al. 2006).

Several arguments might clarify that the above adjustments could in fact be beneficial for bird survival. We can suppose that sleep allows energy saving (Amlaner and Ball 1983; Berger and Phillips 1995). It could therefore be part of an adequate adaptation, since disturbance led to great number of flights demanding high amounts of energy (Nudds and Bryant 2000) which our ducks did not compensate with increased food intake (Zimmer et al. in press; C

Zimmer, personal communication). However, as sleeping animals are relatively unresponsive and unaware of their proximate environment (Lima et al. 2005) they are also considered highly vulnerable to predation (Lendrem 1983; Lima et al. 2005; Lima and Rattenborg 2007). Nevertheless, according to the immobilization hypothesis (Meddis 1975), sleep could have a protective role since motionless animals are less detectable. Moreover, birds and especially ducks exhibit vigilant sleep, i.e. alternation between periods of eye closure and peeks that allow birds to scan their environment to detect predators (Amlaner and Ball 1983; Lendrem 1983). Indeed, in all three species the peeking rate was higher in disturbed than in control groups, particularly during the week of disturbance (Figure 2). A similar increase in vigilant sleep under high predation risk has been demonstrated in green-winged teals (*Anas crecca crecca*) and in gadwall (*Anas strepera*) (Gauthier-Clerc et al. 1998, 2000) or in mallards sleeping in high risk situations (Lendrem 1983). Another particular behavior allows birds to overcome the problem of sleeping under high predation risk by simultaneously engaging in both wakefulness and sleep. It corresponded to unihemispheric slow-wave sleep (USWS) (Rattenborg et al. 1999a, b) which is characterized by unilateral eye closure in several Anseriforme species (Ball et al. 1986). During USWS only one cerebral hemisphere sleeps when the corresponding eye is simultaneously closed whereas the other hemisphere remains awake and the contra-lateral eye is opened (Rattenborg et al. 1999a, b; Rattenborg et al. 2000). This particular form of sleep allows birds to detect approaching predators and to rapidly escape and still gain some benefit from sleep (Rattenborg et al. 1999a, b; Rattenborg et al. 2000). To conclude, since ducks may be vigilant while sleeping, it is conceivable that the increase in sleep and the concomitant decrease in vigilance we observed could be an optimal response allowing both a decrease in predation risk and the sparing of energy.

In response to disturbance, foraging duration also decreased in all three species. This result is typical of high predation risk situations because it is assumed that a trade-off exists

between antipredator behaviors and foraging (Lima and Dill 1990; Frid and Dill 2002; Blumstein et al. 2005; Cresswell 2008). In accordance with this trade-off, we observed that foraging duration decreased approximately twice as much as vigilance (Figure 5). This indicates that ducks give priority to antipredator behaviors in comparison to foraging duration. Moreover, such a decrease in foraging activity reduces vulnerability to predation (Lima and Dill 1990; McNamara and Houston 1990; Werner and Anholt 1993; Witter and Cuthill 1993; Lima 1998). In fact we show that despite *ad libitum* provision of food, this decreased foraging time was accompanied by a spontaneous decrease in food intake leading to a decrease in body mass and wing loading in all three duck species (Zimmer et al. in press; C Zimmer, personal communication). Such adjustments should enhance flying capabilities and again decrease predation risk by improving escape performances: low wing loading increases take-off angle as well as speed and aerial maneuverability (Witter et al. 1994; Norberg 1996; Macleod 2006). Moreover, it has been suggested that when birds decrease their body mass in response to predation risk, individual vigilance contributes less to survival (Lind and Cresswell 2006). Our results confirmed this assumption.

Our study revealed that time-budget adjustments in ducks are rather complex. First, we observed the typical decrease in the duration of feeding behavior in response to an increase in predation risk. However counter-intuitive it may be, we also observed an increase in sleep duration while no increase in vigilance duration could be evidenced. This time-budget adjustment nevertheless appears to be a global strategy that allows ducks to reduce the risk of predation. In accordance with Lind and Cresswell (2005), our methodological approach indicates that it seems necessary to take into account the individual's time-budget when studying the impact of predation on behavior in order to encompass potential compensations. On the contrary, most studies consider trade-offs between just two specific behaviors, for example the trade-off between foraging and antipredator behavior (Houston et al. 1993; Werner and

Anholt 1993; Anholt and Werner 1995, 1998; Lima and Bednekoff 1999). Indeed, as we highlighted, measuring the effects of predation risk on a single behavior can neglect other behavioral compensations and lead to flawed conclusions (Lind and Cresswell 2005).

We should also take into account that by affecting foraging behavior, predation risk can consequently affect starvation risk (Cresswell 2008). Indeed, despite an *ad libitum* access to food, the risk of starvation of ducks increased due to the decrease in food intake and also body mass and energy reserves (Zimmer et al. in press; C Zimmer, personal communication). On the other hand, the observed decrease in vigilance and preening together with the increase in sleep duration may enable ducks to save energy and thus compensate for the risk of starvation. Hence, behavioral decisions may also be influenced by starvation risk (Lind and Cresswell 2005; Cresswell 2008; Cresswell and Whitfield 2008). Consequently, one may ask whether studies of behavioral changes under predation risk could be included in the more general framework of the starvation-predation risk trade-off. This trade-off predicts that in a context of high predation risk, birds should decrease their body mass (Lima 1986; Witter and Cuthill 1993). Indeed, high body mass requires greater foraging time and metabolic demands and impairs flight capabilities, negative factors that would increase predation risk. However, birds should maintain sufficient body reserves to anticipate fluctuations in food availability (Lima 1986; Witter and Cuthill 1993). The behavioral adjustments observed in our study perfectly fit the starvation-predation risk trade-off. Therefore, it seems that besides physiological and energetic adjustments, behavioral adjustments could be a useful tool to understand response to the starvation-predation risk trade-off in animals.

To conclude, this experimental study of three duck species showed that time-budget adjustments in response to an increase in predation risk were far from simple. It therefore appears necessary to take into account the individual's time-budget and not to only focus on one or two behaviors when studying the effects of predation risk on behavior. Hence, we propose to

integrate behavioral changes occurring in response to variation of predation risk within the context of the starvation-predation risk trade-off. To generalize results obtained in controlled conditions, it seems crucial to verify whether the same time-budget adjustments exist in natural systems where it is possible for birds to fly away from predators.

## FUNDING

This work was supported by the CNRS, Naturaconst@ and the National Fund for Biological Research on Game and Wildlife Species; Region Alsace and Naturaconst@ grants to C. Z.

We sincerely thank Nicolas Poulin for his comments on the manuscript and on statistical analyses Johanna Lignot for language editing.

## REFERENCES

- Altmann J. 1974. Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour*. 49: 227-267.
- Amlaner CJ, Ball NJ. 1983. A synthesis of sleep in wild birds. *Behaviour*. 87: 85-119.
- Anholt BR, Werner EE. 1995. Interaction between food availability and predation mortality mediated by adaptive behavior. *Ecology*. 76: 2230-2234.
- Anholt BR, Werner EE. 1998. Predictable changes in predation mortality as a consequence of changes in food availability and predation risk. *Evol Ecol*. 12: 729-738.
- Arzel C, Elmberg J, Guillemain M. 2007. A flyway perspective of foraging activity in Eurasian Green-winged Teal, *Anas crecca crecca*. *Can J Zool*. 85: 81-91.
- Ball NJ, Weaver GE, Amlaner CJ. 1986. The incidence of hemispheric sleep in birds. *Sleep Res*. 15: 58.
- Beale CM. 2007. The Behavioral Ecology of Disturbances Responses. *Int J Comp Psychol*. 20: 111-120.

- Belden LK, Wildy EL, Hatch AC, Blaustein AR. 2000. Juvenile western toads, *Bufo boreas*, avoid chemical cues of snakes fed juvenile, but not larval, conspecifics. *Anim Behav.* 59: 871-875.
- Berger RJ, Phillips NH. 1995. Energy conservation and sleep. *Behav Brain Res.* 69: 65-73.
- Blumstein DT, Fernandez-Juricic E, Zollner PA, Garity SC. 2005. Inter-specific variation in avian responses to human disturbance. *J Appl Ecol.* 42: 943-953.
- Brown JS. 1999. Vigilance, patch use and habitat selection: Foraging under predation risk. *Evol Ecol Res.* 1: 49-71.
- Capellini I, Nunn CL, McNamara P, Preston BT, Barton RA. 2008. Energetic constraints, not predation, influence the evolution of sleep patterning in mammals. *Funct Ecol.* 22: 847-853.
- Cresswell W. 2008. Non-lethal effects of predation in birds. *Ibis.* 150: 3-17.
- Cresswell W, Whitfield DP. 2008. How starvation risk in Redshanks *Tringa totanus* results in predation mortality from Sparrowhawks *Accipiter nisus*. *Ibis.* 150: 209-218.
- Dekker D, Court G. 2003. Gyrfalcon predation on Mallards and the interaction of Bald Eagles wintering in central Alberta. *J Raptor Res.* 37: 161-163.
- Del Hoyo J, Elliot A, Sargatal J. 1992. Handbooks of the Birds of the World. Volume 1: Ostrich to Ducks. Barcelona: Lynx Edicions.
- Fernandez-Juricic E, Zollner PA, LeBlang C, Westphal LM. 2007. Responses of nestling Black-crowned Night Herons (*Nycticorax nycticorax*) to aquatic and terrestrial recreational activities: a manipulative study. *Waterbirds.* 30: 554-565.
- Frid A, Dill L. 2002. Human-caused disturbance stimuli as a form of predation risk. *Conserv Ecol.* 6: 11.

- Fritz H, Guillemain M, Guerin S. 2000. Changes in the frequency of prospecting fly-overs by Marsh Harriers *Circus aeruginosus* in relation to short-term fluctuations in dabbling duck abundance. *Ardea*. 88: 9-16.
- Gagliardi A, Martinoli A, Preatoni D, Wauters LA, Tosi G. 2006. Behavioral responses of wintering Great Crested Grebes to dissuasion experiments: Implications for management. *Waterbirds*. 29: 105-114.
- Gauthier-Clerc M, Tamisier A, Cezilly F. 1998. Sleep-vigilance trade-off in green-winged teals (*Anas crecca crecca*). *Can J Zool*. 76: 2214-2218.
- Gauthier-Clerc M, Tamisier A, Cezilly F. 2000. Sleep-vigilance trade-off in Gadwall during the winter period. *Condor*. 102: 307-313.
- Hamilton IM, Heithaus MR. 2001. The effects of temporal variation in predation risk on anti-predator behaviour: an empirical test using marine snails. *Proc R Soc B*. 268: 2585-2588.
- Houston AI, McNamara JM, Hutchinson JMC. 1993. General results concerning the trade-off between gaining energy and avoiding predation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 341: 375-397.
- Laursen K, Kahlert J, Frikke J. 2005. Factors affecting escape distances of staging waterbirds. *Wildl Biol*. 11: 13-19.
- Lendrem DW. 1983. Sleeping and vigilance in birds .1. Field observations of the mallard (*Anas platyrhynchos*). *Anim Behav*. 31: 532-538.
- Lendrem DW. 1984. Sleeping and vigilance in birds .2. An experimental-study of the barbary dove (*Streptopelia risoria*). *Anim Behav*. 32: 243-248.
- Lima SL. 1986. Predation risk and unpredictable feeding conditions: determinants of body-mass in birds. *Ecology*. 67: 377-385.



- Lima SL. 1998. Stress and decision making under the risk of predation: Recent developments from behavioral, reproductive, and ecological perspectives. *Adv Study Behav.* 27: 215-290.
- Lima SL, Bednekoff PA. 1999. Temporal variation in danger drives antipredator behavior: The predation risk allocation hypothesis. *Am Nat.* 153: 649-659.
- Lima SL, Dill LM. 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Can J Zool.* 68: 619-640.
- Lima SL, Rattenborg NC. 2007. A behavioural shutdown can make sleeping safer: a strategic perspective on the function of sleep. *Anim Behav.* 74: 189-197.
- Lima SL, Rattenborg NC, Lesku JA, Amlaner CJ. 2005. Sleeping under the risk of predation. *Anim Behav.* 70: 723-736.
- Lind J, Cresswell W. 2005. Determining the fitness consequences of antipredation behavior. *Behav Ecol.* 16: 945-956.
- Lind J, Cresswell W. 2006. Anti-predation behaviour during bird migration; the benefit of studying multiple behavioural dimensions. *J Ornithol.* 147: 310-316.
- Macleod R. 2006. Why does diurnal mass change not appear to affect the flight performance of alarmed birds? *Anim Behav.* 71: 523-530.
- McNamara JM, Houston AI. 1990. The value of fat reserves and the tradeoff between starvation and predation. *Acta Biotheor.* 38: 37-61.
- Meddis R. 1975. On the function of sleep. *Anim Behav.* 23: 676-691.
- Mirza RS, Mathis A, Chivers DP. 2006. Does temporal variation in predation risk influence the intensity of antipredator responses? A test of the risk allocation hypothesis. *Ethology.* 112: 44-51.
- Murphy ME. 1996. Energetics and nutrition of molt. In: *Avian energetics and nutritional ecology* (Carey C, ed). New-York: Chapman and Hall; 158-198.

- Norberg UM. 1996. Energetics of Flight. In: Avian Energetics and Nutritional Ecology (Carey C, ed). New York: Chapman & Hall; 199-249.
- Nudds RL, Bryant DM. 2000. The energetic cost of short flights in birds. *J Exp Biol.* 203: 1561-1572.
- Owen M, Black JM. 1990. Waterfowl ecology. Glasgow: Blackie.
- Paulus SL. 1988. Time-activity budgets of nonbreedin Anatidae: a review. In: Waterfowl in winter (Weller MW, ed). Minneapolis: University of Minnesota press; 135-154.
- Rattenborg NC, Amlaner CJ, Lima SL. 2000. Behavioral, neurophysiological and evolutionary perspectives on unihemispheric sleep. *Neurosci Biobehav Rev.* 24: 817-842.
- Rattenborg NC, Lima SL, Amlaner CJ. 1999a. Facultative control of avian unihemispheric sleep under the risk of predation. *Behav Brain Res.* 105: 163-172.
- Rattenborg NC, Lima SL, Amlaner CJ. 1999b. Half-awake to the risk of predation. *Nature.* 397: 397-398.
- Roth TC, Lesku JA, Amlaner CJ, Lima SL. 2006. A phylogenetic analysis of the correlates of sleep in birds. *J Sleep Res.* 15: 395-402.
- Sargeant AB, Allen SH, Eberhardt RT. 1984. Red fox predation on breeding ducks in midcontinent North America. *Wildl Monogr.* 1-41.
- Sargeant AB, Swanson GA, Doty HA. 1973. Selective predation by mink, *Mustela vison*, on waterfowl. *Am Midl Nat.* 89: 208-214.
- Steer D, Doody JS. 2009. Dichotomies in perceived predation risk of drinking wallabies in response to predatory crocodiles. *Anim Behav.* 78: 1071-1078.
- Tamisier A, Dehorter O. 1999. Camargue, canards et foulques. Nimes: Centre ornithologique du Gard.
- Werner EE, Anholt BR. 1993. Ecological consequences of the trade-off between growth and mortality-rates mediated by foraging activity. *Am Nat.* 142: 242-272.

- Witter MS, Cuthill IC. 1993. The ecological costs of avian fat storage. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 340: 73-92.
- Witter MS, Cuthill IC, Bonser RHC. 1994. Experimental investigations of mass-dependent predation risk in the European starling, *Sturnus vulgaris*. *Anim Behav.* 48: 201-222.
- Ydenberg RC, Dill LM. 1986. The economics of fleeing from predators. *Adv Study Behav.* 16: 229-249.

## Figure legends

Figure 1: Evolution of time budget in mallards. (a) foraging, (b) vigilance, (c) preening and (d) sleeping behaviors in the control group (black bar), group 1 (grey bar) and group 2 (white bar). Letters indicate significant differences between weeks. \* indicates significant differences between weeks for a group or between two groups.

Figure 2: Evolution of pecking rate in mallards (a), in teals (b) and in tufted ducks (c) for the control group (black bar), group 1 (grey bar) and group 2 (white bar). Letters indicate significant differences between weeks. \* indicates significant differences between weeks for a group or between two groups.

Figure 3: Mean evolution of time budget in teals. (a) foraging, (b) vigilance, (c) preening and (d) sleeping behaviors for the week before the disturbance, the week of disturbance and the week after the disturbance for the control group (black bar), group 1 (grey bar) and group 2 (white bar). Letters indicate significant differences between weeks. \* indicates significant differences between weeks for a group or between two groups.  $\alpha$  indicates that behavior duration was significantly different for the control group compared to the two disturbed groups during the week of disturbance.

Figure 4: Evolution of time budget in tufted ducks. (a) foraging, (b) vigilance, (c) preening and (d) sleeping behaviors for the week before the disturbance, the week of disturbance and the week after the disturbance for the control group (black bar) and group 2 (white bar). Letters indicated significant differences between weeks. \* indicates significant differences between weeks for a group or between two groups.  $\alpha$  indicates that behavior duration was significantly different for the control group compared to the disturbed group during the week of disturbance and the week after disturbance.

Figure 5: Mean relative time budget during the week before disturbance, the week of disturbance and the week after disturbance in group 2 for mallards, teals and tufted ducks.

Figure 1

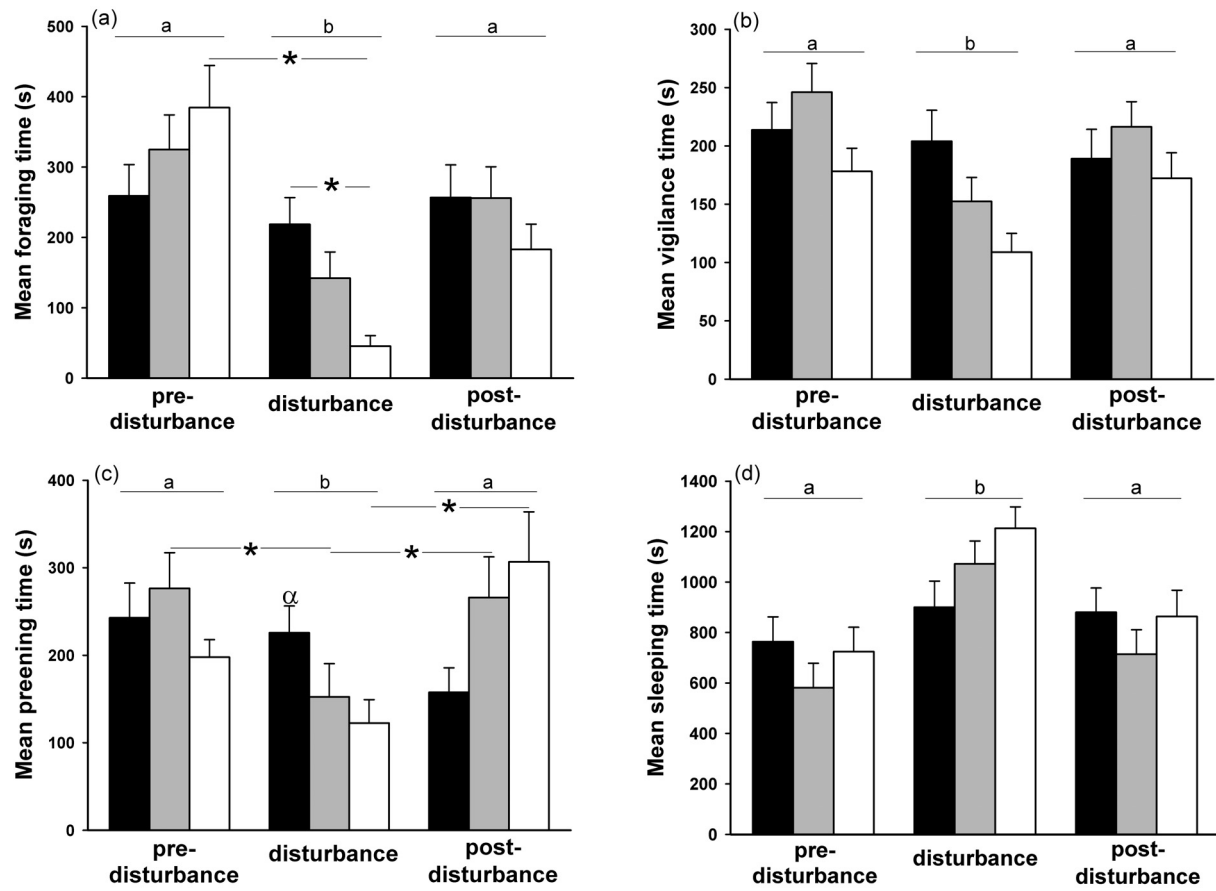


Figure 2

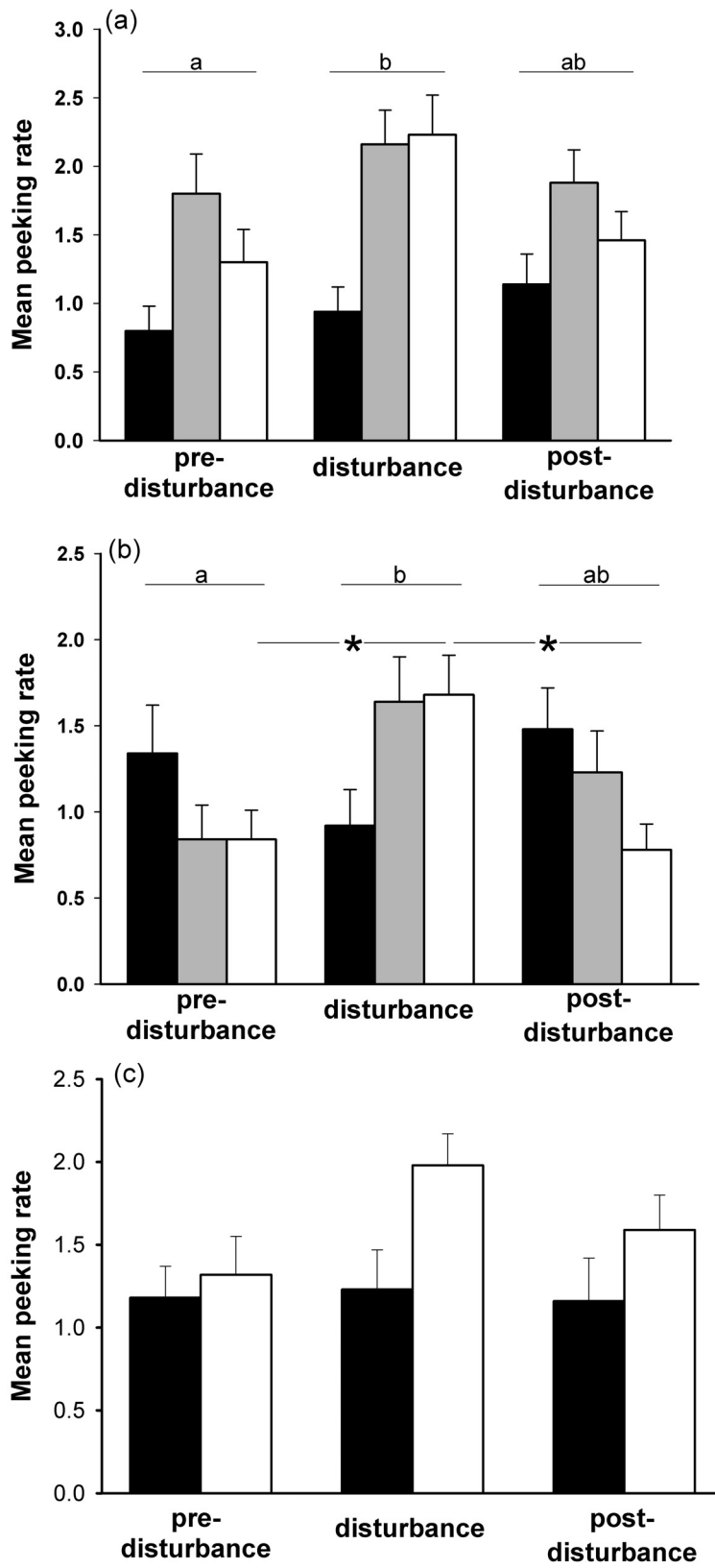


Figure 3

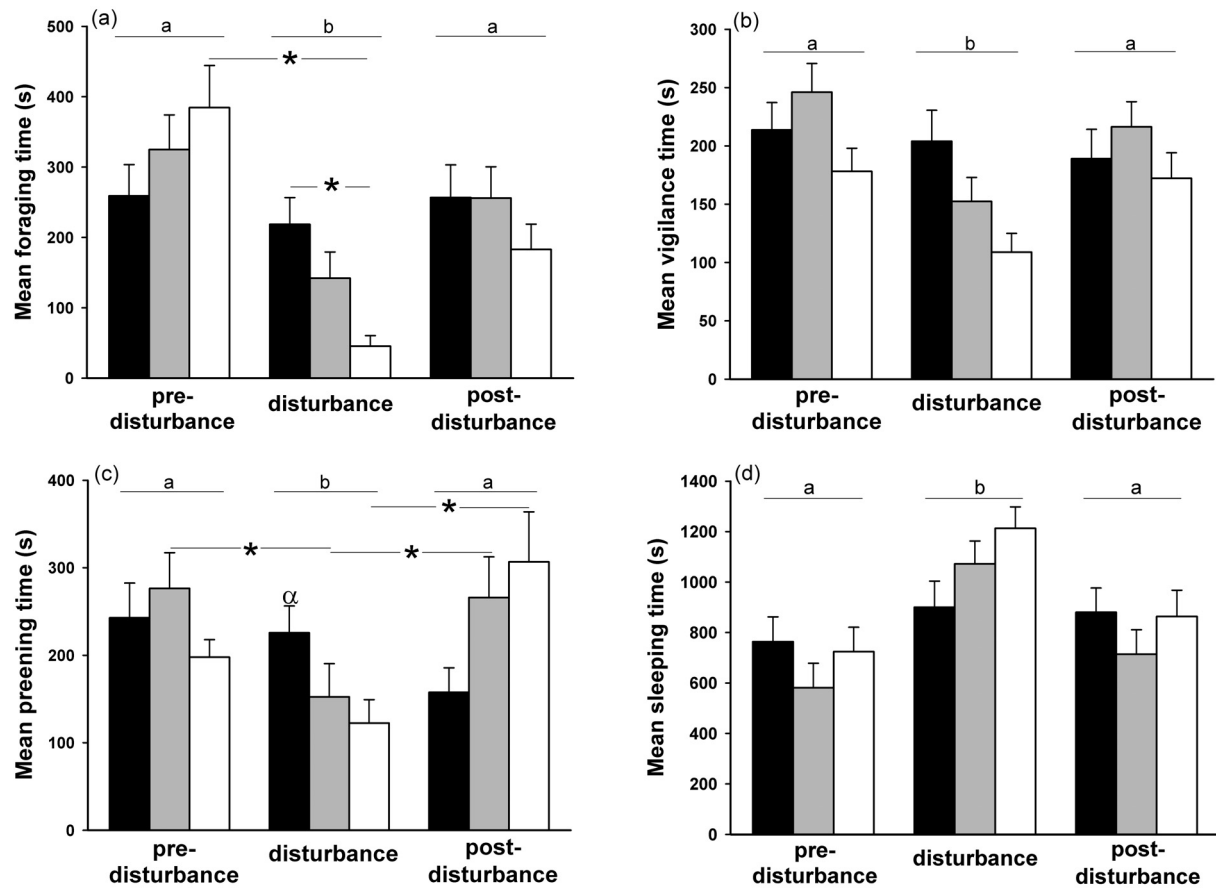




Figure 4

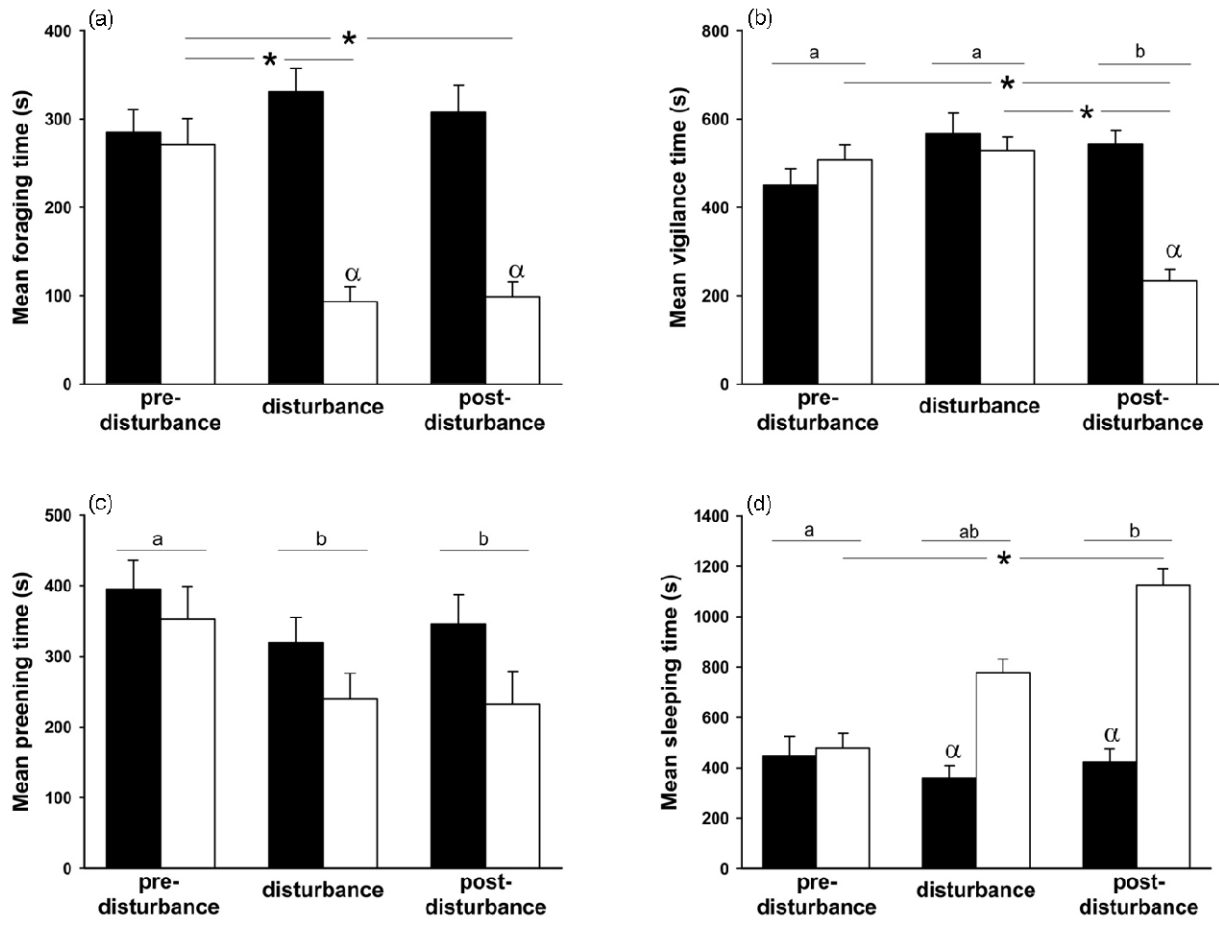
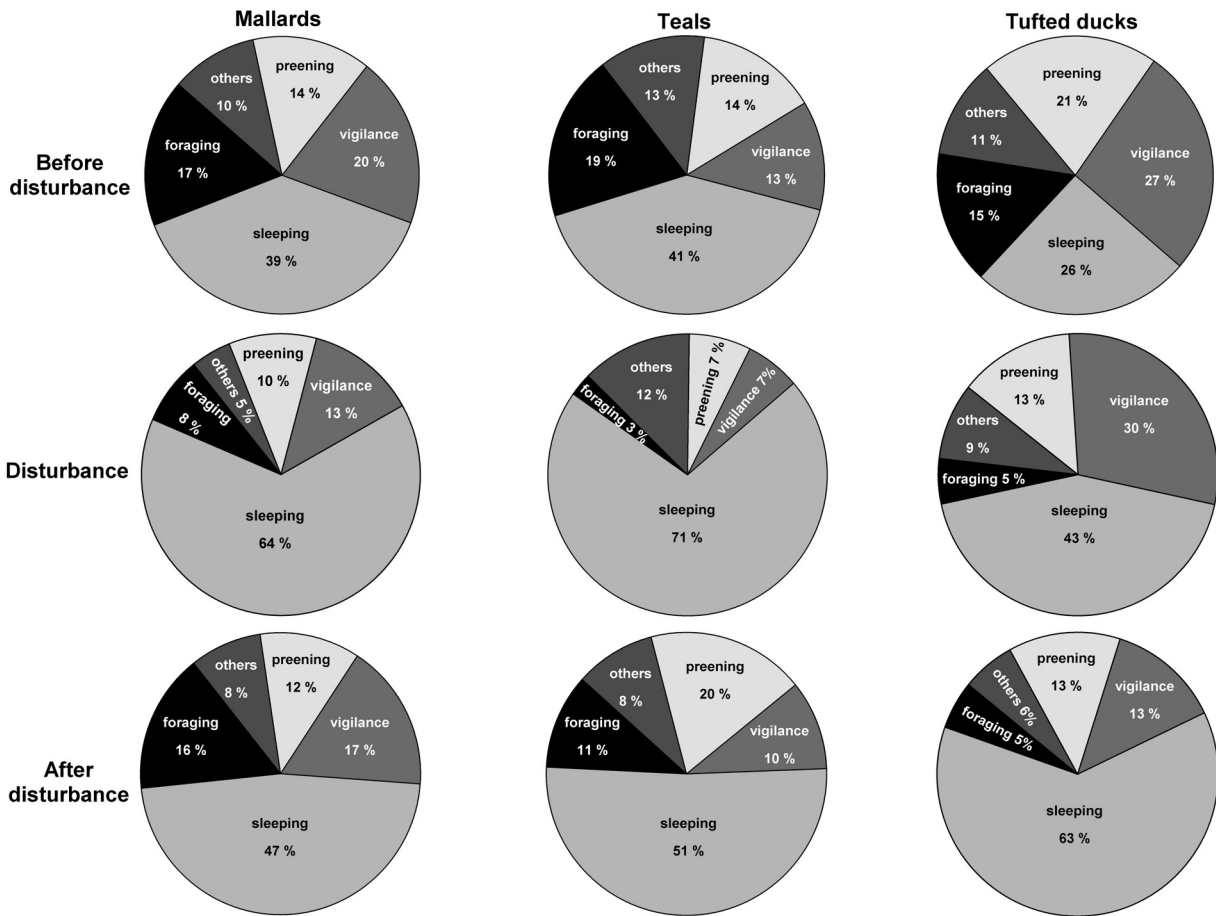


Figure 5



Dans cette partie, nous avons vu que l'augmentation du risque de prédation affecte le budget temps des canards à travers une augmentation du sommeil aux dépens de la vigilance, de la recherche alimentaire et du toilettage. Ces ajustements sont globalement les mêmes chez les trois espèces mais différents de ce qui est classiquement décrit. En effet, dans notre cas il n'y a pas d'augmentation de la vigilance aux dépens des autres comportements.

Globalement, on observe une diminution de l'activité générale ce qui est en accord avec ce qui a déjà été montré chez d'autres espèces. Une réduction de l'activité permet de limiter le risque de prédation en diminuant la probabilité d'être détecté ou de rencontrer un prédateur (pour une revue, voir (Lima et Dill 1990, Lima 1998a). Cependant, cette diminution de l'activité est généralement associée à une augmentation de la vigilance et à une diminution de la durée de sommeil (Lendrem 1983, 1984, Lima et Dill 1990, Lima 1998a, Frid et Dill 2002, Fernandez-Juricic *et al.* 2007). Dans notre situation, nous observons un ajustement inverse et cette différence est probablement en lien avec la biologie des anatidés. Chez les canards, il semblerait que le sommeil n'augmente pas nécessairement le risque de prédation puisqu'ils ont un sommeil qualifié de vigilant c'est-à-dire qu'ils alternent des périodes de fermeture des yeux avec des périodes où ils relèvent la tête et surveillent leur environnement (Amlaner et Ball 1983, Lendrem 1983). De plus, ils ont la possibilité d'utiliser un sommeil uni-hémisphérique durant lequel un hémisphère cérébral dort tandis que l'œil correspondant est fermé alors que l'autre hémisphère reste éveillé quand l'œil opposé est ouvert (Rattenborg *et al.* 1999a, Rattenborg *et al.* 1999b). Cette forme de sommeil particulier leur permet de détecter les prédateurs approchant et de fuir rapidement tout en conservant certains bénéfices du sommeil tel que l'économie d'énergie (Berger et Phillips 1995, Rattenborg *et al.* 1999a, Rattenborg *et al.* 1999b, Rattenborg *et al.* 2000). De plus, les individus diminuent leur temps de recherche alimentaire ce qui est typique d'une situation de risque de prédation et permet de limiter le risque de prédation (Lima et Dill 1990, Witter et Cuthill 1993, Lima 1998a, Blumstein *et al.* 2005, Cresswell 2008). Il apparaît donc que les ajustements comportementaux observés chez les canards en réponse à une augmentation du risque de prédation sont plutôt complexes et vont dans le sens d'une réduction du risque d'être capturé.

D'autre part, à travers une économie d'énergie liée à l'augmentation du sommeil et à la diminution de la durée de comportements consommateurs en temps et en énergie, ils permettraient de limiter le risque de jeûne. Par conséquent, il paraît très utile d'intégrer les ajustements comportementaux dans le cadre du compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation en ne se limitant pas seulement aux seuls comportements anti-prédateurs mais en considérant l'ensemble des comportements notamment ceux de maintenance.

# **CHAPITRE 6 : EFFETS DE L'AUGMENTATION DU RISQUE DE PREDATION SUR LA REPRODUCTION**

---

"La vérité scientifique sera toujours plus belle que  
les créations de notre imagination et que  
les illusions de notre ignorance."

Claude Bernard

## 1. EFFETS SUR LES HORMONES DE LA REPRODUCTION

Chez les oiseaux, la testostérone chez les mâles et les œstrogènes chez les femelles sont les principales hormones impliquées dans les comportements sexuels (Sturkie et Mueller 1976, Sturkie et Opel 1976, Wingfield *et al.* 1987, Cherel *et al.* 1994, Leboucher *et al.* 2000, Mougeot *et al.* 2005). Chez la femelle, lorsque le comportement d'incubation se met en place le niveau de prolactine augmente graduellement ce qui correspond au passage d'un comportement sexuel à un comportement parental, la prolactine étant notamment impliquée dans la mise en place et le maintien des soins parentaux (Buntin 1996).

En réponse à un stress provoqué par une diminution de la disponibilité alimentaire ou par une attaque d'un prédateur les niveaux de ces différentes hormones peuvent diminuer (Sapolsky *et al.* 2000, Chastel *et al.* 2005b, Cyr et Romero 2007). Concernant la testostérone et les œstrogènes, les résultats obtenus chez les oiseaux sont contrastés. En effet, il a été montré que les concentrations de ces hormones diminuent dans certains cas (Etches *et al.* 1984, Wingfield 1985, Silverin 1998a, Lynn *et al.* 2010). Cependant, dans d'autres cas elles ne sont pas affectées ou bien augmentent (Cherel *et al.* 1994, Astheimer *et al.* 2000, Heiblum *et al.* 2000, Landys *et al.* 2010). Concernant la prolactine, elle diminue en réponse à des perturbations de l'environnement au cours de la reproduction (Angelier et Chastel 2009). La diminution de la prolactine permettrait de mesurer la réduction de l'effort parental en réponse à une situation de stress (Chastel *et al.* 2005b).

Cependant, les niveaux de ces hormones sont généralement mesurés en réponse à un stress qui intervient durant la période de reproduction. Dans notre situation, les événements stressants ont eu lieu tout juste avant la période de reproduction, la dernière phase ayant été conduite durant la période d'initiation de la nidification. Ainsi, l'objectif est de déterminer si l'augmentation du risque de prédation a des effets à court et moyen terme sur les niveaux de testostérone, d'œstrogènes et de prolactine avant et au début de la phase de reproduction, et des effets à plus long terme sur la prolactine au cours de la période d'élevage des jeunes.

## 1.1 Effets sur les œstrogènes et la testostérone

Les concentrations plasmatiques en œstradiol chez les femelles et en testostérone chez les mâles ont été mesurées avant et après le dérangement chez les groupes dérangés et à la même période chez le groupe témoin parmi les trois espèces. Ces mesures ont été réalisées au cours de la dernière session de dérangement au moment de l'entrée en période de reproduction (session 4) et pour la session précédente (session 3) qui a eu lieu en janvier chez les canards colvert et en février chez les sarcelles et les morillons. Les données ont été analysées avec des modèles mixtes linéaires généralisés basés sur une loi Gamma. Les facteurs session, groupe et état (avant et après le dérangement) ont été utilisés comme facteurs fixes. Les facteurs session et état ont été considérés comme facteur répété et les individus comme facteur aléatoire. Les modèles ont été réalisés en utilisant la procédure GLIMMIX dans SAS 9.2 (SAS Institute Corporation).

### 1.1.1 Œstradiol

Globalement, chez les canards colvert femelles, la concentration en œstradiol diffère significativement entre les groupes en fonction des deux sessions (interaction groupe x session :  $F_{2,55} = 7.4$ ,  $p = 0.001$ ). Chez les trois groupes, le niveau d'œstradiol est supérieur au cours de la session 4 par rapport à la session 3 ( $t > 3.6$ ,  $p < 0.008$ , ddl = 43 ; Figure 5). Au cours de la session 4, la concentration en œstradiol est inférieure dans le groupe 2 par rapport au groupe témoin ( $t = -4.0$ ,  $p = 0.003$ , ddl = 38 ; Figure 4). Cette augmentation de la concentration en œstradiol à l'entrée en période de reproduction est en accord avec ce qui est observé habituellement chez les canards (Donham 1979). De plus, au cours des deux sessions, on observe que le niveau d'œstradiol diffère entre les groupes en fonction de l'état (interaction groupe x état :  $F_{2,55} = 12.5$ ,  $p < 0.0001$ ). Ainsi, dans les deux groupes dérangés la concentration en œstradiol est inférieure à la fin du dérangement en comparaison de la période précédant le dérangement ( $t < -3.3$ ,  $p < 0.02$ , ddl = 54 ; Figure 5). Ces valeurs finales chez les groupes dérangés sont aussi inférieures à la valeur finale du groupe témoin ( $t < -3.1$ ,  $p < 0.03$ , ddl = 29 ; Figure 6). Il semble donc que le dérangement entraîne une diminution de la concentration en œstradiol chez les femelles colverts.

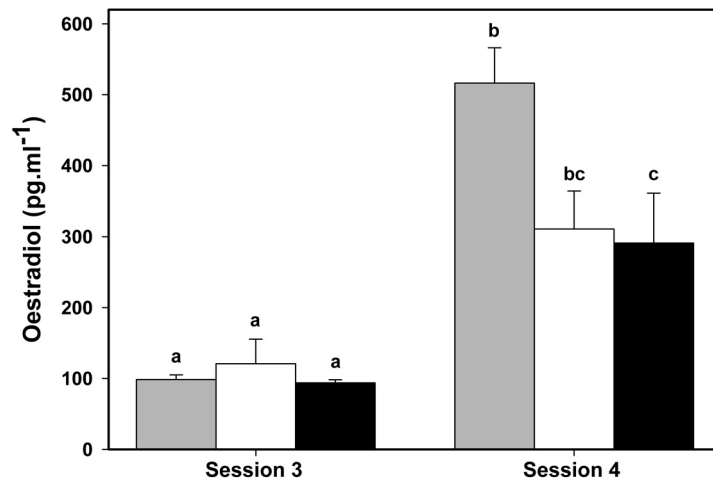


Figure 5 : Concentration moyenne ( $\pm$  SE) en œstradiol chez les femelles colverts du groupe témoin (gris), du groupe 1 (blanc) et du groupe 2 (noir) au cours des sessions 3 et 4. Des lettres différentes indiquent une différence significative.

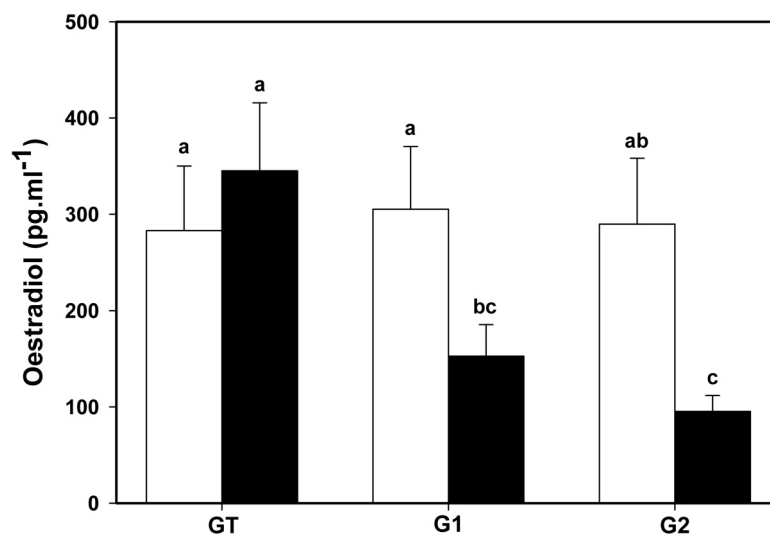


Figure 6 : Concentration moyenne ( $\pm$  SE) en œstradiol chez les femelles colverts avant le dérangement (blanc) et après le dérangement (noir) chez les trois groupes pour les sessions 3 et 4. Des lettres différentes indiquent une différence significative.

Chez les sarcelles, il n'y a aucune différence significative pour la concentration en œstradiol entre les sessions, groupes et états et les interactions entre ces facteurs ( $F_{2,58} < 3.1, p > 0.054$ ). Les valeurs sont comprises entre 80 et 110 ng.ml<sup>-1</sup> quel que soit l'état, le groupe et la session. Cette absence de différence entre les sessions peut s'expliquer par le fait que la session 4 a été effectuée au cours du mois d'avril et à cette période l'initiation de la nidification n'était peut être pas encore



commencée car les sarcelles sont parmi les reproducteurs les plus tardifs des canards de surfaces (Jallageas *et al.* 1978, Del Hoyo *et al.* 1992). De plus, le dérangement n'affecte pas la concentration en œstradiol.

Chez les femelles morillons, la concentration en œstradiol diffère significativement à la fois en fonction de la session, du groupe et de l'état (interaction session x groupe x état :  $F_{1,40} = 8.1$ ,  $p = 0.007$ ). Ainsi, quelque soit l'état, les niveaux d'œstradiol sont supérieurs au cours de la session 4 par rapport à la session 3 ( $t > 3.6$ ,  $p < 0.02$ ,  $ddl = 28$ ; Figure 7). Durant la session 4, la concentration en œstradiol est plus faible après le dérangement en comparaison de la période précédant le dérangement chez le groupe dérangé ( $t = -3.6$ ,  $p = 0.02$ ,  $ddl = 20$ ; Figure 7). Comme chez les colverts, la concentration en œstradiol diminue chez les femelles morillons en réponse au dérangement mais uniquement lors de la session 4. Il est toutefois à remarquer que le niveau initial du groupe dérangé est plus élevé, mais de façon non significative, que dans le groupe témoin et que la concentration finale est similaire entre les deux groupes. La période de reproduction de cette espèce étant parmi les plus tardives chez les anatidés (Del Hoyo *et al.* 1992, Boos 2010), on peut supposer que lors de la session 3, les niveaux d'œstradiol étaient basaux et donc ne pouvaient pas être affectés par le dérangement.

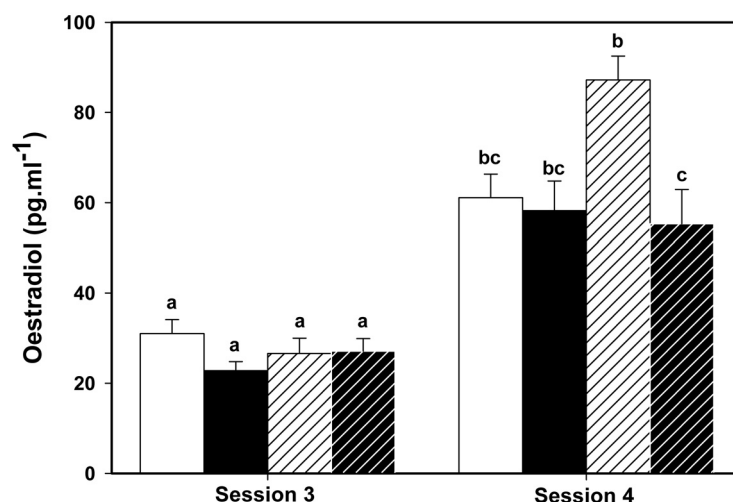


Figure 7 : Concentration moyenne ( $\pm$  SE) en œstradiol chez les femelles morillons pour le groupe témoin (barres pleines) et le groupe dérangé (barres hachurées) en fonction de l'état initial (blanc) et final (noir) pour les sessions 3 et 4. Des lettres différentes indiquent une différence significative.

### 1.1.2 Testostérone

Chez les canards colvert mâles, on observe une différence des niveaux de testostérone uniquement entre les sessions ( $F_{1,26} = 48.3$ ,  $p < 0.0001$ ), les concentrations en testostérone étant 3 fois plus élevées au cours de la session 4 ( $2.20 \pm 0.22$  ng.ml<sup>-1</sup>) qu'au cours de la 3 ( $0.73 \pm 0.14$  ng.ml<sup>-1</sup>). Chez les sarcelles mâles, la concentration en testostérone diffère significativement uniquement entre les deux sessions ( $F_{1,26} = 8.3$ ,  $p = 0.008$ ). A l'inverse des colverts, les niveaux de testostérone sont 2 fois plus élevés durant la session 3 ( $1.22 \pm 0.19$  ng.ml<sup>-1</sup>) qu'au cours de la session 4 ( $0.63 \pm 0.09$  ng.ml<sup>-1</sup>). La session 3 chez les sarcelles a eu lieu fin février et la session 4 au mois d'avril alors qu'elles ont lieu en janvier et en mars chez les colverts. Ces différences sont probablement dues aux variations saisonnières de la concentration en testostérone qui est faible en janvier et augmente fortement ensuite pour atteindre un pic au mois de mars et diminue ensuite (Donham 1979, Balthazart 1983).

Chez les morillons mâles, la concentration en testostérone varie à la fois en fonction de la session, du groupe et de l'état (interaction session x groupe x état :  $F_{1,48} = 5.7$ ,  $p = 0.02$ ). Les niveaux de testostérone sont plus faibles chez le groupe dérangé quel que soit l'état durant la session 3 par rapport au témoin pour cette même session et par rapport aux valeurs de la session 4 chez les deux groupes pour les deux états ( $t < -5.2$ ,  $p < 0.0001$ , ddl = 47 ; Figure 8). De plus, chez le groupe dérangé la concentration en testostérone diminue entre le début et la fin du dérangement durant la session 4 ( $t = -4.7$ ,  $p = 0.0005$ , ddl = 35 ; Figure 8) mais la moyenne ne diffère pas des valeurs initiales et finales du groupe témoin. On observe également un niveau initial et final plus bas de testostérone chez le groupe dérangé par rapport au groupe témoin au cours de la session de février, ce qui laisse suggérer un retard dans le cycle de sécrétion de la testostérone chez le groupe dérangé. Il est probable que cette différence soit due à un effet des sessions précédentes de dérangement car même le niveau initial de la session 3 est très faible. En revanche, la concentration la plus élevée est constatée chez le groupe dérangé en début de session 4, ce qui indique que le retard de février peut être compensé au printemps. Toutefois, on constate une diminution de la concentration en testostérone en réponse à l'augmentation du risque de

prédation à l'orée de la saison de reproduction. Ces résultats suggèrent que ces réponses chez le groupe dérangé sont liées au stress induit par l'augmentation du risque de prédation au printemps.

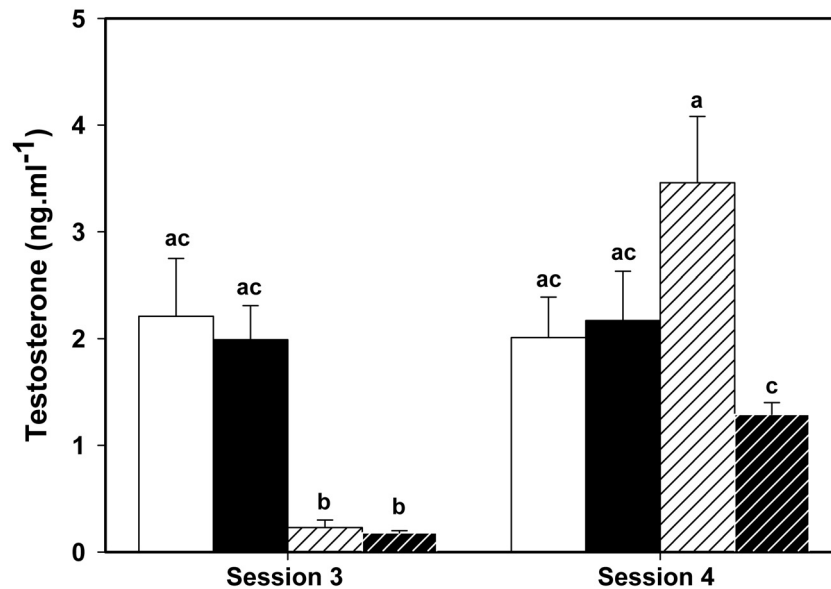


Figure 8 : Concentration moyenne ( $\pm$  SE) en testostérone chez les mâles morillons du groupe témoin (barre pleine) et du groupe dérangé (barre hachurée) avant (blanc) et après le dérangement (noir) au cours des sessions 3 et 4. Des lettres différentes indiquent une différence significative.

De façon générale, on observe des variations des niveaux d'œstradiol et de testostérone entre les sessions 3 et 4. Il semble que ces variations soient principalement dues aux variations saisonnières de ces hormones au cours de l'hiver et au début de la période de reproduction (Donham 1979, Balthazart 1983). En réponse à l'augmentation du risque de prédation, les résultats obtenus sont contrastés avec des effets à court et moyen termes ou une absence d'effets. Ces résultats de l'effet d'un évènement stressant sur les niveaux d'œstradiol et de testostérone reflètent les différents résultats obtenus chez différentes espèces d'oiseaux. En effet, un stress peut entraîner une diminution des niveaux d'hormones sexuelles (Etches *et al.* 1984, Wingfield 1985, Wingfield et Silverin 1986, Lynn *et al.* 2010, voir aussi Silverin 1998a, Sapolsky *et al.* 2000), alors que dans d'autres cas ce stress n'a pas d'effet sur la concentration de ces hormones (Cherel *et al.* 1994, Astheimer *et al.* 2000, Groscolas *et al.* 2008, Landys *et al.* 2010). Globalement, il apparaît que l'augmentation du risque de prédation n'a pas d'effet au niveau des hormones sexuelles chez les

sarcelles tout du moins sur les périodes étudiées. Chez les colverts, uniquement les femelles sont affectées à court terme. Alors que chez les morillons, les mâles et les femelles diminuent leurs niveaux de testostérone et d'œstradiol respectivement uniquement au début de la période de reproduction. Cependant, chez les mâles il semble y avoir un effet à moyen terme du risque de prédation élevé durant l'hiver mais qui pourrait être compensé plus tard. Ces différences entre les espèces peuvent être dues à une différence de perception du stress lié à l'augmentation du risque de prédation. Elles peuvent aussi résulter des différences de période durant lesquelles ce risque a été augmenté et ainsi que de la phase du cycle dans laquelle se trouvaient les individus de chaque espèce (Astheimer *et al.* 2000).

## **1.2 Effets sur la prolactine**

La concentration plasmatique en prolactine était mesurée avant et après le dérangement chez les femelles colverts des groupes dérangés et à la même période chez le groupe témoin. Ces mesures ont été réalisées au cours de la dernière session de dérangement avant l'entrée en période de reproduction et pour la session de janvier. La prolactine a aussi été déterminée tous les 10 jours au cours de la période d'élevage des jeunes, de l'éclosion à leur indépendance, chez les femelles des trois groupes. Les données des sessions de dérangement ont été analysées avec des modèles mixtes linéaires généralisés basé sur une loi Gamma. Les facteurs session, groupe et état (avant et après le dérangement) ont été utilisés comme facteurs fixes, les facteurs session et état étant considérés comme facteur répété et les individus comme facteur aléatoire. Les données correspondant à la période entre l'éclosion et l'envol (60 jours) ont aussi été analysées avec un modèle mixte linéaire généralisé basé sur une loi Gamma. Les facteurs groupe et jour de prélèvement ont été utilisés comme facteurs fixes. Le facteur jour de prélèvement a été considéré comme facteur répété et les individus comme facteur aléatoire. De plus, dans les différents modèles, le temps de prélèvement a été mis en covariable afin de prendre en compte son effet éventuel. Les modèles ont été réalisés en utilisant la procédure GLIMMIX dans SAS 9.2 (SAS Institute Corporation).

Au cours du dérangement des sessions 3 et 4, la concentration plasmatique en prolactine varie significativement en fonction du groupe et de l'état (interaction groupe x état :  $F_{2,37} = 4.7$ ,  $p = 0.015$ ). Plus précisément, le niveau de prolactine augmente chez le groupe 1 entre le début et la fin du dérangement ( $t = 4.2$ ,  $p = 0.002$ ,  $ddl = 37$  ; Figure 9). Ainsi, en réponse à l'augmentation du risque de prédation, on observe une augmentation du niveau de prolactine uniquement chez le groupe 1 alors qu'elle ne varie pas chez le groupe 2 et le groupe témoin. Chez les mammifères, la prolactine augmente en réponse à un stress aigu mais cette augmentation n'a pas été mise en évidence chez certains oiseaux (Chastel *et al.* 2005b). En revanche, une augmentation transitoire de la prolactine a été observée en réponse à un stress de capture-rétention chez la mouette tridactyle (Chastel *et al.* 2005b). Par ailleurs, un stress thermique au cours de la reproduction augmente la prolactinémie chez la dinde (*Meleagris gallopavo*) (Rozenboim *et al.* 2004). De même, un stress aigu chez la dinde et le puffin des anglais (*Puffinus puffinus*) en dehors de la période de reproduction conduit aussi à une augmentation des niveaux de prolactine (El Halawani *et al.* 1985, Riou *et al.* 2010). Par conséquent, il a été récemment proposé qu'une augmentation de la prolactinémie, lorsque ses niveaux initiaux sont bas, pourrait être nécessaire lors d'une réponse au stress dans le but de réduire les effets négatifs des niveaux élevés de corticostérone (Riou *et al.* 2010). Ainsi, il serait possible que cette augmentation observée dans le groupe 1 soit due au stress associé au dérangement. Cependant, cette réponse ne se met pas en place dans le groupe 2, ce qui pourrait résulter d'un niveau de stress différent en fonction de la fréquence de dérangement ou d'autres mécanismes méconnus à ce jour.

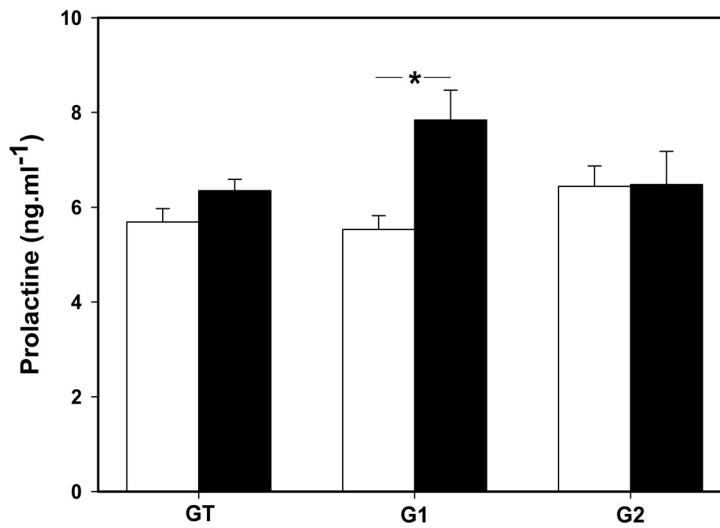


Figure 9 : Concentration moyenne ( $\pm$  SE) en prolactine avant le dérangement (blanc) et après le dérangement (noir) chez les femelles colverts des trois groupes pour les sessions 3 et 4. \* indique une différence significative.

Au cours de la période d'élevage des jeunes, la concentration en prolactine n'est pas différente entre les trois groupes ( $F_{2,37} = 1.1$ ,  $p = 0.36$ ) mais elle diffère au cours du temps ( $F_{6,57} = 6.8$ ,  $p < 0.0001$ ). Globalement, on observe une augmentation du niveau de prolactine après l'éclosion puis une diminution à partir du 40<sup>ème</sup> jour post-éclosion (Figure 10).

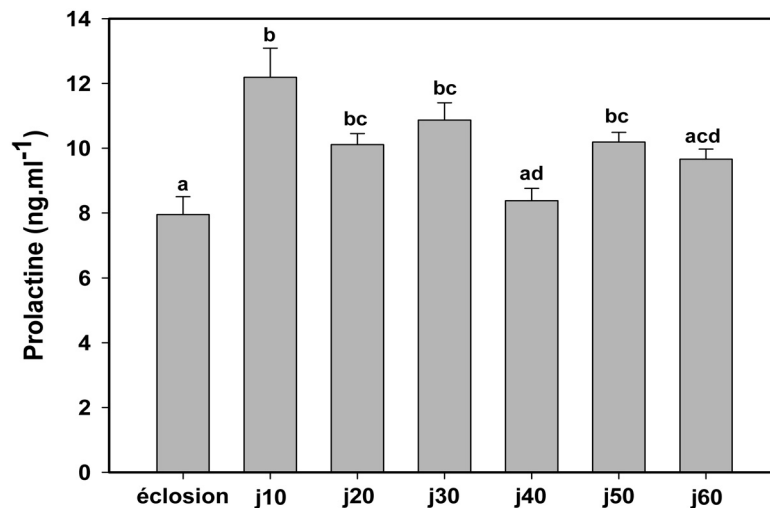


Figure 10 : Concentration moyenne ( $\pm$  SE) en prolactine chez les femelles colvert des trois groupes au cours de la période d'élevage des jeunes. Les jours sont les jours post-éclosion. Des lettres différentes indiquent une différence significative.

Il ne semble donc pas y avoir d'effet à long terme de l'augmentation du risque de prédation sur la sécrétion de prolactine puisqu'au cours de la période d'élevage des jeunes aucune différence entre le groupe témoin et les groupes dérangés n'est constatée. De plus, l'évolution de la prolactine au cours de cette période est en accord avec ce qui a été observé chez cette espèce (Boos *et al.* 2007a). Ainsi, la capacité d'investissement dans les soins prodigués aux jeunes ne serait pas affectée par la préalable exposition ou non au dérangement ou au risque de prédation. On peut donc à juste titre supposer que si le dérangement et le stress induit doivent affecter l'investissement parental c'est bien lorsqu'il se produit au cours de la période habituelle d'attention parentale (Angelier et Chastel 2009).

## **2. EFFETS SUR L'INVESTISSEMENT DANS LA REPRODUCTION**

Les soins aux jeunes, qui s'étendent de l'incubation jusqu'à l'indépendance des jeunes (Afton et Paulus 1992), peuvent être influencés par les risques de prédation et de jeûne (Martin 1987, 1995, Martin *et al.* 2000a, Martin *et al.* 2000b). En effet, chez les espèces nidicoles, les parents doivent nourrir leurs petits et il a été montré qu'une disponibilité alimentaire importante permet d'augmenter le succès reproducteur des parents (Whittingham et Robertson 1994, Granbom et Smith 2006, Robb *et al.* 2008, Schoech *et al.* 2009). Chez les espèces nidifuges, cet effet des ressources alimentaires se fait à travers le choix de la zone d'alimentation sur laquelle les parents vont conduire leurs jeunes (Kosztolanyi *et al.* 2007). Cependant, il semblerait que le risque de prédation ait un effet plus important que la disponibilité alimentaire sur le succès reproducteur (Martin 1995, Martin *et al.* 2000a). En effet, le risque de prédation peut conduire à un retard de l'initiation de la ponte (Lima 2009). De plus, la prédation peut entraîner une diminution de l'investissement dans la reproduction à travers une réduction de la taille de la couvée (Martin 1995, Martin *et al.* 2000a, Martin *et al.* 2000b, Eggers *et al.* 2006) ou à travers une diminution de l'investissement dans les œufs (Fontaine et Martin 2006). Enfin, le risque de prédation peut perturber les comportements de soins aux jeunes. Chez les espèces nidicoles, l'activité au niveau du nid pendant l'incubation et l'élevage augmente la détection par les prédateurs des parents et

des jeunes (Martin *et al.* 2000a, Martin *et al.* 2000b, Eggers *et al.* 2005). Chez les espèces nidifuges, les jeunes quittent le nid quelques heures après l'éclosion, les exposant ainsi à un risque de prédation important tout au long de la période d'élevage (Afton et Paulus 1992). Par conséquent, une diminution de l'investissement dans les comportements de soins aux jeunes augmenterait la vulnérabilité face aux prédateurs ou le risque de jeûne des jeunes.

Toutes les études sur l'effet de la prédation sur l'investissement dans la reproduction s'intéressent à cet effet durant cette période. Cependant, notamment en fin d'hivernage, les conditions environnementales auxquelles sont confrontés les oiseaux peuvent influencer la reproduction (Barboza et Jorde 2002, Robb *et al.* 2008). En effet, chez les canards, l'état des réserves énergétiques à l'entrée de la période de reproduction influence le succès reproducteur (Krapu 1981, Blums *et al.* 2005, Guillemain *et al.* 2008). Dans notre cas, nous voulons vérifier si un risque de prédation important subit au cours de la période d'hivernage peut avoir des effets à long terme en modifiant l'investissement dans la reproduction et le succès reproducteur des adultes.

La reproduction a pu être suivie dans son ensemble chez les canards colverts c'est-à-dire de la ponte à l'indépendance des jeunes. En revanche, chez les sarcelles, les femelles ont pondu mais il n'y a pas eu d'éclosion quel que soit le groupe donc seuls la date d'initiation de la ponte dans chaque groupe et le nombre d'œufs par nid ont été relevés. Enfin, chez les morillons il n'y a pas eu de reproduction puisqu'aucun œuf n'a été pondu quel que soit le groupe.

## **2.1 Colverts**

Afin de déterminer si l'augmentation du risque de prédation au cours de l'hiver peut influencer l'investissement dans la reproduction nous avons tout d'abord relevé la date de la première ponte dans chaque groupe. Ensuite, le contenu énergétique des différents compartiments (coquille, blanc et jaune) des œufs pondus avant et durant la dernière phase de dérangement chez les trois groupes a été analysé avec une bombe calorimétrique adiabatique en utilisant de l'acide benzoïque comme standard. Chez les témoins, 20 œufs ont été analysés, 17 chez le groupe 1 et 18 chez le groupe 2. Le contenu énergétique total (en joules) des différents tissus ajusté par la masse totale de l'œuf a été



comparé entre les groupes à l'aide d'un modèle mixte linéaire générale (GLMM) avec l'œuf comme facteur aléatoire et la masse totale de l'œuf en covariable. Le contenu énergétique normalisé par la masse de chaque tissu (en joules/gramme) a aussi été analysé en utilisant un GLMM avec le groupe comme facteur fixe et l'œuf comme facteur aléatoire. Enfin, nous avons suivi le comportement d'attention parentale durant 7 semaines pour chacune des canes en relevant leurs comportements de vigilance et de maintenance. Le comportement d'attention parentale a été caractérisé par un indice d'attention parentale (voir article 8, p.283) qui a été comparé en utilisant un GLMM avec le groupe et la semaine d'observation comme facteurs fixe. La semaine a été spécifiée comme facteur répété et les femelles comme facteur aléatoire. Les variations de la fréquence des comportements de vigilance et de maintenance ont été analysées avec un modèle mixte linéaire généralisé basé sur une loi de Poisson. Les facteurs ont été spécifiés comme dans le modèle précédent. Le succès reproducteur, des trois groupes, c'est-à-dire le nombre de canetons arrivés à l'indépendance par cane, a été comparé en utilisant un modèle mixte linéaire généralisé basé sur une loi de Poisson. Le facteur groupe correspondait au facteur fixe et les femelles au facteur aléatoire. Les modèles ont été réalisés en utilisant les procédures Mixed et Glimmix dans SAS 9.2 (SAS Institute Corporation).

### *2.1.1 Date de ponte*

Concernant la date de la première ponte, elle a eu lieu le 12 février 2007 chez le groupe témoin et le 23 février 2007 chez les deux groupes dérangés. Il apparaît donc un léger retard de la ponte d'une dizaine de jours chez les groupes dérangés. Cependant, ce retard ne semble pas important sachant que la saison de ponte s'étend jusqu'au mois de mai chez les canards colvert et que des pontes au mois de février correspondent à des pontes exceptionnellement précoces (Del Hoyo *et al.* 1992) surtout en captivité (absence de migration).

### *2.1.2 Investissement dans les œufs*

La masse totale moyenne des œufs ne diffèrent pas entre les trois groupes ( $F_{2,34} = 0.7$ ,  $p = 0.49$  ; Tableau 2). De plus, le contenu énergétique du jaune ajusté pour la masse totale de l'œuf ne diffère

pas entre les trois groupes ( $F_{2,51} = 1.7$ ,  $p = 0.19$  ; Tableau 2) et il en va de même pour le contenu énergétique normalisé par la masse du jaune ( $F_{2,37} = 1.7$ ,  $p = 0.20$  ; Tableau 2). On obtient les mêmes résultats pour le blanc ( $F_{2,51} = 0.3$ ,  $p = 0.74$  ;  $F_{2,52} = 0.1$ ,  $p = 0.88$  ; Tableau 2) et pour la coquille ( $F_{2,51} = 2.3$ ,  $p = 0.11$  ;  $F_{2,52} = 1.9$ ,  $p = 0.16$  ; Tableau 2).

Tableau 2 : Masse totale moyenne ( $\pm$  SE) des œufs et contenu énergétique total et normalisé moyens ( $\pm$  SE) du jaune, du blanc et de la coquille des œufs pour les trois groupes.

	Jaune		Blanc		Coquille		
	Masse totale œuf, g	Contenu énergétique total, kJ	Contenu énergétique normalisé, kJ.g <sup>-1</sup>	Contenu énergétique total, kJ	Contenu énergétique normalisé, kJ.g <sup>-1</sup>	Contenu énergétique total, kJ	Contenu énergétique normalisé, kJ.g <sup>-1</sup>
GT	52.4 $\pm$ 1.5	280,3 $\pm$ 9,1	32,01 $\pm$ 0,06	98,0 $\pm$ 5,2	23,91 $\pm$ 0,23	6,7 $\pm$ 0,3	1,5 $\pm$ 0,1
G1	53.9 $\pm$ 1.6	303,8 $\pm$ 11,3	32,15 $\pm$ 0,06	105,4 $\pm$ 6,6	23,77 $\pm$ 0,26	6,7 $\pm$ 0,7	1,6 $\pm$ 0,2
G2	51.2 $\pm$ 1.5	275,7 $\pm$ 9,5	32,10 $\pm$ 0,06	95,2 $\pm$ 4,3	23,79 $\pm$ 0,19	7,8 $\pm$ 0,5	1,8 $\pm$ 0,1

### 2.1.3 Elevage des jeunes

#### 2.1.3.1 Caractérisation du comportement d'attention parentale

Chez le canard colvert, la femelle élève seule ses canetons et il a été décrit qu'il existe un lien fort entre elle et ses jeunes durant les deux premières semaines et que ce lien disparaît 6 à 7 semaines après l'éclosion (Afton et Paulus 1992). De plus, chez les oiseaux nidicoles le comportement d'attention parentale est sous le contrôle de la prolactine (Buntin 1996) mais ce rôle est plus controversé chez les espèces nidifuges (Goldsmith 1991). En effet, selon les espèces une diminution importante ou plus lente de la prolactine après l'éclosion a été mise en évidence (Goldsmith et Williams 1980, Dittami 1981, Oring *et al.* 1986, Hall 1987, Oring *et al.* 1988).

Pour déterminer si le comportement d'attention parentale chez cette espèce est régulé par la prolactine nous avons caractérisé précisément ce comportement. Nous avons aussi mesuré la concentration plasmatique de prolactine chez les femelles au cours de la période d'élevage.

## Article 8

Post-hatching parental care behaviour and hormonal status in precocial birds

Boos Mathieu, Zimmer Cédric, Carrière Aurélie, Robin Jean-Patrice and Petit Odile

Behavioural Processes 2007. 76: 206-214

## Post-hatching parental care behaviour and hormonal status in a precocial bird

Mathieu Boos<sup>a,b</sup>, Cédric Zimmer<sup>a</sup>, Aurélie Carriere<sup>a</sup>,  
Jean-Patrice Robin<sup>a</sup>, Odile Petit<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Institut pluridisciplinaire Hubert-Curien, département écologie, physiologie et éthologie, UMR 7178 CNRS-ULP,  
23, rue Becquerel, 67087 Strasbourg cedex 2, France

<sup>b</sup> Naturaconst@, 14, rue principale, 67270 Wilshausen, France

Received 6 February 2007; received in revised form 16 April 2007; accepted 12 May 2007

### Abstract

In birds, the link between parental care behaviour and prolactin release during incubation persists after hatching in altricial birds, but has never been precisely studied during the whole rearing period in precocial species, such as ducks. The present study aims to understand how changes in parental care after hatching are related to circulating prolactin levels in mallard hens rearing ducklings. Blood was sampled in hens over at least 13 post-hatching weeks and the behaviour of the hens and the ducklings was recorded daily until fledging. Contacts between hens and the ducklings, leadership of the ducklings and gathering of them steadily decreased over post-hatching time. Conversely, resting, preening and agonistic behaviour of hens towards ducklings increased. Plasma prolactin concentrations remained at high levels after hatching and then fell after week 6 when body mass and structural size of the young were close to those of the hen. Parental care behaviour declined linearly with brood age, showed a disruption of the hen-brood bond at week 6 post-hatching and was related to prolactin concentration according to a sigmoid function. Our results suggest that a definite threshold in circulating prolactin is necessary to promote and/or to maintain post-hatching parental care in ducks.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Prolactin; Hen-brood bond; Post-hatching period; *Anatidae*

### 1. Introduction

In birds, parental care behaviour is a key concept of parental investment. According to life-history traits, it is selected for differently among bird species and relies on the trade-off between increasing survival of the offspring while impairing that of the parents for future reproduction (Kear, 1970; Afton and Paulus, 1992). Trivers (1974) has suggested that the parent-offspring conflict is expected to increase during the period of parental care, and offspring are expected to compete with their parents. During incubation, parental care is linked to prolactin secretion in a large number of species (Schradin and Anzenberger, 1999). However, after hatching, although it has been shown that this hormone is involved in the control of parental behaviour in altricial birds (Silverin and Goldsmith, 1984; Hall et al., 1986; Schoech et al., 1996; Lormée et al., 1999), its role in precocial species

is more controversial (Goldsmith, 1991). Indeed, depending on the species, either sharp drops or slow decreases of adult prolactin levels after hatching have been reported (Goldsmith and Williams, 1980; Dittami, 1981; Oring et al., 1986; Hall, 1987; Oring et al., 1988). While data for common eiders, *Somateria mollissima*, suggest that a threshold prolactin level should be reached to promote parental care (Criscuolo et al., 2002), the direct link between the hormonal status and the intensity of this behaviour has in fact never been specifically explored.

To investigate such a possible hormonal-behavioural relationship in precocial birds, the mallard duck *Anas platyrhynchos* is a suitable model. In this species, a drop in plasma prolactin concentration has been reported just after hatching (Goldsmith and Williams, 1980; Hall, 1987), while a strong hen-brood attentiveness has been observed at least during the first 2–3 weeks post-hatching, before a complete disruption of the bond in about 6–7 weeks old ducklings (i.e. 2–3 weeks before fledging, Talent et al., 1983; Afton and Paulus, 1992). From these data it could be concluded that if prolactin is still involved in parental care after hatching in such species, plasma levels of prolactin should

\* Corresponding author. Tel.: +33 3 88 10 69 24; fax: +33 3 88 10 69 06.  
E-mail address: [odile.petit@c-strasbourg.fr](mailto:odile.petit@c-strasbourg.fr) (O. Petit).

be correlated with the intensity of the hen-brood bond and be maintained above a threshold value. To check this hypothesis, we performed here the first detailed study of parental care behaviours in mallard females during the rearing of ducklings, from hatching to fledging, in relation to the hormonal status of the females over the same period. To take into account possible effects of the photoperiod on prolactin secretion and nest abandonment (Hector and Goldsmith, 1985; Bluhm, 1992; Lormée et al., 1999; Sockman et al., 2004) the present study was undertaken over spring and summer. Together with prolactin, plasma levels of corticosterone, known to interact with prolactin release (Crisuolo, 2001; for review see Chastel et al., 2005) and testosterone (potentially involved in aggressive behaviour, Dittami, 1981) were also measured.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Animals and experimental condition

The present study was conducted in 2003 on seven adult mallard pairs obtained from the registered breeding field station of the Canarderie de la Ronde (Cère la Ronde, France). About two months before the nesting period, the pairs were held in separated outdoor pens (12 m<sup>2</sup>), each including a nest and a 1 m<sup>2</sup> basin provided with clear running water. Each side of the pen (except the top) was opaque to avoid any visual contact between the pens and to prevent any external stress especially from the observers during periods of behaviour monitoring. After laying and as soon as the hen started incubation, males were removed from the pen. Ducklings hatched between 15 April and 23 June and were continuously held with the hen until mid September, i.e. well after fledging.

The ducks were subjected throughout the study to ambient temperature and natural photoperiods. A balanced commercial food adapted for adults and one specific for ducklings (Sanders Corporation), along with fresh drinking water, were provided *ad libitum*.

### 2.2. Blood sampling and weighing

Blood samples were taken from all hens every 3/4 days during at least 13 weeks from hatching, between 10:00 and 12:00 am. Hens were caught in the pen with a net and transported to a nearby room. Within three minutes after capture, blood was collected into a heparinized tube by puncture of the brachial vein, centrifugated and then plasma was frozen at  $-20^{\circ}\text{C}$  until analysis. Before being released back to the pen, the hen was weighed ( $\pm 1$  g) and the post-nuptial moulting status of the plumage was determined by visual examination. Three scores were distinguished: no moult, body moult (feathers along side and flanks), moult of wing feathers. Body mass was used as a condition index. No size corrections were applied since structural measurements do not significantly explain body reserves in hen mallards and can be misleading (Boos et al., 2000; Green, 2001). Hens were not separated from the brood for more than 10 min. Once a week, ducklings were weighed ( $\pm 1$  g) and immediately released in the pen. Ducklings were caught as groups of three or

less so that the female was always in contact with some of her brood.

### 2.3. Hormone assays

Hormonal plasma levels were determined by radio-immunoassay. Prolactin concentration was determined at CEBC in Chizé (France) using an avian antibody for prolactin (Lormée et al., 1999, 2000). Testosterone and corticosterone assays were made in our laboratory using <sup>125</sup>I RIA kit double antibody from ICN Biomedicals (<http://www.icnbiomed.com>). All plasma samples were assayed at the same time in duplicate to eliminate inter-assay variation. The intra-assay coefficient of variation was 5.5% ( $n = 6$  duplicates) and 2.0% ( $n = 8$  duplicates) for prolactin and corticosterone, respectively (values could not be determined for testosterone because of detection level, see results section).

### 2.4. Behavioural observations

Females and ducklings were observed according to the focal sampling method (Altmann, 1974) five times a week by the same observer (A.C.). On the days blood was sampled, no other observations except the recording of vocalization emitted by the hen at release were performed. Each focal observation lasted 40 min and was carried out between 15:50 and 19:30. From preliminary observations conducted in the field one year before, this period corresponded to maximum daytime activity (Carrière, unpublished data). Observations were randomized weekly so that a subject observed the first day at 15:50 was observed at, for example, 18:50 the following day. Observations started one day after hatching, i.e. when ducklings had left the nest (Kear, 1970). Behavioural monitoring was carried out over nine weeks, until ducklings fledged (Gollop and Marshall, 1954).

The observer was outside of the pen in an opaque black cabin so that she could not be seen by the ducks. The different behaviours displayed by the animals were monitored through a Plexiglas<sup>®</sup> plate covered with two-way mirror film. The time and duration of each behaviour displayed by the ducklings and the female were recorded with a stopwatch ( $\pm 1$  s).

### 2.5. Behavioural units

One year before the present study, a specific ethogram was established in the field on an independent group of free-ranging mallards. Behaviours were classified into four principal categories:

#### Self-maintenance behaviours of the female:

- Foraging: taking food items both in water and on the ground;
- Locomotion: walking and flying;
- Swimming: locomotion in water;
- Preening: cleaning the plumage with the bill or immersion of the head and the neck followed by a rapid raise of the body to sprinkle the back;
- Sleeping: head placed on the back or the bill under the scapulars.

### Intensity of the hen-brood bond:

Close proximity, i.e. body contacts and distance (<1 m) between the hen and the offspring (duration in seconds);

Hen being distant (>1 m) from the ducklings (duration in seconds);

Keeping proximity, i.e. the number of times (per hour) the hen joins the ducklings or the ducklings join the hen;

Disrupting proximity, i.e. the number of times (per hour) the hen moves away (>1 m) from the ducklings or the ducklings move away from the hen;

- Leadership: the number of times (per hour) the hen follows ducklings or the number of times (per hour) the ducklings follow their mother.

### Vigilance of the hen:

- Alert behaviours: the hen raises her head or inclines the head with a stretched neck;

- “Motionless awake-upright” behaviours: the hen remains upright without moving and observes its surrounds.

- “Motionless awake laying”: same behaviour as above but the female is laying.

### Agonistic behaviours:

Avoidance: one animal moves away when another one approaches;

Pecking: one animal pecks another one.

These behaviours were recorded whenever they occurred between the hen and offspring or between the ducklings. In addition, to evaluate the strength of cohesion between the ducklings, gathering or dispersion were also noted. The ducklings were considered to be gathered when the distance between them did not exceed 50 cm, and otherwise as dispersed.

In fact, each of these categories of behaviours will enable the determination of the intensity of the parental care each week. If the hen is mainly involved in brood care, she will have less time to care about herself. This probably means that self-maintenance behaviours will vary through the rearing period, being less fre-

quent in the first weeks after hatching and more frequent close to fledging. The intensity of the hen-brood bond will indicate how much the hen takes care of the ducklings by keeping close proximity with them. When parental care decreases, then the hen will probably stay more distant from offspring. Vigilance behaviours are involved in the protection of ducklings all the time since they will be vulnerable to predators. Lastly, agonistic behaviours are the sign of an increase in the independence of the ducklings, which implies that the hen could decrease her attention towards them.

### 2.6. Statistical analysis

The duration of behaviours such as foraging, preening, alert, “Motionless awake-upright”, the distant or contact duration between the female and the ducklings and the gathering/dispersion duration of the ducklings were timed in seconds and summed on a weekly basis. The duration of observations each week and for each family was equal ( $5 \times 40$  min). Specific behaviours such as leadership, maintenance of the proximity when the female or the ducklings move nearer or further away, pecking and avoidance were expressed in frequencies ( $n$ /hour) and averaged on a weekly basis. Average body mass and hormone concentrations were calculated on a weekly basis.

Weekly differences were tested with a one-way ANOVA for repeated measurements followed by a post-ANOVA Holm–Sidak test for normally distributed data and after checking for homogeneity of variance (Sigmastat 3.0, SPSS Software). When normality and homogeneity of variance failed, an ANOVA on ranks for repeated measures (Friedman nonparametric test) was performed.

A principal component analysis (PCA) based on the correlation matrix (Minitab 13 software) was carried out on all behavioural parameters displayed by each female over the nine weeks post-hatching period. Scores resulting from the first axis were used as an index of the intensity of parental care. Parental

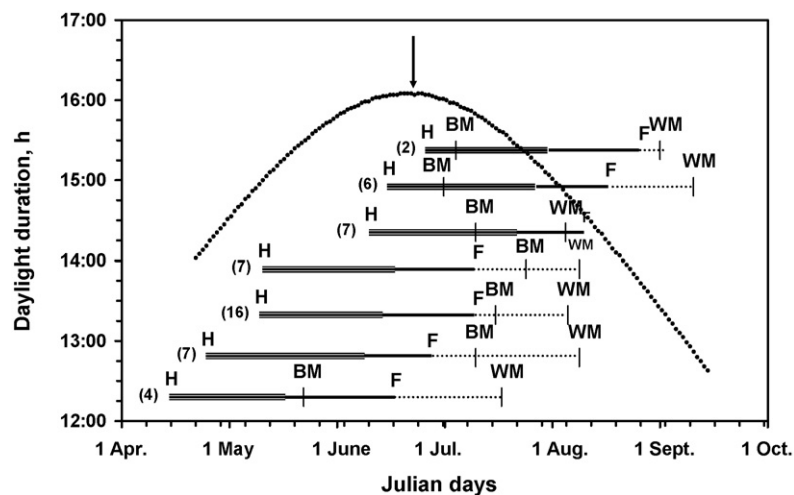


Fig. 1. Daylight duration (large dots) for the study area (Strasbourg,  $7^{\circ}45'E$ ,  $48^{\circ}35'N$ ) and time-course of breeding and moulting for the seven rearing mallard hens. Periods with (double line) and without (single line) parental care are indicated with solid lines whereas the post-fledging period is represented with a dashed line. The times of hatching (H) and fledging (F) as well as the onset of body moult (BM) and wing moult (WM) are also indicated. Brood size is indicated in brackets. The black arrow shows the summer solstice.

care was considered as completed when the parental care index remained negative. ANCOVA using weeks as a covariable was used to test for differences of parental care behaviour index and hormone concentrations between females.

Least squares correlations were performed by using Sigma Plot SPSS (7.0).

Values provided are means  $\pm$  S.E. All statistical tests are two-tailed, and probability levels less than 0.05 were considered as significant.

### 3. Results

#### 3.1. Timing of breeding and moulting, and changes in body mass

Hatching occurred between 15 April and 23 June (Fig. 1) with brood sizes ranging from two to fourteen ducklings. All chicks fledged during week 9 post-hatching.

For the earliest breeding female moulting of body feathers began on 21 May, and between 29 June and 7 July for the others. In all hens, this moult started before offspring fledged but in the three latest breeding females (hatching in June), it was initiated before the end of the parental care phase (Fig. 1). Moulting of wing feathers started between mid-July and early September and well after parental care behaviour had ended.

Body mass of females did not change over post-hatching time ( $F_{8,46} = 1.40, p = 0.19$ ). Mean body mass of ducklings increased with age according to a sigmoid curve, body mass gain being close to zero at fledging. At week 6 post-hatching, i.e. when parental care was resumed (see below), body mass of ducklings reached  $84.2 \pm 9.6\%$  of the hen's body mass. At fledging, ducklings weighed  $95.2 \pm 0.6\%$  of the hen's body mass.

#### 3.2. Behaviour

Nine of the 22 behavioural parameters recorded changed significantly ( $p < 0.05$ ) from hatching to fledging (Table 1). The time spent by the hen resting, preening and being more than 1 m from ducklings as well as the frequency of ducklings pecked by the female increased by 3, 3, 6 and 20 fold, respectively, during the post-hatching period (Figs. 2a–c). Conversely, the leadership behaviour of the female and of ducklings as well as the time spent by the hen in close proximity with the ducklings decreased with the post-hatching time reaching low values by week 6 (Figs. 3a–c). The frequency of duckling approaches towards the hen and the duration of gathering among the ducklings decreased after week 1 and 6, respectively (Figs. 3d,e).

Alert behaviour of the female tended to change significantly within the nine weeks post-hatching ( $F_{8,46} = 1.90, p = 0.08$ ). It remained at a high level until week 4 post-hatching (range from  $466 \pm 69$  to  $568 \pm 93$  s), then decreased to values ranging from  $444 \pm 129$  to  $234 \pm 57$  s).

From the first week, at the moment of its release, the hen always vocalized. This behaviour ceased after week 6 post-hatching.

The first axis of the PCA, representing the parental care index, accounted for 50% of the variation of all the behavioural vari-

Table 1

Variation of behavioural parameters related to the hen-duckling bond during the nine weeks post-hatching in the mallard ( $\chi^2$  indication is for the non-parametric Friedman test)

Behavioural parameters	Significance level
<b>Hen behaviours</b>	
<b>Sleeping</b>	$\chi^2_8 = 17.34; p = 0.027$
<b>Preening</b>	$F_{8,46} = 2.26; p = 0.040$
<b>Close proximity</b>	$F_{8,46} = 7.68; p < 0.001$
<b>Distance &gt; 1 m</b>	$F_{8,46} = 5.99; p < 0.001$
<b>Female leadership (female leads the ducklings)</b>	$F_{8,46} = 2.43; p = 0.028$
<b>Duckling leadership (female follows the ducklings)</b>	$\chi^2_8 = 21.37; p < 0.006$
<b>Female pecking</b>	$\chi^2_8 = 16.23; p = 0.039$
“Motionless awake-upright”	$F_{8,46} = 1.07; p = 0.399$
Survey	$F_{8,46} = 1.90; p = 0.083$
Feeding	$\chi^2_8 = 5.73; p = 0.677$
Vocalization	$\chi^2_8 = 6.42; p = 0.600$
Locomotion	$F_{8,46} = 0.69; p = 0.696$
Motionless awake laying	$\chi^2_8 = 10.88; p = 0.209$
Swimming	$\chi^2_8 = 13.33; p = 0.101$
Hen rejoins her ducklings	$F_{8,46} = 1.17; p = 0.339$
Hen avoids her ducklings	$F_{8,46} = 1.18; p = 0.329$
Hen leaves her ducklings	$F_{8,46} = 0.30; p = 0.964$
<b>Duckling behaviours</b>	
<b>Ducklings approach the hen</b>	$F_{8,46} = 2.95; p = 0.010$
<b>Duckling gathering</b>	$F_{8,46} = 6.01; p < 0.001$
Ducklings leave the hen	$F_{8,46} = 1.90; p = 0.085$
Pecking of ducklings toward the hen	$F_{8,46} = 1.71; p = 0.122$
Ducklings avoid the hen	$F_{8,46} = 1.54; p = 0.171$

Bold font corresponds to parameters that changed significantly over time post-hatching ( $p < 0.05$ ).

ables displayed by the females. It was negatively correlated with sleeping, preening, distance (>1 m) and female pecking (variable loads between  $-0.42$  and  $-0.25$ ), and positively correlated with close proximity, female leadership and following (variable loads between 0.34 and 0.40). This parental care index changed over the post-hatching period ( $F_{8,46} = 16.34, p < 0.001$ ). It decreased linearly with time post-hatching (Fig. 4a), the mean reaching negative values from week 5 (individual range: week 4 to 6). There was no difference in parental index pattern between hens ( $F_{6,47} = 0.09, NS$ ). Parental care duration and strength were not related to the brood size nor to the hatching date ( $F_{1,6} < 1.48, NS$ ). Mean parental care index decreased together with duckling body mass ( $r^2 = 0.98, F_{1,8} = 271.04, p < 0.001$ ).

#### 3.3. Hormones

Plasma testosterone concentration always remained under the threshold of detection (0.1 ng/ml). Plasma corticosterone concentrations ranged between  $33.2 \pm 7.7$  and  $53.7 \pm 8.0$  ng/ml and did not change over time post-hatching ( $F_{12,62} = 0.88, NS$ ).

According to post-hatching time, prolactinemia did not differ between females ( $F_{6,47} = 0.97, NS$ ) but changed significantly ( $F_{12,70} = 4.92, p < 0.001$ ) over time during the first 13 weeks. Prolactinemia was maximal during the first week ( $49.7 \pm 2.4$  ng/ml), and significantly different from values at weeks 7–13 ( $t_{12} > 3.51, p < 0.001$ ). High levels ( $34.2 \pm 5.8$  to

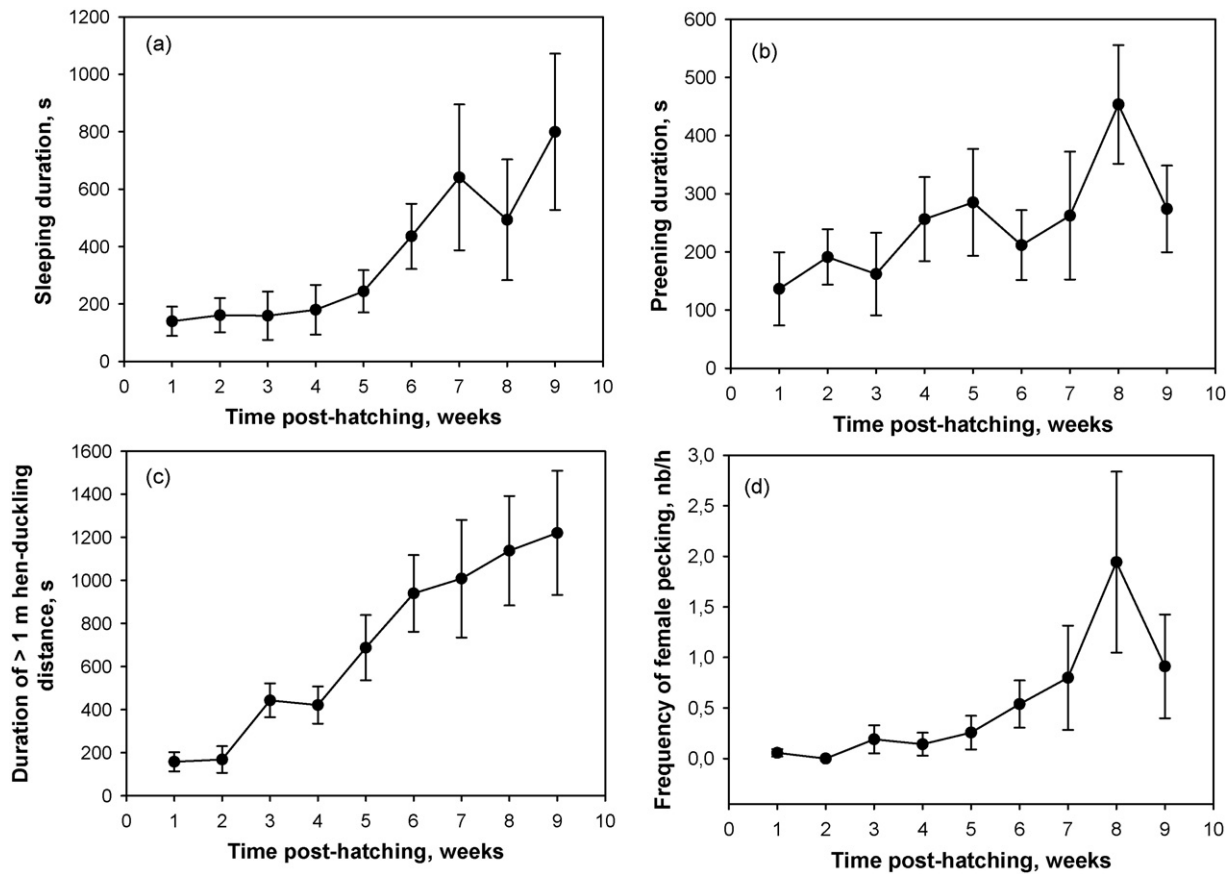


Fig. 2. Changes in mean ( $\pm$  S.E.) sleeping (a), preening (b) and distance  $>1$  m (c) durations, and in pecking frequency (d) of hen mallards between hatching and fledging. All changes were significant at  $p < 0.05$  (Table 1).

$40.3 \pm 3.9$  ng/ml) were maintained until week 6 (Fig. 4b). Plasma prolactin concentrations were then depressed by 36% on average and remained unchanged until week 13, ranging from  $21.5 \pm 4.8$  to  $30.9 \pm 5.3$  ng/ml.

Prolactin concentrations of the first six weeks post-hatching, i.e. corresponding to the parental care phase, were not related to date ( $F_{1,40} = 0.81$ , NS), but values from week 7 significantly decreased with date ( $r^2 = 0.46$ ,  $F_{1,73} = 63.26$ ,  $p < 0.0001$ ). In all females, the lowest plasma levels of the reproductive season ( $11.4 \pm 0.7$  ng/ml) were reached between 1 and 18 August, independently of the hatching date, with inter- and intra-individual variability in the plasma prolactin concentration being reduced five-fold.

### 3.4. Hormones and behaviour

Mean weekly values of the parental care index were related to the mean weekly prolactin concentrations according to a sigmoidal curve ( $r^2 = 0.81$ ,  $F_{3,8} = 7.03$ ,  $p < 0.05$ , Fig. 5). The shape of the relationship between the two parameters was similar to that of a dose-response curve, the index of parental care increasing abruptly for plasma concentrations of prolactin ranging between 34 and 40 ng/ml. Logarithmic transformed mean prolactinemia and duckling body mass were negatively correlated ( $r^2 = 0.60$ ,  $F_{1,8} = 13.07$ ,  $p < 0.01$ ). There was no rela-

tionship between prolactin and corticosterone concentrations ( $F_{1,12} = 1.14$ , NS).

## 4. Discussion

From the study two major results emerged: (1) there is a progressive decline of parental care during the six weeks post-hatching, followed by a non-parental care phase, until fledging, (2) there is a positive relationship between this parental care behaviour and prolactinemia that remains at a high level for several weeks after hatching.

### 4.1. Behaviour

Overall, our data obtained in laboratory conditions give new and fundamental evidence to confirm and understand those originating from field observations in ducks and in other precocial species, i.e. the degree of female attentiveness toward her brood is the highest within the first two weeks after hatching (Kear, 1970; Afton and Paulus, 1992; Sherry, 1981; Richard-Yris et al., 1988) before brood abandonment after 6–7 weeks post-hatching (Ringelman et al., 1982; Talent et al., 1983). However, for hatching occurring between mid-April and late June, we show that the strength and duration of parental care behaviour (1) was not enhanced by the fact that hens and their brood were maintained

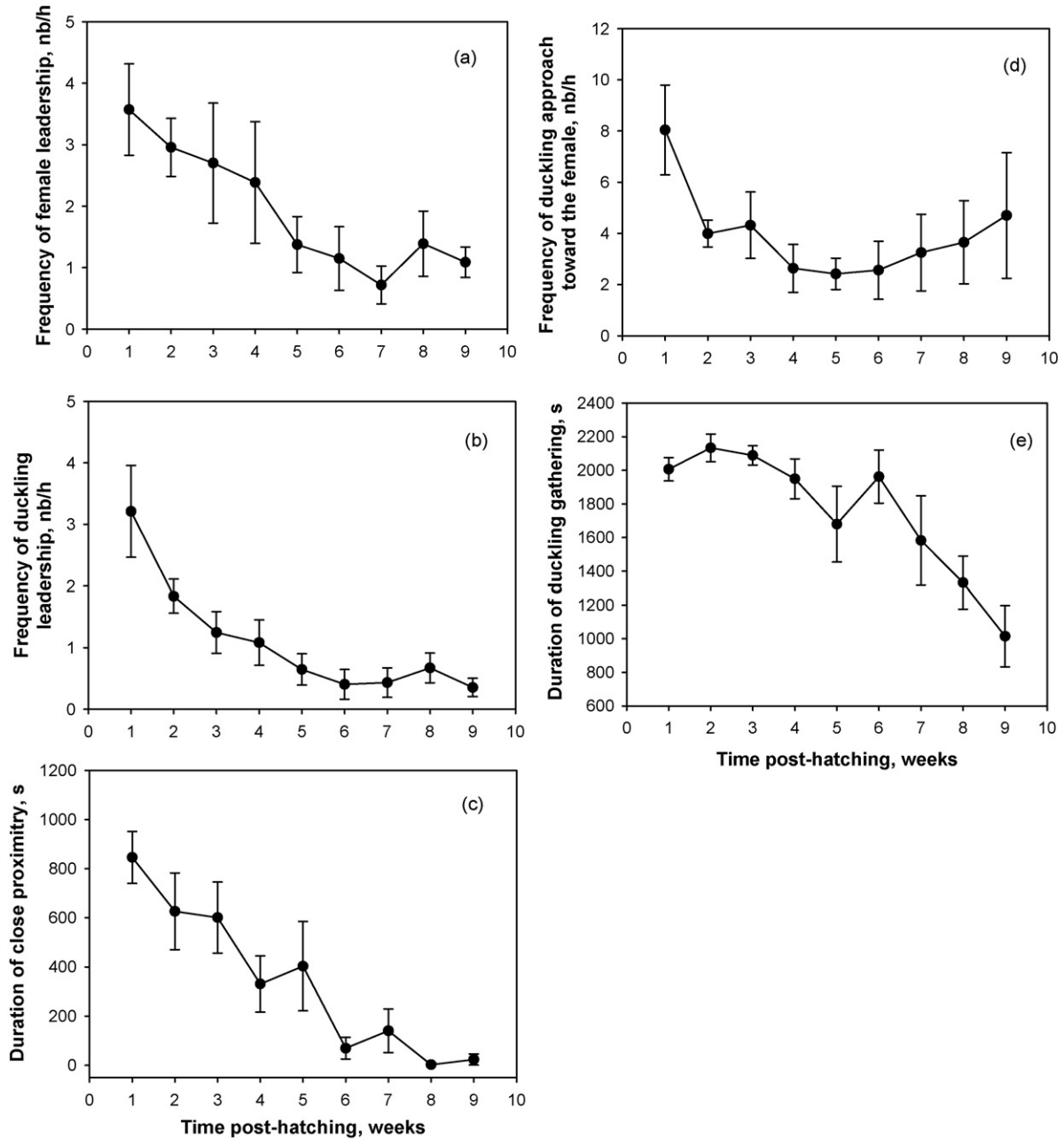


Fig. 3. Changes in mean ( $\pm$  S.E.) leadership frequencies of hen (a) and duckling (b) mallards, duration of close contact between the hen and the ducklings (c), frequency of duckling approaches towards hen (d) and duration of duckling gathering (e) from hatching to fledging. All changes were significant at  $p < 0.05$  (Table 1).

in close, forced proximity for up to 13 weeks, (2) was not lower in late than in early breeding females, and (3) did not support the *brood-size hypothesis* which suggests that females attending larger broods provide more care to their offsprings (see Pöysä et al., 1997 for a review). This latter result is in accordance with that on brood abandonment fates reported for other dabbling ducks (Gendron and Clark, 2000) and with that reported by Pietz and Buhl (1999) who found no relation between the hen behaviour and brood size in wild free ranging mallards. Overall, we agree with the model developed by Lazarus and Inglis (1986) expecting that, especially in precocial birds, parental investment remains independent from brood size if the investment benefits

all ducklings simultaneously and if predators do not take the entire brood when they attack.

The strength of parental care behaviour has been evaluated in some precocial species from the alert behaviour of the female, based on the fact that in species like pink-footed geese, *Anser brachyrhynchus*, and in wild free-ranging mallards, parents rearing a brood spent much more time being alert than those without young (Lazarus and Inglis, 1978; Pietz and Buhl, 1999). From our data this behaviour was observed with the highest frequency during the four weeks post-hatching and tended to decrease afterwards, but non-significantly. In agreement with this latter observation, changes in time spent alert according to the



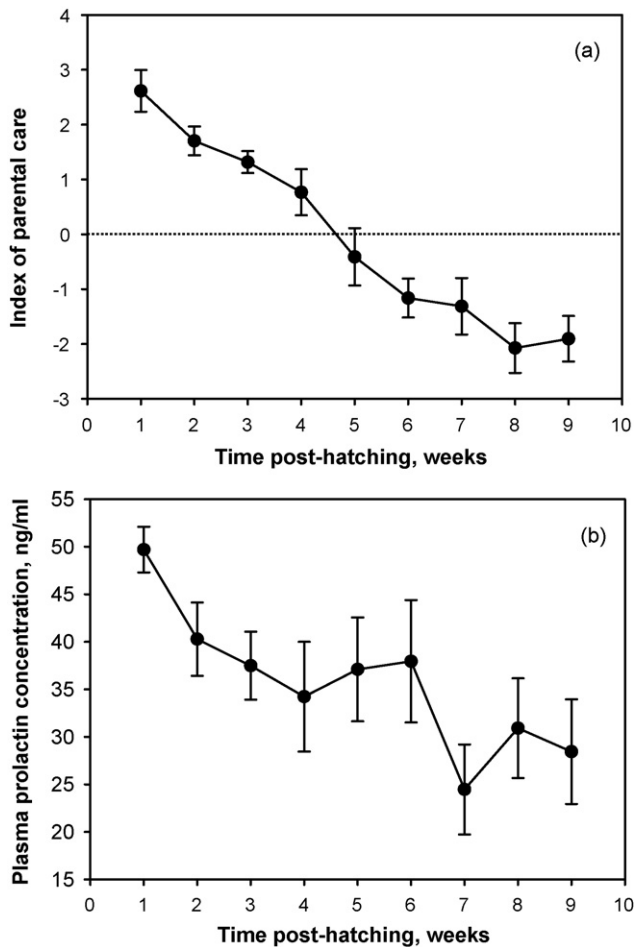


Fig. 4. Changes in the mean ( $\pm$  S.E.) index of parental care behaviour (a) and plasma prolactin concentration in rearing female mallards over nine weeks post-hatching. Prolactin values for weeks 10 to 13 ( $21.5 \pm 4.8$  to  $24.0 \pm 6.0$ ) are not shown. Changes were significant at  $p < 0.001$  (see text for details).

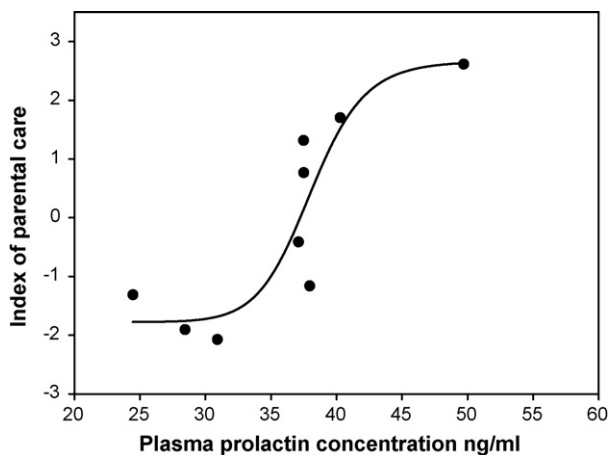


Fig. 5. Relationship between plasma prolactin concentration of mallard hens and parental care behaviour index. Each point represents the mean for each of the nine weeks post-hatching during which behaviour was studied. One female exhibited a transient low prolactin value at week 4 (i.e.  $14.6$  ng/ml, three times lower than for weeks 1 to 3 and 5, 6). This abnormal value was removed from this analysis.

brood age gave controversial results among duck species (see Pietz and Buhl, 1999 for a review). This suggests that the analysis of the alert behaviour alone (or more generally of a single behaviour) is not sufficient to evaluate precisely the strength of parental care. Indeed, of the 22 behavioural parameters we recorded, 40% (pertaining to three of the four behavioural categories) were significantly modified during the rearing period. In agreement with the leadership character of hen and ducklings, females spent most of their time being close to the brood during the first five weeks post-hatching. This was at the expense of the time allocated to self-maintenance behaviours such as preening and sleeping. From week 6 post-hatching, females clearly expressed an agonistic behaviour toward the brood and the duration of their self-maintenance behaviours increased. At that time the frequency of approach attempts by the brood towards the female was also lowered and, interestingly, the ducklings gathered less. Altogether, these behaviours that developed during the non-parental care period suggest a kind of reciprocal intolerance between the different individuals of the hen-brood unit. To sum up, we show here that the hen-brood bond as well as its disruption (here at week 6 post-hatching) appear to be a complex phenomenon requiring a complete behavioural analysis to be fully characterized.

In birds such as ducks, females have to moult before the fall migration. This could lead to possible energy and nutritional conflicts with brood-rearing at least in late breeders (Ringelman et al., 1982; Hohman et al., 1992). In our study, body moult (along the sides and flanks) that begun globally in early July, whatever the age of the brood, did not impair the parental care behaviour, and vice versa. Conversely, the intense moult of flight feathers was always initiated after the disruption of the parental care period. This latter result is consistent with the idea of conflicts in nutritional requirement between rearing young and wing moulting (Hohman et al., 1992).

#### 4.2. Prolactin and parental care

In precocial birds including ducks, prolactin is involved in parental care and nest attentiveness during incubation (Goldsmith, 1991; Hall, 1991; Criscuolo et al., 2002). In female mallards, mean circulating prolactin concentrations have been shown to increase from about 30 ng/ml to 50–55 ng/ml throughout the course of incubation before dropping sharply immediately after hatching (Goldsmith and Williams, 1980; Bluhm, 1992; Hall, 1987). Thus, conversely to altricial species, this hormone was generally considered not to be involved in parental care during young-rearing in precocial birds (see Goldsmith, 1991 for a review). However, results on the Spotted Sandpiper, *Actidris macularia*, the Wilson's Phalarope, *Phalaropus tricolor*, the Bar-headed Goose, *Anser indicus*, the Common Eider and the Bantam hen, *Gallus domesticus*, mitigate this assumption (Dittami, 1981; Oring et al., 1986, 1988; Sharp et al., 1988; Criscuolo et al., 2002). In those precocial species, although prolactin concentration is set at a lower level than during incubation, it remains higher than in adults not rearing young. This fact suggests that this hormone is likely involved in parental care after hatching (Criscuolo et al., 2002). By analysing con-

comitantly the behaviour and the hormonal profile of the hen, we show here that, in a precocial species, a well-defined relationship between parental behaviour and prolactin release was present throughout the duckling-rearing period. This decline of prolactinemia concomitant to the hen-brood bond disruption, gives strong arguments for a role of prolactin in promoting and/or maintaining post-hatching parental care as demonstrated for altricial species. Moreover, the index of parental care was correlated with prolactin concentrations according to a sigmoïde curve (Fig. 5), suggesting that this behaviour may only be stimulated once plasma prolactin concentrations exceed a definite threshold level. Additionally, the contribution of other factors such as the activity and the growth of the ducklings may not be excluded. External stimuli are important factors stimulating prolactin secretion which in turn increase readiness to brood care. In their experiments of nest deprivation, Sharp et al. (1988) showed a decline in plasma prolactin in the hen when not given chicks, suggesting that chicks may stimulate or at least maintain to some extent prolactin levels for some period of time after hatching. In the same way, changes in duckling growth and behaviour could intervene in the control of prolactin secretion and consequently contribute to stimulate the ending of parental care. Firstly, the mean body mass of the six-week-old ducklings was about 84% of that of the females and, at this age, their morphological aspect (size and plumage) is close to that of the hen (Gollop and Marshall, 1954; Anonymous, 1982). Secondly, considering that ducklings become independent from week 6 by remaining distant from the hen, together with the female intolerance towards ducklings, suggests that the activity changes of ducklings may enhance hen-brood bond disruption through the prolactin secretion pathway (Sharp et al., 1988). Such a process would be adaptive since, at this age, ducklings may become serious food competitors according to the high energy and nutritional needs of the female (Ringelman et al., 1982).

Although, the release of prolactin is strongly proximately controlled (Silverin and Goldsmith, 1984; Hector and Goldsmith, 1985; Goldsmith, 1991), prolactinemia also partly depends on an endogenously timed mechanism photoperiodically driven (Hector and Goldsmith, 1985; Bluhm, 1992; Garcia et al., 1996; Lormée et al., 1999), such that its levels can, to some extent, be associated with date (Bluhm et al., 1989; Sockman et al., 2004). Nevertheless, our data show that during the post-hatching reproductive phase, there was no significant influence of date on the parental care associated prolactinemia pattern. This reinforces the idea that behavioural changes together with duckling growth contributed more than date to the variation of prolactin concentration, at least when hatching occurs from mid-April to late June. However, date had a high influence on prolactinemia after the hen brood-bond disruption. This suggests that the maintenance of a low prolactinemia ( $11.4 \pm 0.7$  ng/ml) at the end of the breeding period, whatever hatching date, could correspond to the return at a basal level after a spontaneously controlled decline of prolactin secretion. Such a decline would be adaptive relatively to the physiological changes the hen is subjected before migration (wing moulting, body fuel and muscles mass adjustments Hohman et al., 1992). As pro-

posed for the Common Eider (Crisuolo et al., 2002), it might therefore be supposed from our data that parental care could no more be promoted or maintained after a basal threshold level has been reached. Nevertheless, we lack sufficient data to demonstrate whether the photoperiod could have a major influence on prolactinemia and the associated post-hatching parental care phase in more late nesting females, i.e. leading to a precocious abandonment of the offspring (Hector and Goldsmith, 1985).

## 5. Conclusion

Under *ad libitum* food supply and captive conditions, we showed that in mallards, a precocial bird, there is a link between prolactin concentration and the parental care behaviour after hatching. This could help to better understand life-history traits about the reproductive investment of the female which under different environmental conditions, has to match on one hand its own nutritional and physiological constraints, and on the other hand protection toward the ducklings until they are able to survive by their own.

## Acknowledgments

Financial support to achieve this study was provided by a National Fund for Biological Research on Game and Wildlife Species. We thank Émilie Rauer, Claire Montemont, Alexis Bailis, François Auroy and Philippe Ivanic for technical assistance in blood sampling. Authors are also grateful to André Lacroix (CEBC, Chizé) and to Éliane Mioskowski (DEPE) for their technical support in hormone assays, to Dr. A.-S. El Ahmadi for his advises in statistical analyses, to Dr. René Groscolas for his comments on earlier draft, and to Joanna Monroe-Lignot and Lewis Halsey who advised on the English in earlier drafts of the manuscript.

## References

- Afton, A.D., Paulus, S.L., 1992. Incubation and brood care. In: Batt, B.D.J., Afton, A.D., Anderson, M.G., Ankney, C.D., Johnson, Kadlec, J.A., Krapu, G.L. (Eds.), *The Ecology and Management of Breeding Waterfowl*. University of Minnesota Press, Minneapolis, pp. 62–108.
- Altmann, J., 1974. Observational study of behavior: Sampling methods. *Behavior* 49, 227–267.
- Anonymous, 1982. Critères de déterminations de l'âge du canard colvert de la naissance à 9 semaines. Notes techniques, bulletin mensuel ONC N° 63. Fiche N° 10, Novembre.
- Bluhm, C.K., 1992. Environmental and endocrine control of waterfowl reproduction. In: Batt, B.D., et al. (Eds.), *The Ecology and Management of Breeding Waterfowl*. University of Minnesota Press, Minneapolis, pp. 323–364.
- Bluhm, C.K., Phillips, R.E., Burke, W.H., 1989. Vernal increases in prolactin levels of non breeding male and female canvasbacks (*Aythya valisineria*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 76, 286–291.
- Boos, M., Zorn, T., Koch, A., Le Maho, Y., Robin, J.P., 2000. Determining body fuels of wintering mallards. *C.R. Acad. Sci. Paris Life Sci.* 323, 183–193.
- Chastel, O., Lacroix, A., Weimerskirch, H., Gabrielsen, G.W., 2005. Modulation of prolactin but not corticosterone response to stress in relation to parental effort in a long-lived bird. *Horm. Behav.* 47, 459–466.
- Crisuolo, F., 2001. Aspects comportementaux et endocriniens du jeûne d'incubation de l'Eider à duvet (*Somateria mollissima*). Ph.D. thesis, university Claude-Bernard, Lyon, pp. 132.

- Criscuolo, F., Chastel, O., Grabielsen, G.W., Lacroix, A., Le Maho, Y., 2002. Factors affecting plasma concentrations of prolactin in the Common Eider, *Somateria mollissima*. Gen. Comp. Endocrinol. 125, 399–409.
- Dittami, J.P., 1981. Seasonal changes in the behavior and plasma titers of various hormones in Barheaded Geese, *Anser indicus*. Z. Tierpsychol. 55, 289–324.
- Garcia, V., Jouventin, P., Mauget, R., 1996. Parental care and the prolactin secretion pattern in the king penguin: an endogenously timed mechanism? Horm. Behav. 30, 259–265.
- Gendron, M., Clark, R.G., 2000. Factors affecting brood abandonment in gadwalls (*Anas strepera*). Can. J. Zool. 78, 327–331.
- Goldsmith, A.R., Williams, D.M., 1980. Incubation in mallards (*Anas platyrhynchos*): changes in plasma levels of prolactin and luteinizing hormone. J. Endocrinol. 86, 371–379.
- Goldsmith, A.R., 1991. Prolactin and avian reproductive strategies. In: Acta XX Congressus Internationalis Ornithologici, pp. 2063–2071.
- Gollop, J.B., Marshall, W.H., 1954. A guide for aging duck broods in the field. Mississippi Flyway Council Technical Section. 14 pp. Northern Prairie Wildlife Research Center Online. <http://www.npwrc.usgs.gov/resource/birds/ageduck/ageduck.htm>.
- Green, A.J., 2001. Mass/length residuals: measures of body condition or generators of spurious results? Ecology 82, 1473–1483.
- Hall, M.R., Harvey, S., Chadwick, A., 1986. Control of prolactin secretion in birds: a review. Gen. Comp. Endocrinol. 62, 171–184.
- Hall, M.R., 1987. External stimuli affecting incubation behavior and prolactin secretion in the duck (*Anas platyrhynchos*). Horm. Behav. 21, 269–287.
- Hall, M.R., 1991. Endocrinological and behavioral changes associated with the onset of incubation in the duck. Physiol. Behav. 50, 311–316.
- Hector, J.A.L., Goldsmith, A.R., 1985. The role of prolactin during incubation: comparative studies of three *Diomedea albatrosses*. Gen. Comp. Endocrinol. 60, 236–243.
- Hohman, W.L., Ankney, C.D., Gordon, D.H., 1992. Ecology and management of postbreeding waterfowl. In: Batt, B.D.J., Afton, A.D., Anderson, M.G., Ankney, C.D., Johnson, Kadlec, J.A., Krapu, G.L. (Eds.), The Ecology and Management of Breeding Waterfowl. University of Minnesota Press, Minneapolis, pp. 128–189.
- Kear, J., 1970. The adaptive radiation of parental care in waterfowl. In: Crook, J.H. (Ed.), Social Behaviour in Birds and Mammals. Academic Press, London, pp. 357–392.
- Lazarus, J., Inglis, I.R., 1978. The breeding behaviour of the pink-footed goose: parental care and vigilant behaviour during the fledging period. Behaviour 65, 62–84.
- Lazarus, J., Inglis, I.R., 1986. Shared and unshared parental investment parent–offspring conflict and brood size. Anim. Behav. 34, 1791–1804.
- Lormée, H., Jouventin, P., Chastel, O., Mauget, R., 1999. Endocrine correlates of parental care in an antarctic winter breeding seabird, the Emperor Penguin, *Aptenodytes forsteri*. Horm. Behav. 35, 9–17.
- Lormée, H., Jouventin, P., Lacroix, A., Lallemand, J., Chastel, O., 2000. Reproductive endocrinology of tropical seabirds: sex-specific patterns in LH, steroids, and prolactin secretion in relation to parental care. Gen. Comp. Endocrinol. 117, 413–426.
- Oring, L.W., Fivizzani, A.G., El Halawani, M.E., 1986. Changes in plasma prolactin associated with laying and hatch in the spotted Sandpiper. Auk 103, 820–822.
- Oring, L.W., Fivizzani, A.J., Colwell, M.A., El Halawani, M.E., 1988. Hormonal change associated with natural and manipulated incubation in the sex-role reversed Wilson's phalarope. Gen. Comp. Endocrinol. 72, 247–256.
- Pietz, P.J., Buhl, D.A., 1999. Behaviour patterns of mallard *Anas platyrhynchos* pairs and broods in Minnesota and North Dakota. Wildfowl 50, 101–122.
- Pöysä, H., Virtanen, J., Milonoff, M., 1997. Common goldeneyes adjust maternal effort in relation to prior brood success and current brood size. Behav. Ecol. Sociobiol. 40, 101–106.
- Richard-Yris, M.A., Leboucher, G., Grillou, H., Richard, J.P., 1988. Développement des réponses parentales chez *Gallus domesticus*: effet de l'âge et du sexe. Behaviour 104, 126–151.
- Ringelman, J.K., Longcore, J.R., Owen Jr., R.B., 1982. Nest and brood attentiveness in female Black Ducks. Condor 84, 110–116.
- Sharp, P.J., Macnamee, M.C., Sterling, R.J., Lea, R.W., Pedersen, H.C., 1988. Relationships between prolactin, LH and broody behaviour in bantam hens. J. Endocrinol. 118, 279–286.
- Sherry, D.F., 1981. Parental care and the development of thermoregulation in red junglefowl. Behaviour 76, 250–279.
- Schoech, S.J., Mumme, R.L., Wingfield, J.C., 1996. Prolactin and helping behaviour in the cooperative breeding Florida scrub-jay, *Aphelocoma coerulescens*. Anim. Behav. 52, 445–456.
- Schradin, C., Anzenberger, G., 1999. Prolactin, the hormone of paternity. News Physiol. Sci. 14, 221–231.
- Silverin, B., Goldsmith, A., 1984. The effects of modifying incubation on prolactin secretion in free-living Pied Flycatchers. Gen. Comp. Endocrinol. 55, 239–244.
- Sockman, K.W., Schwabl, H., Sharp, P.J., 2004. Removing the confound of time in investigating the relation of serial behaviours: testosterone, prolactin and the transition from sexual to parental activity in male America kestrels. Anim. Behav. 67, 1151–1161.
- Talent, L.G., Jarvis, R.L., Krapu, G.L., 1983. Survival of mallard broods in south-central North Dakota. Condor 85, 74–78.
- Trivers, R.L., 1974. Parent–offspring conflict. Am. Zool. 14, 249–264.

Dans cet article, nous avons mis en évidence que le comportement d'attention parentale chez le canard colvert est très important durant les deux premières semaines suivant l'éclosion et qu'il diminue ensuite pour se terminer au cours de la 5<sup>ème</sup> semaine post-éclosion. Ces observations sont en accord avec ce qui avait déjà été observé chez cette espèce (Afton et Paulus 1992). Ce comportement d'attention parentale avait jusque là principalement été caractérisé en utilisant uniquement le comportement d'alerte chez les espèces nidifuges (Lazarus et Inglis 1978, Pietz et Buhl 1999). Cependant, notre analyse montre que d'autres comportements varient significativement au cours de cette période comme la proximité entre la cane et les canetons, le leadership et les comportements de maintenance. La prise en compte de tous ces comportements nous a permis de mettre en place un indice d'attention parentale basé sur les comportements qui varient significativement au cours de cette période. Lorsque cet indice devient négatif on considère que la période d'attention parentale est terminée. D'autre part, chez les espèces nidifuges, la prolactine est impliquée dans les soins aux jeunes durant l'incubation (Goldsmith 1991, Hall 1991, Criscuolo *et al.* 2002). Mais, à l'inverse des espèces nidicoles, il était généralement considéré que la prolactine n'était pas impliquée dans ces soins après l'éclosion (Goldsmith 1991). Cependant, chez certaines des espèces nidifuges, le niveau de prolactine est plus élevé chez des individus qui élèvent des jeunes que chez ceux qui n'ont pas de jeunes (Dittami 1981, Oring *et al.* 1986, Oring *et al.* 1988, Sharp *et al.* 1988, Criscuolo *et al.* 2002). Ainsi, nous avons mis en évidence une relation de type dose/réponse entre la concentration de prolactine et l'intensité du comportement d'attention parentale chez la femelle colvert. Ce résultat suggère que la prolactine serait impliquée dans la mise en place et/ou le maintien de ce comportement et qu'un seuil minimum doit être atteint pour stimuler ce comportement.

### 2.1.3.2 Effets de l'augmentation du risque de prédation sur le comportement d'attention parentale

Afin de déterminer l'effet de l'augmentation du risque de prédation au cours de l'hivernage, nous avons vérifié si le comportement d'attention parentale avait été modifié chez les groupes dérangés par rapport au groupe témoin. Au cours de la période d'élevage des jeunes, l'indice d'attention parentale ne diffère pas entre les trois groupes ( $F_{2,73} = 0.1$ ,  $p = 0.93$  ; Figure 11). De plus, on observe le même résultat pour les comportements de vigilance ( $F_{2,19} = 1.5$ ,  $p = 0.025$  ; Figure 12a) et pour les comportements de maintenance ( $F_{2,103} = 2.0$ ,  $p = 0.14$  ; Figure 12b). Cependant, que ce soit pour l'indice d'attention parentale ( $F_{6, 41} = 44.4$ ,  $p < 0.0001$ ), pour les comportements de vigilance ( $F_{6,40} = 26.9$ ,  $p < 0.0001$ ) et les comportements de maintenance ( $F_{6,51} = 13.2$ ,  $p < 0.0001$ ) on observe une différence significative entre les semaines. Concernant les comportements de vigilance, on remarque une diminution importante jusqu'à la 4<sup>ème</sup> semaine post-éclosion (Figure 12a). A l'inverse, les comportements de maintenance augmentent à partir de cette 4<sup>ème</sup> semaine (Figure 12b). Enfin, l'indice d'attention parentale diminue tout au long de la période de croissance des jeunes et devient en moyenne négatif au cours de la 4<sup>ème</sup> semaine post-éclosion (Figure 12). De surcroît, il n'y a pas de différence dans le comportement d'attention parentale entre les trois groupes. Il semble donc que l'augmentation du risque de prédation n'ait pas affecté le comportement d'investissement dans l'élevage des jeunes, ce qui rejoint et conforte les résultats relatifs à la prolactinémie présentés plus haut. De plus, le profil de variation des comportements observés dans chaque groupe est semblable à celui observé chez des canes qui élèvent leurs canetons de façon isolée et naturelle (Boos *et al.* 2007a).

Enfin, le nombre de canetons par cane qui a atteint l'indépendance chez le groupe témoin ( $8.3 \pm 1.1$ ), chez le groupe 1 ( $8.6 \pm 1.2$ ) et chez le groupe 2 ( $6.5 \pm 1.9$ ) ne diffère pas significativement ( $F_{1,11} = 1.8$ ,  $p = 0.22$ ). Il apparaît donc que l'augmentation du risque de prédation au cours de l'hivernage n'a pas affecté le succès reproducteur chez les colverts.

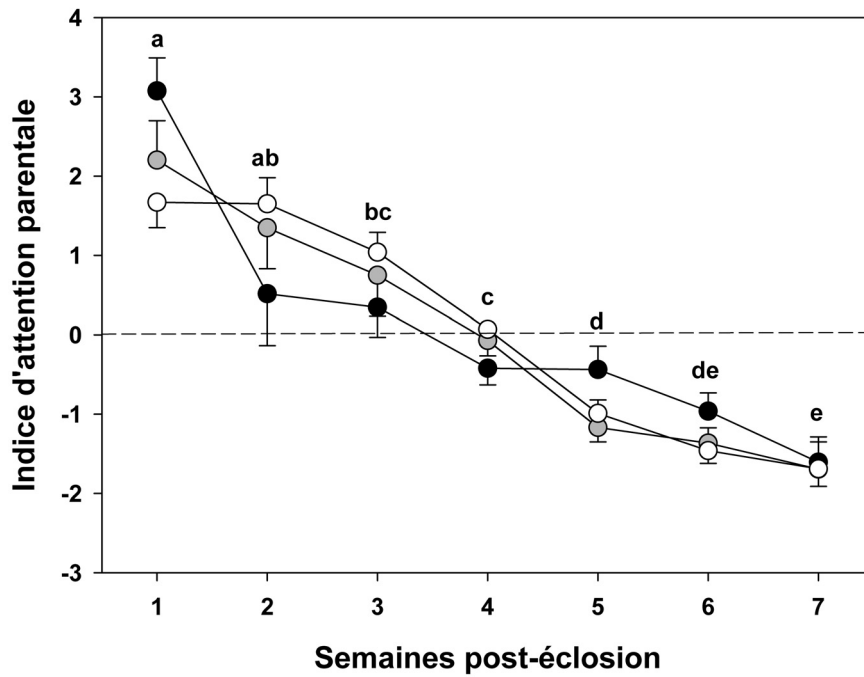


Figure 11 : Indice d'attention parentale moyen ( $\pm$  SE) chez le groupe témoin (gris), le groupe 1 (blanc) et le groupe 2 (noir) au cours des semaines suivant l'éclosion. Des lettres différentes indiquent une différence significative entre les semaines.

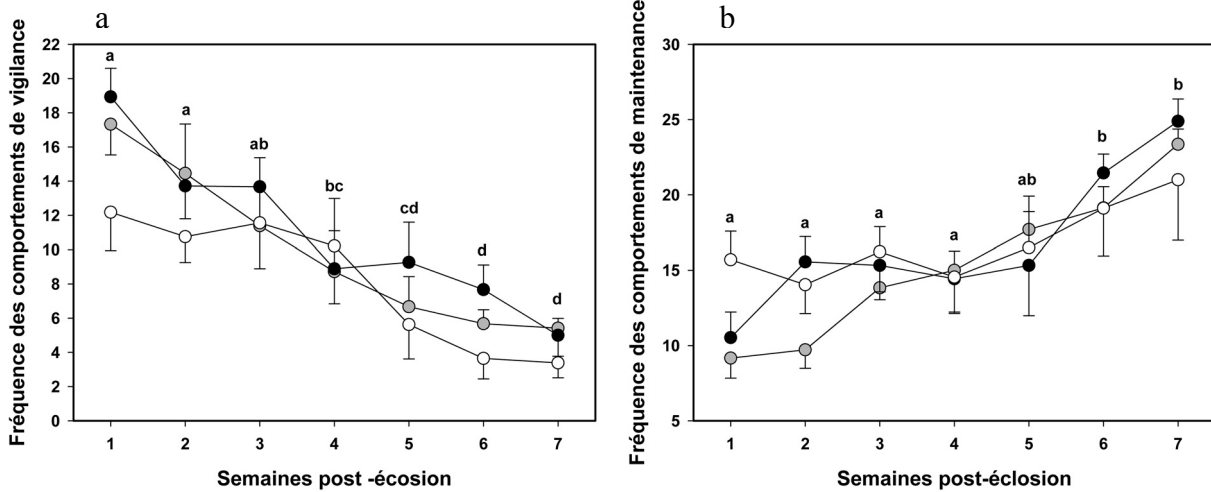


Figure 12 : Fréquence moyenne ( $\pm$  SE) des comportements de vigilance (a) et de maintenance (b) chez le groupe témoin (gris), le groupe 1 (blanc) et le groupe 2 (noir) au cours des semaines suivant l'éclosion. Des lettres différentes indiquent une différence significative entre les semaines.

## 2.2 Sarcelles

Pour déterminer l'effet de l'augmentation du risque de prédation chez les sarcelles, nous avons relevé la date de la première ponte dans chaque volière. Nous avons aussi compté le nombre d'œufs pondus dans chacune des volières. Le nombre d'œufs dans chaque nid a été comparé à l'aide d'un modèle mixte linéaire généralisé suivant une loi de Poisson. Le facteur groupe a été utilisé comme facteur fixe et le nid comme facteur aléatoire. Le modèle a été réalisé en utilisant la procédure Glimmix dans SAS 9.2 (SAS Institute Corporation).

La première ponte a eu lieu le 7 mai 2008 chez le groupe témoin, le 12 mai 2008 chez le groupe 2 et le 15 mai 2008 chez le groupe 1. Il apparaît donc un très léger décalage entre les groupes pour l'initiation de la ponte. Cependant, cet écart étant faible, son impact ne devrait pas être important pour le succès de la reproduction. Malheureusement, nous n'avons pas eu la possibilité de mesurer ce succès car aucun des œufs n'a éclos quel que soit le groupe.

Le nombre moyen d'œufs pondus dans le groupe témoin ( $4.5 \pm 1.3$ ), le groupe 1 ( $3.4 \pm 0.7$ ) et le groupe 2 ( $4.6 \pm 1.1$ ) ne diffère pas ( $F_{2,18} = 0.5$ ,  $p = 0.62$ ). Ainsi, l'augmentation du risque de prédation ne paraît pas avoir affecté l'investissement dans la nidification chez les sarcelles.

Nous avons vu que l'augmentation du risque de prédation durant l'hiver et au moment de l'entrée en période de reproduction peut avoir des effets à court terme sur les niveaux d'hormones sexuelles chez les femelles colverts et morillons et les mâles morillons. Ces effets résultent probablement du stress associé au risque de prédation. En effet, il a été montré qu'une augmentation du stress peut diminuer la concentration circulante des hormones sexuelles (Etches *et al.* 1984, Wingfield 1985, Wingfield et Silverin 1986, Silverin 1998a, Sapolsky *et al.* 2000, Lynn *et al.* 2010). De plus, il pourrait également y avoir des effets à moyen terme chez les mâles morillons puisque d'après nos résultats il y a un retard dans le cycle saisonnier de sécrétion de testostérone. Cependant, ce phénomène n'a pas été retrouvé chez les mâles de sarcelles et de colverts. Ces différences interspécifiques sont en accord avec des données antérieures (Cherel *et al.* 1994, Astheimer *et al.* 2000, Groscolas *et al.* 2008, Landys *et al.* 2010) qui montrent que le niveau des

hormones sexuelles n'est pas affecté dans tous les cas par le stress. Ceci pourraient provenir de différences entre espèces quant à la perception du risque de prédation mais aussi de la période du cycle annuel au moment du dérangement (Astheimer *et al.* 2000). Par ailleurs, les effets à court terme que nous avons observé chez les colverts et les sarcelles ne semblent pas avoir perdurés à plus long terme. En effet, chez ces deux espèces, l'initiation de la ponte n'a seulement été retardée que de quelques jours. Généralement, une reproduction précoce est associée à un succès reproducteur supérieur à celui d'une reproduction tardive (Barbraud et Chastel 1999, Barboza et Jorde 2002, Bety *et al.* 2003, Blums *et al.* 2005, Robb *et al.* 2008, Schoech *et al.* 2009). Dans notre cas, ce retard est resté très faible et cela ne semble pas avoir affecté l'investissement dans la reproduction. De même, chez les colverts, l'énergie investie dans les œufs n'est pas différente entre les groupes dérangés et contrôle et il en est de même chez les sarcelles quant au nombre d'œufs pondus. Enfin, chez les colverts, l'investissement dans l'élevage des jeunes est identique dans les trois groupes qui présentent également un succès reproducteur équivalent. Par conséquent, les potentiels effets à court terme sur le système reproducteur au cours de l'hiver et au début de la période de reproduction en réponse au risque de prédation n'ont pas d'effet à long terme, et par conséquent sur la fitness des individus.



# CHAPITRE 7 : DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

---

"Les espèces qui survivent ne sont pas les espèces les plus fortes, ni les plus intelligentes, mais celles qui s'adaptent le mieux aux changements"

Charles Darwin

Nous avons vu en introduction qu'il a été démontré théoriquement et empiriquement qu'un compromis existait entre le risque de jeûne et le risque de prédation chez les oiseaux (Houston *et al.* 1993, Witter et Cuthill 1993, Gosler *et al.* 1995, Lilliendahl 1997, Cresswell 1998, Carrascal et Polo 1999, Gentle et Gosler 2001, MacLeod *et al.* 2005a, MacLeod *et al.* 2005b). Cependant, les apports empiriques sur la gestion de ce compromis proviennent uniquement de travaux menés chez les passereaux (MacLeod *et al.* 2007a). Ainsi dans le cadre de ce travail reposant sur une augmentation variable du risque de prédation, nous nous sommes attachés à généraliser ce compromis en vérifiant s'il s'appliquait également à des espèces de plus grande taille qui transportent une quantité de réserves corporelles plus importante, ainsi qu'à l'interaction entre la stratégie de gestion des réserves énergétiques et ce compromis. Cette généralisation du compromis entre les risques de jeûne et de prédation a également permis de montrer que son approche devrait être davantage intégrée pour mieux aborder la manière dont il est régulé et qu'il faudrait également prendre en compte des effets potentiels à plus long terme pour en comprendre sa gestion.

## **1. GENERALISATION DU COMPROMIS ET EFFETS DES STRATEGIES DE GESTIONS DES RESERVES ENERGETIQUES**

Le compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation postule que les oiseaux devraient diminuer leur masse corporelle et donc une partie de leurs réserves énergétiques en cas d'augmentation du risque de prédation. Cette diminution de la masse permettrait de réduire le risque de prédation en diminuant la durée d'exposition aux prédateurs et en augmentant les performances de vol lors de la fuite (Lima 1986, Houston *et al.* 1993, Witter et Cuthill 1993). En réponse à l'augmentation du risque de prédation, nous avons observé, chez les trois espèces étudiées, une réduction limitée et contrôlée de la masse corporelle. Ce résultat est en accord avec ceux obtenus chez les passereaux (Gosler *et al.* 1995, Lilliendahl 1997, Cresswell 1998, Carrascal et Polo 1999, Gentle et Gosler 2001, MacLeod *et al.* 2005a, MacLeod *et al.* 2005b). De plus, une des hypothèses majeures de ce compromis est que cette diminution de la masse corporelle se fait au

travers d'une diminution des réserves énergétiques (McNamara et Houston 1990, Houston *et al.* 1993, Witter et Cuthill 1993). Bien que cette hypothèse ait rarement été vérifiée (Pravosudov et Grubb 1998), nos résultats indiquent que les diminutions de masse corporelle observées au cours des sessions de dérangement affectent en priorité les lipides qui constituent la ressource énergétique la plus labile c'est-à-dire celle qui se mobilise et se reconstitue le plus rapidement à l'inverse des protéines dont le rôle structural et contractile dans la constitution des tissus et dans le fonctionnement enzymatique doit être préservé au maximum pour assurer les fonctions vitales (Blem 1990). La réduction limitée de ces réserves se traduit au cours des sessions de dérangement par une diminution d'abord rapide puis plus lente de la masse corporelle, en adéquation avec la variation de la prise alimentaire, les niveaux finaux de lipides demeurant suffisants pour répondre à une mobilisation efficace des réserves énergétiques en cas de jeûne prolongé (Boos 2000). Cette diminution des réserves énergétiques ne semble pas résulter du stress et/ou de la dépense énergétique induits par le dérangement ; elle n'est donc pas subie mais contrôlée et ajustée. En effet, nous n'avons pas détecté d'augmentation démesurée du stress en réponse à l'augmentation du risque de prédation. De plus, le nombre important d'envols induits par le dérangement, bien que résultant en une augmentation immédiate du coût énergétique lié à l'activité locomotrice, ne conduit pas à une élévation de la dépense énergétique journalière. Il apparaît donc que la diminution de la masse corporelle et des réserves lipidiques est manifestement le résultat d'un ajustement du comportement et notamment d'une diminution spontanée de la consommation alimentaire (Lilliendahl 1997, Carrascal et Polo 1999). Nous n'avons pas directement mesuré l'impact de cette diminution des réserves corporelles sur les paramètres de vol (vitesse et angle au décollage). Cependant, nous avons déterminé les variations de charge alaire et de marge de puissance pour le vol qui sont des indices des capacités de vol (Pennycuick 1989, 2008, Norberg 1996). En effet, si la masse protéique principalement représentative des muscles du vol des canards (Boos 2000) ne varie pas mais que la masse corporelle diminue, cela implique que non seulement la charge alaire mais également la charge musculaire (quantité de masse corporelle par unité de masse musculaire de la ceinture pectorale) diminuent. Ce point ainsi que celui de

l'augmentation de la fréquence des vols au cours des semaines de dérangement constituent ensemble des arguments majeurs et concordants démontrant que les canards sont parvenus à augmenter leurs performances de vol tout en gérant efficacement leurs réserves énergétiques. Par conséquent, il est manifeste que chez les canards, la stratégie d'ajustement des réserves énergétiques repose sur un compromis entre les risques de jeûne et de prédation et nous pouvons conclure que ce compromis mis en évidence chez les passereaux (Gosler *et al.* 1995, Lilliendahl 1997, Cresswell 1998, Carrascal et Polo 1999, Gentle et Gosler 2001, MacLeod *et al.* 2005a, MacLeod *et al.* 2005b) s'applique chez les Anatidés et vraisemblablement également à l'ensemble des oiseaux. Pour mieux comprendre toutes les implications fonctionnelles sur le plan physique et biochimique, il paraît toutefois intéressant de mesurer l'effet direct de cette perte de masse corporelle sur les performances de vol en déterminant par exemple la vitesse et l'angle de décollage. Il serait aussi utile de mesurer l'activité musculaire voire les modifications structurelles des muscles (composition en fibres) en réponse à l'augmentation du nombre d'envols (van den Hout *et al.* 2006) et ce d'autant que les sessions de dérangement étaient entrecoupées de périodes pendant lesquelles l'activité de vol était fortement réduite.

Chez les trois espèces étudiées, l'amplitude de la réponse à l'augmentation du risque de prédation en terme de perte de masse corporelle est plus importante que celle observée chez les passereaux (Gosler *et al.* 1995, Lilliendahl 1997, Carrascal et Polo 1999). Il semblerait donc que la stratégie de gestion des réserves énergétiques ait une influence sur la réponse au risque de prédation. Cette influence résulte vraisemblablement de l'importance relative de l'un ou l'autre risque en fonction du type de stratégie de gestion des réserves corporelles. Les passereaux gèrent leurs réserves énergétiques au jour le jour (Haftorn 1989, Blem 1990) alors que les canards les gèrent à plus long terme (Pattenden et Boag 1989, Loesch *et al.* 1992, Boos *et al.* 2007b). Cette différence dans la stratégie de gestion des réserves énergétiques implique que les oiseaux avec peu de réserves comme les passereaux ont une capacité limitée à résister au jeûne alors qu'à l'inverse, des espèces qui possèdent des réserves importantes, comme les Anatidés, vont pouvoir faire face à des périodes plus longues de déficit alimentaire (Blem 1990, Cherel et Groscolas 1999, Wang *et al.*

2006). Ces dernières espèces vont donc pouvoir diminuer leur masse corporelle de façon plus importante que les passereaux tout en maintenant une capacité à résister au jeûne supérieure à ceux-ci. En contre partie, cette plus grande diminution de la masse corporelle chez les Anatidés améliorerait davantage leurs performances de vol en comparaison de celles des passereaux. En effet, ces derniers ayant d'emblée une plus faible charge alaire, les variations journalières de masse corporelle n'ont pratiquement aucun impact sur leurs capacités de vol (Kullberg 1998, Kullberg *et al.* 1998, Veasey *et al.* 1998, Van der Veen et Sivars 2000) tandis que les canards font partie des espèces qui ont une charge alaire des plus élevées et sont probablement plus avantagés par ces variations de masse corporelle (Norberg 1996). Par conséquent, nous suggérons que les passereaux répondent davantage au risque de jeûne qu'au risque de prédation, tandis que les oiseaux transportant une quantité plus importante de réserves présenteraient une sensibilité inversée.

Un risque de prédation élevé peut ainsi entraîner une diminution de la masse corporelle afin de réduire ce risque (réponse au risque de prédation masse-dépendant). Cependant, il a été montré que le risque de prédation peut conduire à une augmentation de la masse corporelle lorsqu'il diminue les possibilités de recherche alimentaire et augmente ainsi le risque de jeûne qui lui implique une accumulation accrue de réserves corporelles (réponse d'interruption de la recherche alimentaire) (Houston et McNamara 1993, Lilliendahl 1998, Pravosudov et Grubb 1998, McNamara *et al.* 2005). Il a récemment été proposé que le type de réponse mis en jeu dans les populations de passereaux dépendrait de la qualité de l'environnement (MacLeod *et al.* 2007b, Cresswell *et al.* 2009). Ainsi, chez ces espèces, dans un environnement favorable qui permet aux oiseaux d'assurer leurs besoins énergétiques dans un temps réduit en raison du risque élevé de prédation, on devrait observer une réponse de type "interruption de la recherche alimentaire". A l'inverse, dans un environnement pauvre on devrait observer une réponse de type "risque de prédation masse-dépendant", c'est-à-dire qu'en vue d'assurer leur survie, les individus vont devoir continuer à rechercher de la nourriture tout en étant soumis au risque de prédation et/ou réduire leur durée de recherche alimentaire. La masse des oiseaux, tout du moins chez les passereaux,

pourrait alors être un indice de la qualité alimentaire de l'environnement (MacLeod *et al.* 2007b, Cresswell *et al.* 2009). Cependant, les espèces qui vivent en milieu ouvert et qui n'ont pas de refuge pour éviter les prédateurs, comme c'est le cas des canards, seraient forcées d'adopter une réponse du type "risque de prédation masse-dépendant" (MacLeod *et al.* 2007b). Par ailleurs, l'importance du risque de jeûne étant plus faible chez les espèces possédant une quantité de réserves corporelles importante, il paraît difficile d'utiliser les variations de la seule masse corporelle chez ces dernières pour estimer la qualité de leur environnement. En revanche, il paraît envisageable de les utiliser pour déterminer le niveau de prédation ou de dérangement des populations. En effet, on peut supposer, dans le cas où les canards ont la possibilité de se nourrir, que les populations soumises à un risque de prédation ou à un dérangement élevé auront des masses corporelles plus faibles que des populations avec un risque faible. Cette prévision serait toutefois différente, dans le cas où les oiseaux accumuleraient naturellement peu de réserves énergétiques et auraient donc une masse corporelle d'emblée limitée en raison d'une faible probabilité de rencontrer des périodes de disette (risque de jeûne faible). Ainsi, en intégrant la détermination de la composition corporelle et notamment la variation et les niveaux des réserves lipidiques selon la zone d'hivernage, il est possible de mieux déterminer l'importance du risque de jeûne relativement à la prédation et au dérangement dans les populations. Par conséquent, il serait possible d'estimer indirectement la qualité de leur environnement notamment dans le cas où la disponibilité des ressources alimentaires est réduite de manière imprévisible.

## **2. APPROCHE INTEGRATIVE DU COMPROMIS**

Les études sur les effets du risque de prédation dans le cadre du compromis entre risque de jeûne et risque de prédation se sont uniquement intéressées aux conséquences de la gestion de ce compromis au niveau énergétique, telles que les variations de masse, des réserves corporelles et de la consommation alimentaire (*e.g.* Gosler *et al.* 1995, Lilliendahl 1997, Cresswell 1998, Lilliendahl 1998, Pravosudov et Grubb 1998, Carrascal et Polo 1999, Brodin 2001, Gentle et Gosler 2001, Krams 2002, MacLeod *et al.* 2005a, MacLeod *et al.* 2005b). Cependant, comme nous l'avons

vu en introduction, la prédation peut affecter la biologie des oiseaux à d'autres niveaux. Tout d'abord, la rencontre avec un prédateur entraîne généralement le déclenchement d'une réponse au stress (Lima 1998b, Canoine *et al.* 2002, Cockrem et Silverin 2002, Wingfield 2003, 2005, Landys *et al.* 2006). Dans notre situation, contrairement à ce qui était théoriquement attendu, nous n'avons pas observé de modification de la réponse au stress chez les individus dérangés. On aurait pu s'attendre soit à une augmentation de cette réponse à travers un effet de facilitation (Romero 2004), soit à une atténuation de la réponse au stress en cas d'habituation ou de désensibilisation (Busch *et al.* 2008, Cyr et Romero 2009). Ce résultat montre que les canards parviennent à gérer le stress induit par l'augmentation du risque de prédation et confirme que les variations de masse corporelle observées sont régulées et pas simplement subies en réponse au stress. De plus, cela indique que les individus n'entrent pas en stress chronique et évitent donc ses effets délétères (Sapolsky *et al.* 2000, Dallman et Bhatnagar 2001, Wingfield et Romero 2001, Cyr et Romero 2007). Ces observations sont confirmées par le fait que l'on n'observe pas d'immunosuppression, qui dans la plupart des cas, résulte d'une augmentation des niveaux de corticostérone associée au stress sur une longue durée (Apanius 1998, Råberg *et al.* 1998, Wingfield *et al.* 1998, Martin *et al.* 2008). Cependant, on observe chez les colverts et les morillons que le dérangement au printemps a un impact sur les niveaux circulants des hormones sexuelles. Il est généralement admis que ces variations résultent secondairement d'un effet du stress (Etches *et al.* 1984, Wingfield 1985, Wingfield et Silverin 1986, Wingfield *et al.* 1994, Lynn *et al.* 2010, voir aussi Silverin 1998a). Néanmoins, cet effet sur les hormones sexuelles semble limité dans le temps puisqu'au cours de la période d'élevage des jeunes il n'y a pas de modification des niveaux plasmatiques de prolactine et que cela n'influence pas l'investissement dans la reproduction. Cependant, il apparaît nécessaire de pouvoir étudier l'effet sur la réponse au stress à une échelle temporelle plus courte que celle de la semaine en déterminant le niveau de stress à différents jours de dérangement, par exemple en mesurant le niveau d'excrétion de dérivés des corticoïdes dans les fientes (Arlettaz *et al.* 2007, Sheriff *et al.* 2010).

Un risque de prédation important peut aussi conduire à une diminution de l'activité du système immunitaire (Rigby et Jokela 2000, Zhang *et al.* 2003, Navarro *et al.* 2004, Stoks *et al.* 2006, Mikolajewski *et al.* 2008). En réponse à l'augmentation du risque de prédation, les canards ne réduisent pas leur immunocompétence mais ils la redistribuent. En effet, on observe une augmentation des composants du système immunitaire inné aux dépens de ceux du système immunitaire acquis. Il existe donc un compromis entre les deux branches de ce système (Martin *et al.* 2006) en réponse à l'augmentation du risque de prédation. Cette immunoredistribution permettrait de maintenir des défenses immunitaires efficaces à un moindre coût énergétique car le système immunitaire inné serait moins coûteux à maintenir et à activer que le système acquis (Lochmiller et Deerenberg 2000, Roitt *et al.* 2001, Bourgeon *et al.* 2007, Buehler *et al.* 2009). Néanmoins, pour mieux comprendre les avantages de cette redistribution, il serait intéressant de vérifier la capacité du système immunitaire des individus dérangés à répondre à une infection par un pathogène et de mesurer d'autres composantes du système immunitaire telles que stress oxydant ou les niveaux de lymphocytes (Matson *et al.* 2006). De plus, il semblerait que cette réponse ne soit pas régulée directement par le niveau de corticostérone (Saino *et al.* 2002) mais des études plus approfondies sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse (Bourgeon *et al.* 2007, Bourgeon *et al.* soumis). D'autre part, le système immunitaire peut être influencé par l'état des réserves énergétiques (Moret et Schmid-Hempel 2000, Demas 2004, Demas et Sakaria 2005), cette immunoredistribution pourrait donc être mise en relation avec la diminution des réserves lipidiques observée. Cependant, il a été montré qu'au cours d'un jeûne total prolongé chez le canard colvert, les deux composantes du système immunitaire s'affaiblissent (Bourgeon *et al.* soumis). Nos animaux ne jeûnent pas totalement et il semble que cette diminution contrôlée de la consommation alimentaire ne soit pas perçue comme un événement stressant. Ainsi, l'immunoredistribution observée paraît directement liée à l'augmentation du risque de prédation et serait adaptative car elle permettrait d'assurer les défenses immunitaires essentielles tout en permettant une économie énergétique. Cette énergie peut ainsi être réallouée à des activités plus importantes pour la survie immédiate (Sheldon et Verhulst 1996, Råberg *et al.* 1998, Norris et



Evans 2000) comme le maintien des réserves énergétiques ou à des comportements anti-prédateur afin de réduire les risques de jeûne et/ou de prédation.

Nous avons également vu que le risque de prédation entraîne des modifications du budget temps des individus. Chez les trois espèces, on observe une augmentation du sommeil au dépend des autres comportements. Ce résultat est inattendu et contraire à ce qui est observé habituellement. En effet, généralement, face à un risque de prédation élevé, les individus augmentent les comportements permettant de diminuer ce risque tel que la vigilance et diminuent ceux qui vont l'augmenter tels que le sommeil et la recherche alimentaire (Lima et Dill 1990, Lima 1998a, Frid et Dill 2002). Cependant, les canards peuvent à la fois dormir et être vigilants notamment grâce la possibilité d'utiliser un sommeil unihémisphérique (Rattenborg *et al.* 1999a, Rattenborg *et al.* 1999b). Ainsi, ils peuvent conserver les bénéfices du sommeil tout en limitant le risque de prédation. Un des bénéfices supposé du sommeil est l'économie d'énergie (Amlaner et Ball 1983, Berger et Phillips 1995). Cette augmentation du temps de sommeil permettrait d'économiser de l'énergie et donc de réduire en retour le risque de jeûne. De surcroît, la diminution de la recherche alimentaire est en accord avec l'idée que la réduction de la consommation alimentaire et la diminution de la masse corporelle sont contrôlées. La diminution de la recherche alimentaire est en outre un moyen de réduire le risque de prédation car elle diminue le temps d'exposition aux prédateurs (Lima et Dill 1990, McNamara et Houston 1990, Werner et Anholt 1993, Lima 1998a). En conséquence, il apparaît que, chez les canards, les ajustements comportementaux complexes en réponse à une augmentation du risque de prédation seraient adaptatifs en raison de leurs fortes interactions avec les caractères relatifs à la balance entre les risques de jeûne et de prédation. D'autre part, ces résultats confortent en partie au moins la théorie de la répartition des risques (Lima et Bednekoff 1999b). En effet, nous avons observé une diminution de la vigilance pendant les périodes qui suivent les phases de dérangement (période de risque faible). Cependant, la recherche alimentaire n'augmente pas durant cette période comme le prédit la théorie de la répartition des risques, ce qui, dans notre cas serait lié à la nécessité de diminuer la charge alaire dans le cadre de la gestion du compromis entre les risques

de jeûne et de prédation. Néanmoins, pour approfondir nos résultats, il serait nécessaire de déterminer les variations du budget temps des individus pendant les périodes de risque important c'est-à-dire immédiatement entre les phases de dérangement.

Le vol chez les oiseaux est un moyen de transport coûteux énergétiquement par unité de temps (Norberg 1996). Ainsi, une de nos hypothèses de départ était que la dépense énergétique journalière augmenterait en réponse au dérangement, or cette augmentation n'a pas été constatée. En effet, comme déjà mentionné plus haut différents ajustements mis en évidence, telles que la diminution de la masse corporelle, l'immunoredistribution et l'augmentation de la durée de sommeil contribuent à économiser de l'énergie (Amlaner et Ball 1983, Pennycuick 1989, 2008, Hedenstrom 1992, Hedenstrom et Alerstam 1992, Berger et Phillips 1995, Norberg 1996, Bourgeon *et al.* 2007, Buehler *et al.* 2009). Bien que n'ayant pas eu pour vocation de mesurer le métabolisme de l'unique activité de vol, la méthode de l'eau doublement marquée a eu toutefois l'avantage de mesurer les effets du dérangement sur la dépense énergétique journalière à moyen terme, permettant ainsi de mettre en évidence les compensations énergétiques résultant des ajustements physiologiques et comportementaux. Une des perspectives serait de mesurer la dépense énergétique durant les phases de dérangement et d'en déterminer ensuite celle liée à la compensation. L'enregistrement de la fréquence cardiaque à l'aide d'instruments miniaturisés embarqués serait une solution appropriée.

Enfin, l'augmentation du risque de prédation au cours de l'hivernage chez les canards n'a pas d'impact à long terme. En effet, nous n'avons pas observé de différence dans l'investissement dans la reproduction chez les colverts et les sarcelles et dans le succès reproducteur chez les colverts. Il semble donc que les effets à court terme du dérangement sur les hormones sexuelles et sur la composition corporelle n'ont pas d'effet à plus long terme sur la reproduction dans notre situation expérimentale. Il a été montré chez les canards que la condition corporelle à l'entrée en reproduction est un facteur important pour le succès reproducteur (Krapu 1981, Blums *et al.* 2005, Guillemain *et al.* 2008). Nous avons observé que la gestion du compromis entre les risques de jeûne et de prédation, au niveau de la perte de masse corporelle, était légèrement différente entre

les sessions hivernales et la session à l'entrée de la reproduction chez les femelles colverts et sarcelles, la composante investissement dans le succès reproducteur prenant le pas sur la composante jeûne. Il serait donc intéressant de vérifier si cette différence de réponse est due à une diminution moindre des réserves énergétiques en vue de la reproduction et si cette dernière impose ainsi des contraintes différentes sur la gestion du compromis.

Pour conclure, nous avons mis en évidence que le compromis entre le risque de jeûne et le risque de prédation s'applique chez les Anatidés. Nous pouvons donc suggérer que ce compromis s'appliquerait chez tous les oiseaux. Cependant, la gestion de ce compromis va différer en fonction de la stratégie de gestion des réserves énergétiques des différentes espèces. D'autre part, nous avons montré qu'en plus des ajustements qui se mettent en place au niveau énergétique, des ajustements hormonaux, immunitaires et comportementaux existent et permettent une gestion optimale de ce compromis. Il paraît donc nécessaire de les prendre en compte dans le cadre des études concernant ce compromis.

Nous avons mis en évidence différents ajustements dans le cadre du compromis entre les risques de jeûne et de prédation permettant aux canards de faire face à une augmentation importante du risque de prédation. Cependant, au cours des expérimentations seul le risque de prédation variait puisque les oiseaux avaient un accès *ad libitum* à la nourriture. Il paraît donc nécessaire de déterminer de manière concomitante l'impact d'une variation de la disponibilité alimentaire sur ces ajustements. Les expériences ont été réalisées en milieu contrôlé afin de mettre en évidence les différents mécanismes impliqués dans la réponse à l'augmentation du risque de prédation. Or, nos fréquences de dérangement étaient au moins 10 fois supérieures à celles connues chez les oiseaux d'eau évoluant en milieu naturel et exposés à diverses sources de dérangement d'origine humaine (promeneurs, sports de loisir, pêche, engins motorisés, chasse, voir Boos et al. 2002b) et supérieures ou équivalentes à celles résultant de dérangements naturels (Fritz et al. 2000). La prochaine étape serait donc d'étudier, en milieu naturel où différentes contraintes vont s'imposer aux individus, comment la gestion de ce compromis agira sur les

ajustements mis en évidence dans ce travail. En effet, en conditions naturelles, les oiseaux vont tout d'abord pouvoir fuir les prédateurs et ainsi éviter ce risque de prédation (situation impossible dans notre cas), ce qui pourrait moduler les ajustements que nous avons observés. De plus, un autre ajustement possible dans le cadre de la gestion du compromis en milieu naturel serait le choix de l'habitat. En effet, certains habitats vont être associés soit à un risque de prédation, soit à un risque de jeûne plus important éventuellement associé à une compétition intra- ou interspécifique plus forte (Houston *et al.* 1993, Cresswell 1994b, Hilton *et al.* 1999, Verdolin 2006). Ainsi, les oiseaux pourraient faire face à une variation concomitante de la disponibilité alimentaire et du risque de prédation dans leur environnement (Lima et Dill 1990, Houston *et al.* 1993). On peut donc supposer que les individus vont modifier leur choix d'habitats en fonction de l'importance relative de ces deux risques et de leur état physiologique. Les oiseaux ayant des réserves corporelles faibles pourraient ainsi choisir un habitat plus riche en ressources mais avec un risque de prédation plus important ou adopter un comportement plus risqué afin d'assurer leurs besoins énergétiques (Lima et Dill 1990, Lima 1998a, Fernandez-Juricic *et al.* 2002, Butler *et al.* 2005, Verdolin 2006, Whittingham *et al.* 2006). De plus, comme les canards voyagent de leur site de repos à leur site d'alimentation tous les jours (Owen et Black 1990), les risques de jeûne et de prédation devraient avoir une influence différente sur le choix de ces sites. Ils vont également initier une migration en fin d'hiver pour rejoindre leurs sites de reproduction et une migration postnuptiale pour rejoindre leurs quartiers d'hivernage (Owen et Black 1990). Les individus doivent donc maintenir des réserves énergétiques suffisantes et appropriées qui leurs permettront d'entreprendre ces migrations au moindre coût et risque (Owen et Black 1990). Nebel et Ydenberg (2005) ont par exemple démontré que des limicoles hivernaient et donc migraient à des latitudes différentes et qu'à cette stratégie de migration était associée des différences de charges alaires et de risques de prédation. Par rapport à la gestion optimale de ces réserves pendant la période de non reproduction, et en tenant compte de l'influence que peuvent avoir l'état des réserves et les comportements anti-prédateurs sur la mise en couple et leur stabilité, il serait intéressant de comprendre comment la gestion des risques et les ajustements physiologiques et

comportementaux mis en évidence ici s'inscrivent plus largement dans la stratégie d'hivernage (Boos 2000, Boos *et al.* 2007b). Enfin, cette thèse ayant été réalisée notamment avec le concours d'une entreprise locale et le soutien de la Région Alsace (second site d'hivernage pour les oiseaux d'eaux en France) dans le cadre de l'aide au développement durable, nos résultats pourront servir de base, dans un cadre plus appliqué pour la mise en place d'indices permettant de déterminer les risques liés au jeûne, à la prédation et au dérangement chez les populations d'oiseaux concernés.



# BIBLIOGRAPHIE

---

"La science ne cherche pas à énoncer des vérités éternelles ou des dogmes immuables ;  
loin de prétendre que chaque étape est définitive et qu'elle a dit son dernier  
mot, elle cherche à cerner la vérité par approximations successives."

Bertrand Russell

- Abbott, C. W., Dabbert, C. B., Lucia, D. R. et Mitchell, R. B.** 2005. Does muscular damage during capture and handling handicap radiomarked northern bobwhites? *Journal of Wildlife Management*, 69, 664-670.
- Adriaensen F., Dhondt A. A., Van Dongen S., Lens L. et Matthysen E.** 1998. Stabilizing selection on blue tit fledgling mass in the presence of sparrowhawks. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 265, 1011-1016.
- Afton A. D. et Paulus S. L.** 1992. Incubation and brood care. In: *The Ecology and Management of Breeding Waterfowl* (Ed. by Batt, B. D. J., Afton, A. D., Anderson, M. G., Ankney, C. D., Johnson, D. H., Kadlec, J. A. et Krapu, G. L.), pp. 62-108. Minneapolis: University of Minnesota Press.
- Ajje B. C., Pintor L. M., Watters J., Kerby J. L., Hammond J. I. et Sih A.** 2007. A framework for determining the fitness consequences of antipredator behavior. *Behavioral Ecology*, 18, 267-270.
- Alerstam T., Rosen M., Backman J., Ericson P. G. P. et Hellgren O.** 2007. Flight speeds among bird species: Allometric and phylogenetic effects. *PLoS Biology*, 5, 1656-1662.
- Altmann, J.** 1974. Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour*, 49, 227-267.
- Amlaner C. J. et Ball N. J.** 1983. A synthesis of sleep in wild birds. *Behaviour*, 87, 85-119.
- Andersson M. et Norberg Å. R.** 1981. Evolution of reversed sexual size dimorphism and role partitioning among predatory birds, with a size scaling of flight performance. *Biological Journal of the Linnean Society*, 15, 105-130.
- Angelier F., Moe B., Weimerskirch H. et Chastel O.** 2007a. Age-specific reproductive success in a long-lived bird: do older parents resist stress better? *Journal of Animal Ecology*, 76, 1181-1191.
- Angelier F., Weimerskirch H., Dano S. et Chastel O.** 2007b. Age, experience and reproductive performance in a long-lived bird: a hormonal perspective. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 61, 611-621.
- Angelier F. et Chastel O.** 2009. Stress, prolactin and parental investment in birds: A review. *General and Comparative Endocrinology*, 163, 142-148.
- Angelier F., Moe B., Blanc S. et Chastel O.** 2009a. What Factors Drive Prolactin and Corticosterone Responses to Stress in a Long-Lived Bird Species (Snow Petrel *Pagodroma nivea*)? *Physiological and Biochemical Zoology*, 82, 590-602.
- Angelier F., Clement-Chastel C., Welcker J., Gabrielsen G. W. et Chastel, O.** 2009b. How does corticosterone affect parental behaviour and reproductive success? A study of prolactin in black-legged kittiwakes. *Functional Ecology*, 23, 784-793.
- Anholt B. R. et Werner E. E.** 1995. Interaction between food availability and predation mortality mediated by adaptive behavior. *Ecology*, 76, 2230-2234.
- Anholt B. R. et Werner E. E.** 1998. Predictable changes in predation mortality as a consequence of changes in food availability and predation risk. *Evolutionary Ecology*, 12, 729-738.
- Apanius V.** 1998. Stress and immune defense. *Advances in the Study of Behavior*, 27, 133-153.
- Ardia D. R. et Schat K. A.** 2008. Ecoimmunology. In: *Avian immunology* (Ed. by Davison, F., Kaspers, B. et Schat, K. A.), pp. 421-441. London: Academic press.



- Arlettaz, R., Patthey, P., Baltic, M., Leu, T., Schaub, M., Palme, R. et Jenni-Eiermann, S.** 2007. Spreading free-riding snow sports represent a novel serious threat for wildlife. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 274, 1219-1224.
- Astheimer L. B., Buttemer W. A. et Wingfield J. C.** 1992. Interactions of corticosterone with feeding, activity and metabolism in passerine birds. *Ornis Scandinavica*, 23, 355-365.
- Astheimer L. B., Buttemer W. A. et Wingfield J. C.** 2000. Corticosterone treatment has no effect on reproductive hormones or aggressive behavior in free-living male tree sparrows, *Spizella arborea*. *Hormones and Behavior*, 37, 31-39.
- Balthazart J.** 1983. Hormonal correlates of behavior. In: *Avian Biology* (Ed. by Farner, D. S., King, J. R. et Parkes, K. C.), pp. 221-366. London: Academic Press.
- Barboza P. S. et Jorde D. G.** 2002. Intermittent fasting during winter and spring affects body composition and reproduction of a migratory duck. *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology*, 172, 419-434.
- Barbraud C. et Chastel O.** 1999. Early body condition and hatching success in the snow petrel *Pagodroma nivea*. *Polar Biology*, 21, 1-4.
- Beale C. M.** 2007. The Behavioral Ecology of Disturbances Responses. *International Journal of Comparative Psychology*, 20, 111-120.
- Beale C. M. et Monaghan P.** 2004. Behavioural responses to human disturbance: a matter of choice? *Animal Behaviour*, 68, 1065-1069.
- Bednekoff P. A.** 1996. Translating mass dependent flight performance into predation risk: An extension of Metcalfe & Ure. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 263, 887-889.
- Bednekoff P. A. et Houston A. I.** 1994a. Dynamic models of mass-dependent predation, risk-sensitive foraging, and premigratory fattening in birds. *Ecology*, 75, 1131-1140.
- Bednekoff P. A. et Houston A. I.** 1994b. Optimizing fat reserves over the entire winter: a dynamic-model. *Oikos*, 71, 408-415.
- Bednekoff P. A. et Lima S. L.** 1998. Randomness, chaos and confusion in the study of antipredator vigilance. *Trends in Ecology & Evolution*, 13, 284-287.
- Belden L. K., Wildy E. L., Hatch A. C. et Blaustein A. R.** 2000. Juvenile western toads, *Bufo boreas*, avoid chemical cues of snakes fed juvenile, but not larval, conspecifics. *Animal Behaviour*, 59, 871-875.
- Berger R. J. et Phillips N. H.** 1995. Energy conservation and sleep. *Behavioural Brain Research*, 69, 65-73.
- Bety J., Gauthier G. et Giroux J. F.** 2003. Body condition, migration, and timing of reproduction in snow geese: A test of the condition-dependent model of optimal clutch size. *American naturalist*, 162, 110-121.
- Bevan R. M., Speakman J. R. et Butler P. J.** 1995. Daily energy-expenditure of tufted ducks: a comparison between indirect calorimetry, doubly labeled water and heart-rate. *Functional Ecology*, 9, 40-47.

- Bisson I. A., Butler L. K., Hayden T. J., Romero L. M. et Wikelski M. C.** 2009. No energetic cost of anthropogenic disturbance in a songbird. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 276, 961-969.
- Blanc S., Geloën A., Pachiaudi C., Gharib C. et Normand S.** 2000. Validation of the doubly labeled water method in rats during isolation and simulated weightlessness. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 279, R1964-R1979.
- Blem C. R.** 1975. Geographic variation in wing loading of house sparrow. *Wilson Bulletin*, 87, 543-549.
- Blem C. R.** 1976. Patterns of lipid storage and utilization in birds. *American Zoologist*, 16, 671-684.
- Blem C. R.** 1990. Avian energy storage. *Current Ornithology*, 7, 59-113.
- Blums P., Nichols J. D., Hines J. E., Lindberg M. S. et Mednis A.** 2005. Individual quality, survival variation and patterns of phenotypic selection on body condition and timing of nesting in birds. *Oecologia*, 143, 365-376.
- Blumstein D. T., Fernandez-Juricic E., Zollner P. A. et Garity S. C.** 2005. Inter-specific variation in avian responses to human disturbance. *Journal of Applied Ecology*, 42, 943-953.
- Boos M.** 2010. Attention parentale et dépendance chez le fuligule morillon, modélisation de la reproduction chez les canards plongeurs dans différentes régions de France. Rapport final de convention de recherche Naturaconst@, 32 pp.
- Boos M., Zorn T., Koch A., Le Maho Y. et Robin J.-P.** 2000. Determining body fuels of wintering mallards - L'estimation des lipides et protéines corporels du canard colvert en hivernage. *Comptes Rendus De l' Academie Des Sciences. Serie III, Life Science*, 323, 183-193.
- Boos M., Zorn T., Le Maho Y., Groscolas R. et Robin J. P.** 2002. Sex differences in body composition of wintering Mallards (*Anas platyrhynchos*): possible implications for survival and reproductive performance. *Bird Study*, 49, 212-218.
- Boos M., Arnauduc J-P. et Robin J-P.** 2002b. Effets du dérangement sur la stratégie énergétique chez les oiseaux et les possibles compensations nutritionnelles. Rapport de fin de convention de recherche F.N.C./C.E.P.E. (CNRS).
- Boos M., Thouzeau C., Delacour G., Artois M., Marchandeu S., Jean-Claude P. et Robin J. P.** 2005. Body condition assessment and prediction of fasting endurance in wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Wildlife Research*, 32, 75-83.
- Boos M., Zimmer C., Carriere A., Robin J.-P. et Petit O.** 2007a. Post-hatching parental care behaviour and hormonal status in a precocial bird. *Behavioural Processes*, 76, 206-214.
- Boos M., Zorn T., Delacour G. et Robin J. P.** 2007b. Weather and body condition in wintering Mallards *Anas platyrhynchos*. *Bird Study*, 54, 154-159.
- Bourgeon S. et Raclot T.** 2006. Corticosterone selectively decreases humoral immunity in female eiders during incubation. *Journal of Experimental Biology*, 209, 4957-4965.
- Bourgeon S., Martínez J., Criscuolo F., Maho Y. L. et Raclot T.** 2006a. Fasting-induced changes of immunological and stress indicators in breeding female eiders. *General and Comparative Endocrinology*, 147, 336-342.

- Bourgeon S., Cruscuolo F., Le Maho Y. et Raclot T.** 2006b. Phytohemagglutinin response and immunoglobulin index decrease during incubation fasting in female common eiders. *Physiological and Biochemical Zoology*, 79, 793-800.
- Bourgeon S., Raclot T., Le Maho Y., Ricquier D. et Criscuolo F.** 2007. Innate immunity, assessed by plasma NO measurements, is not suppressed during the incubation fast in eiders. *Developmental & Comparative Immunology*, 31, 720-728.
- Bourgeon S. Kauffmann M., Geiger S., Raclot T. et Robin J-P.** soumis. Relationships between metabolic status, corticosterone secretion and maintenance of innate and adaptive humoral immunities in fasted re-fed mallards.
- Braude S., Tang-Martinez Z. et Taylor G. T.** 1999. Stress, testosterone, and the immunoredistribution hypothesis. *Behavioral Ecology*, 10, 345-350.
- Brenner, F. J.** 1967. Seasonal correlations of reserve energy of red-winged blackbird. *Bird-Banding*, 38, 195-211.
- Breuner C. W., Greenberg A. L. et Wingfield J. C.** 1998. Non-invasive Corticosterone Treatment Rapidly Increases Activity in Gambel's White-Crowned Sparrows (*Zonotrichia leucophrys gambelii*). *General and Comparative Endocrinology*, 111, 386-394.
- Brodin A.** 2001. Mass-dependent predation and metabolic expenditure in wintering birds: is there a trade-off between different forms of predation? *Animal Behaviour*, 62, 993-999.
- Brodin A.** 2007. Theoretical models of adaptive energy management in small wintering birds. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 362, 1857-1871.
- Brown G. E., Rive A. C., Ferrari M. C. O. et Chivers D. P.** 2006. The dynamic nature of antipredator behavior: prey fish integrate threat-sensitive antipredator responses within background levels of predation risk. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 61, 9-16.
- Brown J. S.** 1999. Vigilance, patch use and habitat selection: Foraging under predation risk. *Evolutionary Ecology Research*, 1, 49-71.
- Brown J. S. et Kotler B. P.** 2004. Hazardous duty pay and the foraging cost of predation. *Ecology Letters*, 7, 999-1014.
- Buchanan K. L.** 2000. Stress and the evolution of condition-dependent signals. *Trends in Ecology & Evolution*, 15, 156-160.
- Buehler D. M., Encinas-Viso F., Petit M., Vezina F., Tieleman B. I. et Piersma T.** 2009. Limited Access to Food and Physiological Trade-Offs in a Long-Distance Migrant Shorebird. II. Constitutive Immune Function and the Acute-Phase Response. *Physiological and Biochemical Zoology*, 82, 561-571.
- Buntin J. D.** 1996. Neural and hormonal control of parental behavior in birds. *Advances in the Study of Behavior*, 25.
- Burns J. G. et Ydenberg R. C.** 2002. The effects of wing loading and gender on the escape flights of least sandpipers (*Calidris minutilla*) and western sandpipers (*Calidris mauri*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 52, 128-136.

- Busch D. S., Sperry T. S., Wingfield J. C. et Boyd E. H.** 2008. Effects of repeated, short-term, corticosterone administration on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis of the white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys gambelii*). *General and Comparative Endocrinology*, 158, 211-223.
- Butler S. J., Whittingham M. J., Quinn J. L. et Cresswell W.** 2005. Quantifying the interaction between food density and habitat structure in determining patch selection. *Animal Behaviour*, 69, 337-343.
- Canoine V., Hayden T. J., Rowe K. et Goymann W.** 2002. The stress response of European stonechats depends on the type of stressor. *Behaviour*, 139, 1303-1311.
- Carrascal L. M. et Polo V.** 1999. Coal tits, *Parus ater*, lose weight in response to chases by predators. *Animal Behaviour*, 58, 281-285.
- Chalfoun A. D. et Martin T. E.** 2007. Latitudinal variation in avian incubation attentiveness and a test of the food limitation hypothesis. *Animal Behaviour*, 73, 579-585.
- Chandra R. K.** 1996. Nutrition, immunity and infection: From basic knowledge of dietary manipulation of immune responses to practical application of ameliorating suffering and improving survival. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 14304-14307.
- Chastel O., Barbraud C., Weimerskirch H., Lormée H., Lacroix A. et Tostain O.** 2005a. High levels of LH and testosterone in a tropical seabird with an elaborate courtship display. *General and Comparative Endocrinology*, 140, 33-40.
- Chastel O., Lacroix A., Weimerskirch H. et Gabrielsen G. W.** 2005b. Modulation of prolactin but not corticosterone responses to stress in relation to parental effort in a long-lived bird. *Hormones and Behavior*, 47, 459-466.
- Cherel Y., Robin J. P., Walch O., Karmann H., Netchitailo P. et Lemaho Y.** 1988. Fasting in king penguin .1. Hormonal and metabolic changes during breeding. *American Journal of Physiology*, 254, R170-R177.
- Cherel Y., Mauget R., Lacroix A. et Gilles J.** 1994. Seasonal and fasting-related changes in circulating gonadal-steroids and prolactin in king penguins, *Aptenodytes patagonicus*. *Physiological Zoology*, 67, 1154-1173.
- Cherel Y. et Groscolas R.** 1999. Relationships between nutrient storage and nutrient utilisation in long-term fasting birds and mammals. In: *In: Adams, N. J. and Slotow, R. H. (eds) Proceedings of the 22nd International Ornithological Congress* (Ed. by Adams, N. J. et Slotow, R. H.), pp. 17-34. Durban: 17-34: Johannesburg: BirdLife South Africa.
- Clinchy M., Zanette L., Boonstra R., Wingfield J. C. et Smith J. N. M.** 2004. Balancing food and predator pressure induces chronic stress in songbirds. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 271, 2473-2479.
- Cockrem J.** 2007. Stress, corticosterone responses and avian personalities. *Journal of Ornithology*, 148, 169-178.
- Cockrem J. F. et Silverin B.** 2002. Sight of a Predator Can Stimulate a Corticosterone Response in the Great Tit (*Parus major*). *General and Comparative Endocrinology*, 125, 248-255.

- Conway C. J. et Martin T. E.** 2000. Evolution of passerine incubation behavior: Influence of food, temperature, and nest predation. *Evolution*, 54, 670-685.
- Creel S., Christianson D., Liley S. et Winnie J. A., Jr.** 2007. Predation Risk Affects Reproductive Physiology and Demography of Elk. *Science*, 315, 960.
- Cresswell W.** 1994a. Flocking is an effective anti-predation strategy in redshanks, *Tringa tetanus*. *Animal Behaviour*, 47, 433-442.
- Cresswell W.** 1994b. Age-dependent choice of redshank (*Tringa totanus*) feeding location: profitability or risk. *Journal of Animal Ecology*, 63, 589-600.
- Cresswell W.** 1998. Diurnal and seasonal mass variation in blackbirds *Turdus merula*: consequences for mass-dependent predation risk. *Journal of Animal Ecology*, 67, 78-90.
- Cresswell W.** 2003. Testing the mass-dependent predation hypothesis: in European blackbirds poor foragers have higher overwinter body reserves. *Animal Behaviour*, 65, 1035-1044.
- Cresswell W.** 2008. Non-lethal effects of predation in birds. *Ibis*, 150, 3-17.
- Cresswell W., Quinn J. L., Whittingham M. J. et Butler S.** 2003. Good foragers can also be good at detecting predators. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 270, 1069-1076.
- Cresswell W. et Whitfield D. P.** 2008. How starvation risk in Redshanks *Tringa totanus* results in predation mortality from Sparrowhawks *Accipiter nisus*. *Ibis*, 150, 209-218.
- Cresswell W., Clark J. A. et Macleod R.** 2009. How climate change might influence the starvation-predation risk trade-off response. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 276, 3553-3560.
- Criscuolo F., Chastel O., Gabrielsen G. W., Lacroix A. et Le Maho Y.** 2002. Factors affecting plasma concentrations of prolactin in the common eider *Somateria mollissima*. *General and Comparative Endocrinology*, 125, 399-409.
- Criscuolo F., Chastel O., Bertile F., Gabrielsen G. W., Le Maho Y. et Raclot T.** 2005. Corticosterone alone does not trigger a short term behavioural shift in incubating female common eiders *Somateria mollissima*, but does modify long term reproductive success. *Journal of Avian Biology*, 36, 306-312.
- Cyr N. E., Earle K., Tam C. et Romero L. M.** 2007. The effect of chronic psychological stress on corticosterone, plasma metabolites, and immune responsiveness in European starlings. *General and Comparative Endocrinology*, 154, 59-66.
- Cyr N. E. et Romero L. M.** 2007. Chronic stress in free-living European starlings reduces corticosterone concentrations and reproductive success. *General and Comparative Endocrinology*, 151, 82-89.
- Cyr N. E. et Romero L. M.** 2009. Identifying hormonal habituation in field studies of stress. *General and Comparative Endocrinology*, 161, 295-303.
- Dallman M. F., Strack A. M., Akana S. F., Bradbury M. J., Hanson E. S., Scribner K. A. et Smith M.** 1993. Feast and Famine: Critical Role of Glucocorticoids with Insulin in Daily Energy Flow. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 14, 303-347.

- Dallman M. F. et Bhatnagar S.** 2001. Chronic stress and energy balance: role of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. In: *Handbook of Physiology; Section 7: The Endocrine System; Volume IV: Coping with the Environment: Neural and Endocrine Mechanisms* (Ed. by McEwen, B. S. et Goodman, H. M.), pp. 179-210. New York: Oxford University Press.
- Davison F., Katharine E. M. et Kaspers B.** 2008. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: *Avian Immunology* (Ed. by Davison, F., Kaspers, B. et Schat, K. A.), pp. 107-128. London: Academic Press.
- de Jong G. et Van Noordwijk A. J.** 1992. Acquisition and allocation of resources: genetic variances, selection, and life histories. *American Naturalist*, 139, 749-770.
- Dekker D. et Court G.** 2003. Gyrfalcon predation on Mallards and the interaction of Bald Eagles wintering in central Alberta. *Journal of Raptor Research*, 37, 161-163.
- Del Hoyo J., Elliot A. et Sargatal J.** 1992. *Handbooks of the Birds of the World. Volume 1: Ostrich to Ducks*. Barcelona: Lynx Edicions.
- Demas G. E.** 2004. The energetics of immunity: a neuroendocrine link between energy balance and immune function. *Hormones and Behavior*, 45, 173-180.
- Demas G. E., Drazen D. L. et Nelson R. J.** 2003. Reductions in total body fat decrease humoral immunity. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 270, 905-911.
- Demas G. E. et Sakaria S.** 2005. Leptin regulates energetic tradeoffs between body fat and humoral immunity. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 272, 1845-1850.
- Devereux C. L., Whittingham M. J., Fernandez-Juricic E., Vickery J. A. et Krebs J. R.** 2006. Predator detection and avoidance by starlings under differing scenarios of predation risk. *Behavioral Ecology*, 17, 303-309.
- Dewasmes G., Cohenadad F., Koub, H. et Lemaho Y.** 1984. Sleep changes in long-term fasting geese in relation to lipid and protein-metabolism. *American Journal of Physiology*, 247, R663-R671.
- Dewasmes G., Buchet C., Geloën A. et Lemaho Y.** 1989. Sleep changes in emperor penguins during fasting. *American Journal of Physiology*, 256, R476-R480.
- Dittami J. P.** 1981. Seasonal changes in the behavior and plasma titers of various hormones in barheaded geese, *Anser indicus*. *Zeitschrift Fur Tierpsychologie-Journal of Comparative Ethology*, 55, 289-324.
- Dohm, G. L., Kasperek, G. J., Tapscott, E. B. et Beecher, G. R.** 1980. Effect of exercise on synthesis and degradation of muscle protein. *Biochemical Journal*, 188, 255-262.
- Donham R. S.** 1979. Annual cycle of plasma luteinizing-hormone and sex-hormones in male and female mallards (*Anas platyrhynchos*). *Biology of Reproduction*, 21, 1273-1285.
- Drent R. H. et Daan S.** 1980. The prudent parent: energetic adjustments in avian breeding. *Ardea*, 68, 225-252.
- Dukas R. et Kamil A. C.** 2000. The cost of limited attention in blue jays. *Behavioral Ecology*, 11, 502-506.

- Eadie J. M., Kehoe, F. P. et Nudds T. D.** 1988. Pre-hatch and post-hatch brood amalgamation in north-american anatidae: a review of hypotheses. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, 66, 1709-1721.
- Eggers S., Griesser M. et Ekman J.** 2005. Predator-induced plasticity in nest visitation rates in the Siberian jay (*Perisoreus infaustus*). *Behavioral Ecology*, 16, 309-315.
- Eggers S., Griesser M., Nystrand M. et Ekman J.** 2006. Predation risk induces changes in nest-site selection and clutch size in the Siberian jay. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 273, 701-706.
- Eggers S., Griesser M. et Ekman J.** 2008. Predator-induced reductions in nest visitation rates are modified by forest cover and food availability. *Behavioral Ecology*, 19, 1056-1062.
- El Halawani M. E., Silsby J. L., Fehrer S. C. et Behnke E. J.** 1985. The influence of acute or repeated immobilization on plasma prolactin levels in the turkey (*Meleagris gallopavo*). *General and Comparative Endocrinology*, 59, 410-415.
- Engel S., Biebach H. et Visser G. H.** 2006. Metabolic costs of avian flight in relation to flight velocity: a study in Rose Coloured Starlings (*Sturnus roseus*, Linnaeus). *Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic and Environmental Physiology*, 176, 415-427.
- Erf G. F.** 2004. Cell-mediated immunity in poultry. *Poultry Science*, 83, 580-590.
- Etches R. J., Williams J. B. et Rzasz J.** 1984. Effects of corticosterone and dietary changes in the hen on ovarian function, plasma LH and steroids and the response to exogenous LH-RH. *Journal of Reproduction and Fertility*, 70, 121-130.
- Ewenson E., Zann R. et Flannery G.** 2003. PHA immune response assay in captive zebra finches is modulated by activity prior to testing. *Animal Behaviour*, 66, 797-800.
- Fernandez-Juricic E., Jimenez M. D. et Lucas E.** 2002. Factors affecting intra- and inter-specific variations in the difference between alert distances and flight distances for birds in forested habitats. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, 80, 1212-1220.
- Fernandez-Juricic E., Zollner P. A., LeBlang C. et Westphal L. M.** 2007. Responses of nestling Black-crowned Night Herons (*Nycticorax nycticorax*) to aquatic and terrestrial recreational activities: a manipulative study. *Waterbirds*, 30, 554-565.
- Ferrari M. C. O., Rive A. C., MacNaughton C. J., Brown G. E. et Chivers D. P.** 2008. Fixed vs. Random temporal predictability of predation risk: an extension of the risk allocation hypothesis. *Ethology*, 114, 238-244.
- Ferrari M. C. O., Sih A. et Chivers D. P.** 2009. The paradox of risk allocation: a review and prospectus. *Animal Behaviour*, 78, 579-585.
- Fitzpatrick S. et Bouchez B.** 1998. Effects of recreational disturbance on the foraging behaviour of waders on a rocky beach. *Bird Study*, 45, 157-171.
- Foam P. E., Mirza R. S., Chivers D. P. et Brown G. E.** 2005. Juvenile convict cichlids (*Archocentrus nigrofasciatus*) allocate foraging and antipredator behaviour in response to temporal variation in predation risk. *Behaviour*, 142, 129-144.

- Fontaine J. J. et Martin T. E.** 2006. Parent birds assess nest predation risk and adjust their reproductive strategies. *Ecology Letters*, 9, 428-434.
- Fransson T. et Weber T. P.** 1997. Migratory fuelling in blackcaps (*Sylvia atricapilla*) under perceived risk of predation. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 41, 75-80.
- Frid A. et Dill L.** 2002. Human-caused disturbance stimuli as a form of predation risk. *Conservation Ecology*, 6, 11.
- Fritz H., Guillemain M. et Guerin S.** 2000. Changes in the frequency of prospecting fly-overs by Marsh Harriers *Circus aeruginosus* in relation to short-term fluctuations in dabbling duck abundance. *Ardea*, 88, 9-16.
- Fusani L.** 2008. Testosterone control of male courtship in birds. *Hormones and Behavior*, 54, 227-233.
- Gagliardi A., Martinoli A., Preatoni D., Wauters L. A. et Tosi G.** 2006. Behavioral responses of wintering Great Crested Grebes to dissuasion experiments: Implications for management. *Waterbirds*, 29, 105-114.
- Gentle L. K. et Gosler A. G.** 2001. Fat reserves and perceived predation risk in the great tit, *Parus major*. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 268, 487-491.
- George, J. C., John, T. M. et Minhas, K. J.** 1987. Seasonal degradative, reparative and regenerative ultrastructural-changes in the breast muscle of the migratory canada goose. *Cytobios*, 52, 109-126.
- Gilliam J. F. et Fraser D. F.** 1987. Habitat selection under predation hazard: test of a model with foraging minnows. *Ecology*, 68, 1856-1862.
- Goldberg, A. L.** 1969. Protein turnover in skeletal muscle .2. Effects of denervation and cortisone on protein catabolism in skeletal muscle. *Journal of Biological Chemistry*, 244, 3223-3229.
- Goldsmith A. R.** 1991. Prolactin and avian reproductive strategies. In: *Acta XX Congressus Internationalis Ornithologici* (Ed. by Bell, B. D.), pp. 2063-2071. Christchurch, NZ: New Zealand Ornithological Congress Trust Board.
- Goldsmith A. R. et Williams D. M.** 1980. Incubation in mallards (*Anas platyrhynchos*): changes in plasma-levels of prolactin and luteinizing-hormone. *Journal of Endocrinology*, 86, 371-379.
- Goldspink, D. F.** 1991. Exercise-related changes in protein-turnover in mammalian striated-muscle. *Journal of Experimental Biology*, 160, 127-148.
- Gosler A. G., Greenwood J. J. D. et Perrins C.** 1995. Predation risk and the cost of being fat. *Nature*, 377, 621-623.
- Granbom M. et Smith H. G.** 2006. Food limitation during breeding in a heterogeneous landscape. *Auk*, 123, 97-107.
- Gray J. M., Yarian D. et Ramenofsky M.** 1990. Corticosterone, foraging behavior, and metabolism in Dark-Eyed juncos, *Junco hyemalis*. *General and Comparative Endocrinology*, 79, 375-384.
- Greenberg N., Carr J. A. et Summers C. H.** 2002. Causes and consequences of stress. *Integrative and Comparative Biology*, 42, 508-516.



- Grimminger P.** 1976. Lipid metabolism. In: *Avian physiology* (Ed. by Sturkie, P. D.), pp. 233-262. New York: Springer-Verlag.
- Groscolas R., Lacroix A. et Robin J. P.** 2008. Spontaneous egg or chick abandonment in energy-depleted king penguins: A role for corticosterone and prolactin? *Hormones and Behavior*, 53, 51-60.
- Guemene, D., Bedecarrats, G., Karatzas, C. N., Garreaumills, M., Kuhnlein, U., Crisostomopinto, S. et Zadworny, D.** 1994. Development and validation of a homologous radioimmunoassay using a biologically-active recombinant turkey prolactin. *British Poultry Science*, 35, 775-787.
- Guillemain M., Duncan P. et Fritz H.** 2001. Switching to a feeding method that obstructs vision increases head-up vigilance in dabbling ducks. *Journal of Avian Biology*, 32, 345-350.
- Guillemain M., Elmberg J., Arzel C., Johnson A. R. et Simon G.** 2008. The income-capital breeding dichotomy revisited: late winter body condition is related to breeding success in an income breeder. *Ibis*, 150, 172-176.
- Haftorn S.** 1989. Seasonal and diurnal body-weight variations in titmice, based on analyses of individual birds. *Wilson Bulletin*, 101, 217-235.
- Hall M. R.** 1987. External stimuli affecting incubation behavior and prolactin secretion in the duck (*Anas platyrhynchos*). *Hormones and Behavior*, 21, 269-287.
- Hall M. R.** 1991. Endocrinologic and behavioral changes associated with the onset of incubation in the duck. *Physiology & Behavior*, 50, 311-316.
- Hamilton I. M. et Heithaus M. R.** 2001. The effects of temporal variation in predation risk on anti-predator behaviour: an empirical test using marine snails. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 268, 2585-2588.
- Hasselquist D., Wasson M. F. et Winkler D. W.** 2001. Humoral immunocompetence correlates with date of egg-laying and reflects work load in female tree swallows. *Behavioral Ecology*, 12, 93-97.
- Hedenstrom A.** 1992. Flight performance in relation to fuel load in birds. *Journal of Theoretical Biology*, 158, 535-537.
- Hedenstrom A. et Alerstam T.** 1992. Climbing performance of migrating birds as a basis for estimating limits for fuel-carrying capacity and muscle work. *Journal of Experimental Biology*, 164, 19-38.
- Hedenstrom A. et Rosen M.** 2001. Predator versus prey: on aerial hunting and escape strategies in birds. *Behavioral Ecology*, 12, 150-156.
- Heiblum R., Arnon E., Gvaryahu G., Robinzon B. et Snapir N.** 2000. Short-term stress increases testosterone secretion from testes in male domestic fowl. *General and Comparative Endocrinology*, 120, 55-66.
- Hilton G. M., Ruxton G. D. et Cresswell W.** 1999. Choice of foraging area with respect to predation risk in redshanks: the effects of weather and predator activity. *Oikos*, 87, 295-302.
- Hoffman-Goetz L. et Pedersen B. K.** 1994. Exercise and the immune system: a model of the stress response? *Immunology Today*, 8, 382-387.

- Houston A. I. et McNamara J. M.** 1993. A theoretical investigation of the fat reserves and mortality levels of small birds in winter. *Ornis Scandinavica*, 24, 205-219.
- Houston A. I., McNamara J. M. et Hutchinson J. M. C.** 1993. General results concerning the trade-off between gaining energy and avoiding predation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 341, 375-397.
- Houston A. I., McNamara J. M., Barta Z. et Klasing K. C.** 2007. The effect of energy reserves and food availability on optimal immune defence. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 274, 2835-2842.
- Houston D. C., Donnan D., Jones P., Hamilton I. et Osborne D.** 1995. Changes in the muscle condition of female zebra finches *Poephila guttata* during egg-laying and the role of protein storage in bird skeletal muscle. *Ibis*, 137, 322-328.
- Ilmonen P., Hasselquist D., Langefors A. et Wiehn J.** 2003. Stress, immunocompetence and leukocyte profiles of pied flycatchers in relation to brood size manipulation. *Oecologia*, 136, 148-154.
- Jallageas, M., Tamisier, A. et Assenmacher, I.** 1978. Comparative-study of the annual cycles in sexual and thyroid-function in male peking ducks (*Anas platyrhynchos*) and teal (*Anas crecca*). *General and Comparative Endocrinology*, 36, 201-210.
- Jones, K. A., Krebs J. R. et Whittingham M. J.** 2009. Heavier birds react faster to predators: individual differences in the detection of stalking and ambush predators. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 63, 1319-1329.
- Juul-Madsen H. R., Viertlboeck B., Smith A. L. et Göbel T. W. F.** 2008. Avian immune innate response. In: *Avian Immunology* (Ed. by Davison, F., Kaspers, B. et Schat, K. A.), pp. 129-158. London: Academic Press.
- Kats L. B. et Dill L. M.** 1998. The scent of death: Chemosensory assessment of predation risk by prey animals. *Ecoscience*, 5, 361-394.
- Kavaliers M. et Choleris E.** 2001. Antipredator responses and defensive behavior: ecological and ethological approaches for the neurosciences. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25, 577-586.
- Kear J.** 1970. The adaptive radiation of parental care in waterfowl. In: *Social Behavior in Birds and Mammals: Essays on the Social Ethology of Animals and Man* (Ed. by Crook, J. H.), pp. 357-392. London, England, New York, N.Y., U.S.A: Academic Press.
- Kendeigh S. C.** 1941. Length of day and energy requirements for gonad development and egg-laying in birds. *Ecology*, 22, 237-248.
- Kitaysky A. S., Wingfield J. C. et Piatt J. F.** 1999. Dynamics of food availability, body condition and physiological stress response in breeding Black-legged Kittiwakes. *Functional Ecology*, 13, 577-584.
- Koivisto E. et Pusenius J.** 2003. Effects of temporal variation in the risk of predation by least weasel (*Mustela nivalis*) on feeding behavior of field vole (*Microtus agrestis*). *Evolutionary Ecology*, 17, 477-489.
- Komdeur J. et Kats R. K. H.** 1999. Predation risk affects trade-off between nest guarding and foraging in Seychelles warblers. *Behavioral Ecology*, 10, 648-658.

- Kosztolanyi A., Szekely T. et Cuthill I. C.** 2007. The function of habitat change during brood-rearing in the precocial Kentish plover *Charadrius alexandrinus*. *Acta Ethologica*, 10, 73-79.
- Kotler B. P., Brown J., Mukherjee S., Berger-Tal O. et Bouskila A.** 2010. Moonlight avoidance in gerbils reveals a sophisticated interplay among time allocation, vigilance and state-dependent foraging. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 277, 1469-1474.
- Krams I.** 2002. Mass-dependent take-off ability in wintering great tits (*Parus major*): comparison of top-ranked adult males and subordinate juvenile females. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 51, 345-349.
- Krams I., Cirule D., Suraka V., Krama T., Rantala M. J. et Ramey G.** 2010. Fattening strategies of wintering great tits support the optimal body mass hypothesis under conditions of extremely low ambient temperature. *Functional Ecology*, 24, 172-177.
- Krapu, G. L.** 1981. The role of nutrient reserves in mallard reproduction. *Auk*, 98, 29-38.
- Krause J. et Ruxton G.** 2002. *Living in groups*. Oxford: Oxford University press.
- Kullberg C.** 1998. Does diurnal variation in body mass affect take-off ability in wintering willow tits? *Animal Behaviour*, 56, 227-233.
- Kullberg C., Fransson T. et Jakobsson S.** 1996. Impaired predator evasion in fat blackcaps (*Sylvia atricapilla*). *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 263, 1671-1675.
- Kullberg C., Jakobsson S. et Fransson T.** 1998. Predator-induced take-off strategy in great tits (*Parus major*). *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 265, 1659-1664.
- Kullberg C., Jakobsson S. et Fransson T.** 2000. High migratory fuel loads impair predator evasion in Sedge Warblers. *Auk*, 117, 1034-1038.
- Kullberg C., Houston D. C. et Metcalfe N. B.** 2002a. Impaired flight ability--a cost of reproduction in female blue tits. *Behavioral Ecology*, 13, 575-579.
- Kullberg C., Metcalfe N. B. et Houston D. C.** 2002b. Impaired flight ability during incubation in the pied flycatcher. *Journal of Avian Biology*, 33, 179-183.
- Kullberg C., Jakobsson S., Kaby U. et Lind J.** 2005. Impaired flight ability prior to egg-laying: a cost of being a capital breeder. *Functional Ecology*, 19, 98-101.
- Landys M. M., Ramenofsky M. et Wingfield J. C.** 2006. Actions of glucocorticoids at a seasonal baseline as compared to stress-related levels in the regulation of periodic life processes. *General and Comparative Endocrinology*, 148, 132-149.
- Landys M. M., Goymann W., Schwabl I., Trapschuh M. et Slagsvold T.** 2010. Impact of season and social challenge on testosterone and corticosterone levels in a year-round territorial bird. *Hormones and Behavior*, 58, 317-325.
- Lazarus J. et Inglis I. R.** 1978. Breeding-behavior of pink-footed goose: parental care and vigilant behavior during fledging period. *Behaviour*, 65, 62-88.
- Leboucher G., Beguin N., Lacroix A. et Kreutzer M.** 2000. Progesterone inhibits female courtship behavior in domestic canaries (*Serinus canaria*). *Hormones and Behavior*, 38, 123-129.

- Lee S. J., Witter M. S., Cuthill I. C. et Goldsmith A. R.** 1996. Reduction in Escape Performance as a Cost of Reproduction in Gravid Starlings, *Sturnus vulgaris*. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 263, 619-623.
- Lendrem D. W.** 1983. Sleeping and vigilance in birds .1. Field observations of the mallard (*Anas platyrhynchos*). *Animal Behaviour*, 31, 532-538.
- Lendrem, D. W.** 1984. Sleeping and vigilance in birds .2. An experimental-study of the barberry dove (*Streptopelia risoria*). *Animal Behaviour*, 32, 243-248.
- Levins R.** 1968. *Evolution in changing environments: some theoretical explorations*. Princeton: Princeton University Press.
- Lilliendahl K.** 1997. The effect of predator presence on body mass in captive greenfinches. *Animal Behaviour*, 53, 75-81.
- Lilliendahl K.** 1998. Yellowhammers get fatter in the presence of a predator. *Animal Behaviour*, 55, 1335-1340.
- Lima S. L.** 1986. Predation risk and unpredictable feeding conditions: determinants of body-mass in birds. *Ecology*, 67, 377-385.
- Lima S. L.** 1993. Ecological and evolutionary perspectives on escape from predatory attack: a survey of North American birds. *Wilson Bulletin*, 105, 1-47.
- Lima S. L.** 1998a. Stress and decision making under the risk of predation: Recent developments from behavioral, reproductive, and ecological perspectives. *Advances in the Study of Behavior*, 27, 215-290.
- Lima S. L.** 1998b. Nonlethal effects in the ecology of predator-prey interactions: What are the ecological effects of anti-predator decision-making? *Bioscience*, 48, 25-34.
- Lima S. L.** 2009. Predators and the breeding bird: behavioral and reproductive flexibility under the risk of predation. *Biological Reviews*, 84, 485-513.
- Lima S. L. et Dill L. M.** 1990. Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, 68, 619-640.
- Lima S. L. et Bednekoff P. A.** 1999a. Back to the basics of antipredatory vigilance: can nonvigilant animals detest attack? *Animal Behaviour*, 58, 537-543.
- Lima S. L. et Bednekoff P. A.** 1999b. Temporal variation in danger drives antipredator behavior: The predation risk allocation hypothesis. *American naturalist*, 153, 649-659.
- Lima S. L., Rattenborg N. C., Lesku J. A. et Amlaner C. J.** 2005. Sleeping under the risk of predation. *Animal Behaviour*, 70, 723-736.
- Lind J.** 2004. What determines probability of surviving predator attacks in bird migration?: the relative importance of vigilance and fuel load. *Journal of Theoretical Biology*, 231, 223-227.
- Lind J., Fransson T., Jakobsson S. et Kullberg C.** 1999. Reduced take-off ability in robins (*Erithacus rubecula*) due to migratory fuel load. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 46, 65-70.

- Lind J. et Cresswell W.** 2005. Determining the fitness consequences of antipredation behavior. *Behavioral Ecology*, 16, 945-956.
- Lind J. et Cresswell W.** 2006. Anti-predation behaviour during bird migration; the benefit of studying multiple behavioural dimensions. *Journal of Ornithology*, 147, 310-316.
- Lind J., Jakobsson S. et Kullberg C.** sous presse. Impaired predator evasion in the life-history of birds: behavioral and physiological adaptations to reduced flight ability. *Current Ornithology*, 17.
- Lochmiller R. L. et Deerenberg C.** 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos*, 88, 87-98.
- Loesch C. R., Kaminski R. M. et Richardson D. M.** 1992. Endogenous loss of body-mass by mallards in winter. *Journal of Wildlife Management*, 56, 735-739.
- Lord A., Waas J. R. et Innes J.** 1997. Effects of human activity on the behaviour of northern New Zealand dotterel *Charadrius obscurus aquilonius* chicks. *Biological Conservation*, 82, 15-20.
- Low M., Arlt D., Eggers S. et Part T.** 2010. Habitat-specific differences in adult survival rates and its links to parental workload and on-nest predation. *Journal of Animal Ecology*, 79, 214-224.
- Lynn S. E., Stamlis T. B., Barrington W. T., Weida N. et Hudak C. A.** 2010. Food, stress, and reproduction: Short-term fasting alters endocrine physiology and reproductive behavior in the zebra finch. *Hormones and Behavior*, 58, 214-222.
- Macleod R.** 2006. Why does diurnal mass change not appear to affect the flight performance of alarmed birds? *Animal Behaviour*, 71, 523-530.
- Macleod R., Barnett P., Clark J. A. et Cresswell W.** 2005a. Body mass change strategies in blackbirds *Turdus merula*: the starvation-predation risk trade-off. *Journal of Animal Ecology*, 74, 292-302.
- Macleod R., Gosler A. G. et Cresswell W.** 2005b. Diurnal mass gain strategies and perceived predation risk in the great tit *Parus major*. *Journal of Animal Ecology*, 74, 956-964.
- Macleod R. et Gosler A. G.** 2006. Capture and mass change: perceived predation risk or interrupted foraging? *Animal Behaviour*, 71, 1081-1087.
- MacLeod R., MacLeod C. D., Learmonth J. A., Jepson P. D., Reid R. J., Deaville R. et Pierce G. J.** 2007a. Mass-dependent predation risk and lethal dolphin porpoise interactions. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 274, 2587-2593.
- MacLeod R., Lind J., Clark J. et Cresswell W.** 2007b. Mass regulation in response to predation risk can indicate population declines. *Ecology Letters*, 10, 945-955.
- Magnhagen C.** 1991. Predation risk as a cost of reproduction. *Trends in Ecology & Evolution*, 6, 183-185.
- Martin L. B.** 2009. Stress and immunity in wild vertebrates: Timing is everything. *General and Comparative Endocrinology*, 163, 70-76.
- Martin L. B., Weil Z. M., Kuhlman J. R. et Nelson R. J.** 2006. Trade-offs within the immune systems of female White-footed Mice, *Peromyscus leucopus*. *Functional Ecology*, 20, 630-636.

- Martin L. B., Weil Z. M. et Nelson R. J.** 2008. Seasonal changes in vertebrate immune activity: mediation by physiological trade-offs. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 363, 321-339.
- Martin T. E.** 1987. Food as a Limit on Breeding Birds: A Life-History Perspective. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 453-487.
- Martin T. E.** 1995. Avian life-history evolution in relation to nest sites, nest predation, and food. *Ecological Monographs*, 65, 101-127.
- Martin T. E., Martin P. R., Olso, C. R., Heidinger B. J. et Fontaine J. J.** 2000a. Parental care and clutch sizes in North and South American birds. *Science*, 287, 1482-1485.
- Martin T. E., Scott J. et Menge C.** 2000b. Nest predation increases with parental activity: separating nest site and parental activity effects. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 267, 2287-2293.
- Martinez J., Tomas G., Merino S., Arriero E. et Moreno J.** 2003. Detection of serum immunoglobulins in wild birds by direct ELISA: a methodological study to validate the technique in different species using antichickens antibodies. *Functional Ecology*, 17, 700-706.
- Massaro M., Starling-Windhof A., Briskie J. V. et Martin T. E.** 2008. Introduced Mammalian Predators Induce Behavioural Changes in Parental Care in an Endemic New Zealand Bird. *Plos One*, 3.
- Mata, A. J., Caloin, M., Robin, J. P. et Le Maho, Y.** 2006. Reliability in estimates of body composition of birds: Oxygen-18 versus deuterium dilution. *Physiological and Biochemical Zoology*, 79, 202-209.
- Matarese G. et La Cava A.** 2004. The intricate interface between immune system and metabolism. *Trends in Immunology*, 25, 193-200.
- Mathot K. J., van den Hout P. J. et Piersma T.** 2009. Differential responses of red knots, *Calidris canutus*, to perching and flying sparrowhawk, *Accipiter nisus*, models. *Animal Behaviour*, 77, 1179-1185.
- Matson K. D., Ricklefs R. E. et Klasing K. C.** 2005. A hemolysis-hemagglutination assay for characterizing constitutive innate humoral immunity in wild and domestic birds. *Developmental and Comparative Immunology*, 29, 275-286.
- Matson K. D., Cohen A. A., Klasing K. C., Ricklefs R. E. et Scheuerlein A.** 2006. No simple answers for ecological immunology: relationships among immune indices at the individual level break down at the species level in waterfowl. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 273, 815-822.
- McEwen B. S. et Wingfield J. C.** 2003. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and Behavior*, 43, 2-15.
- McNab B. K.** 1997. On the utility of uniformity in the definition of basal rate of metabolism. *Physiological Zoology*, 70, 718-720.
- McNamara J. M. et Houston A. I.** 1987. Starvation and predation as factors limiting population size. *Ecology*, 68, 1515-1519.

- McNamara J. M. et Houston A. I.** 1990. The value of fat reserves and the tradeoff between starvation and predation. *Acta Biotheoretica*, 38, 37-61.
- McNamara J. M., Houston A. I. et Lima S. L.** 1994. Foraging routines of small birds in winter: a theoretical investigation. *Journal of Avian Biology*, 25, 287-302.
- McNamara J. M., Barta Z., Houston A. I. et Race P.** 2005. A theoretical investigation of the effect of predators on foraging behaviour and energy reserves. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 272, 929-934.
- McNamara J. M. et Buchanan K. L.** 2005. Stress, resource allocation, and mortality. *Behavioral Ecology*, 16, 1008-1017.
- Meijer T. et Drent R.** 1999. Re-examination of the capital and income dichotomy in breeding birds. *Ibis*, 141, 399-414.
- Metcalf N. B. et Ure S. E.** 1995. Diurnal variation in flight performance and hence potential predation risk in small birds. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 261, 395-400.
- Michel C., Duclo, M., Cabanac M. et Richard D.** 2005. Chronic stress reduces body fat content in both obesity-prone and obesity-resistant strains of mice. *Hormones and Behavior*, 48, 172-179.
- Michl G., Török J., Garamszegi L. Z. et Tóth L.** 2000. Sex-dependent risk taking in the collared flycatcher, *Ficedula albicollis*, when exposed to a predator at the nestling stage. *Animal Behaviour*, 59, 623-628.
- Mikolajewski D. J., Stoks R., Rolff J. et Joop G.** 2008. Predators and cannibals modulate sex-specific plasticity in life-history and immune traits. *Functional Ecology*, 22, 114-120.
- Mirza R. S., Mathis A. et Chivers D. P.** 2006. Does temporal variation in predation risk influence the intensity of antipredator responses? A test of the risk allocation hypothesis. *Ethology*, 112, 44-51.
- Moreno J.** 1989. Strategies of mass change in breeding birds. *Biological Journal of the Linnean Society*, 37, 297-310.
- Moret Y. et Schmid-Hempel P.** 2000. Survival for immunity: The price of immune system activation for bumblebee workers. *Science*, 290, 1166-1168.
- Mougeot F., Redpath S. M., Piertney S. B. et Hudson P. J.** 2005. Separating behavioral and physiological mechanisms in testosterone-mediated trade-offs. *American naturalist*, 166, 158-168.
- Mueller C., Jenni-Eiermann S., Blondel J., Perret P., Caro S. P., Lambrechts M. et Jenni L.** 2006. Effect of human presence and handling on circulating corticosterone levels in breeding blue tits (*Parus caeruleus*). *General and Comparative Endocrinology*, 148, 163-171.
- Munro J. et Bedard J.** 1977. Crèche formation in common eider. *Auk*, 94, 759-771.
- Navarro C., de Lope F., Marzal A. et Moller A. P.** 2004. Predation risk, host immune response, and parasitism. *Behavioral Ecology*, 15, 629-635.
- Nebel, S. et Ydenberg, R.** 2005. Differential predator escape performance contributes to a latitudinal sex ratio cline in a migratory shorebird. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 59, 44-50.

- Nierman D. C. et Nehlsen-Cannarella S. L.** 1994. The immune response to exercise. *Seminars in Hematology*, 31, 166-179.
- Nilsson J. A. et Persson I.** 2004. Postnatal effects of incubation length in mallard and pheasant chicks. *Oikos*, 105, 588-594.
- Nisbet I. C. T.** 2000. Disturbance, habituation, and management of waterbird colonies - Commentary. *Waterbirds*, 23, 312-332.
- Norberg U. M.** 1996. Energetics of Flight. In: *Avian Energetics and Nutritional Ecology* (Ed. by Carey, C.), pp. 199-249. New York: Chapman & Hall.
- Norberg U. M. et Rayner J. M. V.** 1987. Ecological Morphology and Flight in Bats (Mammalia; Chiroptera): Wing Adaptations, Flight Performance, Foraging Strategy and Echolocation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 316, 335-427.
- Nordstrom M., Laine J., Ahola M. et Korpimaki E.** 2004. Reduced nest defence intensity and improved breeding success in terns as responses to removal of non-native American mink. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 55, 454-460.
- Norris K. et Evans M. R.** 2000. Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. *Behavioral Ecology*, 11, 19-26.
- Nudds R. L. et Bryant D. M.** 2000. The energetic cost of short flights in birds. *Journal of Experimental Biology*, 203, 1561-1572.
- Oring L. W., Fivizzani A. J. et Elhalawani M. E.** 1986. Changes in plasma prolactin associated with laying and hatch in the spotted sandpiper. *Auk*, 103, 820-822.
- Oring L. W., Fivizzani A. J., Colwell M. A. et Elhalawani M. E.** 1988. Hormonal changes associated with natural and manipulated incubation in the sex-role reversed Wilson phalarope. *General and Comparative Endocrinology*, 72, 247-256.
- Ost M., Mantila L. et Kilpi M.** 2002. Shared care provides time-budgeting advantages for female eiders. *Animal Behaviour*, 64, 223-231.
- Owen M. et Black J. M.** 1990. *Waterfowl ecology*. Glasgow: Blackie.
- Parsons P. A.** 1998. Behavioral variability and limits to evolutionary adaptation under stress. *Advances in the Study of Behavior*, 27, 155-180.
- Partridge L. et Harvey P. H.** 1988. The ecological context of life-history evolution. *Science*, 241, 1449-1455.
- Pattenden R. K. et Boag D. A.** 1989. Effects of body-mass on courtship, pairing, and reproduction in captive mallards. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, 67, 495-501.
- Pecor K. W. et Hazlett, B. A.** 2003. Frequency of encounter with risk and the tradeoff between pursuit and antipredator behaviors in crayfish: A test of the risk allocation hypothesis. *Ethology*, 109, 97-106.
- Pecor K. W. et Hazlett B. A.** 2006. A test of temporal variation in risk and food stimuli on behavioral tradeoffs in the rusty crayfish, *Orconectes rusticus*: Risk allocation and stimulus degradation. *Ethology*, 112, 230-237.



- Pelham P. H. et Dickson J. G.** 1992. Wild Turkey Biology: Physical Characteristics. In: *The Wild Turkey: Biology and Management* (Ed. by Dickson, J. G.), pp. 32-45. Mechanicsburg: Stackpole Books.
- Pennycuik C. J.** 1975. Mechanics of flight. In: *Avian Biology* (Ed. by Farner, D. S., King, J. R. et Parkes, K. C.), pp. 1-76. New York: Academic Press.
- Pennycuik C. J.** 1989. *Bird Flight Performance*. Oxford: Oxford University Press.
- Pennycuik C. J.** 2008. *Modelling the flying bird*. London: Academic Press.
- Piersma T. et Lindstrom A.** 1997. Rapid reversible changes in organ size as a component of adaptive behaviour. *Trends in Ecology & Evolution*, 12, 134-138.
- Pietz P. J. et Buhl D. A.** 1999. Behaviour patterns of Mallard *Anas Platyrhynchos* pairs and broods in Minnesota and North Dakota. *Wildfowl*, 101-122.
- Pilz K. M., Smith H. G., Sandell M. I. et Schwabl H.** 2003. Interfemale variation in egg yolk androgen allocation in the European starling: do high-quality females invest more? *Animal Behaviour*, 65, 841-850.
- Pond C. M.** 1978. Morphological aspects and ecological and mechanical consequences of fat deposition in wild vertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 9, 519-570.
- Pond C. M.** 1996. Interactions between adipose tissue and the immune system. *Proceedings of the Nutrition Society*, 55, 111-126.
- Pravosudov V. V.** 2007. Stress hormones and the predation-starvation trade-off. In: *Foraging: behavior and ecology* (Ed. by Stephens, D. W., Brown, J. S. et Ydenberg, R. C.), pp. 439-442. Chicago: The University of Chicago Press.
- Pravosudov V. V. et Grubb T. C.** 1998. Management of fat reserves in tufted titmice *Baeolophus bicolor* in relation to risk of predation. *Animal Behaviour*, 56, 49-54.
- Råberg L., Grahn M., Hasselquist D. et Svensson E.** 1998. On the adaptive significance of stress-induced immunosuppression. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 265, 1637-1641.
- Rands S. A. et Cuthill I. C.** 2001. Separating the effects of predation risk and interrupted foraging upon mass changes in the blue tit *Parus caeruleus*. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 268, 1783-1790.
- Ratcliffe M. J. H.** 2008. B cells, the Bursa of Fabricius and the Generation of Antibody repertoires. In: *Avian Immunology* (Ed. by Davison, F., Kaspers, B. et Schat, K. A.), pp. 67-90. London: Academic Press.
- Rattenborg N. C., Lima S. L. et Amlaner, C. J.** 1999a. Half-awake to the risk of predation. *Nature*, 397, 397-398.
- Rattenborg N. C., Lima S. L. et Amlaner C. J.** 1999b. Facultative control of avian unihemispheric sleep under the risk of predation. *Behavioural Brain Research*, 105, 163-172.

- Rattenborg N. C., Amlaner C. J. et Lima S. L.** 2000. Behavioral, neurophysiological and evolutionary perspectives on unihemispheric sleep. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 817-842.
- Reinecke K. J., Stone T. L. et Owen R. B.** 1982. Seasonal carcass composition and energy-balance of female black ducks in Maine. *Condor*, 84, 420-426.
- Rich E. L. et Romero L. M.** 2005. Exposure to chronic stress downregulates corticosterone responses to acute stressors. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 288, R1628-R1636.
- Ricklefs R. E.** 2000. Lack, Skutch, and Moreau: The early development of life-history thinking. *Condor*, 102, 3-8.
- Ricklefs R. E. et Wikelski, M.** 2002. The physiology/life-history nexus. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, 462-468.
- Riddington R., Hassall M., Lane S. J., Turner P. A. et Walters R.** 1996. The impact of disturbance on the behaviour and energy budgets of Brent geese *Branta-b-bernicla*. *Bird Study*, 43, 269-279.
- Rigby M. C. et Jokela J.** 2000. Predator avoidance and immune defence: costs and trade-offs in snails. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 267, 171-176.
- Riou S., Chastel O., Lacroix A. et Hamer K. C.** 2010. Stress and parental care: Prolactin responses to acute stress throughout the breeding cycle in a long-lived bird. *General and Comparative Endocrinology*, 168, 8-13.
- Robb G. N., McDonald R. A., Chamberlain D. E., Reynolds S. J., Harrison T. J. E. et Bearhop S.** 2008. Winter feeding of birds increases productivity in the subsequent breeding season. *Biology Letters*, 4, 220-223.
- Robin J. P.** 1989. Modifications métaboliques et comportementales au cours du jeûne prolongé. Réalimentation après un jeûne Prolongé, Université Louis Pasteur.
- Robin, J. P., Boucontet, L., Chillet, P. et Groscolas, R.** 1998. Behavioral changes in fasting emperor penguins: evidence for a "refeeding signal" linked to a metabolic shift. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 43, R746-R753.
- Roff D.** 1992. *The Evolution of Life Histories: Theory and Analysis*. New York: Chapman & Hall.
- Roff D.** 2002. *Life History Evolution*. Sunderland: Sinauer Associates
- Rogers C. M., Ramenofsky M., Ketterson E. D., Nolan V. et Wingfield J. C.** 1993. Plasma corticosterone, adrenal mass, winter weather, and season in nonbreeding populations of Dark-Eyed Juncos (*Junco hyemalis hyemalis*). *Auk*, 110, 279-285.
- Rogers C. M. et Smith J. N. M.** 1993. Life-history theory in the nonbreeding period: trade-offs in avian fat reserves ? *Ecology*, 74, 419-426.
- Roitt I. M., Brostoff J. et Male D. K.** 2001. *Immunology*. London: Mosby-Harcourt.
- Romero L. M.** 2004. Physiological stress in ecology: lessons from biomedical research. *Trends in Ecology & Evolution*, 19, 249-255.

- Romero L. M. et Butler L. K.** 2007. Endocrinology of Stress. *International Journal of Comparative Psychology*, 20, 89-95.
- Rozenboim I., Mobarky N., Heiblum R., Chaiseha Y., Kang S. W., Biran I., Rosenstrauch A., Sklan D. et El Halawani M. E.** 2004. The role of prolactin in reproductive failure associated with heat stress in the domestic turkey. *Biology of Reproduction*, 71, 1208-1213.
- Ruxton G. D., Jackson A. L. et Tosh C. R.** 2007. Confusion of predators does not rely on specialist coordinated behavior. *Behavioral Ecology*, 18, 590-596.
- Saino N., Incagli M., Martinelli R. et Moller A. P.** 2002. Immune response of male barn swallows in relation to parental effort, corticosterone plasma levels, and sexual ornamentation. *Behavioral Ecology*, 13, 169-174.
- Salvante K. G. et Williams T. D.** 2003. Effects of corticosterone on the proportion of breeding females, reproductive output and yolk precursor levels. *General and Comparative Endocrinology*, 130, 205-214.
- Sansom A., Lind J. et Cresswell W.** 2009. Individual behavior and survival: the roles of predator avoidance, foraging success, and vigilance. *Behavioral Ecology*, 20, 1168-1174.
- Sapolsky R. M., Romero L. M. et Munck A. U.** 2000. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocrine Reviews*, 21, 55-89.
- Sargeant A. B., Allen S. H. et Eberhardt R. T.** 1984. Red fox predation on breeding ducks in midcontinent North America. *Wildlife Monographs*, 1-41.
- Scheuerlein A., Van't Hof T. et Gwinner E.** 2001. Predators as stressors? Physiological and reproductive consequences of predation risk in tropical stonechats (*Saxicola torquata axillaris*). *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 268, 1575-1582.
- Schmidt-Nielsen K.** 1983. *Animal physiology: Adaptation and environment*, Third edn. New York: Cambridge University Press.
- Schoech S. J., Bowman R., Bridge E. S., Morgan G. M., Rensel M. A., Wilcoxon T. E. et Boughton R. K.** 2007. Corticosterone administration does not affect timing of breeding in Florida scrub-jays (*Aphelocoma coerulescens*). *Hormones and Behavior*, 52, 191-196.
- Schoech S. J., Rensel M. A., Bridge E. S., Boughton R. K. et Wilcoxon T. E.** 2009. Environment, glucocorticoids, and the timing of reproduction. *General and Comparative Endocrinology*, 163, 201-207.
- Schoeller D. A., Ravussin E., Schutz Y., Acheson K. J., Baertschi P. et Jequier E.** 1986. Energy expenditure by doubly labeled water: validation in humans and proposed calculation. *American Journal of Physiology*, 250, R823-R830.
- Schulkin J.** 2003. Allostasis: a neural behavioral perspective. *Hormones and Behavior*, 43, 21-27.
- Sharp P. J., Macnamee M. C., Sterling R. J., Lea R. W. et Pedersen H. C.** 1988. Relationships between prolactin, LH and broody behavior in bantam hens. *Journal of Endocrinology*, 118, 279-286.

- Sharp P. J., Dawson A. et Lea R. W.** 1998. Control of luteinizing hormone and prolactin secretion in birds. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology*, 119, 275-282.
- Sheldon B. C. et Verhulst S.** 1996. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 11, 317-321.
- Sheriff M. J., Krebs C. J. et Boonstra R.** 2009. The sensitive hare: sublethal effects of predator stress on reproduction in snowshoe hares. *Journal of Animal Ecology*, 78, 1249-1258.
- Sheriff, M. J., Krebs, C. J. et Boonstra, R.** 2010. Assessing stress in animal populations: Do fecal and plasma glucocorticoids tell the same story? *General and Comparative Endocrinology*, 166, 614-619.
- Sih A., Ziemba R. et Harding K. C.** 2000. New insights on how temporal variation in predation risk shapes prey behavior. *Trends in Ecology & Evolution*, 15, 3-4.
- Sih A. et McCarthy T. M.** 2002. Prey responses to pulses of risk and safety: testing the risk allocation hypothesis. *Animal Behaviour*, 63, 437-443.
- Silverin B.** 1998a. Stress responses in birds. *Poultry and Avian Biology Reviews*, 9, 153-168.
- Silverin B.** 1998b. Behavioural and hormonal responses of the pied flycatcher to environmental stressors. *Animal Behaviour*, 55, 1411-1420.
- Small T. W., Sharp P. J. et Deviche P.** 2007. Environmental regulation of the reproductive system in a flexibly breeding Sonoran Desert bird, the Rufous-winged Sparrow, *Aimophila carpalis*. *Hormones and Behavior*, 51, 483-495.
- Sockman K. W., Sharp P. J. et Schwabl H.** 2006. Orchestration of avian reproductive effort: an integration of the ultimate and proximate bases for flexibility in clutch size, incubation behaviour, and yolk androgen deposition. *Biological Reviews*, 81, 629-666.
- Speakman J. R.** 1997. *Doubly labelled water: theory and practice*. London: Chapman & Hall.
- Speakman, J. R.** 2001. *Body Composition Analysis of Animals: A Handbook of Non-Destructive Methods*, Cambridge University Press edn. Cambridge: Cambridge University Press.
- Stearns S. C.** 1989. Trade-offs in life-history evolution. *Functional Ecology*, 3, 259-268.
- Stearns S. C.** 1992. *The evolution of life histories*. New York: Oxford University Press.
- Stearns S. C.** 2000. Life history evolution: successes, limitations, and prospects. *Naturwissenschaften*, 87, 476-486.
- Steer D. et Doody J. S.** 2009. Dichotomies in perceived predation risk of drinking wallabies in response to predatory crocodiles. *Animal Behaviour*, 78, 1071-1078.
- Steiner U. K. et Pfeiffer T.** 2007. Optimizing Time and Resource Allocation Trade-Offs for Investment into Morphological and Behavioral Defense. *American naturalist*, 169, 118-129.
- Stephens D. W. et Krebs J.** 1986. *Foraging theory*. Princeton: Princeton University Press.

- Stevens D. J., Hansell M. H., Freel J. A. et Monaghan P.** 1999. Developmental trade-offs in caddis flies: increased investment in larval defence alters adult resource allocation. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 266, 1049-1054.
- Stoks R., Block M. D., Slos S., Doorslaer W. V. et Rolff J.** 2006. Time constraints mediate predator-induced plasticity in immune function, condition, and life history. *Ecology*, 87, 809-815.
- Sturkie P. D. et Mueller W. J.** 1976. Reproduction in the female and egg formation. In: *Avian physiology* (Ed. by Sturkie, P. D.). Berlin: Springer-Verlag.
- Sturkie P. D. et Opel H.** 1976. Reproduction in the male, fertilization, and early embryonic development. In: *Avian physiology* (Ed. by Sturkie, P. D.). Berlin: Springer-Verlag.
- Sundell J., Dudek D., Klemme I., Koivisto E., Pusenius J. et Ylonen H.** 2004. Variation in predation risk and vole feeding behaviour: a field test of the risk allocation hypothesis. *Oecologia*, 139, 157-162.
- Swartz S. M., Freeman P. W. et Stockwell E. F.** 2003. Ecomorphology of bats: comparative and experimental approaches relating structural design to ecology. In: *Bat ecology* (Ed. by Kunz, T. H. et Fenton, M. B.), pp. 257-300. Chicago: The University of Chicago Press.
- Tamisier A. et Dehorter O.** 1999. *Camargue, canards et foulques*. Nimes: Centre ornithologique du Gard.
- Thiel, D., Menoni, E., Brenot, J. F. et Jenni, L.** 2007. Effects of recreation and hunting on flushing distance of capercaillie. *Journal of Wildlife Management*, 71, 1784-1792.
- Thompson S. C. et Raveling D. G.** 1987. Incubation behavior of emperor geese compared with other geese: interactions of predation, body size, and energetics. *Auk*, 104, 707-716.
- Van Buskirk J., Muller C., Portmann A. et Surbeck M.** 2002. A test of the risk allocation hypothesis: tadpole responses to temporal change in predation risk. *Behavioral Ecology*, 13, 526-530.
- van den Hout P. J., Piersma T., Dekinga A., Lubbe, S. K. et Visser G. H.** 2006. Ruddy turnstones *Arenaria interpres* rapidly build pectoral muscle after raptor scares. *Journal of Avian Biology*, 37, 425-430.
- van den Hout P. J., Mathot K. J., Maas L. R. M. et Piersma T.** 2010. Predator escape tactics in birds: linking ecology and aerodynamics. *Behavioral Ecology*, 21, 16-25.
- Van der Veen I. T. et Lindstrom K. M.** 2000. Escape flights of yellowhammers and greenfinches: more than just physics. *Animal Behaviour*, 59, 593-601.
- Van der Veen I. T. et Sivars L. E.** 2000. Causes and consequences of mass loss upon predator encounter: feeding interruption, stress or fit-for-flight? *Functional Ecology*, 14, 638-644.
- Van Noordwijk A. J. et de Jong G.** 1986. Acquisition and allocation of resources: their influence on variation in life-history tactics. *American naturalist*, 128, 137-142.
- Varpe O., Jorgensen C., Tarling G. A. et Fiksen O.** 2009. The adaptive value of energy storage and capital breeding in seasonal environments. *Oikos*, 118, 363-370.

- Veasey J. S., Metcalfe N. B. et Houston D. C.** 1998. A reassessment of the effect of body mass upon flight speed and predation risk in birds. *Animal Behaviour*, 56, 883-889.
- Veasey J. S., Houston D. C. et Metcalfe N. B.** 2000. Flight muscle atrophy and predation risk in breeding birds. *Functional Ecology*, 14, 115-121.
- Veasey J. S., Houston D. C. et Metcalfe N. B.** 2001. A hidden cost of reproduction: the trade-off between clutch size and escape take-off speed in female zebra finches. *Journal of Animal Ecology*, 70, 20-24.
- Verdolin J. L.** 2006. Meta-analysis of foraging and predation risk trade-offs in terrestrial systems. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 60, 457-464.
- Verhulst S., Oosterbeek K. et Ens B. J.** 2001. Experimental evidence for effects of human disturbance on foraging and parental care in oystercatchers. *Biological Conservation*, 101, 375-380.
- Verreault J., Verboven N., Gabrielsen G. W., Letcher R. J. et Chastel O.** 2008. Changes in prolactin in a highly organohalogen contaminated Arctic top predator seabird, the glaucous gull. *General and Comparative Endocrinology*, 156, 569-576.
- Videler J. J.** 2005. *Avian Flight*. Oxford: Oxford University Press.
- Viney M. E., Riley E. M. et Buchanan K. L.** 2005. Optimal immune responses: immunocompetence revisited. *Trends in Ecology & Evolution*, 20, 665-669.
- Vleck C. M.** 1998. Hormonal Control of Incubation/Brooding Behavior: Lessons from Wild Birds. In: *Proceedings of the WPSA 10th European Poultry Conference*, pp. 163-169. Israel.
- von Holst D.** 1998. The concept of stress and its relevance for animal behavior. *Advances in the Study of Behavior*, 27, 1-131.
- Wang T., Hung C. C. Y. et Randall D. J.** 2006. The comparative physiology of food deprivation: From feast to famine. *Annual Review of Physiology*, 68, 223-251.
- Ward S.** 1996. Energy expenditure of female barn swallows *Hirundo rustica* during egg formation. *Physiological Zoology*, 69, 930-951.
- Watson M., Aebischer N. J. et Cresswell W.** 2007. Vigilance and fitness in grey partridges *Perdix perdix*: the effects of group size and foraging-vigilance trade-offs on predation mortality. *Journal of Animal Ecology*, 76, 211-221.
- Werner E. E. et Anholt B. R.** 1993. Ecological consequences of the trade-off between growth and mortality-rates mediated by foraging activity. *American naturalist*, 142, 242-272.
- Whittingham L. A. et Robertson R. J.** 1994. Food availability, parental care and male mating success in red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*). *Journal of Animal Ecology*, 63, 139-150.
- Whittingham M. J., Butler S. J., Quinn J. L. et Cresswell W.** 2004. The effect of limited visibility on vigilance behaviour and speed of predator detection: implications for the conservation of granivorous passerines. *Oikos*, 106, 377-385.
- Whittingham M. J., Devereux C. L., Evans A. D. et Bradbury R. B.** 2006. Altering perceived predation risk and food availability: management prescriptions to benefit farmland birds on stubble fields. *Journal of Applied Ecology*, 43, 640-650.

- Whyte R. J. et Bolen E. G.** 1988. Flight ranges and lipid dynamics of mallards wintering on the Southern high-plains of Texas. *Journal of Field Ornithology*, 59, 143-148.
- Wiens, J. A. et Farmer, A. H.** 1996. Population and community energetics. In: *Avian Energetics and Nutritional Ecology* (Ed. by Carey, C.), pp. 497-526. New York: Chapman & Hall.
- Willie J., Travers M. et Williams T. D.** 2010. Female Zebra Finches (*Taeniopygia guttata*) Are Chronically but Not Cumulatively "Anemic" during Repeated Egg Laying in Response to Experimental Nest Predation. *Physiological and Biochemical Zoology*, 83, 119-126.
- Wingfield J. C.** 1985. Influences of weather on reproductive function in female Song sparrows, *Melospiza melodia*. *Journal of Zoology. Series A*, 205, 545-558.
- Wingfield J. C.** 2003. Control of behavioural strategies for capricious environments. *Animal Behaviour*, 66, 807-815.
- Wingfield J. C.** 2005. The concept of allostasis: Coping with a capricious environment. *Journal of Mammalogy*, 86, 248-254.
- Wingfield J. C. et Silverin B.** 1986. Effects of corticosterone on territorial behavior of free-living male song sparrows *Melospiza melodia*. *Hormones and Behavior*, 20, 405-417.
- Wingfield J. C., Ball G. F., Dufty A. M., Hegner R. E. et Ramenofsky M.** 1987. Testosterone and aggression in birds. *American Scientist*, 75, 602-608.
- Wingfield J. C., Deviche P., Sharbaugh S., Astheimer L. B., Holberton R., Suydam R. et Hunt K.** 1994. Seasonal-changes of the adrenocortical responses to stress in redpolls, *Acanthis flammea*, in Alaska. *Journal of Experimental Zoology*, 270, 372-380.
- Wingfield J. C., Breuner C. W. et Jacobs J. D.** 1997. Corticosterone and behavioral responses to unpredictable events. In: *Perspectives in Avian Endocrinology* (Ed. by Harvey, S. et Etches, R. J.), pp. 267-278. Bristol: Journal of Endocrinology Press.
- Wingfield J. C., Maney D. L., Breuner C. W., Jacobs J. D., Lynn S., Ramenofsky M. et Richardson R. D.** 1998. Ecological bases of hormone-behavior interactions: The "emergency life history stage". *American Zoologist*, 38, 191-206.
- Wingfield J. C. et Romero L. M.** 2001. Adrenocortical responses to stress and their modulation in free-living vertebrates. In: *Handbook of Physiology; Section 7: The Endocrine System; Volume IV: Coping with the Environment: Neural and Endocrine Mechanisms* (Ed. by McEwen, B. S. et Goodman, H. M.), pp. 211-234. New York: Oxford University Press.
- Wingfield J. C. et Kitaysky A. S.** 2002. Endocrine responses to unpredictable environmental events: Stress or anti-stress hormones? *Integrative and Comparative Biology*, 42, 600-609.
- Wingfield J. C. et Sapolsky R. M.** 2003. Reproduction and resistance to stress: When and how. *Journal of Neuroendocrinology*, 15, 711-724.
- Witter M. S. et Cuthill I. C.** 1993. The ecological costs of avian fat storage. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 340, 73-92.
- Witter M. S., Cuthill I. C. et Bonser R. H. C.** 1994. Experimental investigations of mass-dependent predation risk in the European starling, *Sturnus vulgaris*. *Animal Behaviour*, 48, 201-222.

- Ydenberg R. C. et Dill L. M.** 1986. The economics of fleeing from predators. *Advances in the Study of Behavior*, 16, 229-249.
- Zera A. J., Potts J. et Kobus K.** 1998. The physiology of life-history trade-offs: Experimental analysis of a hormonally induced life-history trade-off in *Gryllus assimilis*. *American naturalist*, 152, 7-23.
- Zera A. J. et Harshman L. G.** 2001. The physiology of life history trade-offs in animals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32, 95-126.
- Zhang J.-X., Cao C., Gao H., Yang Z.-S., Sun L., Zhang Z.-B. et Wang Z.-W.** 2003. Effects of weasel odor on behavior and physiology of two hamster species. *Physiology & Behavior*, 79, 549-552.
- Zimmer C., Boos M., Petit O. & Robin J-P.** sous presse. Body mass variations in disturbed mallards fit to the mass-dependent starvation-predation risk trade-off. *Journal of Avian Biology*
- Zulkifli I. et Siegel P. B.** 1995. Is there a positive side to stress. *Worlds Poultry Science Journal*, 51, 63-76.



**ABSTRACT:**

In birds, predation is considered as one of the most powerful selective force in life history traits evolution. In this context, one of the most important trade-off is the one that allows getting food and avoiding predation. It predicts that birds should maintain their body mass as low as possible when predation risk is high to limit that risk, while they should retain a minimum level of body reserves to limit the risk of starvation. However, the main results on the starvation-predation risk trade-off only come from studies on small passerines birds. Moreover, studies are generally limited to an energetic approach that takes into account body mass and body reserves variations as well as food intake. Thus, the main aim of this study is to generalize this theory by checking whether it may apply in large species that developed different body reserves management strategies than passerines. In addition, this work takes into account the effect of a high predation risk on a greater number of factors and at different integration levels than those usually studied. To do so, predation risk was experimentally increased in three ducks species which body mass and body reserves are at least three times higher than in the largest passerines. In the three species, two groups were disturbed four times throughout the wintering period, during one week periods, at different daily frequencies. The last group, not disturbed, constituted the control group. Body mass, body reserves, food intake, stress and sexual hormones, immune factors and time-budget variations were measured. Long-term effects on reproductive success were also assessed. We showed that the starvation-predation risk trade-off applied in ducks and thus may be extended to all birds. However, the amplitude of the response to an increase in predation risk was different between Anatidae and passerines, which is probably due to differences in body reserves management strategies. Moreover, it appears that, in our conditions, an elevated predation risk during the wintering period did not have long-term negative effect on ducks' reproductive success. Finally, we highlighted that advantageous physiological and behavioural adjustments occurred in order to respond to the increase in predation risk. Therefore, it seems necessary to take into account these adjustments in the study of the starvation-predation risk trade-off.

**Keywords:** *Anas platyrhynchos*, *Anas crecca*, *Aythya fuligula*, ducks, passerines, predation, starvation, trade-off, body reserves, body mass, wing loading, power margin food intake, time-budget, stress, immunity, reproductive success, long and short terms, fitness

## RÉSUMÉ :

Chez les oiseaux, la prédation est considérée comme une des forces majeures dans l'évolution des traits d'histoire de vie. Dans ce contexte, un des compromis le plus important est celui qui permet de concilier recherche de nourriture et évitement de la prédation. Ce compromis prédit que les oiseaux devraient maintenir leur masse corporelle aussi basse que possible lorsque le risque de prédation est élevé afin de le limiter. A l'inverse, un niveau minimum de réserves corporelles doit être conservé afin d'anticiper d'éventuelles fluctuations des ressources alimentaires. Cependant, les principaux résultats qui soutiennent la théorie d'un compromis entre risque de jeûne et risque de prédation proviennent d'études sur des espèces de petite taille telles que les passereaux. De plus, l'étude de ce compromis se limite généralement à une approche énergétique ne prenant en compte que des variations de la masse corporelle et des réserves énergétiques ainsi que de la consommation alimentaire. Ainsi, l'objectif principal de cette étude est de généraliser cette théorie en vérifiant si elle peut s'appliquer à des espèces de grande taille ayant une régulation des réserves énergétiques différente de celle des passereaux. D'autre part, ce travail prend en compte l'impact d'un risque de prédation élevé sur un plus grand nombre de facteurs et ce, à différents niveaux d'intégration que ceux habituellement étudiés. Pour cela, le risque de prédation a été augmenté expérimentalement chez trois espèces de canards qui ont une masse corporelle au moins trois fois supérieure à celle des plus gros passereaux et une quantité de réserves corporelles plus importante. Chez les trois espèces, deux groupes ont été dérangés quatre fois au cours de l'hivernage pendant une semaine à des fréquences journalières différentes et un groupe qui n'était pas dérangé servait de témoin. Les variations de masse corporelle, des réserves énergétiques, de la consommation alimentaire, des hormones de stress et sexuelles, de facteurs immunitaires et du budget temps ont été mesurées. Les effets à long terme sur le succès reproducteur ont également été déterminés. Nous avons montré que le compromis entre les risques de jeûne et de prédation s'applique chez les canards et ainsi probablement chez tous les oiseaux. Cependant, l'amplitude de la réponse à une augmentation du risque de prédation est différente entre les Anatidés et les passereaux, ce qui est probablement dû à une différence de stratégie de gestion des réserves. De plus, il apparaît que, dans nos conditions, un risque de prédation élevé durant l'hivernage n'a pas d'effet à long terme sur le succès reproducteur. Enfin, nous avons mis en évidence que des ajustements physiologiques et comportementaux avantageux se mettent en place pour répondre à l'augmentation du risque de prédation. Il semble ainsi nécessaire de prendre en compte ces ajustements dans les études sur le compromis entre les risques de jeûne et de prédation.

**Mots clés :** *Anas platyrhynchos*, *Anas crecca*, *Aythya fuligula*, canard, passereau, prédation, compromis, jeûne, réserves énergétiques, masse corporelle, charge alaire, marge de puissance, consommation alimentaire, budget-temps, stress, immunité, succès reproducteur, long et court terme, fitness



## **RESUME :**

Le compromis entre le risque de jeûne et de prédation est un compromis majeur chez les oiseaux. Il prédit que les oiseaux devraient maintenir une masse corporelle plus faible lorsque le risque de prédation est élevé afin de le limiter. Cependant, les principaux résultats qui soutiennent ce compromis proviennent d'études sur des passereaux de petite taille ayant peu de réserves énergétiques. De plus, l'étude de ce compromis se limite généralement à une approche énergétique. Ainsi, l'objectif principal de cette étude expérimentale était de généraliser cette théorie en vérifiant si elle peut s'appliquer à des espèces de grande taille (anatidés) ayant une régulation des réserves énergétiques différente des passereaux. D'autre part, l'impact d'un risque de prédation élevé a été pris en compte sur un plus grand nombre de facteurs et à différents niveaux d'intégration pour mieux comprendre les ajustements mis en jeu. Ainsi, les variations de masse corporelle, des réserves énergétiques, de la consommation alimentaire, d'hormones liées au stress et sexuelles, de facteurs immunitaires et du budget temps ont été mesurées. Les effets à long terme sur le succès reproducteur ont également été déterminés. Nous avons montré que le compromis entre les risques de jeûne et de prédation s'applique chez les 3 espèces de canards considérées. Il apparaît que, dans nos conditions un risque de prédation élevé durant l'hivernage n'a pas d'effet à long terme sur le succès reproducteur. Enfin, nous avons mis en évidence que des ajustements physiologiques et comportementaux complexes, et pas seulement énergétiques, sont mis en place pour répondre efficacement à l'augmentation du risque de prédation.

**Mots clefs :** canard, prédation, réserves énergétiques, masse corporelle, charge alaire, consommation alimentaire, budget-temps, stress, immunité, succès reproducteur

## **ABSTRACT :**

A major trade-off birds have to deal with is the one related to the starvation-predation risk. This trade-off predicts that, to limit effects of risk, birds should maintain their body mass as low as possible when predation risk is high. However, the main results on that trade-off only come from studies on small passerines birds having a low level of body reserves. Moreover, such studies are generally limited to an energetic approach. Thus, the main aim of this study was to generalize this theory by checking whether it may apply to large species that developed different body reserves management strategies than passerines. In addition, this work takes into account the effect of a high predation risk on a greater number of factors and at different integrative levels to have a better understanding of the underlying adjustments. To do so, predation risk was experimentally increased in three ducks species which body mass and body reserves are at least three times higher than in the largest passerines. Body mass, body reserves, food intake, stress and sexual hormones, immune factors and time-budget variations were measured. Long-term effects on reproductive success were also assessed. We showed that the starvation-predation risk trade-off applies to ducks and may probably be extended to all bird species. Moreover, it appears that, in our conditions, an elevated predation risk during the wintering period did not have long-term negative effect on ducks' reproductive success. Finally, we highlighted that advantageous complex physiological and behavioural adjustments (not only directly based on energetics) occurred in order to respond efficiently to the increase in predation risk.

**Key-words:** duck, predation, body reserves, body mass, wing loading, food intake, time-budget, stress, immunity, reproductive success