ANNÉE 2014

**THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1**
*sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne*

pour le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1**

*Mention : Biologie*

**Ecole doctorale Vie-Agro-Santé**

présentée par


# Océane Le Bot

Préparée à l'UMR CNRS 6552 Ethos
Laboratoire d'Éthologie Animale et Humaine
UFR Sciences de la Vie et de l'Environnement


---

# Influences maternelles prénatales chez les oiseaux nidifuges : facteurs de variation et effets sur le développement comportemental des jeunes

**Thèse soutenue à Rennes le 19 décembre 2014**

devant le jury composé de :

**Ludovic DICKEL**
Pr. Université de Caen / *rapporteur*

**Sébastien DEREGNAUCOURT**
Pr. Université Paris Ouest / *rapporteur*

**Alain BOISSY**
D.R. INRA Clermont-Ferrand-Theix / *examinateur*

**Alban LEMASSON**
Pr. Université de Rennes 1 / *examinateur*

**Aline BERTIN**
C.R. INRA Nouzilly / *examinateur*

**Cécilia HOUDELIER**
M. C. Université de Rennes 1 / *directrice de thèse*

**Sophie LUMINEAU**
M. C. Université de Rennes 1 / *co-directrice de thèse*

# REMERCIEMENTS

*Un projet de thèse implique bien-sûr le doctorant qui a innocemment et en toute naïveté postulé sur le sujet, mais de nombreuses personnes sont nécessaires pour mener à bien cette aventure de recherche, et je tiens sincèrement à leur dédier quelques mots.*

*En premier lieu, je voudrais remercier mes directrices de thèse,* ***Cécilia Houdelier*** *et* ***Sophie Lumineau****. Ce duo de choc, après avoir encadré mes stages de master au laboratoire, a (malgré tout) souhaité remettre ça pour ce projet de thèse. Je voudrais saluer ici leur professionnalisme, leur patience quant à mes très nombreuses sollicitations quotidiennes, leur soutien et leur investissement, particulièrement lors des derniers instants de rédaction de ce manuscrit, et avant tout leur gentillesse. Et bien sûr, merci de m'avoir fait confiance. Merci également à* ***Emmanuel de Margerie*** *pour son implication méthodologique, technique et statistique (entre autres), qui m'a été d'une aide précieuse. Sa persévérance a fini par payer, notamment en termes de box-plot et autres écart-types (private joke #1). Merci pour ton soutien tout au long de ces trois ans.*

*Alors que j'arrive à la fin de la rédaction de ce manuscrit, je souhaite remercier* ***Sébastien Derégnaucourt*** *et* ***Ludovic Dickel*** *qui ont accepté d'être rapporteurs de ce travail. Merci également à* ***Alain Boissy****,* ***Alban Lemasson****, et* ***Aline Bertin*** *d'avoir accepté d'évaluer cette thèse.*

*Deux comités de thèse ont eu lieu au cours de mes trois ans de doctorat, réunions particulièrement enrichissantes grâce à la présence des différents membres :* ***Marie Trabalon****,* ***Sabine Roussel****,* ***Aline Bertin*** *(décidemment très sollicitée dans ce projet de thèse), et enfin* ***Nelly Ménard****, tutrice très impliquée.*

*Ce doctorat s'est déroulé au sein du laboratoire Ethos (UMR-CNRS 6552). Je voudrais donc remercier* ***Martine Hausberger****, directrice du laboratoire à mon arrivée.*

*Dans tous ces remerciements, une dédicace spéciale aux animaliers s'impose.* ***Christophe Petton****,* ***Céline Nicolle****,* ***Nathalie Morris****, mes manips de master et de thèse n'auraient pas été pareilles si vous n'aviez pas été là. Vous êtes un véritable mystère éthologique à vous tous seuls (cette phrase est un compliment). Je salue vivement votre professionnalisme et votre capacité d'adaptation, quand on vous donne plusieurs consignes contradictoires dans la même journée ou quand on vous sollicite dix minutes avant l'heure de débaucher… Votre dévouement et votre bonne humeur qui résistent à toute épreuve me*

*resteront longtemps en mémoire. Merci également à* ***Christine Aubry****,* ***Christophe Lunel*** *et* ***Jordan Saulet****.*

*Certaines expérimentations n'auraient pas été possibles sans l'aide ingénieuse de* ***Jean-Pierre Caudal****,* ***Fouad Nassur*** *et* ***Vincent Richard****. Merci à eux pour tous les problèmes techniques que je n'ai pas eu à affronter seule. Petite dédicace à Charly, robot parmi les robots.*

*Que dire de l'ensemble de l'équipe de gestion ?* ***Sylvie Dufresne****,* ***Isabelle Simier****,* ***Géraldine Legoff****, et* ***Antoine « encyclopædia » L'Azou*** *(private joke #2), merci à vous pour n'avoir (presque) jamais râlé lorsqu'une formalité qui nécessite quinze jours de traitement vous est demandée pour l'après-midi même.*

*Le travail du chercheur et* a fortiori *du doctorant français moyen ne serait pas possible sans la participation très active d'un anglophone dans le processus de publication des résultats. Ainsi, je tiens à remercier très chaleureusement* ***Ann Cloarec*** *pour son aide. De la même façon, merci à* ***Véronique Biquand*** *pour son assistance en informatique et en statistiques, et* ***Françoise Joubaud*** *pour la recherche bibliographique.*

*Je côtoie depuis cinq ans maintenant l'équipe de chercheurs/enseignants chercheurs du laboratoire, et je souhaite les remercier ici pour leur gentillesse, leurs conseils, leur disponibilité, et leur décadence du vendredi midi :* ***Virginie Durier****,* ***Isabelle George****,* ***Stéphanie Barbu****,* ***Laurence Henry, Pierre Deleporte*** *et al.*

*Je remercie tout particulièrement* ***Marie Trabalon****. Non pas parce qu'elle est arrivée de sa lointaine Lorraine avec tout un tas de « petites » bêtes poilues à huit pattes (ô ! joie) qui sont presque assez grosses pour manger une caille, mais pour son implication dans les analyses hormonales du projet de thèse, ses conseils avisés, sa disponibilité et sa gentillesse.*

*Lors de mes deux missions d'enseignement, les enseignants chercheurs en éthologie et physiologie animale m'ont assuré une formation exemplaire et je pense que je leur dois en grande partie mon goût pour l'enseignement. Merci à* ***Catherine Blois-Heulin****,* ***Hugo Cousillas****,* ***Laurence Henry****,* ***Thierry Bailhache****,* ***Elisabeth Pellegrini****,* ***Séverine Henry*** *et bien sûr* ***Sophie Lumineau*** *et* ***Cécilia Houdelier****.*

*Pour leur gentillesse et leur enthousiasme (et aussi pour les conversations en anglais), merci à* ***Malgorzata Arlet*** *et* ***Maria Horváth****.*

*Une grosse pensée pour tous mes collègues stagiaires, doctorants, et ATER pour tous les bons moments passés au laboratoire (et aussi en dehors) :* ***Marion Coulon, Maud Coignard, Agnès Candiotti, Carol Sankey****,* ***Carole Fureix****,* ***Audrey(tourneau) Perret****,* ***Audrey Maille****,* ***Hélène Thieltges****,* ***Dorothee Kremers, Clémence Lesimple*** *et* ***Julien Chapuis*** *(pour l'ancienne génération), et* ***Céline Rochais****,* ***Jacques Prieur****,* ***Margarita Briseno Jaramillo****,* ***Laurine Belin****,* ***Nadège Aigueperse****,* ***Fanny Ruhland****,* ***Camille Coye*** *et* ***Vanessa André*** *(pour la nouvelle génération).*

*Evidemment, une pensée spéciale pour mon prédécesseur dans le domaine des influences maternelles prénatales,* ***Floriane Guibert****, et pour* ***Agathe Laurence****, amie de longue date dans la caillologie, qui a préféré poursuivre sa carrière avec un modèle qui a un peu plus de dents.*

*Enfin, un maxi GG mass DPS à Monsieur **Florent Pittet**, respectable maître vénéré s'il en est, à qui je dois tout, surtout depuis que j'ai oublié de le remercier dans un rapport de stage. Entre les journées d'observation du comportement maternel, les heures de mesures de cloaque ou de longueur des œufs, mais aussi les discussions geek, le covoiturage à sens unique compensé par les kilos de craquinettes et autres kinders, et l'établissisme d'un nouveau dialecte de parlage (private joke #3), ton jeune truiteau a bien grandi.*

*Je remercie vivement les équipes de l'institut de biochimie médicale de l'université de médecine vétérinaire de Vienne (ou Veterinärmedizinische Universität, essayez c'est rigolo). Merci tout particulièrement au Pr. **Erich Möstl** pour son accueil lors de ma première expérience avec les dosages hormonaux, et au Pr. **Rupert Palme** pour sa réactivité et son implication dans les dosages hormonaux de ce projet de thèse.*

*En cinq ans, j'ai eu l'occasion de nouer des amitiés particulières. J'ai donc une pensée pour **Clémence Lesimple**, poney à poil un peu ronchonchon de temps en temps (private joke #4) et **Céline Rochais**, collègue de galère qui a été d'un soutien formidable. Je voudrais aussi saluer l'amitié sans faille d'**Audrey**. Merci pour ta patience (je commence à répondre aux textos du début de l'année là – private joke #5), merci pour tout ce que tu es et ce que tu m'apportes. Merci à **Alex** pour avoir tenté d'améliorer un peu ma culture cinématographique. Tout n'est pas encore perdu. Merci aux **WOWistes** et **LOListes** et merci à **Anaïs** pour sa bonne humeur (i.e. son rire). Enfin, et je serai tranquille pour dix ans, merci encore à **Monsieur Florent Pittet** pour sa bonne humeur constante et son aide dans les derniers instants de la rédaction de ce manuscrit. En attendant qu'un laboratoire d'étho-geekologie n'ouvre en France, profite bien des States.*

*Ces remerciements ne seraient pas complets sans mentionner toutes les bêtes, à poils ou à plumes, qui m'entourent. **Les cailles** d'abord, sans qui ce projet n'aurait pas vu le jour. **Les poules** ensuite, qui m'ont permis de goûter aux joies des manips de terrain (rappel : Rennes se trouve en Bretagne). Une pensée pour **Arthur**, **Zelda**, **Lili**, **Io** et **Njut** (tu tu tutu tu tutu tu). Merci à **Obiwane** pour l'étrangeté de son phénotype comportemental. Merci à **Myrtille** d'avoir passé ces 17 années à mes côtés. Merci à **Nini** d'être si dévouée, même si nous n'avons pas encore inclus les rongeurs dans notre régime alimentaire. Enfin, merci à **June**, qui à l'heure actuelle ne comprend pas du tout pourquoi la rédaction d'un manuscrit de thèse empièterait sur les séances de jeu et les ballades, enfin, c'est ridicule.*

*Je tiens maintenant à remercier ma famille. Merci pour votre soutien, particulièrement pendant ces cinq dernières années. Merci à ma sœur, **Marine**, de n'avoir jamais douté de moi. Merci de toujours trouver le courage d'avancer. Merci à **Ewenn** et*

***Malwenna*** *qui me donnent l'impression d'être un super-héros. Merci à mon frère,* ***Claude****, qui ne se doute pas une seconde de tout l'amour qu'il donne. Merci naturellement à ma mère, pour tout. Il n'y a pas de mot pour décrire son amour, son soutien et sa force. En cette période charnière, où mes études se terminent, j'ai bien sûr une pensée émue pour mon père. Merci également aux Marboeuf,* ***Marie-Annick*** *&* ***Christian****,* ***Alice*** *& Adrien, et* ***Aurore****. Vous n'avez pas idée de tout ce que vous m'apportez !*

*Enfin, merci à* ***Antoine****. Merci pour ton amour et ta tendresse, pour ta gentillesse et ton soutien, merci pour tout. Et merci également pour tout ce qui nous attend.*

# Sommaire

**CHAPITRE 1 - INTRODUCTION GENERALE** 9

**I. Influences maternelles prénatales** 12

A. Influences maternelles prénatales chez les mammifères 12
1. Stimulations sensorielles 13
2. Substances ingérées pendant la gestation 13
3. Stress prénatal 15
4. Enrichissement prénatal 17

B. Influences maternelles prénatales chez les oiseaux 19
1. Conditions d'incubation 19
2. Caractéristiques de l'œuf 21
a. Formation de l'œuf 21
b. Composition de l'œuf 24
c. Influences maternelles liées aux caractéristiques des oeufs 25

**II. Influences maternelles postnatales** 31

A. Influences maternelles postnatales chez les mammifères 31
1. Privation maternelle 31
2. Caractéristiques maternelles 33

B. Influences maternelles postnatales chez les oiseaux 36
1. Privation maternelle 37
2. Caractéristiques maternelles 37

**III. Interactions pré- et postnatales** 40

A. Mise en évidence chez les mammifères 40
B. Carence bibliographique pour le modèle oiseau 43

**IV. Présentation de la thèse** 44

A. Etudes réalisées 44
B. Choix du modèle 46

**CHAPITRE 2 - METHODOLOGIE GENERALE** **47**

**I. Modèle biologique : la caille japonaise** **49**

A. Statut phylogénétique, description et répartition géographique 49
B. Comportement 51

**II. Conditions d'élevage et production des oiseaux** **54**

A. Conditions d'hébergement des adultes 54
B. Reproduction et incubation des œufs 55
C. Conditions d'hébergement des cailleteaux 56
D. Note éthique 58

**III. Protocole général** **59**

A. Paradigme expérimental 59

B. Analyse des œufs 60
1. Caractéristiques des œufs 60
2. Fertilisation et éclosion des œufs 63

C. Suivi morpho-physiologique des animaux 63

D. Étude des caractéristiques comportementales des individus 64
1. Méthodes d'observation 64
2. Répertoire comportemental 64
3. Tests comportementaux 64
a. Mesure de la réactivité émotionnelle 64
b. Mesure de la motivation sociale 70
c. Évaluation des capacités cognitives lors d'une tâche spatiale 71
4. Calendrier expérimental 73

**CHAPITRE 3 - INFLUENCE DES CARACTERISTIQUES INTRINSEQUES : Étude du rythme journalier de ponte** **75**

I. Introduction 77

II. Synthèse de l'article 1 83

III. Article 1 85

IV. Synthèse de l'article 2 111

V. Article 2 113

**CHAPITRE 4 - INFLUENCE DE L'ENVIRONNEMENT : Étude du lien de couple avec le partenaire sexuel** **129**

I. Introduction 131

II. Synthèse de l'article 3 133

III. Article 3 135

**CHAPITRE 5 - INTERACTION ENTRE LES ENVIRONNEMENTS PRE- ET POSTNATAUX** **161**

I. Introduction 163

II. Synthèse de l'article 4 165

III. Article 4 167

**CHAPITRE 6 - DISCUSSION** **187**

I. Bilan des résultats 189

**II. Mécanismes impliqués dans les influences maternelles** **191**

A. Influences maternelles prénatales 191

1. Modulation des caractéristiques des œufs 191
2. Modulation du phénotype des descendants 196

B. Influences maternelles postnatales 204
1. Mécanismes non-génétiques 204
2. Neurophysiologie et épigénétique 206
3. Plasticité phénotypique 206

**III. Aspects adaptatifs et évolution des populations** **207**

**IV. Perspectives** **214**

A. Recherche 214
B. Applications 218

**BIBLIOGRAPHIE** **225**

**ANNEXE 1 - INFLUENCE PRENATALE DU RANG HIERACHIQUE MATERNEL** **249**

**I. Introduction** **251**

**II. Synthèse de l'expérimentation** **253**

**III. Présentation des dispositifs comportementaux particuliers** **255**

A. Test de la barrière d'eau 255
B. Rencontres avec un congénère non familier 257

**IV. Principaux résultats** **258**

A. Caractéristiques émotionnelles des femelles adultes 258

B. Productivité et caractéristiques des oeufs 259

C. Développement des jeunes 260
1. Croissance 260
2. Caractéristiques comportementales 261

D. Conclusion 263

**ANNEXE 2 - PARTICIPATIONS A D'AUTRES EXPERIMENTATIONS 265**

**ANNEXE 3 - COMMUNICATIONS DANS DES CONGRES 271**

# CHAPITRE 1 | Introduction générale

L'étude du comportement est probablement une des branches les plus anciennes de la biologie. En effet, le comportement se définit par l'ensemble des manifestations motrices *observables* d'un individu à un moment et dans un lieu particuliers (Campan & Scapini 2002). Ainsi, il a été vital pour l'Homme de s'intéresser aux comportements exprimés par les animaux, que ce soit lors de la chasse, de l'élevage, ou simplement pour s'en protéger. L'éthologie quant à elle est une discipline récente qui étudie le comportement des animaux (y compris l'Homme) ainsi que ses déterminants physiologiques, psychologiques et environnementaux (Campan & Scapini 2002). Pendant longtemps, la société a admis que les comportements étaient soit « dans les gènes » (i.e. *innés*) soit liés à l'expérience du monde extérieur (i.e. *acquis*). Les recherches éthologiques sur l'origine, l'ontogénèse, l'évolution et les fonctions du comportement ainsi que les mécanismes physiologiques et neurologiques associés ont mis en évidence une réalité bien plus complexe : le phénotype comportemental d'un individu résulte en effet d'interactions entre son **génome**, son **épigénome** et **l'environnement** dans lequel il se développe (Jensen 2013).

Ainsi, de multiples **facteurs environnementaux**, abiotiques et biotiques, influencent la construction comportementale d'un individu, soit directement, soit indirectement via des **mécanismes épigénétiques** par exemple, impliquant des changements dans l'expression des gènes de l'embryon ou du jeune sans que son génome ne soit modifié (Jablonka & Raz 2009). Dans l'environnement biotique, les parents, en plus de fournir un **patrimoine génétique** à leur progéniture, ont une influence non génétique sur leur développement. Ainsi, les **effets parentaux** correspondent aux influences du phénotype des parents ou de leur environnement sur le phénotype des descendants, indépendamment des influences directes sur le génotype du jeune (Mousseau & Fox 1998, Maestripieri & Mateo 2009).

Au sein de ce duo parental, la mère a une influence toute particulière sur le développement de ses jeunes. En effet, **au stade prénatal**, l'embryon se développe soit dans l'organisme maternel soit dans un œuf produit par la femelle ; et **après la naissance**, la mère est très souvent un partenaire social particulier pour le jeune. On parle alors d'**influences maternelles**. Bien que ces influences maternelles prénatales et postnatales soient souvent expérimentalement étudiées séparément, en conditions naturelles elles **interagissent et**

**modulent de concert** la construction comportementale de l'individu. Dans cette introduction, nous allons présenter les principales données bibliographiques concernant les influences maternelles prénatales et postnatales chez les mammifères et les oiseaux, puis nous détaillerons les connaissances actuelles sur les interactions entre ces deux stades d'influence.

# I. INFLUENCES MATERNELLES PRENATALES

La naissance ou l'éclosion est un événement clé dans la vie d'un individu, mais nombre de ses comportements sont déjà déterminés par son expérience prénatale. En effet, l'ontogénèse des comportements commence dès le stade embryonnaire. Par exemple, les systèmes sensoriels des individus se mettent en place pendant le développement embryonnaire (Gottlieb 1971), et les stimulations externes ressenties pendant la phase prénatale auront alors un impact sur le comportement de l'individu, notamment après sa naissance.

## A. Influences maternelles prénatales chez les mammifères

Le développement embryonnaire chez les mammifères se déroule au sein de l'organisme maternel. L'embryon est influencé par l'environnement extérieur, mais également par l'état interne de sa mère, notamment via les échanges moléculaires qui ont lieu entre la mère et le fœtus tout au long de la gestation.

### 1. *Stimulations sensorielles*

Chez l'Homme, les **conditions photopériodiques** de l'environnement maternel peuvent influencer de façon indirecte le fœtus. En effet, son horloge interne peut être entraînée par le rythme d'activité journalier de la mère, lui-même synchronisé sur l'alternance jour/nuit (Reppert & Schwartz 1983). Cette synchronisation pourrait de plus être favorable à la transition rythmique entre le stade prénatal et le stade postnatal. Les **sons** produits par la mère, source de stimulations auditives pour l'embryon, vont également influencer son développement sensoriel et ainsi moduler son comportement postnatal. Par exemple, les nouveau-nés vont préférer la voix de leur mère à une voix non familière (DeCasper & Fifer 1980), un discours dans la langue maternelle plutôt que dans une langue inconnue (Mehler et al. 1988) et une séquence familière entendue pendant la grossesse plutôt qu'une séquence inconnue (DeCasper & Spence 1986), tous ces travaux suggérant un apprentissage auditif prénatal.

### 2. *Substances ingérées pendant la gestation*

L'exposition prénatale à des substances peut avoir de profonds effets sur l'expression comportementale des jeunes après la naissance. Dans ce domaine de recherche, les laboratoires s'intéressent à deux types de substances bien différentes : les molécules odorantes et aromatiques contenues dans l'alimentation maternelle d'une part, et les substances nocives d'autre part.

De nombreuses études ont montré une **préférence alimentaire** postnatale pour un aliment consommé par la mère pendant la gestation (Homme : Schaal et al. 2001 ; rongeurs : Pederson & Blass 1982; lapin : Coureaud et al. 2002 ; mouton : Schaal et al. 1995). Dans ces expériences, les jeunes s'orientent préférentiellement vers un aliment, ou le consomment davantage, s'il contient un arôme ingéré par la mère pendant la gestation. Ce phénomène s'explique encore par le développement des systèmes sensoriels chez le fœtus. Ainsi, les

arômes des aliments ingérés par la mère, après avoir atteint le liquide amniotique, sont avalés par le fœtus et entrent en contact avec son appareil olfacto-gustatif.

De la même façon, l'embryon peut être soumis à des **substances nocives présentes dans l'environnement**, et ingérées/inspirées par la mère. C'est le cas par exemple des métaux lourds tels que le plomb et le mercure (Plusquellec et al. 2010), des pesticides (Eroschenko et al. 2002, Multigner 2005) ou encore des polluants de l'air tels que les particules fines (Perera et al. 2013, Yokota et al. 2013). Selon les études, les auteurs ont mis en évidence des conséquences néfastes de cette exposition prénatale sur la croissance et le développement sexuel des descendants et leur fonction reproductrice. Les comportements émotionnels, l'activité locomotrice et les capacités cognitives des jeunes prénatalement exposés à ces composés sont également altérés.

Enfin, certaines **substances nocives volontairement ingérées** par la mère ont également des conséquences néfastes sur le développement physiologique et comportemental des descendants. Une large littérature s'est ainsi intéressée aux conséquences développementales d'une exposition prénatale à l'alcool, entraînant des troubles comportementaux qualifiés chez l'Homme de syndrome d'alcoolisation fœtale, responsable notamment d'une hyperactivité, d'un retard mental et de troubles de la mémoire (Jones & Smith 1975, Stratton et al. 1996). Chez les rongeurs, les études ont montré une altération des comportements sociaux, émotifs et parentaux chez les individus exposés prénatalement à l'alcool (Bond & Giusto 1976, Abel & Berman 1994, Disney et al. 2008, Hellemans et al. 2008). Ces effets seraient liés à de profondes altérations neurobiologiques, notamment cérébrales (Ogilvie & Rivier 1997) mais qui touchent également d'autres fonctions vitales telles que la régulation de la glycémie (Pennington et al. 2002, Young et al. 2002, Chen & Nyomba 2003). D'autres substances telles que les drogues (i.e. cocaïne : Chae & Covington 2009), le tabac (Stroud et al. 2009) ou encore les médicaments (Cannizzaro et al. 2002) ont des influences délétères sur le développement comportemental des jeunes qui y ont été exposés en phase prénatale, particulièrement en ce qui concerne les comportements sociaux (déficits des comportements de jeu, agressivité accrue) et les capacités d'apprentissage et d'attention.

### 3. ***Stress prénatal***

Une très large littérature est consacrée aux conséquences développementales d'un stress prénatal, probablement pour des raisons médicales et sociologiques concernant la gestation chez l'Homme. Ces études montrent que différents événements négatifs vécus par des femmes enceintes, tels que des problèmes relationnels, le décès du conjoint, une catastrophe naturelle ou encore des bruits imprévisibles d'avion, entraînent des modifications développementales considérées comme délétères chez les enfants. Un tel stress prénatal peut ainsi engendrer un poids plus faible à la naissance, un retard moteur et des troubles cognitifs et comportementaux (Weinstock 1997, Mulder et al. 2002, Davis et al. 2011). Il faut noter que des effets ont été observés dès le stade fœtal, une anxiété maternelle élevée entraînant par exemple plus d'activité chez le fœtus (Van den Bergh et al. 1989). La littérature psychiatrique considère par ailleurs le stress prénatal comme un facteur de risque non négligeable à l'apparition de pathologies telles que la schizophrénie et la dépression, ou encore le trouble du déficit de l'attention et l'hyperactivité (Weinstock 1997, Mulder et al. 2002).

De nombreuses études ont été effectuées chez des modèles rongeurs. Ces travaux révèlent qu'un stress prénatal engendre une augmentation de l'émotivité et de la réponse au stress, une altération de l'apprentissage (Schulz et al. 2011), des comportements sociaux (de Souza et al. 2013), reproducteurs (Holson et al. 1995, Frye & Orecki 2002) et maternels (Brunton 2013). D'autres modèles biologiques ont permis d'étudier les conséquences développementales d'un stress prénatal. Chez les primates non humains, les comportements sociaux des jeunes sont altérés par un stress prénatal (Coe et al. 2003). Chez les animaux de rente, le stress prénatal est surtout étudié en rapport avec la santé néonatale de la progéniture, sa croissance et sa survie (Merlot et al. 2013). Néanmoins, des travaux rapportent des conséquences comportementales. Par exemple, les porcelets (*Sus scrofa domesticus*) prénatalement stressés sont plus sensibles à la douleur (Rutherford et al. 2009), et leur comportement maternel à l'âge adulte est altéré (Jarvis et al. 2006).

Les mécanismes qui sous-tendent les modifications développementales liées à un stress prénatal ont été mis en évidence principalement sur des modèles de rongeurs. Les femelles qui subissent un stress pendant la gestation montrent une augmentation de la production de glucocorticoïdes suite à l'activation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA, figure 1) (Barbazanges et al. 1996, Welberg & Seckl 2001, Zagron & Weinstock 2006, Weinstock 2008), cette hormone de stress induisant chez les fœtus en développement des modifications structurelles et fonctionnelles du cerveau, et notamment de l'axe HPA (Braastad 1998, Brunton 2013) ou de la neurogénèse (Van den Hove et al. 2006). Une étude récente met en évidence l'altération du système ocytocinergique de rats stressés prénatalement, conduisant à des déficits du comportement social (de Souza et al. 2013). Enfin, des études montrent que les androgènes peuvent aussi être impliqués comme vecteurs des effets d'un stress prénatal (Kaiser & Sachser 2005, Wewers et al. 2005), l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (HPG), responsable de la production des androgènes, interagissant également avec l'axe HPA (figure 1). Des investigations chez d'autres modèles biologiques montrent des mécanismes d'action similaires. Chez les primates non humains, la neurogénèse des jeunes est altérée par un stress prénatal (Clarke & Schneider 1997). Des travaux chez les suidés montrent que l'émotivité accrue observée chez des porcelets prénatalement stressés est liée à des modulations du renouvellement des neurotransmetteurs hippocampiques (Otten et al. 2010) ou à une augmentation de cortisol lors de situations stressantes (Jarvis et al. 2006).

Le stress prénatal peut affecter non seulement les enfants des mères placées en situations contraignantes mais aussi leurs petits-enfants. Chez l'Homme, la croissance des petits-enfants (génération $F_2$) peut également être affectée par les conditions d'alimentation (i.e. une famine par exemple) vécues par les grands-parents (génération $F_0$) (Kaati et al. 2007, Heijmans et al. 2008, Pembrey 2010). Chez le rat, la croissance et le comportement (i.e. activité en openfield) de la génération $F_2$ sont aussi altérés par un stress subi par la génération $F_0$ alors qu'aucune intervention n'a eu lieu sur les individus de la génération $F_1$. Enfin, l'exposition au bisphénol A pendant la gestation réduit chez les souriceaux l'expression

des gènes codants pour deux neuropeptides, l'ocytocine et la vasopressine, altérant leur comportement social jusqu'à la génération $F_4$ (Wolstenholme et al. 2012). Ces études démontrent la possibilité d'une **transmission intergénérationnelle** du stress prénatal.

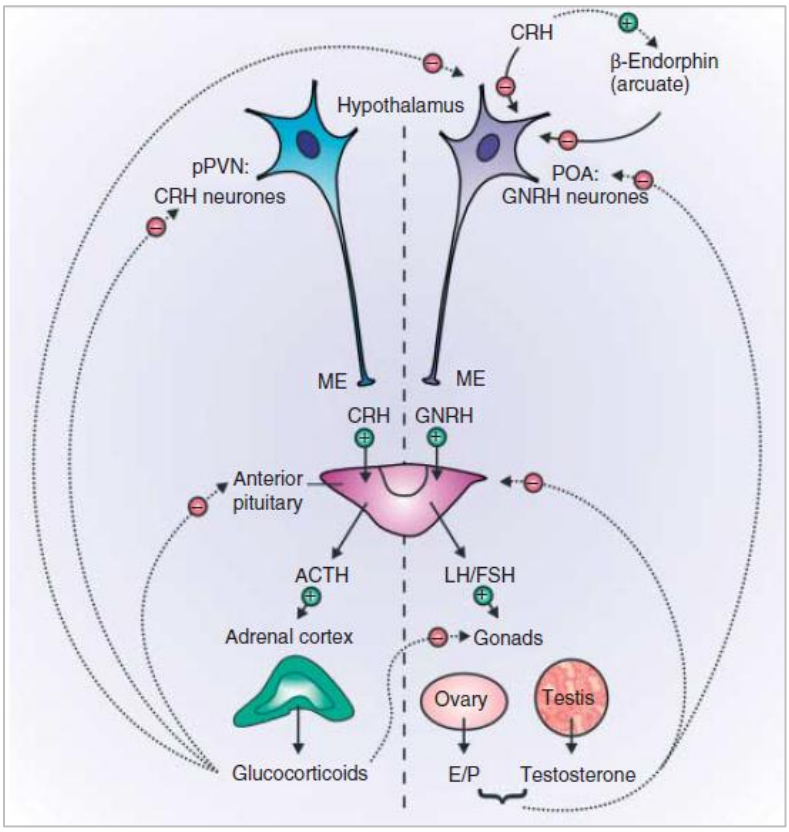



***Figure 1.*** *Représentation schématique de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA, à gauche), de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (HPG, à droite) et leur interaction via un feed-back négatif des glucocorticoïdes au niveau hypothalamique, hypophysaire et gonadique.*

*Molécules : CRH : corticolibérine ; ACTH : hormone corticotrope ; GNRH : gonadolibérine ; LH : hormone lutéinisante ; FSH : hormone folliculo-stimulante ; E : œstradiol ; P : progestérone.*

*Structures cérébrales : pPVN : noyau paraventriculaire ; ME : éminence médiane ; POA : aire préoptique. D'après Brunton (2013).*

### 4. ***Enrichissement prénatal***

La littérature étudie beaucoup l'aspect négatif des conditions de vie maternelles, et ses conséquences sur le phénotype de la descendance, mais des travaux montrent néanmoins que si cet environnement prénatal est positif, des modulations développementales ont également lieu. À notre connaissance, seules quatre études, toutes chez le rat (*Rattus norvegicus*) ou la souris (*Mus musculus*), ont exploré l'influence d'un **enrichissement physique et/ou social** pendant la gestation sur le développement des descendants. Ainsi, lorsque leurs parents/leur mère sont élevés dans un environnement enrichi (i.e. une grande cage complexe avec des objets à explorer, et parfois d'autres

congénères), les ratons montrent de meilleures capacités d'apprentissage dans un labyrinthe (Kiyono et al. 1985), et leur activité en openfield est accrue comparés aux ratons de parents élevés en cage standard (Dell & Rose 1987, Mychasiuk et al. 2012, Maruoka et al. 2009).

Une autre étude s'est, elle, intéressée aux conséquences de **stimulations tactiles** des rates gestantes (i.e. des caresses à l'aide d'une brosse pour bébé, stimulation considérée comme positive pour les femelles). La progéniture de ces femelles stimulées présente une activité locomotrice accrue en openfield, représentative d'une anxiété moindre, en comparaison avec les descendants de femelles non stimulées (Muhammad & Kolb, 2011).

Enfin, un autre domaine d'étude s'est intéressé aux conséquences d'**exercice physique** pendant la gestation, ceci étant particulièrement recommandé chez l'Homme à la fois pour le bien-être maternel et fœtal (Lynch et al. 2003). Ainsi, des rates qui subissent des séances de nage forcée pendant la gestation produisent des jeunes qui montrent de meilleures capacités cognitives lors de taches de mémorisation à court terme et d'apprentissage spatial (Parnpiansil et al. 2003, Lee et al. 2006). Néanmoins, même si les conséquences pour les jeunes semblent favorables, les études ne montrent pas si ces séances de nage forcée sont vécues comme une activité agréable ou un événement stressant pour les femelles gestantes.

Les conséquences comportementales d'un environnement prénatal considéré comme favorable semblent là aussi liées à des mécanismes neurophysiologiques. Dans les trois problématiques listées ci-dessus (i.e. un enrichissement physique, des stimulations positives ou de l'exercice), les auteurs ont montré des modulations cérébrales chez les jeunes dont les parents ont expérimenté des conditions de vie enrichies : cerveau plus léger et niveau de méthylation moindre au niveau du cortex frontal et de l'hippocampe (Mychasiuk et al. 2012) et neurogénèse accrue (Parnpiansil et al. 2003, Lee et al. 2006, Bustamante et al. 2013). De plus, une étude intéressante chez l'Homme montre l'influence positive d'un support social pendant la grossesse sur l'activation de l'axe HPA. En effet, les femmes enceintes ayant reçu un soutien social adéquat présentaient des niveaux faibles de cortisol

lors d'un stress psychologique (Giesbrecht et al. 2013), alors qu'une concentration élevée de ce glucocorticoïde est connue pour affecter le développement des enfants à long terme (O'Connor et al. 2002, 2003, 2005, Gutteling et al. 2005, Van den Bergh et al. 2007).

## B. Influences maternelles prénatales chez les Oiseaux

Chez les oiseaux, l'embryon se développe à l'extérieur de l'organisme maternel, mais dans une structure néanmoins produite par la mère, l'œuf. Une première voie d'influence maternelle concerne les **conditions environnementales** dans lesquelles se déroule l'incubation, permettant de faire le parallèle avec les conditions de gestation chez les mammifères ; tandis qu'une seconde voie implique les **caractéristiques internes de l'œuf** produit par la femelle.

### *1. Conditions d'incubation*

L'influence de l'environnement physique dans lequel se développent les jeunes n'est pas considérée habituellement comme une influence maternelle. Cependant, cet environnement physique est étroitement lié au comportement de la mère lors de la couvaison des œufs, et donc leurs conséquences sur le développement des jeunes pourraient impliquer aussi des effets maternels. En effet, si chez certaines espèces la femelle peut rester plus de 95 % de son temps à couver les œufs, dans d'autres cas elle peut quitter plus souvent le nid, pour se nourrir notamment (Winkler 2001). Les conditions de température ou de lumière dans le nid pourraient alors varier. À notre connaissance, aucune étude ne montre directement un lien entre le comportement de la mère lors de l'incubation et des modifications de l'environnement abiotique pouvant alors influencer le

développement embryonnaire et postnatal, mais des travaux se sont intéressés aux conséquences d'une modulation artificielle de tels facteurs.

Ainsi, des études ont mesuré les conséquences de variations de **température** et **d'apport d'oxygène** pendant l'incubation. Les variations de température sont principalement reliées à des modulations de la croissance embryonnaire et postnatale (Leksrisompong et al. 2007, 2009, Shinder et al. 2009), des fortes températures en fin d'incubation entraînant un poids à l'éclosion plus faible et une croissance réduite, tandis qu'une exposition prénatale à de faibles températures a l'effet inverse, soit un poids plus élevé à l'éclosion et une croissance postnatale améliorée. Une réduction de la disponibilité en oxygène quant à elle diminue la croissance embryonnaire (Giussani et al. 2007). De plus, la mémoire postnatale des poussins peut être altérée par une incubation dans un environnement hypoxique (Rodricks et al. 2004).

**L'environnement sensoriel** des embryons lors de l'incubation peut également être modulé par la mère et avoir des conséquences développementales. Par exemple, les poussins émettent plus de picorages non agressifs envers leurs congénères, considérés comme de l'exploration sociale, s'ils ont été exposés à la lumière pendant l'incubation (Riedstra & Groothuis et al. 2004). La mère peut émettre **des vocalisations** pendant l'incubation, en réponse aux pépiements *in ovo* des poussins. Guyomarc'h (1995) a montré que les poussins apprennent prénatalement le gloussement maternel qu'ils entendent puisqu'ils se dirigent préférentiellement vers ce gloussement après l'éclosion, plutôt que vers un gloussement maternel inconnu. Cette préférence auditive postnatale peut même avoir lieu au niveau de l'espèce, puisque chez le canard colvert (*Anas platyrhynchos*) les canetons montrent une préférence pour un cri maternel de leur espèce par rapport à des vocalisations maternelles d'autres espèces, et ce grâce à un apprentissage prénatal (Gottlieb 1971). Enfin, des travaux ont montré que l'apprentissage prénatal du cri maternel chez le colin de Virginie (*Colinus virginianus*) est quatre fois plus efficace lors d'une *redondance intersensorielle*, c'est à dire lorsque la stimulation auditive prénatale (le cri maternel) est associée avec un flash lumineux (Lickliter et al. 2004). De plus, la mémoire semble être améliorée puisqu'à 48h de vie, alors que les jeunes ne reconnaissent plus le cri maternel, un rappel à l'aide d'une

nouvelle exposition au cri maternel diffusé pendant le développement embryonnaire permet à nouveau la reconnaissance du cri maternel par les jeunes. L'environnement **olfacto-gustatif prénatal** a également une importance sur le comportement postnatal des jeunes oiseaux. Il a en effet été démontré que l'embryon détecte les odeurs avant le début de la respiration (Sneddon et al. 1998, Hagelin et al. 2013), et qu'une exposition prénatale à des odeurs particulières influence les préférences alimentaires postnatales des oisillons (Bertin et al. 2012).

Enfin, lors de l'incubation des œufs, les parents expriment un comportement de retournement des œufs, afin de prévenir l'adhésion des membranes embryonnaires. Ce comportement est à l'origine de **stimulations vestibulaires** qui modulent l'activité postnatale des jeunes, particulièrement leur rythme ultradien d'activité locomotrice (Guyomarc'h et al. 1973). Ainsi, un retournement expérimental pendant la deuxième moitié de l'incubation (toutes les vingt minutes) engendre un rythme ultradien d'activité après l'éclosion dont la période est proche du rythme de retournement des œufs (i.e. 21 minutes), tandis que les jeunes témoins qui n'ont pas subi ce retournement ont un rythme d'activité plus long (i.e. 29 minutes).

## 2. *Caractéristiques de l'œuf*

De nombreuses molécules composent les différentes structures de l'œuf, et leur concentration peut varier sous l'influence de facteurs spécifiques. Nous détaillerons ces composants et leurs conséquences sur la construction comportementale du jeune après quelques explications fondamentales sur la formation de l'œuf.

### a. Formation de l'œuf

Chez les oiseaux, l'ovaire droit des femelles, présent à l'éclosion, régresse petit à petit, seul l'ovaire gauche étant fonctionnel à l'âge adulte (figure 2A). Cet ovaire mature contient

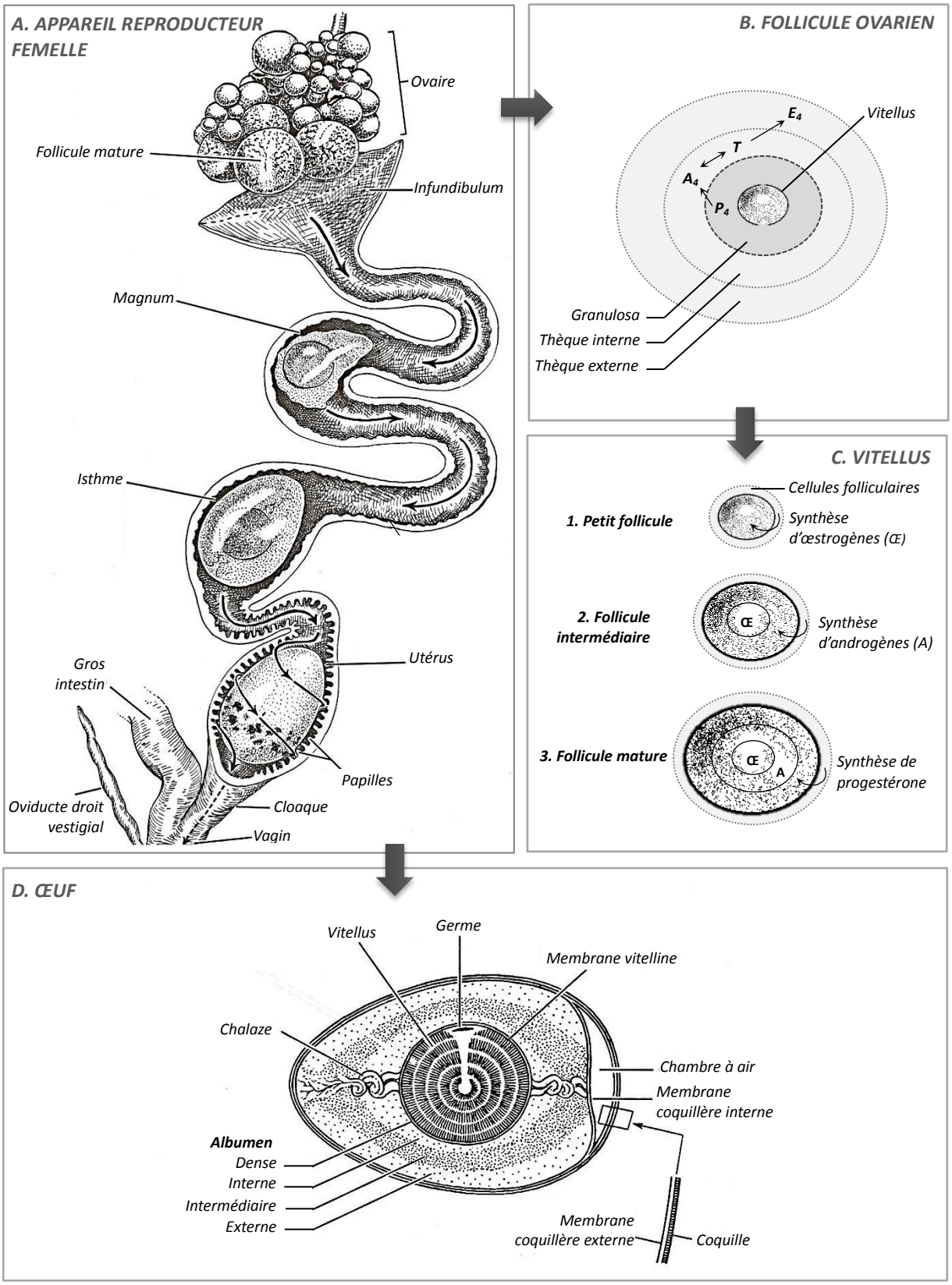



***Figure 2.*** *Formation de l'œuf chez les Oiseaux.* ***A*** *: illustration de l'appareil reproducteur femelle (Evans & Heiser 2001).* ***B*** *: schéma représentant la synthèse des stéroïdes dans le follicule ovarien, d'après Groothuis & Schwabl 2008.* $P_4$ *: progestérone,* $A_4$ *: androstènedione, T : testostérone, E2 : œstradiol.* ***C*** *: distribution différentielle des stéroïdes dans le vitellus par les cellules folliculaires au cours de la maturation du follicule, d'après Guibert 2011.* ***D :*** *illustration des différentes structures finales de l'œuf avant le début du développement embryonnaire, en vue longitudinale (Winkler 2001).*

des follicules, dont la vitellogénèse, c'est-à-dire l'accumulation du vitellus, a commencé dès l'éclosion de la femelle et se termine lors de l'ovulation. Cette dernière implique l'axe HPG et la sécrétion des hormones lutéinisante (LH) et folliculo-stimulante (FSH) (Sharp 1983). Tous les follicules ne se développent pas au même moment (Furr et al. 1973, Doi et al. 1980, Tanabe & Nakamura 1980). Lorsqu'un follicule arrive au dernier stade de développement, un stimulus déclencheur (l'allumage ou l'extinction de la lumière, respectivement chez la caille japonaise et la poule) créée un pic de LH, induisant la synthèse de progestérone par le follicule mature. Par un phénomène de feed-back positif, la progestérone induit un second pic de LH, appelé pic pré-ovulatoire. Une sécrétion importante de stéroïdes ovariens, etnotamment de progestérone, accompagne la décharge pré-ovulatoire. La progestérone permet notamment la libération d'enzymes responsables de la rupture de la membrane folliculaire, entraînant la libération du follicule dans la cavité générale.

Le vitellus commence ensuite sa descente dans l'oviducte (figure 2A) en passant d'abord par l'infundibulum, où intervient éventuellement la fécondation. Le vitellus s'entoure ensuite d'albumine, sécrétée par les cellules du magnum, puis les membranes coquillères sont sécrétées au niveau de l'isthme. Dans l'utérus, l'albumen est hydraté et l'œuf s'entoure de la coquille. Chez la caille japonaise, la formation de l'œuf dans l'oviducte dure entre 22,5et 24,5 heures, dont plus de 80 % se déroule dans l'utérus (Woodard & Mather 1964). Les contractions de l'oviducte et du vagin, permettant la descente de l'œuf et l'oviposition, sont sous l'influence de sécrétions hypophysaires et gonadiques, notamment l'arginine-vasotocine et les prostaglandines (Sauveur 1988, Sasaki et al. 1998).

La taille finale de l'œuf est très variable selon les espèces et varie d'une manière générale proportionnellement à la taille de la femelle. Ainsi, un œuf pèse entre 1,7 % et 25 % du poids de la femelle selon les espèces (Winkler 2001, figure 3).

***Figure 3.*** *Radiographie d'une femelle kiwi (*Apteryx sp.*) montrant un œuf totalement formé dans l'oviducte. En conséquence, les femelles ne pondent que deux œufs maximum par couvée. Les pressions évolutives ayant conduit à une telle taille de l'œuf ne sont pas encore connues. D'après la Otorohanga Zoological Society (Nouvelle-Zélande).*

### b. Composition de l'œuf

**L'albumen** est l'élément le plus abondant de l'œuf (52 à 60 %) (Sauveur 1988, figure 2D). Il est composé à 90 % d'eau, les 10 % restants étant des sels minéraux, des vitamines et des protéines, dont les lysozymes, protéines antibactériennes (Sauveur 1988, Saino et al. 2002). De la corticostérone a également été trouvée dans l'albumen des œufs de poule (*Gallus g. domesticus*, Eriksen et al. 2003), de l'hirondelle (*Hirundo rusctica*, Saino et al. 2005) et du goéland leucophée (*Larus michahellis*, Rubolini et al. 2005).

Le **vitellus**, ou jaune, est le deuxième composant de l'œuf en proportion (30 à 33 %) (Sauveur 1988). Il est principalement composé de lipides, de protéines, d'eau, de minéraux et de vitamines. On y trouve également des hormones stéroïdiennes : lors de la maturation folliculaire, les cellules entourant le vitellus en formation synthétisent successivement des œstrogènes, des androgènes et de la progestérone (Johnson 2002, figure 2B) créant ainsi une distribution différentielle des stéroïdes dans les couches du vitellus (Lipar et al. 1999, Möstl et al. 2001, Hackl et al. 2003). En effet, les cellules de la granulosa produisent la progestérone, utilisée ensuite par les cellules de la thèque interne pour produire les androgènes (testostérone et androstènedione par exemple), qui sont eux même métabolisés

en œstrogènes par les cellules de la thèque externe (Huang et al. 1979, Porter et al. 1989) (figure 3C). Ces hormones ovariennes se retrouvent dans le vitellus, soit par diffusion passive, soit par un mécanisme encore inconnu (Groothuis & Schwabl 2008). Le vitellus contient également de nombreuses autres molécules telles que des caroténoïdes (Sauveur 1988), des anticorps (Boulinier & Staszewski 2008), et d'autres hormones d'origine maternelle comme les hormones thyroïdiennes (McNabb & Wilson 1997, Wilson & McNabb 1997), la corticostérone (Love et al. 2008) et des hormones stéroïdiennes sexuelles (Groothuis et al. 2005, Gil 2008).

Enfin, la **coquille** est le dernier composant de l'œuf en proportion (7 à 9 %) (Sauveur 1988). Elle est composée principalement de carbonate de calcium, ses nombreux pores laissant passer l'air et l'humidité.

### c. Influences maternelles liées aux caractéristiques des œufs

Chez les Oiseaux, l'œuf constitue une part non négligeable de l'investissement parental, particulièrement chez les espèces dites *nidifuges* où les parents ne nourrissent pas les jeunes après l'éclosion (Metcalfe & Monaghan 2001, Garcia-Fernandez et al. 2010). Ainsi, les caractéristiques des œufs, comme leur poids, la proportion des constituants ou la composition hormonale, peuvent varier suite à l'action de multiples facteurs, et en conséquence influencer le développement physiologique et comportemental des jeunes. Dans ce chapitre, nous nous focaliserons sur la composition hormonale des œufs, supposée être un facteur prédominant d'influence maternelle prénatale chez les oiseaux.

#### *Facteurs de variation des composants de l'œuf*

La concentration des différentes molécules contenues dans les œufs varie d'une espèce à l'autre (Groothuis et al. 2005, Gil 2008). Au sein d'une même espèce, la variabilité intra- et interindividuelle de la concentration hormonale des œufs est liée à de nombreux

facteurs d'influence. Des **facteurs génétiques** créent tout d'abord une variabilité interindividuelle. Ainsi, une sélection divergente directement sur le contenu hormonal est possible. Okuliarová et ses collaborateurs (2011, 2014) ont ainsi créé deux lignées de cailles japonaise (*Coturnix c. japonica*), à forte ou faible concentration vitelline en testostérone. Toujours chez la caille japonaise, des lignées sélectionnées pour des traits comportementaux présentent également des concentrations hormonales différentes, ceci pouvant suggérer des processus de co-sélection (Gil & Faure 2007, Bertin et al. 2009a). Ainsi, des cailles peu émotives pondent des œufs contenant plus de progestérone et d'androstènedione que des cailles très émotives, et des femelles sélectionnés pour une faible motivation sociale pondent des œufs contenant moins de testostérone que celles présentant une forte motivation sociale.

Au niveau intra-individuel, des variations des niveaux d'androgènes dans les œufs apparaissent en fonction de **l'âge de la femelle** (Pilz et al. 2003, Okuliarová et al. 2009, Guibert et al. 2012). Ainsi, chez la caille japonaise, les œufs de jeunes femelles contiennent plus de testostérone que les œufs de femelles plus âgées (Guibert et al. 2012). **L'ordre de ponte** des œufs au sein d'une couvée peut également avoir un impact sur les niveaux d'androgènes des œufs. Cependant, le sens de l'évolution des concentrations varie selon les espèces puisqu'elles peuvent augmenter ou diminuer avec l'ordre de ponte. Enfin, certaines espèces ne présentent pas de telles variations au cours de la couvée d'œufs (Groothuis et al. 2005, Gil 2008).

De nombreux facteurs environnementaux créent une variabilité interindividuelle dans les concentrations hormonales des œufs. Au sein de l'environnement biotique des femelles, les **congénères et le partenaire sexuel** ont un rôle majeur. Les études montrent en effet des modulations des niveaux d'androgènes dans le vitellus des œufs selon la densité sociale (Schwabl 1997) et les agressions subies par la femelle pendant la phase de ponte (Whittingham & Schwabl 2002, Guibert et al. 2010). Le rang hiérarchique de la femelle

influence également le contenu hormonal des œufs. Ainsi, chez la poule domestique, les femelles dominées pondent des œufs contenant plus de testostérone uniquement quand l'embryon est une femelle (Müller et al. 2002). À l'inverse, chez le canari (*Serinus canaria*), espèce nidicole, plus les femelles sont dominantes plus la concentration de leurs œufs en testostérone est élevée (Tanvez et al. 2009). L'influence du partenaire sexuel sur le contenu hormonal des œufs pondus par les femelles révèle en outre une variation en fonction de l'attractivité du mâle. Cette notion d'attractivité semble complexe, notamment dans la détermination des caractéristiques attractives du mâle, puisque ces études, qui utilisent toutes des tests de choix, impliquent soit une bague de couleur différente (Canari, Gil et al. 2004), soit des chants différents (diamant mandarin *Taeniopygia guttata*, Gil et al. 1999), soit un choix entre deux mâles (perdrix grise *Perdrix perdrix*, Garcia-Fernandez et al. 2010). Pourtant les résultats de ces trois études sont similaires, les œufs pondus par les femelles contenant plus de testostérone si elles ont été appariées avec le mâle le plus attractif (i.e. la bague de couleur rouge, un chant dont la structure est sexuellement stimulante pour la femelle, ou le mâle préféré).

Au sein de l'environnement abiotique, Schwabl (1996) a montré que la **photopériode** influence le niveau de testostérone dans les œufs. Trois résultats principaux ressortent de ce travail. Premièrement, la modification de la photopériode au cours de la période de reproduction, en conditions naturelles, conduit à une diminution de la concentration en testostérone dans les œufs. Ensuite, au sein d'une même couvée, les premiers œufs contiennent plus de testostérone lorsque les animaux sont maintenus en LD 12:12, en comparaison avec des conditions photopériodiques LD 16:8. Enfin, l'augmentation de la testostérone vitelline avec l'ordre de ponte existe en LD 12:12, mais semble modérée en LD 16:8. Bertin et ses collaborateurs (2013) ont montré par ailleurs un impact de la **température** sur les concentrations de testostérone, progestérone et œstradiol du vitellus, qui apparaissent plus élevées lorsque les femelles sont maintenues sous de fortes températures (i.e. 30°C).

***Influence des composants de l'œuf sur le développement embryonnaire et postnatal***

Une approche méthodologique permettant de connaître l'influence de différents composants de l'œuf sur le développement pré- et postnatal consiste à injecter ces produits dans l'albumen ou le vitellus des œufs, en comparaison avec des injections de solvant contrôles (Groothuis & von Engelhardt 2005). Selon les études, l'injection d'androgènes a conduit à une croissance postnatale des jeunes améliorée (Schwabl 1996, Eising et al. 2001, Pilz et al. 2004, Navara et al. 2006) ou au contraire altérée (Sockman & Schwabl 2000, Rubolini et al. 2005). De la même manière, le comportement postnatal de quémande alimentaire semble accru chez la mouette rieuse (*Chroicocephalus ridibundus*) (Eising & Groothuis 2003), ce qui n'est pas observé chez l'étourneau sansonnet (*Sturnus vulgaris*) (Pilz et al. 2004). L'injection *in ovo* d'androgènes a également un impact sur l'émotivité postnatale des individus, les résultats étant là encore contradictoires. Ainsi, les cailleteaux prénatalement exposés à de fortes concentrations en testostérone sont moins émotifs d'après Daisley et ses collaborateurs (2005), alors que dans d'autres travaux les cailleteaux sont plus émotifs (Okuliarová et al. 2007, Bertin et al. 2009b). Ces nombreuses contradictions entre les études sont probablement liées à des différences dans les doses injectées et dans le type d'androgène utilisé (Gil 2008). En effet, chez le merle bleu de l'Est (*Sialia sialis*) une dose modérée de testostérone est bénéfique sur la croissance du squelette au stade embryonnaire, tandis qu'une forte dose améliore la croissance postnatale, les jeunes étant plus matures lors du premier vol, mais leur système immunitaire est, lui, altéré (Navara et al. 2005).

Une seconde approche méthodologique implique des études longitudinales, qui consistent à relier un facteur de l'environnement ou une caractéristique intrinsèque de la femelle pondeuse avec les caractéristiques hormonales de ses œufs, puis avec le phénotype des jeunes issus de ces œufs. Les études utilisant cette méthode ont notamment montré que des **femelles âgées** pondent des œufs contenant moins de testostérone, et que les jeunes issus de ces œufs sont moins émotifs et plus sensibles à une séparation sociale (Guibert et al.

2012). De plus, **l'ordre de ponte** des œufs dans la couvée détermine les capacités compétitrices des oisillons (Müller et al. 2012). Ainsi, les derniers œufs pondus contiennent plus de testostérone, et les jeunes issus de ces œufs semblent en conséquence plus compétiteurs, probablement pour compenser leur retard de développement comparés aux premiers œufs pondus (et donc aux premiers œufs éclos).

L'environnement dans lequel évoluent les femelles pendant la phase de ponte, en plus de moduler les concentrations hormonales des œufs, influencent également le comportement des descendants. Ceci a été montré expérimentalement en analysant le comportement de la progéniture de femelle ayant subi des conditions de vie stressantes pendant la ponte. Ainsi, un **stress physique** (i.e. agitation d'objets, bruits soudains, mouvements de cage) tend à augmenter la concentration en testostérone dans les œufs des femelles et leurs descendants sont plus émotifs (Guibert et al. 2011). Une augmentation de la **température** à 30°C (contre 21°C pour le lot témoin) augmente les concentrations en testostérone, progestérone et œstradiol dans les œufs de poules domestiques (*Gallus g. domesticus*) et les poussins issus de ces œufs ne semblent pas exprimer de néophobie alimentaire, ni une préférence pour un aliment énergétique, contrairement aux poussins témoins (Bertin et al. 2013). L'**environnement socio-sexuel** des femelles pondeuses peut également être source de stress et peut avoir une influence sur les descendants. L'augmentation de la concentration en testostérone observée dans les œufs de cailles élevées en groupes instables est ainsi probablement à l'origine de l'émotivité accrue observée chez les jeunes issus de ces œufs (Guibert et al. 2010). En revanche, une autre étude a montré qu'une perturbation au niveau du couple reproducteur chez le diamant mandarin (i.e. une séparation suivie d'un appariement avec un nouveau partenaire imposé, considéré comme un événement stressant) diminue l'émotivité des descendants, bien qu'aucune modulation hormonale dans les œufs n'ait été trouvée (Schweitzer et al. 2014). Enfin, la **relation à l'Homme** peut également affecter le contenu hormonal des œufs émis par les femelles et leurs descendants. Ainsi, des cailles japonaises préalablement habituées à l'Homme mais soumises à une perturbation d'origine humaine pondent des œufs contenant plus d'androgènes et moins de progestérone que des femelles non habituées et perturbées.

De plus, les cailleteaux issus de ces œufs enrichis en androgènes vont apparaitre plus émotifs (Bertin et al. 2008). Si ces cailles ont la possibilité de se soustraire à la présence de l'Homme (i.e. présence d'un abri), elles pondent des œufs contenant moins de testostérone et d'androstènedione, et les cailleteaux issus de ces œufs sont moins émotifs face à la nouveauté et à la séparation sociale. Ainsi, un environnement stressant associé à la possibilité pour l'animal de réagir à cette situation va affecter le développement de sa descendance via une modulation de l'environnement hormonal prénatal.

Il faut noter qu'une **transmission intergénérationnelle** des conséquences d'un stress prénatal a été récemment démontrée chez la caille japonaise (Guibert et al. 2013). Dans cette étude, la reproduction de mâles et de femelles ayant été stressés prénatalement a engendré des jeunes présentant les mêmes traits comportementaux que leurs parents (Guibert et al. 2011).

D'autres substances de l'œuf ont également été reliées à des modulations développementales de l'embryon puis du jeune, comme **les hormones thyroïdiennes** (McNabb et Wilson 1997, Wilson et McNabb 1997), **les lysozymes** et **les caroténoïdes** (Gil 2008). Ainsi, plus ces molécules sont présentes en grande quantité dans l'œuf, meilleure sera la croissance et l'immunité des oisillons. Néanmoins ces études n'ont pas exploré les conséquences pour le jeune au niveau comportemental. Par ailleurs, des **polluants environnementaux** auxquels la femelle a été exposée pendant la phase de ponte peuvent se retrouver dans le vitellus (Fry 1995) influençant la différentiation sexuelle des embryons, puis, après l'éclosion, la reproduction, le métabolisme et le comportement des oisillons, probablement en interagissant avec les stéroïdes maternels dans le vitellus de l'œuf (Ottinger et al. 2009). Par exemple, une exposition prénatale au mercure entraîne des déficits moteurs chez les poussins (Carvalho et al. 2008). Enfin, le comportement alimentaire postnatal des poussins peut être influencé par le **régime alimentaire** de la mère pendant la phase de ponte, comme le démontre l'étude d'Aigueperse et ses collaborateurs (2013) : les poussins

dont la mère est nourrie avec un aliment contenant une huile de poisson vont consommer préférentiellement un aliment non familier qui porte cette odeur.

# II. INFLUENCES MATERNELLES POSTNATALES

Une très grande majorité de jeunes mammifères et oiseaux dépendent de leur mère après la naissance/l'éclosion. Dans ce chapitre, nous verrons que la présence d'une mère au jeune âge a des effets sur le développement des jeunes, et que les caractéristiques de la mère et des soins qu'elle délivre à ses jeunes influencent leur phénotype.

## A. Influences maternelles postnatales chez les mammifères

### *1. Privation maternelle*

La présence de la mère après la naissance joue un rôle majeur sur le développement des jeunes, comme cela a été mis en évidence suite aux célèbres expériences de Harry Harlow et ses collaborateurs dans les années 1970. Ces études ont révélé de profondes séquelles comportementales chez des primates isolés de leur mère depuis la naissance, particulièrement en ce qui concerne les réactions émotionnelles, les interactions sociales, et,

à plus long terme, les comportements sexuels et maternels (Harlow & Suomi 1971, figure 4). Par la suite, des études chez les rongeurs ont également montré un fort impact de l'absence de la mère après la naissance sur les mêmes comportements (Albers et al. 1999b, Gonzalez et al. 2001, Melo et al. 2006), entraînant une émotivité accrue et des déficits dans les comportements sociaux et maternels. Un grand nombre d'études s'est intéressé plus spécifiquement aux conséquences de séparations mère/jeunes pendant la vie précoce. Les protocoles incluent des séparations brèves répétées ou au contraire une séparation définitive, soit juste après la naissance, soit qui avance l'âge naturel du sevrage. Il en résulte également des conséquences chez les jeunes, différentes selon le type de privation.

Des **séparations brèves** entre la mère et sa portée pendant la période de maternage peuvent avoir des effets bénéfiques sur les jeunes à plusieurs niveaux, entraînant par exemple une maturation précoce de l'axe HPA (Meaney et al. 1988, Liu et al. 1997), la réduction des comportements d'anxiété (Levine et al. 1967, Nunez et al. 1996, Pryce et al. 2001), l'augmentation de l'attention sélective (Lehmann et al. 2000, Weiner et al. 1985) et des performances lors de tâches cognitives (Meaney et al. 1991, Pham et al. 1997). Des **séparations plus longues ou chroniques** engendrent une augmentation des comportements émotifs, ainsi que des déficits sociaux, sexuels, maternels et cognitifs (Terranova & Laviola

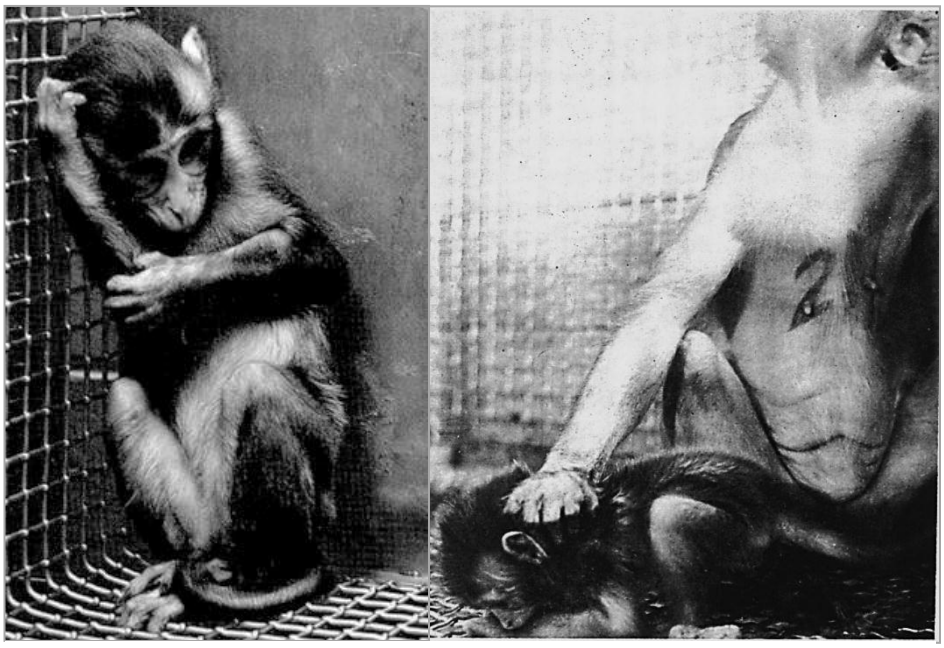


***Figure 4**. Exemple de troubles comportementaux observés chez des macaques rhésus (*Macaca mulatta*) isolés après la naissance (Harlow et Suomi 1971) : introversion et mutilations (à gauche), et maltraitance lors d'un maternage (à droite).*

1995, Dettling et al. 2002, Aisa et al. 2007, Millstein & Holmes 2007, Latham & Mason 2008).

Il faut noter que les conséquences d'une privation maternelle peuvent varier en fonction du moment de la (des) séparation(s) entre la naissance et le sevrage. Par exemple, Roque et ses collaborateurs (2014) montrent qu'il existe une **période critique** (entre 2 et 15 jours après la naissance) où des séparations maternelles quotidiennes entraînent l'apparition de comportements dépressifs et anxieux chez le rat. Récemment, des études chez le macaque rhésus (*Macaca mulatta*) ont démontré qu'une privation maternelle induit des modifications épigénétiques au niveau du cortex qui, en modulant des fonctions neurologiques, engendrent des troubles psychiatriques (Provencal et al. 2012, Massart et al. 2014).

### *2. Caractéristiques maternelles*

Lorsqu'elle la mère est présente, **l'orientation sexuelle** de ses jeunes peut être influencée, comme cela a été montré chez des jeunes agneaux (*Ovis aries*) et chevreaux (*Capra hircus*) adoptés par une femelle de l'autre espèce et qui, à l'âge adulte, ont exprimé préférentiellement des comportements sexuels pour l'espèce à laquelle appartenait leur mère adoptive (Kendrick et al. 2001). Les **rythmes biologiques** des jeunes peuvent aussi être influencés par des rythmes maternels. Ainsi, les jeunes expriment rapidement un rythme d'activité similaire à celui de leur mère, et peuvent anticiper certains comportements ayant une période fixe, tel que l'allaitement (Viswanathan & Chandrashekaran 1985, Pratt & Goldman 1986, Jilge 1995). Cet entraînement peut ensuite persister au-delà du sevrage. Le comportement de la mère pendant la vie précoce peut également servir de **modèle d'apprentissage**, concernant par exemple les **comportements alimentaires** (Boesch 1991, Rendell & Whitehead 2001, Lonsdorf 2005) et **anti-prédateurs** (Mineka & Cook 1988, Hersek & Owings 1993).

Après la naissance, la mère exprime un **comportement maternel**, correspondant à l'ensemble des expressions comportementales d'une femelle envers un jeune (Rosenblatt et al. 1985). Il présente une forte variabilité interindividuelle, qui peut être due à des facteurs génétiques. En effet, des femelles issues de lignées ou races différentes d'une même espèce peuvent exprimer un comportement maternel différent. C'est par exemple le cas chez le mouton, ou des femelles *Suffolk* présentent un comportement maternel appauvri (i.e. peu de toilette du jeune, évitements, agressivité et risques d'abandon élevés) en comparaison avec des femelles *Scottish Blackface* (Dwyer & Lawrence 1998). Par ailleurs, une sélection divergente sur la qualité du soin maternel (i.e. le pourcentage de temps total passé dans des activités de maternage) a été réalisée chez la souris (Chiang et al. 2002).

Les **caractéristiques de la mère** influencent également son comportement maternel, ces soins étant de meilleure qualité chez les femelles plus âgées (Cameron et al. 2000, Hoffman et al. 2010) et plus expérimentées vis-à-vis du maternage (Dwyer 2008, Houpt 2000). De plus, sa vie précoce avec sa propre mère influence le comportement d'une femelle envers ses jeunes. En effet, comme nous l'avons évoqué plus haut, des femelles non maternées vont présenter des déficits dans leur propre comportement maternel (Gonzalez et al. 2001), allant même chez les primates non humains d'une « simple » négligence à de la maltraitance (Harlow & Suomi 1971).

D'autre part, des **facteurs environnementaux** agissent sur le comportement de la mère, comme le contexte social (i.e. le rang hiérarchique de la mère : Fairbanks 1996, Heitor & Vicente 2008 ; la présence de mâles : Fairbanks & McGuire 1987, Cameron et al. 2003), la disponibilité des ressources alimentaires (König 1989, Dahle & Swenson 2003) ou les qualités physiques de l'environnement (espace disponible : Hötzel et al. 2004, Ringgenberg et al. 2012 ; matériaux de construction du nid : Salaün et al. 2004). Tous ces facteurs, en modifiant la façon dont la mère va se conduire avec ses jeunes, sont susceptibles d'agir sur le développement phénotypique du jeune. Chez les primates non humains par exemple, une femelle de rang hiérarchique élevé va permettre à son jeune de s'éloigner et d'interagir avec les membres du groupe car il risque peu d'être blessé (Fairbanks 1996). Ce comportement maternel agit directement sur le phénotype comportemental du jeune, qui va alors montrer

une émotivité réduite et de meilleures capacités sociales. À l'extrême, des conditions de vie où les ressources alimentaires sont réduites peuvent créer du cannibalisme chez une rate maternante, la réduction de la portée augmentant les chances de survie individuelles des jeunes (König 1989)

La littérature s'intéresse part ailleurs aux variations naturelles qui apparaissent entre les femelles d'une même espèce au niveau de leur comportement maternel, phénomène défini sous le terme de **styles de maternage**. Ce terme implique une stabilité des différences interindividuelles dans le comportement maternel et ce au cours des maternages successifs (Altmann 1980, Berman 1990, Maetripieri 1993, Albers et al. 1999a). De tels styles de maternage ont été découverts chez de nombreuses espèces au sein des ongulés (mouton : Dwyer & Lawrence 2000 ; chèvre : O'Brien 1984), des rongeurs (rat : Champagne et al. 2003 ; souris : Champagne et al. 2007 ; cochon d'Inde *Cavia porcellus* : Albers et al. 1999a), des primates non-humains (macaque rhésus : Hinde & Spencer-Booth 1971 ; macaque japonais *Macaca fuscata* : Tanaka 1989 ; babouin *Papio sp.* : Altmann 1980) et humains (Dunn et al. 1985, 1986, Baumrind 1991). Les conséquences sur le comportement des jeunes sont multiples et complexes. Par exemple, chez les femelles macaque rhésus, un maternage restrictif (lorsque la mère limite au maximum l'éloignement physique de son jeune) induit une plus grande **réactivité émotionnelle** du jeune face à un environnement nouveau ou un congénère, en comparaison avec un jeune élevé par une mère permissive (qui le laisse s'éloigner d'elle) (Fairbanks & McGuire 1988, 1993, Bardi & Huffman 2002). Chez les rongeurs, des soins maternels accrus en termes de quantité de soins reçus (léchage et toilettage) induisent chez les jeunes une diminution de la réponse de l'axe HPA lors d'une situation stressante (Liu et al. 1997, Meaney 2001, Caldji et al. 2004). La mère va également influencer les **interactions sociales** de ses jeunes. Par exemple, les femelles primates exprimant un maternage permissif (i.e. qui laissent le jeune s'éloigner d'elles) vont favoriser les contacts sociaux de leurs jeunes avec le reste du groupe et donc leur intégration sociale, contrairement aux femelles restrictives (Fairbanks 1996, Schino et al. 2001). Des études ont également montré que la qualité du soin maternel reçu affectait **les capacités cognitives** des

jeunes : des ratons élevés par des femelles présentant des soins maternels élevés (en termes de quantité de léchage et de toilettage) montrent un meilleur apprentissage lors d'une tache spatiale (Ammerman et al. 1986, Liu et al. 2000).

Les soins maternels reçus entraîneraient des modifications épigénétiques chez les jeunes (Champagne & Curley 2009). Par ailleurs, une étude a montré que les conséquences d'une « programmation maternelle des réponses de stress » (il faut comprendre une modulation des réponses au stress suite aux soins maternels reçus via des mécanismes épigénétiques) peuvent être renversées bien plus tard, à l'âge adulte, par l'infusion intraventriculaire au niveau cérébral de méthionine, un acide-aminé essentiel précurseur des molécules du groupe méthyl nécessaires à la méthylation de l'ADN (Weaver et al. 2005). Ainsi, si les soins maternels reçus sont inadéquats, des modulations épigénétiques chez les ratons entraînent une plus forte réactivité lors de situations stressantes. L'injection de méthionine à l'âge adulte modulerait le niveau de méthylation de l'ADN permettant alors une modification de l'expression du génome des individus, ayant pour conséquence une diminution des réponses au stress.

## B. Influences maternelles postnatales chez les oiseaux

Un certain nombre d'études se sont intéressées aux influences de la mère après l'éclosion sur le comportement des oisillons, bien que la littérature soit nettement moins fournie que pour les mammifères. Une grande partie de ces travaux a examiné les conséquences pour les jeunes en termes de survie et de succès de reproduction, la plupart chez des espèces nidicoles, négligeant les conséquences comportementales. Nous allons ici résumer les connaissances actuelles concernant l'influence de la mère sur la construction comportementale des jeunes chez les oiseaux.

### 1. *Privation maternelle*

Comme nous l'avons évoqué précédemment, les oisillons des espèces nidifuges sont beaucoup plus matures que les jeunes nidicoles. Ainsi, ils peuvent dès l'éclosion se mouvoir et s'alimenter. Le rôle de la mère consiste à les défendre (Thornhill 1989), les guider quant à la sélection d'items alimentaires (Wauters & Richard-Yris 2002), et les réchauffer, leur thermorégulation n'étant efficace qu'au bout d'une dizaine de jours après l'éclosion. Mais malgré cette certaine maturité des jeunes, la présence de la mère au jeune âge a une influence au-delà de leur simple survie. En effet, à l'instar des mammifères, des études de privation maternelle totale chez des oiseaux nidifuges ont montré des conséquences sur le phénotype des jeunes. Lorsqu'ils ne sont pas maternés après l'éclosion, la croissance des jeunes peut être accrue (de Margerie et al. 2013). De plus, ces jeunes non maternés présentent une **réactivité émotionnelle**, une **motivation sociale**, une **organisation sociale hiérarchique** et des **capacités exploratoires** moindres au jeune âge (Perré et al. 2002, Bertin & Richard-Yris 2005, de Margerie et al. 2013) et l'ontogénèse de leurs **rythmes biologiques** est altérée (Formanek et al. 2009). À plus long terme, les individus non maternés présentent des capacités spatiales moindres et le **comportement maternel** des femelles est altéré (Pittet et al. 2013b). Ces études révèlent l'importance du contact mère/jeunes à court et à long terme, alors même que les jeunes sont matures à l'éclosion et que la période de maternage est relativement courte, comparée aux espèces nidicoles.

### 2. *Caractéristiques maternelles*

Les études rapportent ensuite des influences maternelles similaires à celles démontrées chez les mammifères. En effet, chez l'oiseau, le phénomène **d'empreinte sexuelle** induit également une préférence d'orientation des comportements sociaux et sexuels pour l'espèce à laquelle appartient la mère adoptive, que ce soit une autre espèce

d'oiseau (Immelman 1972) ou même l'Homme (Lorenz 1937). En revanche, pour des espèces d'oiseaux parasites, comme les coucous, où les jeunes sont élevés par d'autres espèces l'empreinte sexuelle n'a pas lieu pour des raisons adaptatives évidentes (Kendrick et al. 2001). Les **rythmes biologiques** maternels peuvent aussi entraîner ceux des jeunes (Wauters et al. 2002, Formanek et al. 2009). Par exemple, des cailleteaux élevés par une femelle présentant un rythme circadien d'activité alimentaire présentent eux-mêmes plus souvent un rythme circadien, et ces rythmes sont plus nets que ceux exprimés par des cailleteaux élevés par une mère arythmique. La mère, en servant de **modèle d'apprentissage** et en **stimulant** le jeune à l'aide de manipulations d'items et de vocalisations, va influencer la recherche de nourriture du jeune (Mason & Reidinger 1982, Avery 1996, Wauters 1999, Nicol 2004, figure 5). Chez le roselin du Mexique par exemple (*Carpodacus mexicanus*), si les parents développent une aversion ali-mentaire (expérimentalement induite), les jeunes, après émancipation, vont se détourner plus souvent de cet aliment (Avery 1996). La mère permettrait également aux jeunes d'apprendre la fonction des différentes **vocalisations** de l'espèce, c'est-à-dire dans quel contexte l'utilisation des différentes vocali-sations est appropriée (Guyomarc'h 1974, Wauters 1999).

***Figure 5**. Offrande alimentaire d'une poule à ses poussins. Ce comportement de manipulation d'items (souvent alimentaires) accompagné de vocalisations spécifiques a pour effet une approche rapide des jeunes et leur consommation de l'item (Wauters 1999).*

À l'instar des mammifères, les caractéristiques des soins prodigués par la femelle à ses oisillons influencent fortement leur construction comportementale. Des facteurs internes, comme **l'âge** de la femelle (Pittet et al. 2012) ou sa **réactivité émotionnelle** (Perré et al. 2002, Pittet et al. 2014b), influencent la qualité et/ou la quantité des soins fournis aux jeunes,

modulant en conséquence leur phénotype comportemental. Son **expérience de maternage**, c'est-à-dire le nombre de couvées que la mère a conduites à émancipation, impacte également le comportement maternel (Pittet et al. 2013a). Par exemple, les jeunes présentent une émotivité accrue si leur mère est âgée, non expérimentée ou encore issue d'une lignée sélectionnée pour une forte réactivité émotionnelle. Des facteurs environnementaux tels que la **disponibilité alimentaire** (Kitaysky et al. 1999, Eldegard & Sonerud 2009) ou **l'absence du second parent** (Wright & Cuthill 1990, Markman et al. 1996) influencent le comportement maternel de la femelle, mais ces études n'ont examiné les conséquences pour les jeunes qu'en termes de survie. Ainsi, la mère s'investit davantage dans les soins aux jeunes, en augmentant la fréquence de recherche alimentaire si les ressources sont rares par exemple, ou en compensant en partie les soins prodigués par un partenaire absent, mais cet investissement n'est pas suffisant pour les jeunes à un niveau individuel puisque leurs chances de survie sont réduites.

Enfin, des **styles de maternage** ont été mis en évidence récemment chez une espèce nidifuge, la caille japonaise (Pittet et al. 2014a). Ces styles sont caractérisés selon deux dimensions, l'agression de la couvée par la femelle d'une part, et le réchauffement des jeunes, opposé à leur rejet, d'autre part. De plus ces styles sont reliés au tempérament de la femelle : une caille néophobe apparaitra plus agressive avec ses jeunes lors de la phase de maternage, tandis qu'une caille présentant une motivation sociale élevée (envers des congénères de même âge) rejettera plus ses jeunes qu'une femelle peu motivée socialement. En conséquence, le tempérament des jeunes est affecté à son tour, particulièrement par le rejet qui induit une plus grande motivation sociale, probablement liée à des contacts plus fréquents entre jeunes pendant le maternage. Le taux de rejet des jeunes par la mère serait ainsi positivement corrélé à leur motivation sociale ultérieure. Enfin, on observe une transmission des caractéristiques comportementales de la mère aux jeunes, comme cela a été montré sur les comportements émotifs (Bertin & Richard-Yris 2004), sociaux (Formanek et al. 2008) et maternels (Pittet 2012).

# III. INTERACTIONS PRE- ET POSTNATALES

Les travaux expérimentaux qui explorent les influences prénatales d'une part, et les influences postnatales d'autre part, sont nécessaires pour comprendre les facteurs à l'origine de la variabilité phénotypique au sein des populations, et les mécanismes qui les régissent. Mais des études s'intéressent néanmoins à l'interaction entre ces deux influences, plus représentatives des conditions naturelles, et qui ouvrent des perspectives intéressantes dans des domaines variés tels que la médecine, la sociologie, ou encore le bien-être animal. Nous allons présenter dans ce chapitre les données actuelles concernant les interactions maternelles pré- et postnatales.

## A. Mise en évidence chez les mammifères

Des travaux menés chez l'Homme par Barker et ses collaborateurs dès 1997 sont parmi les premiers à s'être penchés sur les interactions entre les environnements pré- et postnataux sur le phénotype des individus. Ces recherches ont fait le lien entre un poids faible à la naissance et les maladies coronaires et le diabète à l'âge adulte (Barker 1997, Godfrey & Barker 2000). Un poids faible à la naissance est en effet synonyme d'une nutrition insuffisante pendant la grossesse. En conséquence, l'organisme fœtal aurait tendance à conserver l'énergie, qui devient ensuite excessive si le nourrisson est exposé à une nutrition adéquate après la naissance. Cette conservation excessive d'énergie engendrerait alors les problèmes de santés connus. Cette hypothèse met donc en avant l'impact d'une interaction entre l'environnement maternel prénatal (i.e. une sous-nutrition fœtale) et les conditions de vie après la naissance (i.e. un apport alimentaire normal) sur le développement de l'individu.

Depuis, de nombreux travaux expérimentaux se sont penchés sur des questions de **remédiation** potentielle des conséquences développementales d'un événement prénatal en agissant après la naissance. Pour la grande majorité de ces études, l'objectif est de traiter en postnatal les conséquences d'un stress prénatal ou de l'exposition à une substance ingérée

par la mère, comme l'alcool ou les anxiolytiques, afin d'en limiter les effets. Les protocoles utilisés impliquent généralement une influence maternelle prénatale (i.e. un stress prénatal) et une influence environnementale postnatale, comme un milieu de vie enrichi (Koo et al. 2003, Yang et al. 2007, Lui et al. 2011, Coulon et al. 2013), ou l'injection de molécules, notamment d'hormones comme la testostérone (Kapoor & Matthews 2011) ou l'ocytocine (Lee et al. 2007).

En parallèle, des études se sont intéressées au potentiel remédiateur **des soins maternels** délivrés après la naissance. Ces travaux ont mis en évidence trois notions principales :

**1. La mère peut moduler le phénotype postnatal du jeune, et ainsi contrecarrer les conséquences d'un événement prénatal particulier.** En effet, il semble que des rats nouveau-nés stressés prénatalement et adoptés par une femelle non stressée ne présentent pas les altérations physiologiques et comportementales observées chez les jeunes élevés par leur mère biologique (Del Cerro et al. 2010, de Souza et al. 2012, Pérez-Laso et al. 2013). Les auteurs expliquent ces résultats par le **comportement maternel** exprimé par les femelles adoptantes, complet et approprié voire accru par rapport aux femelles biologiques stressées pendant la gestation. Des travaux similaires ont été menés chez l'Homme, ce qui a permis de montrer que le comportement de la mère après la naissance (notamment les contacts physiques telles que les caresses, et un attachement de type « sécure ») peuvent remédier aux conséquences physiologiques et comportementales d'une grossesse stressante (Bergman et al. 2010, Sharp et al. 2012).

**2. Le jeune peut être plus ou moins réceptif à l'influence de la mère.** Davis & Gorski (1985) ont étudié l'interaction entre un rythme biologique prénatal et l'influence de la mère après la naissance. Ainsi, 50 % des jeunes hamsters (*Mesocricetus auratus*) ayant un rythme prénatal particulier vont le conserver après la naissance, contrairement aux 50 % restants dont le rythme va être entraîné par celui de la mère. Ainsi, le jeune peut "résister" à une influence maternelle qui interagit directement avec un phénotype acquis prénatalement.

**3. La mère module son comportement en fonction des jeunes qu'elle élève.** Nous avons vu que des **séparations brèves** entre la mère et sa portée pendant la période de maternage peut avoir des effets bénéfiques sur les jeunes (Levine et al. 1967, Meaney et al. 1985, Weiner et al. 1985, Meaney et al. 1991, Nunez et al. 1996, Liu et al. 1997, Pham et al. 1997, Lehmann et al. 2000, Pryce et al. 2001). En conséquence, Cannizzaro et ses collaborateurs ont réalisé des séparations brèves entre des ratons stressés prénatalement (Cannizzaro et al. 2006) ou exposés prénatalement à une substance anxiolytique (Cannizaro et al. 2005) et leur mère. Ce protocole a permis de remédier aux déficits cognitifs engendrés par l'environnement prénatal des ratons. La manipulation des jeunes par l'expérimentateur après la naissance, comme c'est le cas lors de ces protocoles de séparation, semble ainsi renverser les déficits d'apprentissage liés à une exposition prénatale à l'alcool (Lee & Rabe 1999), et réactiver la neurogénèse hippocampique altérée par un stress prénatal (Nachum-Biala et al. 2006, Lemaire et al. 2006). En effet, **une manipulation postnatale** des ratons par un expérimentateur engendrerait plus d'interactions entre la mère et sa portée (Henessy et al. 1982, Levine 2000, figure 6), démontrant ici encore l'impact du comportement maternel sur le développement physiologique (ici la neurogénèse et l'activité de l'axe HPA) et comportemental (ici les capacités cognitives et la réactivité à une situation stressante) des jeunes.

***Figure 6**. Séances de léchage-toilettage prodiguées par la mère à ces jeunes, chez le rat (à gauche) et la souris (à droite). Ces stimulations physiques, connues pour avoir de profonds effets développementaux, sont accrues après une séparation brève entre la mère et sa portée.*

## B. Carence bibliographique pour le modèle oiseau

Si l'étude de telles interactions des influences maternelles pré- et postnatales se développe chez les mammifères, très peu d'investigations ont eu lieu sur des modèles aviaires. Pourtant, ce processus important apparaît aussi en conditions naturelles chez les oiseaux. Des travaux menés chez l'étourneau sansonnet se sont intéressés aux conséquences d'une élévation artificielle de corticostérone dans les œufs, considérée comme représentative d'une condition maternelle pauvre, sur le phénotype des descendants. Mais après l'éclosion, les jeunes élevés par une femelle artificiellement handicapée (par la suppression de plumes sur la queue) montrent de meilleurs chances de reproduction contrairement aux jeunes élevés par une femelle non handicapée (Love & Williams 2008). Au-delà des influences maternelles, des travaux menés chez la caille japonaise ont mis en évidence une interaction entre un stress prénatal et un stress postnatal (Marasco et al. 2012, 2013, Zimmer et al. 2013). Ces études ont révélé des conséquences différentes sur l'état physiologique et le comportement des cailleteaux s'ils ont subi un stress avant ET après l'éclosion, en comparaison avec des cailleteaux qui n'ont été traités que lors d'un de ces deux stades de développement. Concrètement, un stress prénatal (i.e. l'injection de corticostérone dans le vitellusvitellus des œufs) ou un stress postnatal (i.e. un apport alimentaire imprévisible) augmentent chacun la néophobie et la prise de risque des cailleteaux, mais les auteurs ont montré un effet maximum lorsque les deux stress sont appliqués, révélant ici un effet cumulatif des événements ayant lieu pendant le développement, que ce soit avant ou après l'éclosion de l'œuf (Zimmer et al. 2013).

# IV. PRESENTATION DE LA THESE

L'étude des influences maternelles s'est considérablement enrichie ces dernières décennies. Ces recherches trouvent leur intérêt d'un point de vue fondamental, puisque les influences maternelles induisent une grande variabilité phénotypique dans les populations, et donc participent aux phénomènes adaptatifs et évolutifs. D'autre part, ce domaine d'étude montre un intérêt sociétal, notamment d'un point de vue médico-psychologique chez l'Homme (i.e. application à la grossesse ou à l'éducation des enfants par exemple), mais également en rapport avec des approches éthiques concernant le bien-être animal. Néanmoins, de nombreuses questions restent posées concernant à la fois les facteurs d'influence, les conséquences développementales pour les jeunes et les mécanismes impliqués. De plus, l'étude de l'interaction entre les environnements maternels prénataux et postnataux reste à l'heure actuellement inexplorée chez les oiseaux.

## A. Études réalisées

Le choix des influences maternelles à étudier et du protocole a été réfléchi après un état des lieux de la littérature actuelle chez les oiseaux. Ce travail implique trois axes complémentaires qui s'inscrivent dans l'étude des influences maternelles. D'une part, nous avons pu voir que certaines caractéristiques de la femelle pouvaient moduler le développement comportemental de ses jeunes via la modulation des niveaux des hormones stéroidiennes dans le vitellus (Groothuis et al. 2005, Guibert 2011). Cependant, les *caractéristiques individuelles de la femelle liées à son comportement de ponte* n'ont pourtant jamais été étudiées. Or chez la caille japonaise, de précédents travaux ont mis en évidence l'existence de variabilité interindividuelle dans l'organisation temporelle journalière de la ponte, variabilité associée à des facteurs intrinsèques et impliquant des interactions animal/environnement différentes (Houdelier 2002). Dans ce contexte, nous avons décidé d'analyser l'impact du rythme de ponte de la femelle sur les caractéristiques de ses œufs et

de sa descendance (expérimentation RYTHME, voir chapitre 3-II page 83). En outre, pour aller plus loin, nous avons analysé les **différences intra-individuelles dans les caractéristiques des œufs** en fonction du rythme de ponte (expérimentation RANG, voir chapitre 3-IV page 111).

Ensuite, alors que beaucoup d'études se sont intéressées aux conséquences de *l'environnement socio-sexuel* sur les concentrations hormonales des œufs et les conséquences pour les descendants, nous avons remarqué que, concernant l'influence du partenaire sexuel, seules ses caractéristiques d'attractivité ont été étudiées. Or, les caractéristiques de la relation entre le mâle et la femelle (e.g. durée du couple, compatibilité comportementale, biparentalité) ont une forte influence sur le succès de reproduction des couples (Spoon et al. 2006, Lendvai & Chastel 2008, Bijleveld & Mullers 2009, Nisbet & Dann 2009). Cette relation mâle-femelle implique avant tout le développement d'un attachement particulier entre les deux individus. Dans un second temps, nous avons donc voulu savoir si **le développement d'un lien de couple entre les partenaires sexuels** avait une influence sur les caractéristiques des œufs et des descendants (expérimentation COUPLE, voir chapitre 4 page 129).

Nous avons choisi d'effectuer **des études longitudinales**, cette méthodologie permettant d'analyser (1) dans quelle mesure les caractéristiques de la femelle ou son environnement pendant la phase de ponte peut moduler les caractéristiques de ses œufs, puis (2) comment le phénotype des descendants en est affecté.

Enfin, l'étude des **interactions entre les environnements prénataux et postnataux** est un domaine qui n'a pas encore été exploré chez les oiseaux, c'est pourquoi nous avons choisi de réaliser une première expérimentation lors de ce projet de thèse. Alors que de nombreux travaux chez la caille japonaise ont montré une influence forte de la mère après l'éclosion sur la construction comportementale des jeunes, nous avons choisi d'étudier *l'interaction entre un stress prénatal et un maternage postnatal* sur la construction comportementale des jeunes, dans une optique de remédiation (expérimentation INTERACTION, voir chapitre 5 page 161).

## B. Choix du modèle

La communauté scientifique montre un intérêt croissant pour l'étude des influences maternelles prénatales. Largement étudiées chez les mammifères, il est cependant difficile chez ce modèle de s'émanciper de l'influence de la mère après la naissance. Par exemple, un stress subit pendant la gestation va altérer le comportement maternel des femelles après la naissance de leurs jeunes (Darnaudéry & Maccari 2008). Les protocoles d'adoption croisée, alternative potentielle, ont également leurs limites, puisque le comportement maternel de femelles adoptant des jeunes prénatalement stressés serait augmenté par les stimulations accrues observées chez ces jeunes (Maccari et al. 1995). Chez les oiseaux, les espèces nidifuges semblent représenter un modèle idéal pour l'étude des influences maternelles prénatales, puisque la survie des jeunes dépend essentiellement d'un apport thermique et alimentaire, facile à fournir dans des conditions expérimentales en minimisant l'intervention de l'Homme.

Nous avons choisi d'utiliser un **modèle d'oiseau nidifuge ayant un développement rapide, la caille japonaise**. En effet, l'incubation des œufs dure 17 jours, la période de maternage onze jours, puis les jeunes sont matures sexuellement dès l'âge de six semaines. Ce modèle était donc particulièrement adapté à un projet de thèse ayant un temps imparti, et dont les expérimentations nécessitaient une génération d'adultes plus leurs descendants. De plus, des études ont montré que des influences maternelles prénatales ont lieu chez cette espèce, particulièrement via des modulations des niveaux d'hormones stéroïdiennes dans le vitellus de l'œuf (Guibert 2011).

# CHAPITRE 2 | Méthodologie générale

# I. MODELE BIOLOGIQUE : LA CAILLE JAPONAISE

Il est difficile de savoir quand exactement l'Homme a commencé à s'intéresser aux oiseaux. En effet, les fossiles d'oiseaux restent rares, principalement car leurs os, fragiles, se fossilisent mal. Néanmoins, certains vestiges ont été retrouvés et laissent à penser que l'Homme a montré très tôt un intérêt pour les oiseaux comme source d'alimentation. Ainsi, la poule aurait été domestiquée pour ses œufs et sa viande, en même temps que le canard et l'oie, d'abord en Inde (3200 av. J.-C.) puis en Égypte (1500 av. J.-C.), avant une extension mondiale (Podulka et al. 2001). La caille japonaise, elle, aurait été domestiquée beaucoup plus récemment, à l'origine en Chine, puis introduite au Japon au XI$^{ème}$ siècle, non pour sa chair mais pour son chant (Yamashima 1961), elle ne sera élevée comme animal de rente qu'au XX$^{ème}$ siècle (Crawford 1990).

Les Galliformes ont été adoptés rapidement comme modèles biologiques pour la recherche (Padgett & Ivey 1959), dans de nombreux domaines tels que la physiologie animale, la génétique et les neurosciences comportementales, notamment grâce à leur facilité d'élevage et de manipulation, et leur développement rapide.

## A. Statut phylogénétique, description et répartition géographique

Le groupe des Galliformes est composé de 300 espèces, la famille des Phasianidés regroupant à elle seule plus de 180 espèces dont les perdrix, les faisans, les paons ou encore les poules. Au sein de cette famille, la caille japonaise appartient au genre *Coturnix*, qui regroupe sept espèces et sous espèces. De nombreuses controverses existent sur les relations phylogénétiques au sein de ce genre. Actuellement, il est admis que la caille japonaise est une sous-espèce de *Coturnix coturnix* (Wetmore 1952), qui peut s'hybrider avec une autre sous-espèce, la caille des blés, *Coturnix c. coturnix* (Guyomarc'h et al. 1998, Derégnaucourt 2000). La caille japonaise est un petit oiseau terrestre, pesant entre six et sept grammes à l'éclosion, les adultes atteignant 150 grammes en moyenne. Un dimorphisme sexuel apparaît rapidement chez les jeunes, une première mue ayant lieu environ trois à quatre semaines après l'éclosion. Ainsi, le duvet marron rayé des cailleteaux

(figure 9) est remplacé par le plumage des adultes, la femelle présentant un plastron clair tacheté de noir tandis que le mâle présente un plastron roux (figure 7). La croissance des jeunes est très rapide chez cette espèce, puisque les animaux sont matures sexuellement dès la sixième semaine de vie. Ce développement rapide induit un temps de génération court, caractéristiques particulièrement adaptée pour l'étude des influences maternelles prénatales.

Ces animaux diurnes vivent dans des milieux ouverts de types prairies, naturelles ou agricoles (Taka-Tsukasa 1935), voire marécageuses (Hennache & Ottaviani 2011), privilégiant une végétation basse mais abondante comme stratégie anti-prédatrice. Ainsi, l'aire de répartition de la caille japonaise s'étend sur une grande partie de l'Asie et de la Russie, cette espèce étant également présente aux Etats-Unis (Hawaï) et en Italie (figure 8), suite à l'introduction d'individus domestiqués (Schwartz & Schwartz 1949). La caille japonaise est un oiseau migrateur qui peut parcourir jusqu'à 1000 kilomètres pour atteindre son aire d'hivernage (Hoffmann 1988), distance relativement importante pour un oiseau peu réputé pour sa qualité de vol. Ainsi, à la fin des années 1980, la caille japonaise était décrite comme résidant à l'est de l'Asie, mais migrant en hiver jusqu'à une zone allant du sud de la Chine au Nord de l'Indochine (Johnsgard 1988). À l'heure actuelle, l'aire de répartition de la caille japonaise reste difficile à estimer, particulièrement en Asie où la chasse (Okuyama 2004) et la modification des systèmes d'agriculture (Duckworth 2009) entraînent une raréfaction de l'espèce dans les milieux naturels. En conséquence, l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature) a classé récemment l'espèce dans la catégorie « quasi menacée ».

***Figure 7.*** *Couple de cailles japonaises, la femelle est à gauche et le mâle à droite.*

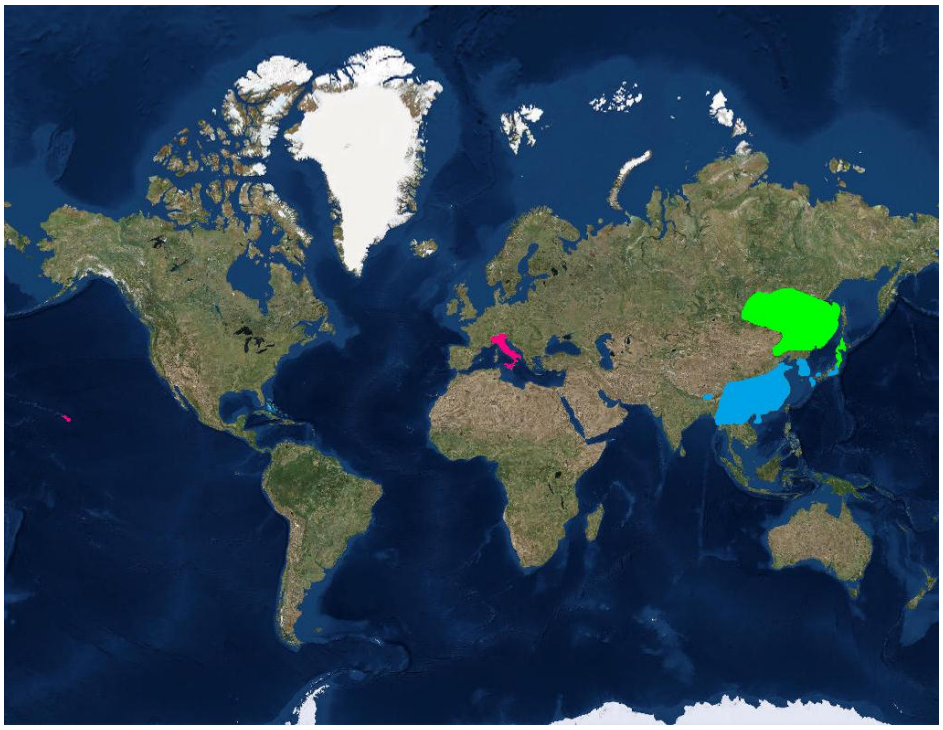


***Figure 8.*** *Aire de répartition de la caille Japonaise, d'après l'UICN (Union Internationale pour la Conservation de la Nature).*

***Légende :***

- *aire de reproduction*
- *aire d'hivernage*
- *aires où l'espèce a été introduite*

## B. Comportement

La domestication de la caille Japonaise comme animal de rente a particulièrement influencé des paramètres physiologiques comme le poids, puisqu'à l'éclosion les jeunes de souches domestiquées pèsent entre neuf et onze grammes et les adultes atteignent facilement 350 grammes. De plus, la capacité de ponte a considérablement augmenté puisque les femelles peuvent pondre une année entière sans interruption. Si certains comportements semblent altérés, tels que les tendances migratoires et les comportements de construction du nid et de couvaison, d'autres comportements semblent peu impactés, comme la reproduction (Nichols et al. 1992) ou la capacité de s'occuper d'une couvée (Orcutt & Orcutt 1976, Pittet 2012). Nous allons détailler ici ces comportements, décrits chez la caille Japonaise domestique ou chez la caille des blés, dont le développement et le comportement sont très proches de la caille Japonaise.

**Reproduction.** Malgré de très nombreuses études expérimentales sur le comportement de la caille, ses caractéristiques en conditions naturelles sont très mal connues, notamment car l'observation de ces oiseaux au sein de leur habitat naturel n'est

pas aisée. Néanmoins, il a été montré que pendant la période de reproduction, mâles et femelles forment des couples monogames temporaires, au moins jusqu'à la couvaison des œufs (Orcutt & Orcutt 1976). Ainsi, après l'arrivée des mâles sur les zones de reproduction et l'établissement de territoires de chant (Johnsgard 1988), les femelles s'y arrêtent et produire des cris d'appel en réponse au chant des mâles. Après rapprochement des partenaires, des comportements de parades, bien visibles chez les mâles mais néanmoins aussi exprimés par les femelles, vont permettre la formation du couple (Guyomarc'h 1974, Lumineau et al. 2005). En conditions expérimentales, la formation artificielle de couples de cailles a montré l'apparition de patterns comportementaux spécifiques une fois les couples appariés. Ainsi, les deux membres du couple vont synchroniser leurs activités, indépendamment du comportement des couples voisins, rester à une courte distance l'un de l'autre et répondre spécifiquement aux sollicitations vocales de leur partenaire (Orcutt & Orcutt 1976).

Seule la femelle s'occupe de la construction du nid (Orcutt & Orcutt 1976), qui est réalisé à même le sol. Le premier œuf est souvent pondu dans une simple dépression (Stevens 1961), puis le nid est ensuite amélioré par la femelle par l'ajout de matériel végétal tout au long de la phase de ponte (Schwartz & Schwartz 1949, Orcutt & Orcutt 1976). Ce matériel ne semble pas prélevé aléatoirement. En effet, les œufs des cailles présentent des tâches dont la variation est très forte entre les femelles, mais très faible pour une même femelle (Kilner 2006, Pike 2011). Les femelles utiliseraient un substrat de ponte permettant un camouflage optimal en fonction de leur phénotype individuel (Lovell et al. 2013). Une couvée complète comporte entre sept et douze œufs (Taka-Tsukasa 1935).

**Soin aux jeunes.** Si la femelle peut tolérer la présence du mâle pendant les 17 jours de couvaison des œufs, celui-ci n'est jamais présent pour l'élevage des cailleteaux. Après l'éclosion, la femelle apporte aux jeunes la chaleur nécessaire pour palier l'immaturité de leur thermorégulation en adoptant un comportement particulier qui consiste à gonfler le plumage pour que les jeunes s'insèrent dessous (Orcutt & Orcutt 1976, Pittet 2012). Ce comportement de réchauffement semble pouvoir être initié à la fois par la mère qui, en adoptant une posture accroupie, en se lissant les plumes au niveau du plastron et en émettant des roucoulements (Guyomarc'h 1974, Orcutt & Orcutt 1976), va induire une approche des jeunes ; et par les cailleteaux, qui peuvent solliciter leur mère à l'aide de coups de bec sur les ailes ou le plastron. La fin d'une phase de réchauffement se traduit par la

***Figure 9.*** *Cailleteau âgé de deux jours.*

rupture de contact entre la mère et les jeunes, rupture pouvant être à l'initiative de la mère ou des jeunes eux-mêmes. Les travaux de thèse de Pittet (2012) rapportent également l'existence de comportements de toilettage des jeunes par la mère (fréquence rare) et de comportements agonistiques envers les jeunes tels que des coups de becs, ciblés sur le corps ou les pattes, et des piétinements. Tous ces comportements présentent une forte variabilité individuelle. L'expression de cri d'alarme par la femelle a un impact sur le comportement immédiat des jeunes, qui se dispersent ou se tapissent au sol (Guyomarc'h 1974, Orcutt & Orcutt 1976). Si la littérature scientifique ne mentionne pas de comportement de défense des jeunes, la littérature classique a plusieurs fois rapporté l'expression d'un tel comportement chez la caille, à l'instar d'un autre Galliforme, la perdrix (*Perdix sp*). En conditions naturelles, la caille utiliserait ainsi une stratégie de défense qui consiste à éloigner un prédateur de sa couvée. Les observations rapportent précisément une séquence où la femelle rassemblerait ses jeunes à l'aide de vocalisations et les disposerait en groupe, la tête au centre. Puis elle apparaitrait comme blessée, sautillant devant le prédateur, et s'envolerait brusquement sur une plus longue distance pour l'éloigner de sa couvée (La Fontaine 1678, Tourgueniev 1883, Vialar 1945). Toutefois, des observations scientifiques rigoureuses sur un effectif conséquent seraient nécessaires pour confirmer l'existence ce comportement de défense.

Les jeunes se dispersent à partir du onzième jour de vie après une phase d'émancipation progressive (Orcutt & Orcutt 1976). En conditions expérimentales, la femelle semble faciliter cette dispersion. En effet, vers la fin de la période de maternage, le niveau d'agressivité de la femelle envers sa couvée augmente, et les phases de réchauffement des jeunes deviennent rares. La femelle évitant alors activement le contact des jeunes en se couchant par exemple sur le sol (Pittet 2012).

# II. CONDITIONS D'ELEVAGE ET PRODUCTION DES OISEAUX

Dans ce chapitre, nous allons décrire les conditions de vie de nos oiseaux, adultes ou jeunes, ainsi que le mode de reproduction utilisé et le protocole d'incubation des œufs, pour nos quatre expérimentations : RYTHME, RANG, COUPLE et INTERACTION.

## A. Conditions d'hébergement des adultes

Tous les adultes de nos expérimentations sont issus d'une souche de chair d'un même élevage industriel (*Les cailles de Chanteloup*, Corps-Nuds, Ille-et-Vilaine). Ils arrivent au laboratoire à l'âge de trois ou six semaines selon les expérimentations, sont immédiatement individualisés par une bague numérotée en aluminium fixée sur l'aile, et placés dans les salles d'élevage pendant plusieurs semaines pour habituation avant l'expérimentation (au minimum deux semaines). Pour les adultes, quatre types de cages ont été utilisées en fonction de l'expérimentation :

- Des logettes **individuelles** en batterie (35 x 25 x 21 cm) (expériences RYTHME et RANG)
- Des logettes **pour couples** en batterie (33 x 50 x 23 cm) (expérience COUPLE)
- Des grandes cages grillagées (100 x 70 x 62 cm) pour les **petits groupes d'animaux** (expérience INTERACTION)
- Et enfin des cages grillagées particulièrement adaptées pour accueillir une **femelle maternant une couvée** (40 x 50 x 35 cm), placées derrière des vitres sans tain afin d'éviter au maximum les perturbations liées aux observations (expérience INTERACTION).

**Alimentation.** Tous nos adultes sont nourris *ad libitum*, avec un mélange de céréales sous forme de granulés (2ème âge pintadeaux/dindonneaux, Végam). L'eau est également fournie *ad libitum* grâce à un abreuvoir automatique. Les femelles reçoivent un supplément en minéraux sous la forme de coquilles d'huîtres, afin d'éviter notamment tout problème de minéralisation de la coquille des œufs.

**Conditions thermiques et photopériodiques.** L'éclairage des salles d'élevage est artificiel. En conditions normales d'expérimentation, les animaux sont soumis à des conditions photopériodiques contrôlées LD 12:12. Pour stimuler la reproduction, la durée d'éclairage peut être modifiée (LD 14:10). Les salles d'élevage sont chauffées à 18 ± 1°C pour les adultes et à 24°C lorsque les femelles étaient avec des jeunes.

## B. Reproduction et incubation des œufs

**Accouplement.** Cette étape se déroule à l'extérieur des cages de vie de nos oiseaux (hormis pour l'expérience COUPLE). Chaque mâle est préalablement placé dans une cage dans une pièce individuelle. Après quelques minutes d'habituation, une femelle est insérée dans la cage du mâle, les animaux restent ensuite ensemble pendant quelques minutes, jusqu'à l'observation de copulations réussies, indiquées notamment par un cri de copulation spécifique émis par la femelle (Guyomarc'h & Guyomarc'h 1996). Selon les expérimentations, chaque mâle a rencontré entre une et dix femelles. Pour favoriser au maximum le succès de la reproduction, les accouplements ont eu lieu dans la matinée, période correspondant au pic journalier d'activité sexuelle des mâles (Ottinger et al. 1982). L'accouplement des oiseaux a lieu tous les trois jours, les femelles pouvant stocker les spermatozoïdes plusieurs jours dans leur tractus génital sans que ceux-ci ne perdent leur pouvoir fécondant (Birkhead & Møller 1993).

**Collecte des œufs.** La formation du vitellus nécessitant sept jours chez la caille japonaise (Sauveur & Picard 1987), la récolte des œufs s'effectue une semaine minimum après le début du traitement. Chaque matin, les œufs pondus la veille par les femelles sont ainsi récoltés, individualisés (femelle/date), et stockés à l'abri de la lumière dans une pièce fraîche (16°C maximum pendant deux à trois semaines) jusqu'à leur mise en incubation. Ces conditions de stockage n'altèrent pas le taux d'éclosion, et permettent par ailleurs la suspension de l'embryogénèse, tous les œufs pondus contenant alors des embryons au même stade de développement (i.e. fin de segmentation). Une partie des œufs est également stockée au congélateur pour les dosages hormonaux (voir partie III. B. de ce

chapitre). Dans ce cas, les œufs sont récoltés sur deux jours minimum, afin d'avoir un échantillon complet de nos femelles, la ponte pouvant être interrompue par un jour de pause (Houdelier et al. 2002).

**Incubation.** Tous les œufs sont incubés artificiellement pendant 17 jours au laboratoire (couveuse Ova-Easy Advance 380, Brinsea©) dans les mêmes conditions : pendant les quatorze premiers jours de l'incubation, les plateaux d'œufs subissent une rotation de 45° toutes les heures, la température étant de 37,5°C et l'humidité maintenue à 45 %. Pour les trois derniers jours de l'incubation, les œufs sont placés dans des paniers à éclosion, soit par lot soit individuellement, la rotation étant stoppée, la température légèrement diminuée (37,2°C) et l'humidité largement augmentée (60 %). À la moitié de l'incubation, les œufs sont mirés afin d'estimer le développement embryonnaire et d'éliminer les œufs non fertilisés et les œufs où le développement embryonnaire s'est arrêté.

***Figure 10.*** *Cailleteau tout juste sorti de l'œuf, dans le panier à éclosion de l'incubateur.*

## C. Conditions d'hébergement des cailleteaux

Le jour de l'éclosion, les cailleteaux sont immédiatement pesés à la sortie de l'éclosoir, puis individualisés à l'aide d'une bague numérotée en aluminium placée autour de la patte, avant d'être placés dans les cages d'élevage. Trois types d'hébergements sont utilisés pour les jeunes :

- Notre **salle d'éclosion** comporte des cages en plastique (100 x 35 x 42 cm) munies de lampes chauffantes, dans lesquelles les cailleteaux peuvent être répartis par lot, en petits groupes de dix à trente individus. De manière générale cet hébergement n'est que transitoire, les jeunes étant placés dans leurs salles d'élevage définitives lorsque la majorité des œufs ont éclos. En outre, nous utilisons cette salle pour les jeunes en surplus, ne participant pas aux expérimentations.

- Le jour de l'éclosion, les jeunes des expériences RYTHME et COUPLE ont été répartis par lot, en groupes allant de 20 à 40 individus selon l'expérimentation, dans **des box** (200 x 200 cm, figure 11) dont le sol est recouvert de copeaux de bois. Au sein de chaque lot, nous avons apporté un soin tout particulier à la répartition homogène des jeunes dans les groupes, afin qu'il y ait autant de représentants de chaque femelle pondeuse par groupe.

- Les jeunes de l'expérience INTERACTION ont été adoptés par des femelles adultes suite à l'induction du comportement maternel (voir chapitre 5 page 172). Lors de cette procédure, les cailleteaux sont placés en petits groupes de trois par cage (40 x 50 x 35 cm), dans notre **salle de maternage**, le soir de leur éclosion.

**Alimentation.** Les cailleteaux sont nourris dès l'éclosion avec un aliment dit « de démarrage », sous forme de semoule. Au fur et à mesure de leur croissance, cet aliment est graduellement remplacé par des granulés pour adultes.

**Conditions thermiques et photo-périodiques.** Les salles d'élevages où se trouvent des jeunes sont chauffées à 24 ± 1 °C, et des lampes chauffantes (60 W) sont situées dans les box et dans chaque cage. Les cailleteaux sont soumis à un rythme photopériodique contrôlé (LD 12 : 12).

***Figure 11.*** *Box d'élevage où les cailleteaux sont placés après l'éclosion. Au premier plan, une mangeoire contenant un aliment spécifique dit « de démarrage » sous forme de semoule. On peut voir également le tapis grillagé permettant une locomotion aisée des jeunes, qui sont ici regroupés sous une lampe chauffante.*

## D. Note éthique

Les expériences présentées dans ce projet ont fait l'objet d'un examen auprès du **Comité Rennais d'Éthique en matière d'Expérimentation Animale**. De plus, j'ai eu l'opportunité de suivre une formation à l'école nationale vétérinaire (ONIRIS) ou j'ai obtenu le diplôme d'étude « **Expérimentation Animale – Conception et Réalisation de procédures expérimentales** ». Enfin, nous avons apporté un soin tout particulier aux conditions d'élevage de nos oiseaux. Lorsque cela a été possible, nous avons **amélioré l'hébergement** en lien avec les caractéristiques comportementales de notre espèce. Dans les batteries, chaque logette individuelle a été équipée d'un **tapis de pelouse en plastique** (15 x 12 cm, figure 12), apprécié par les volailles comme substrat d'exploration, de repos ou de bain de poussière (Michel et al. 2009, Merrill & Nicol 2005) et, dans notre cas, comme substrat de ponte. De plus, nous avons placé des **panneaux de liège** sur la moitié des parois entre logettes, permettant aux animaux qui le souhaitent d'être totalement isolés visuellement des voisins, dans le but de diminuer les interactions sociales négatives (Cornetto et al. 2002). En plus de fournir à nouveau un substrat d'exploration, les logettes semblent ainsi plus confinées, caractéristique appréciée par la caille japonaise en captivité comme en conditions naturelles (Buchwalder & Wechsler 1997). L'installation de ce tapis et des panneaux de lièges dans les logettes est issue d'une étude réalisée au laboratoire ayant montré un impact positif de leur présence sur le comportement des oiseaux, qui ont alors exprimé plus de confort et moins de comportements stéréotypés (Laurence et al. *sous presse*).

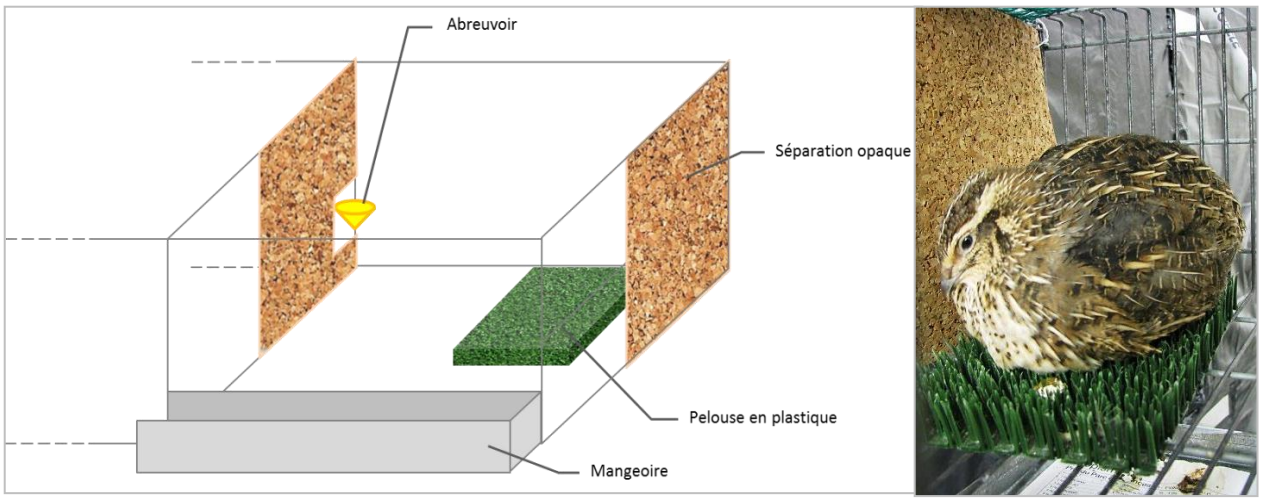



***Figure 12.*** *Illustration des améliorations apportées aux batteries d'élevage. À gauche : schéma des logettes montrant les améliorations que nous avons apportées (des séparations visuelles et un substrat d'exploration et de ponte) ; à droite : une femelle au repos sur le tapis de pelouse.*

Les cailleteaux ont été élevés en groupes sur copeaux, un matériau très apprécié des animaux permettant à la fois l'exploration, le « foraging », comportement de recherche de nourriture dans le substrat, et les bains de poussière. Nous avons également placé un grillage au sol afin de faciliter leur déplacement pendant les premiers jours de vie, que ce soit dans les box d'élevage (figure 11) ou dans les cages de maternage.

# III. PROTOCOLE GENERAL

## A. Paradigme expérimental

Les différentes expérimentations de ce projet de thèse ont suivi un protocole similaire, composé de trois étapes principales :

- **La formation des lots d'adultes** et les observations comportementales associées ;
- **La récolte des œufs** : une partie servant aux analyses des constituants/composants, l'autre étant placée en incubation ;
- **L'analyse développementale des jeunes :** croissance et comportement.

Ainsi, nous avons réalisé quatre expérimentations, que l'on peut classer dans trois catégories qui comportent tout ou partie des trois étapes expérimentales comme indiqué dans le tableau de la page suivante (tableau 1).

***Tableau 1**. Récapitulatif des expérimentations réalisées. Les lignes représentent les quatre expériences réalisées et la thématique à laquelle elles appartiennent. Les colonnes donnent, de gauche à droite, l'abréviation de l'expérience utilisée dans le manuscrit et son titre, et les 3 étapes d'investigation : femelles adultes, œufs pondus par ces femelles et jeunes issus de ces œufs. Les symboles ✓ indiquent quelles étapes ont été explorées pour chaque expérimentation.*

| | | | ***Étapes*** | |
|---|---|---|---|---|
| ***Abréviation*** | ***Titre de l'expérience*** | | | |
| **Influences des caractéristiques intrinsèques de ponte de la femelle** | | | | |
| **RYTHME** | Étude du **rythme de ponte** | ✓ | ✓ | ✓ |
| **RANG** | Étude du **rang de ponte** | ✓ | ✓ | |
| **Influence de l'environnement sexuel de la femelle pendant la phase de ponte** | | | | |
| **COUPLE** | Étude du **lien de couple** | ✓ | ✓ | ✓ |
| **Interaction entre les environnements pré- et postnataux** | | | | |
| **INTERACTION** | **Modulation d'un stress prénatal** par l'apport de **soins maternels** | ✓ | | ✓ |

Les lots d'adultes étant propres à chaque expérimentation, ils seront détaillés dans les chapitres correspondants, avec les procédures spécifiques à ces expériences. Ici, nous allons présenter les procédures générales utilisées dans l'ensemble des expérimentations.

## B. Analyse des œufs

### 1. *Caractéristiques des œufs*

Différents paramètres sont mesurés :

- **Le poids de l'œuf :** tous les œufs produits sont pesés le jour de leur récolte (balance SPU 202 Scout pro, OHAUS Corporation, d = 0,01g), afin d'éviter toute altération pouvant modifier leur masse (comme la perte d'eau par exemple).

- **Le poids des différents constituants de l'œuf :** sur les œufs congelés, récoltés pour les analyses hormonales, nous avons mesuré les poids respectifs du **vitellus**, de **l'albumen** et de la **coquille**. Lors de la décongélation, l'albumen se liquéfie beaucoup plus rapidement que le vitellus qui reste sous la forme d'une boule compacte, ce qui nous permet de séparer ces deux constituants. Ainsi, la pesée de la coquille, puis du vitellus, permet d'obtenir le poids de l'albumen après soustraction. Ces mesures permettent de déterminer ensuite les **proportions relatives de chaque constituant.**

- **Les niveaux de stéroïdes présents dans les œufs** : nous nous sommes intéressé à trois hormones : la **testostérone** et **l'androstènedione**, deux androgènes, ainsi que la **progestérone**. Nous avons choisi de ne pas mesurer la corticostérone, hormone de stress, les méthodes de dosage actuelles révélant de fortes réactions croisées entre la corticostérone et la progestérone (Rettenbacher et al. 2009, Quillfeldt et al. 2011). Le dosage des stéroïdes maternels du vitellus est réalisé par la méthode EIA (Enzyme ImmunoAssay) basée sur une réaction immunitaire entre le composant cible et un anticorps, couplée à une mesure colorimétrique (Hackl et al. 2003), selon la méthode suivante :

  - *Extraction des stéroïdes maternels.* Le vitellus est placé entier dans un tube à essai, avec 10 mL d'eau distillée. Les échantillons homogénéisés à l'aide d'un vortex, puis 1 mL de la suspension est transféré dans un tube à essais où l'on rajoute 4 mL de méthanol pour extraire la progestérone et la testostérone. Après un nouveau passage au vortex, les échantillons sont stockés à -20 °C pour permettre la précipitation des lipides, et donc des hormones. Le lendemain, les échantillons sont centrifugés pendant 10 minutes à -10°C et 2500g, puis 10 µL du surnageant sont prélevés et séchés à 25°C. L'extrait séché est ensuite dissout dans une solution tampon pour le dosage de la testostérone et de la progestérone. Pour l'androstènedione, 0,1mL de la solution vitellus/eau distillée est dilué dans 1mL de diéthyléther, l'extraction de l'hormone étant plus efficace avec ce solvant. Après stockage à -20°C et centrifugation, 10 µL du surnageant sont séchés. Cet extrait est dissout dans 100 µL de solution tampon, puis une dernière dilution au centième est effectuée avant dosage.

- *Dosage*. Selon les expérimentations, les analyses hormonales ont été effectuées dans deux laboratoires. Lors des dosages effectués au sein de notre UMR en collaboration avec le Pr. Marie Trabalon (expérience COUPLE), nous avons utilisé des kits EIA (DetectX® d'Arbor Assays pour la progestérone, Oxford Biomedical Research pour l'androstènedione, et Enzo Life Sciences pour la testostérone). Une fois l'échantillon placé dans le kit, un complexe enzymatique spécifique au test est ajouté dans le puits et le composant cible (i.e. le stéroïde à tester) se fixe alors aux anticorps présents sur les parois, de manière compétitive avec le complexe enzymatique (figure 13). Après incubation puis lavage, une solution de substrat va se fixer sur les anticorps restants, la réaction chimique libérant un composant coloré que l'on va mesurer par spectrométrie. Ainsi, plus la densité optique obtenue est élevée, plus la concentration du composant cible dans l'échantillon est faible. La concentration du composé cible dans chaque échantillon est ensuite lue sur une courbe étalon établie pour chaque dosage, puis sa concentration dans le vitellus de l'œuf est calculée après correction appropriée en fonction des dilutions effectuées et du poids du vitellus.

Les méthodes d'extraction et de dosage utilisées par le Pr. Rupert Palme de l'Institut de Biochimie de l'université vétérinaire de Vienne (Autriche) (expériences RYTHME et RANG) sont similaires, mais les analyses ne requièrent pas l'utilisation de kits EIA. Les

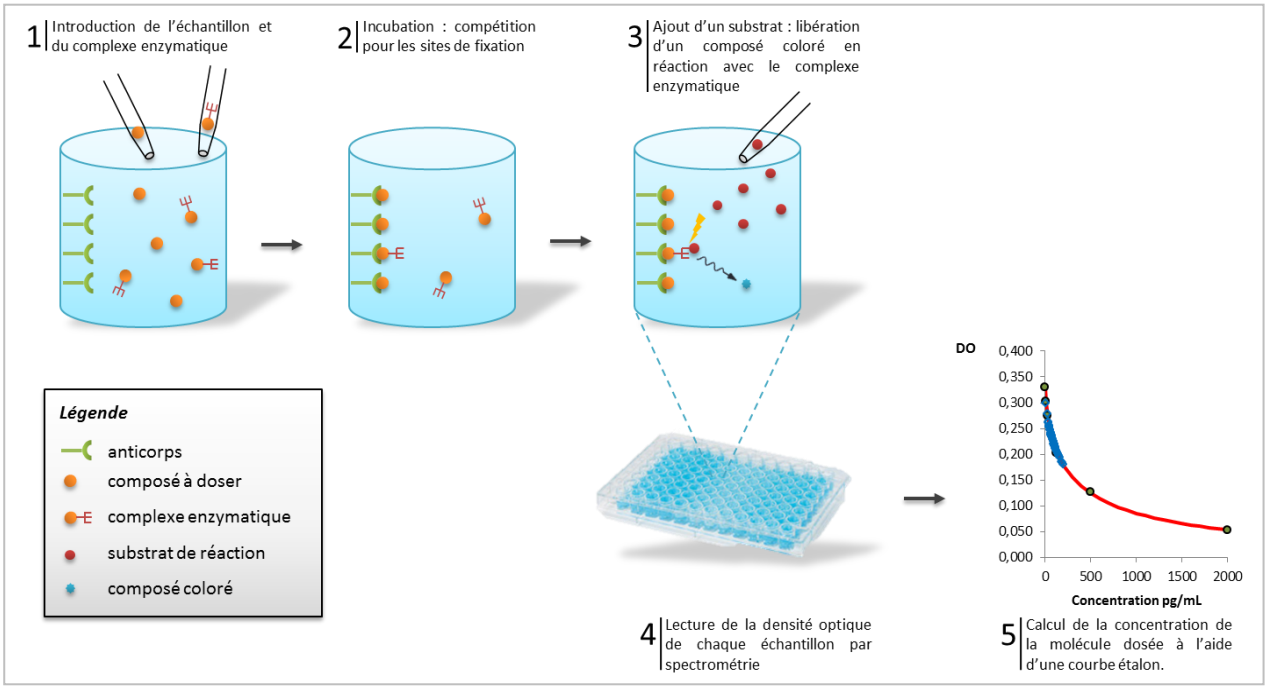



***Figure 13.*** *Chronologie des différentes étapes d'un dosage immunoenzymatique par compétition de liaison.*

articles de Palme & Möstl (1994), Hirschenhauser et al. (1999) et Möstl et al. (2001) fournissent une description complète des anticorps et la validation de l'EIA utilisée dans ce laboratoire. Il faut noter qu'un dosage est validé par le calcul d'un coefficient de variation : en effet, la différence de concentration entre plusieurs réplicas d'un même échantillon ne doit pas dépasser 20 %.

### 2. ***Fertilisation et éclosion des œufs***

Lors de l'incubation, nous avons compté le nombre d'œufs non fertilisés (œufs clairs), et au sein des œufs fertilisés le nombre de poussins éclos. Ceci nous a permis de calculer deux indices pour chaque lot expérimental :

- un **indice de fertilisation** : $I_F = \frac{nombre\ d'œufs\ fertilisés \times 100}{nombre\ d'œufs\ en\ incubation}$
- un **indice d'éclosion** : $I_E = \frac{nombre\ d'œufs\ éclos \times 100}{nombre\ d'œufs\ fertilisés}$

## C. Suivi morpho-physiologique des animaux

Tous nos oiseaux sont pesés lors de leur arrivée au laboratoire (balance BJ 4100D Précisa Instrument AG, d = 0,1g). En outre, nous contrôlons leur poids avant et après chaque procédure expérimentale. La croissance des jeunes est mesurée chaque semaine de l'éclosion jusqu'à stabilisation de leur poids, c'est-à-dire à huit semaines environ (Woodard et al. 1973). Pour chaque lot expérimental, le sex-ratio est calculé à partir de la troisième semaine de vie, lorsque le plumage permet de différencier les mâles et les femelles. À partir de la quatrième semaine de vie, nous mesurons la largeur de la fente cloacale à l'aide d'un pied à coulisse électronique (Mitutoyo®, Japan), bon indicateur du développement sexuel, aussi bien chez les mâles que chez les femelles (Guyomarc'h 1985, Guyomarc'h & Saint-Jalme 1986, Guyomarc'h & Guyomarc'h 1994).

## D. Étude des caractéristiques comportementales des individus

### *1. Méthodes d'observation*

Nous utilisons deux méthodes de relevé classiques (Altmann 1974) : le **focal animal sampling** permet de relever tous les comportements de l'oiseau testé pendant une durée déterminée, et le **scan animal sampling** permet de mesurer le comportement exprimé par les animaux ou leur position dans l'espace à un temps *t*, cette observation étant répétée de nombreuses fois avec un pas de temps déterminé. Cette seconde méthode est notamment utilisée pour mesurer des budgets d'activité ou des distances interindividuelles.

### *2. Répertoire comportemental*

Le tableau de la page suivante synthétise le répertoire comportemental que nous avons utilisé lors de nos observations (tableau 2). Les comportements relevés peuvent ainsi être classés en sept catégories : locomotion, exploration de l'environnement, postures d'observation, maintenance, vocalisations, comportements de peur et stéréotypies.

### *3. Tests comportementaux*

Les tests utilisés lors de nos expérimentations, validés par de nombreuses études (Forkman et al. 2007), sont classiquement utilisés chez la caille japonaise pour appréhender trois aspects comportementaux : la **réactivité émotionnelle**, la **motivation sociale** et les **capacités cognitives** dans une tâche spatiale. Tous nos tests sont effectués alors que l'observateur se trouve derrière une vitre sans tain, à l'exception du test du runway qui est filmé, l'expérimentateur observant en direct les oiseaux depuis une pièce adjacente.

#### a. Mesure de la réactivité émotionnelle

La réactivité émotionnelle est qualifiée de « multidimensionnelle », c'est-à-dire que différents traits d'émotivité peuvent être révélés selon le test utilisé (Mills & Faure 1986,

***Tableau 2.*** *Description des éléments du répertoire comportemental relevés lors des expérimentations. La colonne de droite illustre certains de ces comportements à l'aide de photos représentant (de haut en bas) : le lissage des plumes, le bain de poussière, le freezing et la vigilance.*

| Catégorie | Nom des comportements | Commentaire |
|---|---|---|
| **Locomotion** | Marche | L'animal se déplace (au moins trois pas consécutifs) |
| | Course | L'animal se déplace rapidement |
| | Saut / saut voleté | L'animal saute, en battant éventuellement des ailes |
| **Exploration** | Picorage | Différencié selon l'élément picoré (sol, paroi, élément de la cage) |
| **Observation (posture)** | Basse | Le corps de la caille est près du sol et son cou parallèle au sol |
| | Moyenne | La caille observe son environnement avec une posture relaxée |
| | Haute | La caille est dressée sur les tarses, tend le cou tout en tournant la tête de part et d'autre |
| **Maintenance** | Toilettage | Différencié entre lissage des plumes, grattage, ébrouement et étirement |
| | Grattage du sol | Comportement précédent un bain de poussière |
| | Bain de poussière | Ébrouement particulier, le ventre contre le sol |
| | Alimentation | Différencié pour l'eau et l'aliment |
| | Repos | Immobilité, différenciée en fonction de la posture (debout ou couché) et des yeux (ouverts ou fermés) |
| **Vocalisations** | Cri d'appel | Nombre de cris, de séquences de cris, et nombre de cris par séquences |
| **Peur** | Freezing | L'avant du corps est plus bas que l'arrière, les plumes sont gonflées, l'oiseau peut rester ainsi statique ou marcher |
| | Évitement | Mouvement de recul de la tête ou du haut du corps, l'animal ne marche pas |
| | Éloignement | Évitement avec locomotion |
| | Vigilance | Posture identique à l'observation haute mais figée |
| **Stéréotypie** | Pacing | Aller-retours stéréotypés le long d'une paroi, avec des mouvements répétés de la tête, des picorages des parois et des sauts |

Mignon-Grasteau et al. 2003). Nous avons donc choisi d'utiliser plusieurs tests comportementaux, permettant d'appréhender la réactivité émotionnelle dans sa globalité.

**Immobilité tonique.** L'émotivité intrinsèque de la caille japonaise peut être mesurée grâce à l'immobilité tonique, posture catatonique anti-prédatrice dont la durée est positivement corrélée à l'émotivité de l'individu (Jones 1986, Mills & Faure 1991). En conditions expérimentales, l'oiseau est placé sur le dos, la tête étirée vers le bas, dans un dispositif en V dont la largeur est modulable en fonction notamment de l'âge de l'animal (figure 14). L'expérimentateur maintient l'oiseau dans cette position pendant dix secondes, afin d'induire l'immobilité tonique. Si l'oiseau se relève dans les dix premières secondes après l'induction, celle-ci est considérée comme échouée, et l'animal est à nouveau contentionné (le nombre maximal d'essais étant de cinq). Si l'induction est réussie, l'expérimentateur attend que l'oiseau se relève et note la durée totale de l'immobilité tonique, avec un maximum de 300 secondes aloué à l'oiseau s'il ne s'est pas relevé au bout de cinq minutes.

***Figure 14.*** *Femelle adulte (à gauche) et cailleteau (à droite) en immobilité tonique dans le dispositif en V, conçu par Jean-Pierre Caudal, ingénieur de recherche au laboratoire.*

**Emergence.** Ce test permet de mesurer une dimension de la réactivité émotionnelle que l'on peut qualifier de « timidité ». Cela consiste à placer l'animal dans un espace étroit et sombre, et à mesurer la latence d'entrée dans un compartiment plus vaste et plus lumineux, communément appelée *latence d'émergence* et positivement corrélée à la réactivité émotionnelle de l'animal (Archer 1976, Mills & Faure 1986, Jones 1987). Notre dispositif est constitué d'une petite boîte de départ sombre (18 x 18 x 18 cm) dont une des parois s'ouvre sur une grande cage insonorisée (83 x 60 x 35 cm) possédant une paroi vitrée par laquelle l'expérimentateur peut observer l'oiseau (figure 15). Après une minute passée dans la boîte de départ, l'expérimentateur ouvre la paroi mobile et note la latence d'émergence de l'oiseau (en faisant la distinction entre les latences d'émergence de la tête et du corps entier). Lorsque celui-ci est rentré dans la grande cage, l'expérimentateur note pendant trois minutes tous les comportements exprimés par l'oiseau : locomotion, exploration, observation, maintenance, vocalisation et comportements de peur. Si l'oiseau n'est pas sorti de la boîte de départ au bout de trois minutes, une latence d'émergence maximale de 180 secondes lui est allouée et le test est interrompu.

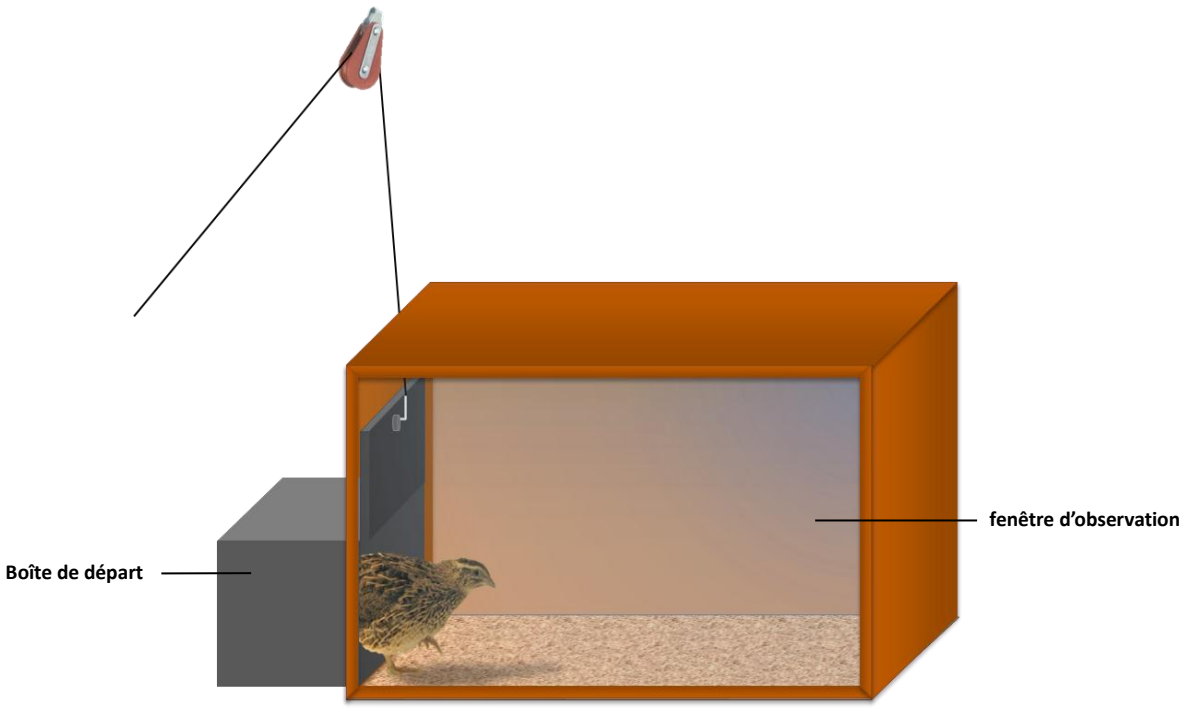



***Figure 15.*** *Représentation schématique du test d'émergence.*

**Openfield.** Placer un animal dans un milieu non familier et ouvert est une situation particulièrement anxiogène. Ce test, d'abord mis en place chez les Rongeurs (Archer 1973, Walsh & Cummins 1976), a vite été utilisé pour mesurer la réactivité émotionnelle des oiseaux (Faure et al. 1983). Notre dispositif est formé d'une arène octogonale (Ø inscrit 100 cm, hauteur 60 cm, figure 16). L'oiseau est placé au centre de l'arène dans le noir, puis l'expérimentateur allume la lumière et note tous les comportements de l'animal pendant cinq minutes : locomotion, exploration, observation, maintenance, vocalisation et comportements de peur, une faible activité étant corrélée à une forte émotivité (Faure et al. 1983).

**Objet nouveau.** Nous avons souhaité mesurer la néophobie des oiseaux dans un milieu familier, les comportements d'évitement envers un stimulus inconnu reflétant la peur des animaux envers ce stimulus (Jones 1996). Ainsi, nous avons réalisé ce test à la suite du test de l'openfield, alors virtuellement découpé en trois zones, lors des trois premières expériences. Après avoir éteint la lumière, un objet inconnu de nos oiseaux, sous la forme d'un objet en plastique en forme de T jaune et noir (hauteur 20 cm) est placé contre la paroi dans la zone de contact, tandis que l'oiseau est placé contre la paroi à l'opposé, dans la zone de départ (figure 16). Après rallumage de la lumière, nous effectuons pendant cinq minutes deux types d'observation : un *focus* pour relever tous les comportements de l'animal (locomotion, exploration, observation, maintenance, vocalisation et comportements de

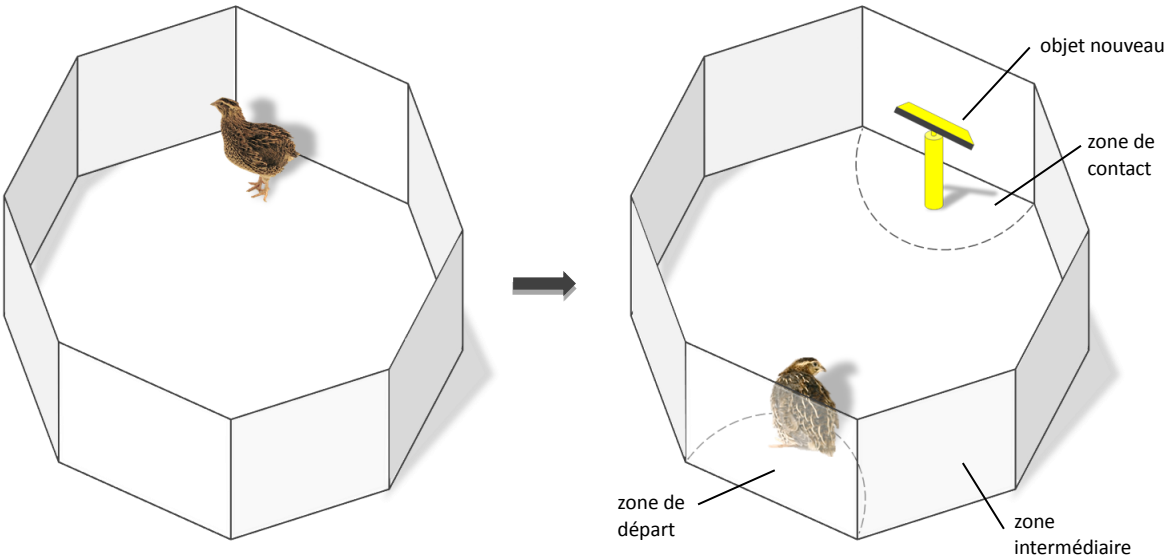



***Figure 16.*** *Représentation schématique du test de l'openfield (à gauche) et de l'objet nouveau (à droite).*

peur) ainsi que les latences d'entrée dans les zones intermédiaire et de contact, et les comportements dirigés vers l'objet (exploration, évitement, fuite) ; un *scan* nous permet de relever en parallèle toutes les dix secondes la position de l'animal : en zone de départ, en zone intermédiaire, ou dans la zone de contact. Lors de l'expérience INTERACTION, nous avons réalisé ce test au sein de leur cage de vie. Dans ce cas, l'objet utilisé et la durée du test sont similaires, mais nous relevons uniquement la latence de contact avec l'objet et leur nombre, pour chaque jeune. Nous relevons également la position de chacun des trois jeunes toutes les dix secondes dans la cage, virtuellement divisée en deux zones (avec/sans l'objet).

### b. Mesure de la motivation sociale

Le Masne (1996) définit la motivation sociale comme la propension d'un individu à rechercher à établir le contact avec un groupe de congénères, à s'en approcher et à rester à proximité de ce groupe. Bien que ce trait comportemental puisse être mesuré dans les tests décrits précédemment (i.e. émergence, openfield et objet nouveau), nous l'avons plus spécifiquement mesuré dans deux situations particulières, la séparation et le runway.

**Séparation.** Nous avons effectué des tests de séparation en milieu familier. Ainsi, nous avons pu mesurer la réactivité émotionnelle des animaux face à une séparation sociale en diminuant les interférences avec les conséquences d'un environnement inconnu sur leur comportement. Pour cela, l'oiseau est placé, seul, dans un box ou une cage strictement similaire à son environnement de vie habituel. Nous relevons pendant trois minutes les latences et les fréquences de pas et de cris d'appel, ainsi que les sauts, exprimés en grande quantité si les jeunes sont perturbés par cette séparation sociale (Launay 1993, Guyomarc'h & Guyomarc'h 1996).

**Runway.** Nous avons mesuré la réaction de nos oiseaux face à des congénères non familiers en adaptant le test du runway décrit par Mills & Faure (1991). Notre dispositif est composé d'une zone de départ dans laquelle est placé l'animal testé, qui s'ouvre sur un couloir d'un mètre de long découpé en quatre zones et au bout duquel se situe une cage où sont placés des oiseaux du même âge mais non familiers (figure 17). Après une minute d'habituation dans la zone de départ, l'animal a accès au couloir, l'expérimentateur notant alors la latence

d'entrée dans le couloir. Puis, pendant cinq minutes, nous relevons le temps passé dans chacune des quatre zones du couloir ainsi que les comportements de saut, d'exploration de la cage des congénères et d'agression. Enfin nous notons les latences et fréquences des vocalisations.

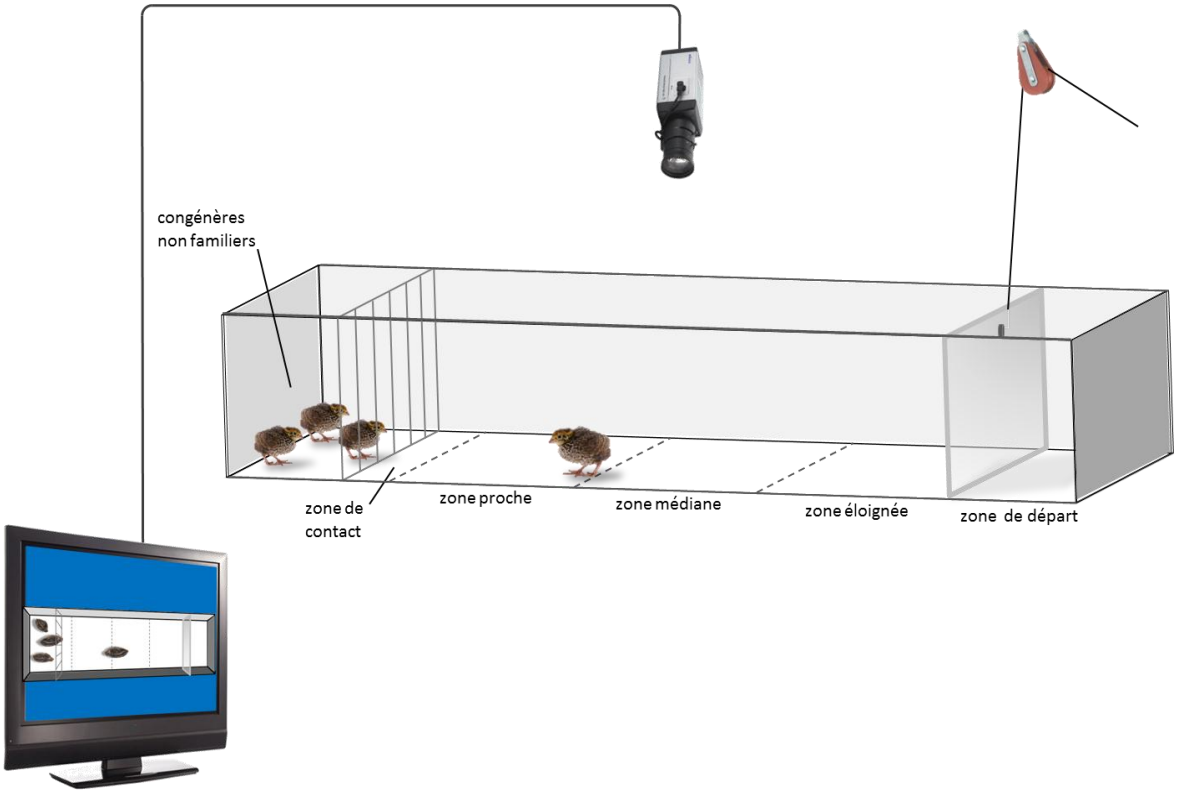



***Figure 17.*** *Représentation schématique du test du runway. L'expérimentateur observait en direct le test depuis une autre pièce.*

### c. Evaluation des capacités cognitives lors d'une tâche spatiale

Nous avons utilisé le **test du détour de locomotion**, impliquant une situation où l'animal doit perdre de vue un stimulus attrayant, et s'en éloigner brièvement, pour ensuite y avoir accès. Leur aptitude à réaliser cette tâche dépend donc de leur capacité de représentation spatiale de l'objectif (Regolin et al. 1995, Zucca et al. 2005). Notre dispositif était constitué d'une arène rectangulaire (1,5 m², hauteur 60 cm, figure 18), l'oiseau était placé devant un obstacle muni de fenêtres lui permettant d'apercevoir une mangeoire

remplie de granulés placée de l'autre côté. Nous avons artificiellement augmenté la motivation des oiseaux par une privation alimentaire, de durée variable en fonction de l'âge des individus (de quatre heures pour un jeune de trois semaines à douze heures pour un adulte). Pour chaque oiseau, nous avons noté la latence du premier pas, de détour (dans un délai maximal de dix minutes), puis d'alimentation, ainsi que le côté utilisé pour contourner l'obstacle.

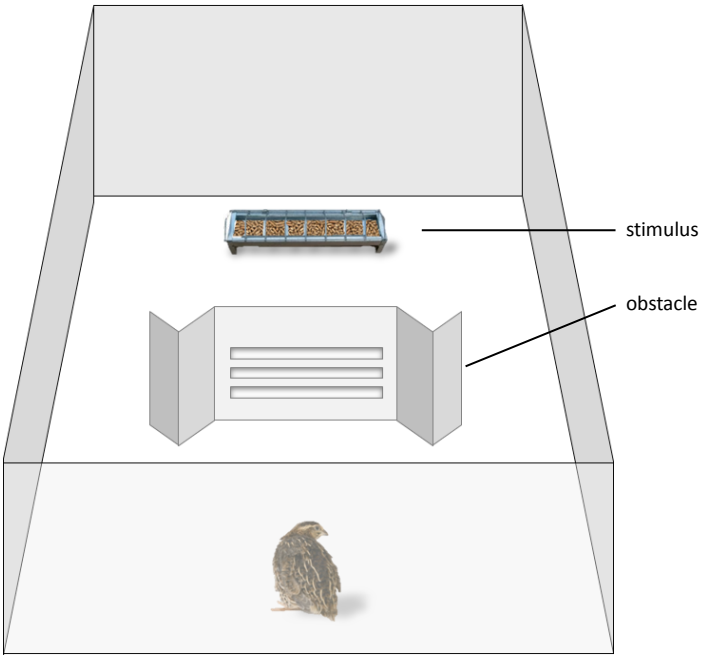
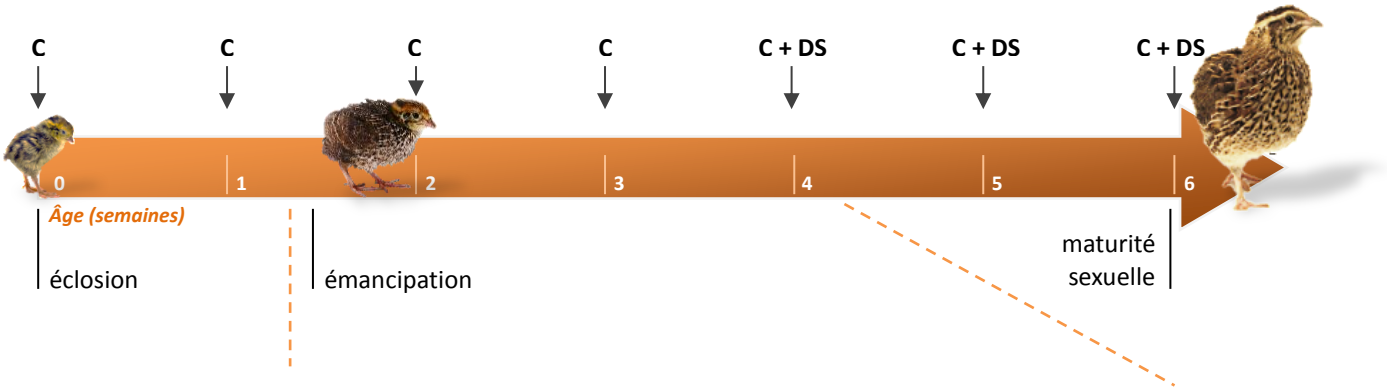



***Figure 18.*** *Représentation schématique du test du détour de locomotion.*

### 4. Calendrier expérimental

Nous avons effectués les tests comportementaux et les mesures morpho-physiologiques des jeunes selon un calendrier expérimental constant au cours du projet de thèse. La figure ci-dessous présente ce calendrier, ainsi qu'un tableau synthétisant les traits comportementaux mesurés dans chacun des tests éthologiques utilisés.




| | Immobilité tonique | Séparation | Emergence | Runway | Open-field | Objet nouveau | Détour |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Emotivité | ✓ | | ✓ | | ✓ | ✓ | |
| Motivation sociale | | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | |
| Capacités cognitives | | | | | | | ✓ |

***Figure 19.*** *Représentation chronologique des mesures physiologiques et comportementales chez les jeunes. Au-dessus de la flèche sont représentées les mesures morpho-physiologiques (croissance (**C**) et développement sexuel (**DS**)). Au-dessous, un tableau présente la chronologie des tests comportementaux ainsi que les traits qu'ils permettent de mesurer.*

# CHAPITRE 3

# Influence des caractéristiques intrinsèques

## *Étude du rythme journalier de ponte*

# I. INTRODUCTION

L'étude des influences prénatales chez les oiseaux a montré que les **caractéristiques intrinsèques** des femelles peuvent agir sur le contenu hormonal de leurs œufs, et donc sur le développement des jeunes issus de ces œufs. Tout d'abord, les caractéristiques génétiques de la femelle peuvent influencer la variabilité interindividuelle des contenus hormonaux des œufs. Ainsi, chez la caille japonaise, une sélection génétique sur les concentrations du vitellus en testostérone a conduit à la formation de deux lignées génétiques présentant des fortes ou des faibles teneurs en testostérone (Okuliarová et al. 2011, 2014). Enfin, certaines études ont mis en évidence des niveaux de stéroïdes différents dans les œufs de cailles japonaises appartenant à des lignées sélectionnées pour des traits comportementaux extrêmes (Gil & Faure 2007, Bertin et al. 2009a). Cependant, sur ces lignées, nous ne savons pas si les différences du contenu hormonal de leurs œufs sont liées aux différences génétiques entre les lignées ou si elles résultent de l'influence de leur comportement.

L'âge de la femelle au moment de la phase de ponte a également une influence sur les caractéristiques de ses œufs (poids, proportions de coquille, de vitellus et d'albumen) et sur le poids à l'éclosion des jeunes issus de ses œufs, les résultats différant selon le modèle étudié (Sauveur 1988, Vieira & Moran 1998, Bogdanova et al. 2006, Siegel et al. 2006). Des études chez la caille japonaise montrent que le taux de testostérone dans le vitellus des œufs pondu par des femelles âgées est plus faible comparé à celui des œufs de femelles plus jeunes (Okuliarová et al. 2009, Guibert et al. 2012). De plus, les jeunes issus des œufs de femelles âgées sont plus lourds à l'éclosion et présentent une plus faible réactivité émotionnelle et une plus forte motivation sociale que les jeunes issus de femelles plus jeunes (Guibert et al. 2012). Aussi, même si les caractéristiques intrinsèques de la femelle sur les influences maternelles prénatales sont peu étudiées comparativement aux influences environnementales, elles peuvent jouer un rôle fondamental dans l'émergence de phénotypes comportementaux variables via des processus non génétiques.

De très nombreux organismes vivants, des unicellulaires aux animaux en passant par les végétaux, présentent des variations cycliques dans leurs processus physiologiques ou comportementaux qualifiés de **rythmes biologiques** (Kalmus 1935, dans Aschoff 1981). Ces rythmes présentent des composantes intrinsèques (rythmes endogènes) et se synchronisent pour la plupart sur des variations cycliques environnementales telles que l'alternance jour/nuit ou les variations saisonnières. La capacité des organismes à se synchroniser sur ces variations environnementales joue un rôle fondamental dans leurs capacités d'adaptation au milieu (Lumineau & Houdelier *in prep*). Ainsi, dans les régions de moyennes et hautes latitudes, la saisonnalité de la reproduction permet une naissance de la progéniture au printemps, lorsque les conditions biotiques et abiotiques du milieu sont les plus favorables à sa survie. De même, la synchronisation journalière des activités de l'organisme permettent d'ajuster son activité selon les contraintes environnementales. Notons que les rythmes biologiques peuvent avoir des répercussions sur certains traits comportementaux. Chez la caille japonaise, une sélection divergente sur la rythmicité circadienne du comportement alimentaire (i.e. présence ou absence d'une période circadienne) a conduit à deux lignées (rythmée et non rythmée) ayant également des caractéristiques émotionnelles et sociales différentes. En effet les animaux de la lignée rythmée ont montré une plus grande émotivité et une plus forte motivation sociale que les animaux de la lignée arythmique (Formanek 2002).

Le **comportement de ponte** est une activité présentant une forte organisation temporelle. Ainsi, dans les régions tempérées ou de hautes latitudes, cette activité présente une forte saisonnalité, c'est-à-dire qu'elle est restreinte à un moment particulier de l'année. De plus, de nombreuses espèces présentent une organisation journalière de ponte, puisque les œufs sont pondus à un moment particulier de la journée, appelé la *fenêtre de ponte*. Cette fenêtre présente une forte composante spécifique. Enfin, à l'intérieur de cette fenêtre de ponte, la succession des ovipositions (i.e. émission de l'œuf) présente également une organisation temporelle particulière montrant des variabilités interspécifiques mais aussi interindividuelles. En effet, selon les espèces, les œufs peuvent être émis tous les jours, ou avec des intervalles plus longs (Astheimer 1985). De plus, au sein d'une même population, les femelles peuvent présenter des séquences temporelles de ponte différentes. Le rôle d'une telle organisation journalière de la ponte a été peu étudié dans la littérature à l'exception des espèces parasites, où l'heure de ponte va être un élément important de leur comportement

de parasitisme des couvées (Skutch 1952, Forslund & Larson 1995, Sealy et al. 1995). À l'inverse, les mécanismes impliqués dans une telle organisation rythmique ont largement été étudiés, majoritairement chez les espèces domestiques, afin d'augmenter la rentabilité de la production d'œufs. Le schéma ci-dessous permet de comprendre ces mécanismes (figure 20) : un stimulus (l'extinction de la lumière ici), induit un premier pic d'hormone lutéinisante (LH, ❶). Si le follicule est assez mature, ce pic induit la sécrétion de progestérone (❷) qui, par un phénomène de feed-back, entraîne un second pic de LH appelé pic pré-ovulatoire et qui engendre la libération du follicule, c'est-à-dire l'ovulation (❸). Lorsque la période d'apparition d'un follicule mature au sein de l'ovaire est supérieure à 24 heures (26 heures sur ce schéma), il se créée un décalage de phase entre le stimulus déclencheur et la sécrétion du pic de progestérone par le follicule, ce qui induit des ovulations et donc des pontes de plus en plus tardives chaque jour. Lorsque le stimulus déclencheur intervient alors qu'aucun follicule n'est assez mature pour y répondre (❹), l'ovulation n'a pas lieu et un jour de pause apparait le jour suivant. Ce jour de pause correspond alors à la fin de la séquence (ou série) de ponte.

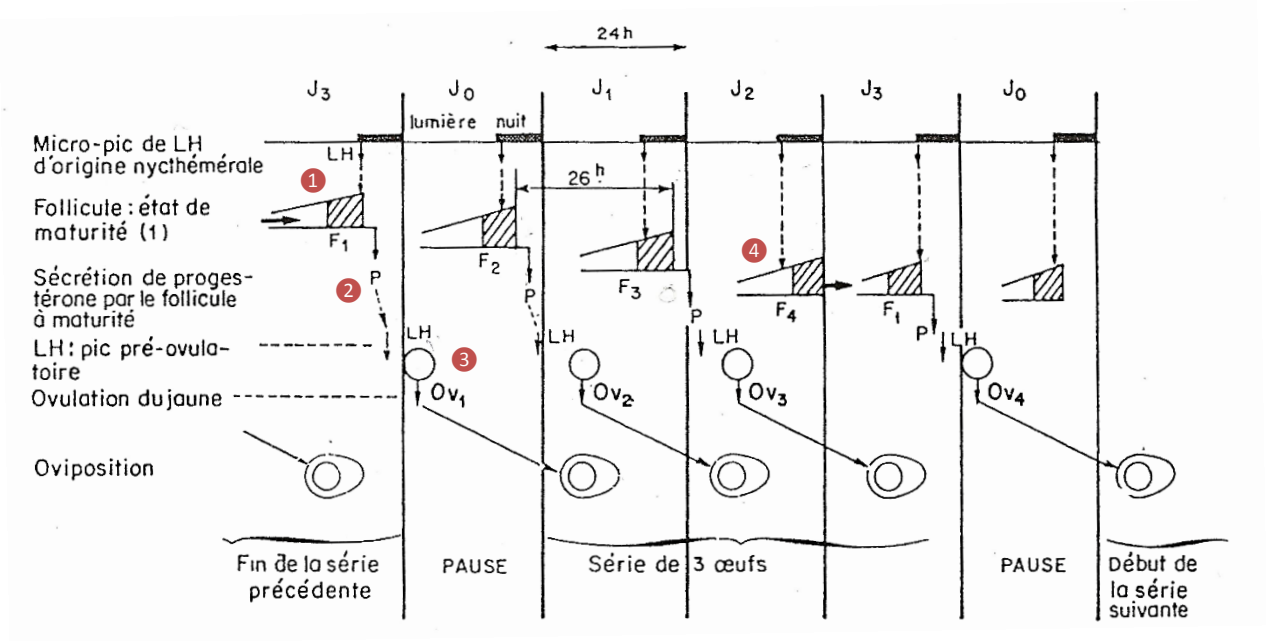



***Figure 20.*** *Schéma des mécanismes neuroendocriniens régulant l'ovulation chez la poule. L'alternance jour/nuit suit un rythme de 24 heures, tandis que l'apparition d'un follicule mature suit un rythme de 26 heures (dans cet exemple), créant ainsi un décalage qui induit au bout de quelques jours une pause dans les ovipositions. D'après Sauveur 1988.*

Les caractéristiques rythmiques du comportement de ponte ont été analysées chez la caille japonaise. Ainsi, les femelles présentent une fenêtre de ponte situées l'après-midi en conditions d'alternance jour/nuit de 14 heures de lumière et 10 heures d'obscurité (Opel 1966). À l'intérieur de cette fenêtre temporelle, les femelles peuvent présenter deux profils de ponte : le profil de **ponte stable** est caractérisé par une ponte qui s'effectue à la même heure chaque jour, i.e. avec un intervalle de ponte proche de 24 heures, même si l'heure moyenne de ponte peut varier d'une femelle à l'autre (Houdelier et al. 2002). Le **profil décalé** est caractérisé par des pontes un peu plus tardives chaque jour, le rythme de ponte présentant alors une période supérieure à 24 heures. Ces dernières femelles présentent alors des séries de ponte interrompues d'un ou plusieurs jours de pause. Chez les femelles du profil stable, l'apparition d'un follicule mature se ferait selon une période de 24 heures, permettant une synchronisation parfaite avec le stimulus déclencheur et conduisant donc à une ovulation quotidienne à la même heure et à une heure de ponte stable le jour suivant. Chez les femelles du profil décalé, l'apparition d'un follicule mature présenterait un rythme supérieur à 24 heures, engendrant le décalage quotidien des ovulations et ovipositions et l'apparition des jours de pause (voir chapitre 3-IV page 111). Ces deux profils de ponte apparaissent associés à des différences de périodes circadiennes du rythme de ponte. En effet, la période journalière du rythme de ponte est positivement corrélée à la période circadienne exprimée en conditions d'obscurité constante. Enfin, ces deux profils de ponte ont une composante génétique (Houdelier et al. 2002).

Ces différences de maturation folliculaire selon le rythme de ponte nous laissent penser que les caractéristiques finales du follicule pourraient être impactées (taille, composition…). Nous avons donc réalisé une étude afin d'étudier les conséquences du profil de ponte des femelles sur les caractéristiques de leurs œufs et le comportement de leur descendance. De plus, nous avons analysé les caractéristiques comprtementales des femelles selon leur rythme de ponte.

Ce travail est présenté dans **l'article 1**, en préparation pour une soumission dans la revue *Physiology & Behavior*.

Il faut noter que ces deux profils de ponte ne sont pas liés à la domestication de notre modèle puisqu'ils existent également chez la caille des blés (Houdelier et al. 2004). Par ailleurs, le profil décalé présente un pattern de ponte particulier, les œufs étant pondus en séries entrecoupées d'un ou plusieurs jours de pause. Beaucoup d'espèces d'oiseau montrent une modulation des caractéristiques des œufs avec l'ordre de ponte (Groothuis et al. 2005). Par exemple, la couvée de la mouette rieuse comporte trois œufs dont les concentrations vitellines en androgènes augmentent avec l'ordre de ponte (Eising et al. 2001). Eising & Groothuis (2003) ont relié cette modulation hormonale avec le comportement de quémande alimentaire des poussins : l'injection de testostérone dans le vitellus entraîne notamment une réactivité plus rapide du jeune à l'approche du parent, plus de quémande et donc une meilleure alimentation. Une étude n'a pas rapporté d'influence de l'ordre de ponte sur la composition hormonale des œufs chez la caille japonaise (Okuliarová et al. 2009), mais les auteurs n'ont pas fait la distinction entre les deux profils de ponte (stable et décalé). Ainsi, dans **l'article 2**, en préparation pour une soumission dans la revue *Hormones & Behavior*, nous présentons les caractéristiques des œufs au sein de chaque profil de ponte, et selon leur rang de ponte.

## II. SYNTHESE DE L'ARTICLE 1

***OBJECTIFS***

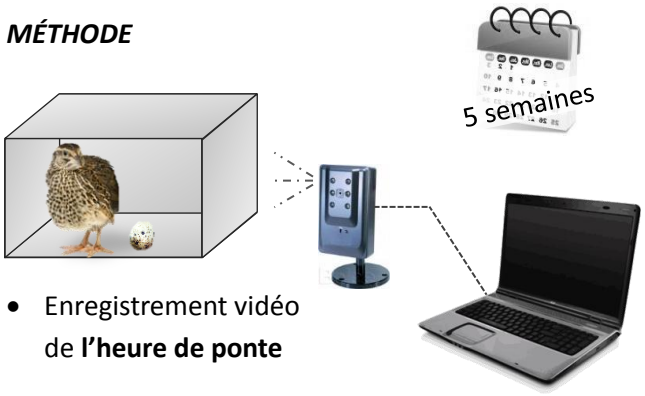
Nous avons déterminé le **rythme de ponte stable** (**S**) ou **décalé** (**D**) de 33 femelles afin de mesurer :

❶ Les caractéristiques comportementales de ces femelles (i.e. budget d'activité, réactivité émotionnelle et motivation sociale)

❷ Les conséquences en termes de productivité et les caractéristiques des œufs

❸ L'influence de cette caractéristique maternelle sur le développement et le phénotype comportemental des descendants.

***MÉTHODE***




- Enregistrement vidéo de **l'heure de ponte**
- Caméras **infra-rouge** permettant d'enregistrer les œufs pondus aussi **la nuit**
- Précision d'acquisition : 1 image par minute
- Calcul de l'**intervalle de ponte**, i.e. la durée entre deux ovipositions successives.

***RESULTATS***

❶ Sur les 33 femelles, 22 ont présenté un rythme de ponte stable et 11 un rythme de ponte décalé. Les femelles **D** étaient **plus émotives** et avaient tendance à **passer plus de temps à s'alimenter**.

❷ Les œufs des femelles **D** contenaient **plus de coquille** et **moins de contenant** (vitellus + albumen) et proportionnellement **plus de progestérone** et **moins de testostérone**. Malgré **une plus faible fertilisation**, ces œufs montraient une **meilleure survie embryonnaire** et ont **éclos plus rapidement**.

❸ Les cailleteaux des deux lots ont montré un **développement différent**. Les jeunes **D** se sont montrés **plus émotifs** et **plus sociaux** lors des tests comportementaux.

***CONCLUSION***

- Le rythme de ponte **influence les caractéristiques des œufs**, et en conséquence **les traits comportementaux** des jeunes issus de ces œufs, via probablement la modulation de l'environnement vitellin.
- Les **mécanismes sous-jacents** conduisant à la fois aux variations du contenu vitellin et aux effets sur le développement des descendants nécessitent d'être explorés. Cependant, notre étude montre que, outre les facteurs environnementaux, **des facteurs rythmiques intrinsèques** de la femelle **peuvent affecter les descendants** via des **influences maternelles prénatales**.
- Nos résultats ouvrent de **nouvelles perspectives** de recherche afin de mieux comprendre l'impact de tels effets maternels sur les **processus d'adaptation** et **d'évolution** des populations naturelles.

# III. ARTICLE 1

## LAYING RHYTHM OF A PRECOCIAL BIRD: MODULATION OF EGG CHARACTERISTICS AND HORMONAL LEVELS IN RELATION TO OVIPOSITION INTERVAL, AND EFFECTS ON OFFSPRING PHENOTYPE

**Le Bot, O.[1], Lumineau, S.[1], Trabalon, M.[1], Palme, R.[2], de Margerie, E.[1] & Houdelier, C[1]**

[1] UMR-CNRS 6552 Laboratory of animal and human ethology, University of Rennes, France

[2] Institute of Biochemistry, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria

## Abstract

Phenotypic variability in populations has been studied extensively in relation to prenatal maternal influence that can occur through non-genetic mechanisms implying modulations of yolk steroids. Prenatal maternal influence implies a female's intrinsic characteristics, such as her genetic background and/or her age. Japanese quail present two oviposition rhythms that differ by their laying interval (i.e. the time between laying two successive eggs) that is either approximately 24h for females with a stable profile (S set) or longer than 24h for females with a delayed profile (D set). As previous studies did not explore other behavioral consequences of adult females' laying profiles, we evaluated behavioral traits of 22 S and 11 D females after having determined their laying profile. As physiological mechanisms that influence these two laying profiles involve females' ovary, we investigated the characteristics and hormonal contents of their eggs, and the somatic and behavioral development of their offspring. A delayed laying profile appeared linked to enhanced emotivity. Fewer of D females' eggs were fertilized but fewer D chicks died during the embryonic stage. D eggs contained proportionally more shell and less yolk plus albumen and D yolks contained proportionally more progesterone and less testosterone than S eggs. Chicks' somatic development differed transiently between sets, D chicks were heavier one week after hatching but their sexual development at six weeks was delayed. D chicks appeared more emotive in novel situations and when isolated from conspecifics than S

chicks, but spatial abilities did not differ significantly between sets. This study revealed that behavioral rhythms of laying profiles are related to behavioral differences. A genetic factor is probably involved, but egg characteristics and yolk hormonal content differences also suggest a non-genetic maternal influence on the shaping of offspring phenotype.

**Keywords:** behavioral traits; oviposition interval; precocial bird; prenatal influence; steroids; rhythm.

## 1. Introduction

Maternal effects are known to play a major role in shaping offspring phenotypes of many organisms through non-genetic mechanisms (Houdlier et al. 2013). Maternal effects can affect offspring morphology, neuro-physiology and behavior during their pre- and postnatal development, involving various processes such as epigenetic modifications, effects on neurobiological organization or transmission of maternal behavior (Weinstock 2008, Frésard et al. 2013, Groothuis & Meastripieri 2013). Investigations focus on birds' prenatal maternal influences particularly since Schwabl (1993) demonstrated the presence of maternal hormones in egg yolks and modulations of their levels in many species. Female birds can influence their offspring's morphological and behavioral phenotypes through modulation of egg yolk hormones (Groothuis et al. 2005, Groothuis & Schwabl 2008, Henriksen et al. 2011). During the laying phase females' socio-sexual environment, such as social density (Schwabl 1997), aggression by conspecifics (Whittingham & Schwabl 2002) and again attractiveness of males (Gill et al. 1999, 2004, Garcia-Fernandez et al. 2010) can impact egg androgen levels. Longitudinal studies show that social instability (Guibert et al. 2010), pair disruption (Schweitzer et al. 2014) or a permanent sexual pairing (Le Bot et al. *in* press) influence offspring phenotype directly. For instance, social instability forced on Japanese quail females led to higher testosterone levels in their eggs, and chicks hatching from these eggs were lighter during their early life and were more emotive (Guibert et al. 2010). In parallel, physical disturbances such as unpredictable food restriction (Janczak et al. 2007),

unpredictable mild stress (Guibert et al. 2011) or heat challenge (Bertin et al. 2013) influence the hormonal levels in eggs and/or the development of offspring.

Females' intrinsic characteristics can also affect maternal influences. Females' genetic origin can affect yolk hormonal contents and thereby offspring phenotype. Quail lines from a bidirectional selection on behavioral traits present different yolk hormonal levels (Gil & Faure 2007, Bertin et al. 2009b). Bidirectional selection can also be performed in relation to yolk hormonal content, as the lines with either high or low egg testosterone levels selected by Okuliarová et al. (2011, 2014), highlighting the genetic component of yolk content. Females' age appears to modulate their egg hormonal contents. Yolk testosterone levels decrease with age of quail females (Okuliarová et al. 2009, Guibert et al. 2012), and induce a decrease of their offspring's emotional reactivity and an increase of their social motivation (Guibert et al. 2012). Other studies of maternal characteristics that could have a prenatal influence concern maternal status. Females' social rank is correlated with differences yolk hormonal levels (Müller et al. 2002, Tanvez et al. 2008). Nevertheless, questions remain concerning the intrinsic or environmental, i.e. social, nature of maternal influence related to females' social rank. Contrary to environmental factors, the effects of females' intrinsic factors on maternal effects have been less analyzed whereas they can play an important role in the emergence of interindividual variability and therefore in the processes of population evolution.

Birds' laying behavior is highly species-dependant (Chemineau et al. 2009). Its seasonality implies an endogenous circannual rhythm and the roles of day length and temperature as regulators of physiological and behavioral issues of reproduction. On a smaller scale, egg laying presents a daily temporal organization implying a species-specific temporal laying window and an individual temporal pattern of laying sequence (Meier & McGregor 1972, Houdelier et al. 2002a). Analysis of the daily temporal organization of laying by domestic Japanese quail showed that females present a specific laying temporal window, laying most of their eggs in the afternoon and evening. However, inter-individual variability of laying is important (Houdelier et al. 2002a). Most females, i.e. 80 %, present a "stable laying profile" characterized by laying at approximately the same time every day and thus a laying interval (time between two successive eggs) approximating 24 hours. By contrast, the remaining 20 % of the females present a "delayed laying profile", as they lay later and later every day until a pause day (day without oviposition) and thus a laying interval above 24

hours. These laying profiles are linked to two different endogenous circadian rhythms and present a genetic component (Fraps 1955, Sharp 1980, Naito et al. 1984, Lillpers 1991, Houdelier et al. 2002b). Moreover, these profiles exist in wild populations, as wild European quail present both profiles but with a predominance of the delayed laying profile (Houdelier et al. 2004). The persistence of the two laying profiles raises the question of their implication in the two different reproduction strategies of quail. Indeed, the stable laying profile is associated with a greater production of eggs. Although previous studies did not find any other relationship between laying profiles and egg characteristics, recent reports concerning birds' prenatal maternal effects led us to investigate these laying profiles in relation to egg characteristics, their hormonal contents and their effects on offspring. As hormonal deposition in the yolk occurs during follicular maturation (Porter et al. 1989), and as follicular maturation seems to be the major factor that leads to Japanese quail's two laying profiles, we hypothesized that egg characteristics and their hormonal contents differed with laying profile that in turn affected offspring morphological and behavioral development. Moreover, biological rhythms can be related to modulation of individuals' behavioral traits, as shown by the higher emotivity and social motivation expressed by Japanese quails from a line selected for a high rhythmicity of feeding activity (Formanek et al. 2009, 2011, Lumineau & Houdelier *submitted data*). Thus, we investigated behavioral differences between females according to their laying rhythm.

## 2. Material and methods

### 2.1. Ethics

Experiments were approved by the departmental direction of veterinary services (Ille-et-Vilaine, France, permit number 005283) and were performed in accordance with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC).

### 2.2. Adult females

Forty-five four-weeks old female Japanese quail, *Coturnix c. japonica,* came from a commercial line (*Les cailles de Chanteloup*, Corps-Nuds, France), and were placed randomly, in individual cages (35 x 35 x 21 cm), in 16-compartment batteries in our experimental room. Each cage was equipped, along each half-side, with cork panels that stimulate females' environmental exploration and allow them to hide from one another (Cornetto et al. 2002); a piece of plastic turf (15 x 12 cm) was fastened in one corner of each cage to provide a dust-bath or a resting/laying substrate (Michel et al. 2009, Merrill & Nicol 2005). Food and water were provided *ad libitum*, and subjects were exposed to a 14:10 light cycle and to a temperature of 20 ± 1°C.

### 2.3. Assessment of laying characteristics

When females were nine-weeks old and after checking that they were all layers, 23 wireless infra-red IP cameras (ICA-108series, Planet) were set up in a panel in front of the batteries so that each camera could record two adjacent cages. For five weeks the cameras recorded one picture every minute to determine using homemade software, day and night, the exact time each egg was laid, that corresponds to the first picture where an egg was apparent. During all the recording period, eggs were collected, individualized and weighed each morning. After five weeks, we could characterize precisely the laying rhythm of 33 females. Consistent with Houdelier et al.'s study (2002a), we found two laying rhythms, i.e. 22 females laid one egg per day at the same time (stable laying profile, set S) whereas oviposition of 11 females was delayed each day (delayed laying profile, set D) including one or several days when no egg was laid between two laying series (fig. 1). The ranking of females in one or the other profiles was performed independently by three experimenters and was totally concordant. We calculated the mean laying interval (LI) for each female, i.e. the mean time between two successive layings (for each laying series for D females, i.e. pause days were not taken into account). The LI of the two laying profiles of these 33 females differed significantly (Mann-Whitney U-test: $m_S$ = 24.01 ± 0.08, $m_D$ = 25.51 ± 0.71, U = 156.0, $p < 0.001$) (fig. 2). Laying profile did not appear to affect females' growth as no significant weight differences could be evidenced either as juveniles (i.e. 6 weeks old) or as adults (i.e. 16 weeks old) (ANOVA, $p > 0.05$).

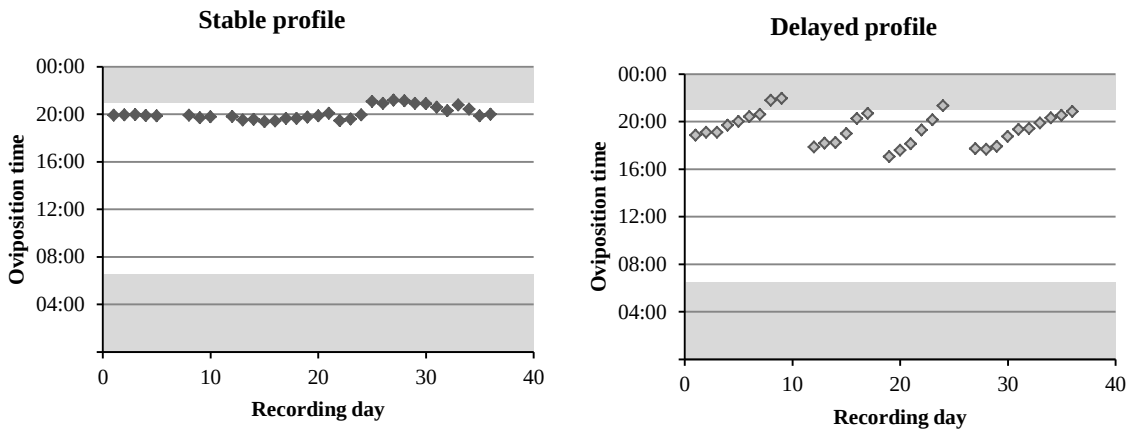



**Fig. 1. Laying sequences in relation to time for females from the two profiles. Left:** female with a stable profile (period: 24.00 ± 0.05 h). **Right:** female with a delayed profile (period: 24.49 ± 0.07 h). Dark areas correspond to scotophase.

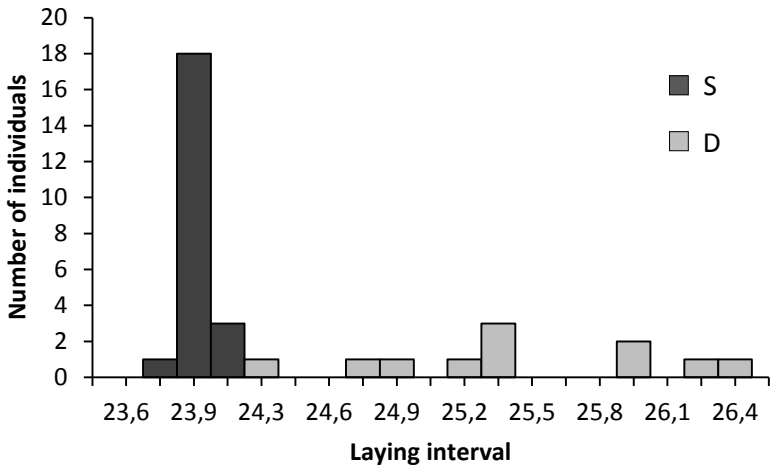



**Fig. 2. Laying intervals.** LI of females with a stable profile (dark bars) ranged from 23.87 ± 0.13 h to 24.20 ± 0.19 h, LI of females with a delayed laying profile (light bars) ranged from 24.26 ± 0.59 h to 26.52 ± 0.89 h.

### 2.4. Production of chicks

**Mating.** Twelve eight-month old males, from a previous experiment when they were used for mating, were housed individually in batteries identical to the females' batteries, in another room. Mating occurred in the morning every three days for three weeks. Each male was

placed in a small circular cage in another room. After five minutes for habituation, four females were placed alternately with a male for at least five minutes during which an observer made sure that copulation was occurred. To avoid genetic/paternal influences and potential low fertility of some males, females met a different male at each mating. Moreover, to avoid any effects of decrease of male receptivity while mating with four females, presentation order of female was changed each mating (i.e. a female that was the first to meet a male for the first mating was the last to meet the male for the next mating.

**Egg incubation.** To be sure that eggs were fertilized, we started egg collection only one week after the first mating. Eggs were collected each morning, individualized and weighed, then stored in a dark, cool room (16 ± 1°C) until incubation. At the end of the mating period, the five or six last eggs were incubated artificially at the laboratory. In all 194 eggs were incubated (132 for S set from the 22 S females and 62 for D set from the 11 D females). During the first 14 days in the incubator (Ova-easy Advance 380, Brinsea©, USA), eggs were maintained at 37.7°C with a relative humidity of 45% and with an automatic rotation of 45° of the plate twice a day. During the last three days, temperature was decreased to 37.2°C, humidity was raised to 60%, and plate rotation was stopped. Eggs that did not hatch were opened to check whether embryonic development started.

**Chicks' housing.** We obtained 47 chicks for S set and 21 for D set. Sex-ratio did not differ between set (S set: $N_{males}$ = 20, $N_{females}$ = 27, D set: $N_{males}$ = 6, $N_{females}$ = 15, $Chi^2$ = 1.20, $p > 0.05$). After hatching, chicks were housed by set in boxes (2 x 2 m): one box of 21 D chicks, and two boxes of S chicks (respectively 20 and 21 chicks per box, 6 chicks being excluded of the experiment). The floors were covered with wood shavings and a plastic mesh for their first week to facilitate chicks' locomotion. A starting food and water were provided *ad libitum*, two heaters (38 ± 1°C) were placed in each box for ten days to compensate chicks' immature thermoregulation (see Mills et al. 1996). Boxes were warmed otherwise at 25 ± 1°C, and chicks were submitted to LD 12:12 light cycle. Chicks were weighed immediately after hatching, then once a week until they were eight weeks old. Their sexual development was assessed when their sex could be determined by their plumage, i.e. between five weeks and eight weeks old, by the length of their cloacal vent.

### 2.5. Hormonal assays

During the mating period, we collected one egg of each female (i.e. 22 S and 8 D) and froze them, in order to separate yolk from albumen easily, this last component liquefying faster. Yolks and shells were weighed, so that the subtraction of yolk and shell weights from the total egg weight gave us the albumen weight. The entire yolk of each egg was then suspended in 10 ml distilled water and vortexed twice for 30 s and samples were stored at 4°C. The next day, samples were vortexed, and we diluted 1 ml of the suspension in 4 ml of pure methanol. Samples were vortexed for 30 min and stored at -20°C to precipitate apolar lipids. The next day, samples were centrifuged 10 min at 4°C (2500 g). For progesterone assays, 10 µl of the supernatant were diluted in 500 µl of EIA buffer, and 10 µl of this dilution were used for the enzyme immunoassay. For testosterone assays, 100 µl of the supernatant were mixed with 500 µl of EIA buffer, and 50 µl of this mixture were used for immunoassay. Analyses were performed in the Institute of Biochemistry, University of Veterinary Medicine Vienna (Austria). For details of the EIAs see Möstl et al. (2001). All samples were run in duplicate and results only accepted if CV were below 10%.

### 2.6. Behavioral observations

We assessed emotional reactivity and social motivation of 16- weeks old adult females and chicks with validated avian behavioral test procedures (see below). Adult females were also observed in their home cages to evaluate their daily activity. All observations occurred quietly in special experimental rooms either with one-way mirrors when an observer was present or with a recording system when an observer was not in the room.

#### *2.6.1. Adult females*

**Activity budget.** The general daily activity of adult females in their home cages was assessed by 30 successive 10min-interval instantaneous scan samplings (15 in the morning, 15 in the afternoon). We used the recording camera set-up for assessment of laying intervals that also allowed an observer to screen in an adjacent room females' behavior at each scan:

maintenance behaviors (preening and dust bathing, feeding, resting and defecations), locomotion (walking, running and jumping), pacing (i.e. a stereotypic walking), explorations (pecking the ground, the walls or other cage elements) and observation postures based on body position: vigilance (i.e. fixed posture: the quail stands upright on her tarsi and stretches her neck), high (i.e. similar to vigilance posture but the quail is not standing), medium (i.e. body neither stretched nor crouching) and low observations (i.e. the quail appears frightened and glances at her environment with neck stretched parallel to the floor, lower than her body).

**Tonic immobility**. In a dark room, a subject was maintained on her back for ten seconds, head facing downwards, in a U-shaped wooden device. Duration of tonic immobility (TI), an anti-predator behavior, is positively correlated to the subject's level of fear (Mills et al. 1994). Induction was successful when the quail did not move for at least ten seconds. TI duration (i.e. until the quail stands up, with a maximum of 300 seconds) and the number of inductions (maximum of five) were recorded.

**Emergence test.** The quail was placed in a small opaque box (18 x 18 x 18 cm) for one minute, during which vocal production was recorded (i.e. latency of 1$^{st}$ distress call and total number of calls). One side of the box was then opened and the subject was allowed 3 minutes to leave the box and go into a large, lighted cage (62 x 60 x 33 cm) with wood shavings. Emergence latency is positively correlated to fear level (Jones 1987, Mills & Faure 1986). This latency was recorded and, for three minutes, all behaviors of the subject in the large cage: vocal production, maintenance behaviors, locomotion, pacing, exploration, observation postures and fear postures (standing or walking slowly with ruffled feathers, or freezing i.e. fixed low posture).

**Runway test.** This test assessed social motivation (Mills et al. 1995, Suarez & Gallup 1983) i.e. the tendency of an isolated subject to establish contact with, to move towards and to remain close to, a group of conspecifics. A quail was placed for one minute behind a transparent wall, at one end of a corridor (width = 30 cm, length = 100 cm). The social stimulus was a cage with three same-aged non-familiar quail placed at the opposite end of the corridor. We recorded the vocal production of the subject then we raised the transparent wall so that the subject had access to the corridor. The observer recorded latency to emerge into the corridor, a subject was allowed a maximum of three minutes to emerge. Once the

quail was in the corridor, the observer recorded, for five minutes, time spent in the different zones of the corridor, which was divided into three 32 cm-long zones (named A to C, beginning near the start zone) and one 4-cm-long zone (P: close to the conspecifics' cage). The observer also recorded vocal production, numbers of jumps, fear postures, and contacts with conspecifics that could be either positive (exploration of cage i.e. gentle pecking) or negative (aggression of conspecifics in cage i.e. jumping with violent pecking and aggressive vocalization).

### *2.6.2. Chicks*

The behavior of chicks was assessed by tonic immobility, emergence and runway tests when they were 10, 15 and 24-25 days old respectively, the procedures were identical to those described for adult females.

**Separation test (12 days old).** To assess the reactivity of chicks when separated from their conspecifics, all the chicks in one room were transferred into another identical room. Then, each test subject was placed alone in the centre of its home room, and observed for three minutes. The observer recorded vocal production, latencies of first step and the numbers of steps, maintenance behaviors, locomotion, pacing, exploration, observation postures and fear postures.

**Openfield test (25-26 days old)**. A chick was placed in the dark in the middle of a polygonal enclosure (9 sides, area = 1 m²) with white opaque walls (60 cm high) and wood shavings. The observer switched on the light and then recorded all behaviors for five minutes to assess the subject's fear and social motivation levels (Faure et al. 1983): vocal production, latencies of first step and numbers of steps, maintenance behaviors, locomotion, exploration, jumps, observation postures and fear postures.

**Novel-object test (25-26 days old).** Immediately after the openfield test, the light was switched off, an unknown object (a yellow and black T-shape object, 20 cm high) was placed against a wall, and the subject was placed against the opposite wall before light was switched on again. The observer recorded for five minutes all the behaviors of the chick: moving away, escape, jumps and fear postures (all these activities are positively correlated with fear, Jones,

1996), vocal production, exploration (of environment and novel-object), feeding, maintenance behaviors, and observation postures. Simultaneously instantaneous scan sampling recorded every ten seconds where the chick was located: half-enclosure opposite the novel object or close to it, or in a 3rd zone corresponding to a semicircle around the novel object with a diameter of one chick-length.

**Detour test (30 days old).** After four hours of feeding restriction, chicks were placed in an arena (160 x 120 cm) where they were separated from a feeder by a wall pierced with windows, so that chicks can see the feeder. The wall had two salients to force chicks to turn their back to the feeder to go round the wall. The observer noted both latencies to walk, go round the wall and feed, and the side used (left or right), this procedure allowed to determine both the ability for chicks to represent a goal spatially, and laterality at the population level (Regolin et al. 1995, Zucca et al. 2005).

### 2.7. Statistical analyses

Parametric tests (ANOVA) were used to assess differences of continuous variables (i.e. eggs' incubation time, chicks' weight and sexual development) between sets. Non-parametric tests (Mann-Whitney, Wilcoxon) were used to assess all other variables (i.e. behavior and egg characteristics). We calculated proportions of albumen, yolk, shell, testosterone and progesterone of eggs. $Chi^2$ and Fisher tests on proportions assessed differences among subjects. As the number of hatched D chicks was low and numbers of chicks per female varied, we pooled data for all hatched chicks for statistical analyses after checking that there was no "female effect" within sets with Kruskal-Wallis tests. Data were analyzed with XLStat.

# 3. Results

### 3.1. Adult females' behavior

Analyses could not evidence any significant differences of females' intrinsic emotional reactivity between sets during the tonic immobility test (Mann-Whitney U-test, $p > 0.05$). Latencies to emerge in the emergence test did not differ significantly between the two sets, but once in the cage D females tended to preen less than S females ($m_S = 0.9 \pm 0.2$, $m_D = 0.3 \pm 0.2$, $U = 81.5$, $p = 0.089$). D females took longer to enter the runway corridor from the starting zone (fig. 3A). Except eating (D females spent less time eating than S females) females' general daily activity budgets did not differ significantly between the two sets (fig. 3B).

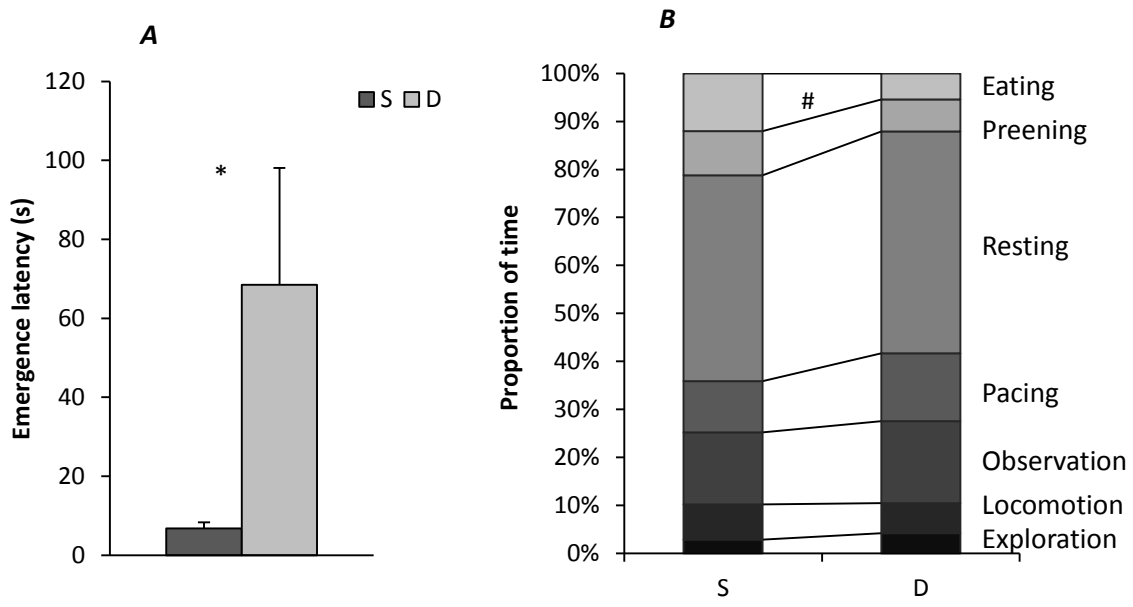



**Fig. 3. A: latency to emerge from starting box in the runway** for S (dark bars) and D (light bars) females. **B: daily activity budgets** for S and D females: eating, preening, resting, pacing, observation, locomotion and exploration. Means are given ± S.E.M. Mann-Whitney U-test: # $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

### 3.2. Egg production and characteristics (table 1)

Females with a stable laying profile laid more eggs than did D females. Egg mass did not differ significantly between the two sets, but eggs produced by D females contained more shell than those produced by S females ($m_S$ = 1.06 ± 0.02 g, $m_D$ = 1.20 ± 0.06 g, U = 34.5, p = 0.009) whereas albumin and yolk weights did not differ significantly between sets (p > 0.05). Thus, analysis of the proportions of components showed that D set eggs contained significantly more shell and less contents than S set eggs, although this difference was not significant between sets for albumen and yolk proportions. Despite a lower fertilization rate of D eggs, the same proportions of eggs hatched in both sets, due to a higher proportion of embryonic death of fertilized S eggs. Finally, incubation of D eggs was shorter.

Hormonal assays revealed that levels of testosterone tended to be lower in eggs of D females, and that proportions of testosterone and progesterone differed significantly between sets: D eggs contained higher proportions of progesterone whereas S eggs contained higher proportions of testosterone (fig. 4).

**Table 1. S and D egg characteristics.** Columns describe respectively variables, means for S and D females and p-value, where bold characters represent significant differences. Lines 1 and 2: eggs laid during LI assessment (ANOVA); lines 3-7: proportions of components and yolk hormonal content in eggs used for hormonal assays (Mann-Whitney U-tests); lines 8-10: incubated eggs and line 11: eggs that hatched (Chi²).

| | Variable | $m_S$ | | $m_D$ | | p | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Number laid | 42.9 ± 0.4 | | 39.4 ± 0.4 | | **< 0.001** | |
| 2 | Mass | 13.8 ± 0.5 g | | 14.5 ± 0.5 g | | 0.131 | |
| 3 | Albumen | 61.5 ± 0.4 % | 92.5 ± 0.1 % | 59.8 ± 1 % | 91.7 ± 0.4 % | 0.127 | **0.033** |
| 4 | Yolk | 31 ± 0.3 % | | 31.9 ± 1.1 % | | 0.673 | |
| 5 | Shell | 7.5 ± 0.1 % | | 8.3 ± 0.4 % | | **0.033** | |
| 6 | Testosterone | 10.1 ± 1 ng/g | | 8 ± 2.4 ng/g | | 0.083 | |
| 7 | Progesterone | 559,8 ± 44.3 ng/g | | 619 ± 81.9 ng/g | | 0.708 | |
| 8 | Number non-fertilized | 42.0 % | | 61.3 % | | **0.007** | |
| 9 | Number fertilized/$_{\text{embr. death}}$ | 19.1 % | | 4.8 % | | **0.052** | |
| 10 | Number hatched | 38.9 % | | 33.9 % | | 0.794 | |
| 11 | Incubation length | 405.8 ± 1.7 h | | 401.1 ± 1.1 h | | **0.003** | |

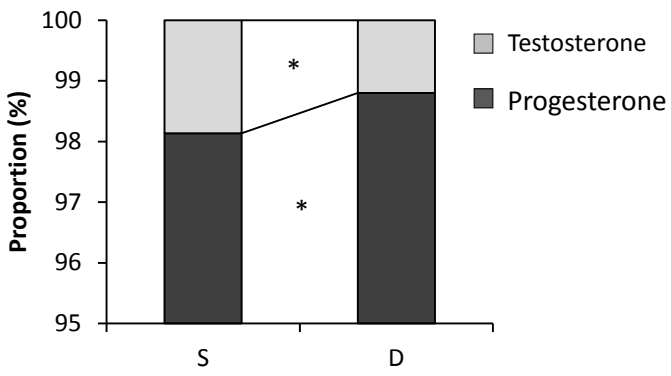



**Fig. 4. Proportions of testosterone** (grey bars) **and progesterone** (black bars) in eggs of females with stable (S) and delayed (D) profiles. Mann-Whitney U-test: * $p < 0.05$.

### 3.3. Chicks' development and behavior

Although no significant differences appeared at hatching ($m_S$ = 9.9 ± 0.2 g, $m_D$ = 10.1 ± 0.3 g, ANOVA $F_{1,64}$ = 0.45, $p > 0.05$), chicks' mass differed significantly between sets when they were one week old, D chicks being heavier than S chicks ($m_S$ = 42.8 ± 0.9 g, $m_D$ = 47.4 ± 1.2 g, ANOVA $F_{1,62}$ = 8.58, $p = 0.005$). Nevertheless, this difference did not persist over time (from two to eight week-old, $p > 0.05$). Chicks' sexual development differed significantly between sets, D chicks' cloacal vent being shorter than S chicks' one at six weeks ($m_S$ = 10.0 ± 0.3 mm, $m_D$ = 8.8 ± 0.3 mm, ANOVA $F_{1,57}$ = 4.35, $p = 0.042$). Before this age (i.e. five weeks old) and after (i.e. seven and eight weeks old), no significant differences could be evidenced ($p > 0.05$).

Chicks' behavior appeared to differ between sets. Whereas TI durations and numbers of inductions in the tonic immobility test did not differ significantly between sets (Mann-Whitney U-test, $p > 0.05$), D chicks tended to leave the starting box later in the emergence test ($m_S$ = 9.33 ± 4.37 s, $m_D$ = 10.38 ± 4.35 s, U = 326, $p = 0.077$). Once in the cage, more D chicks expressed fear behaviors and fewer D chicks expressed comfort behavior (i.e. preening) in the open field than did S chicks (fig. 5A).

Although the separation test revealed no differences between sets, chicks of the two sets reacted differently in a novel environment after social separation. D chicks emitted calls

sooner in the open field ($m_S$ = 156.26 ± 20.0 s, $m_D$ = 74.76 ± 23.61 s, U = 562.5, p = 0.017) and more of them vocalized in both the open field and the novel object tests (fig. 5B). The runway test revealed no significant differences concerning the social motivation of chicks to reach unfamiliar conspecifics (p > 0.05).

The detour task did not evidence any differences between the two sets, either concerning spatial abilities (i.e. detour latency: $m_S$ = 153.56 ± 15.94 s, $m_D$ = 189.7 ± 22.65 s, U = 315.5, p = 0.234) or laterality at the population level (left side: $N_S$ = 56.7 %, $N_D$ = 57.1 %, Chi² = 0,001, p > 0.05).

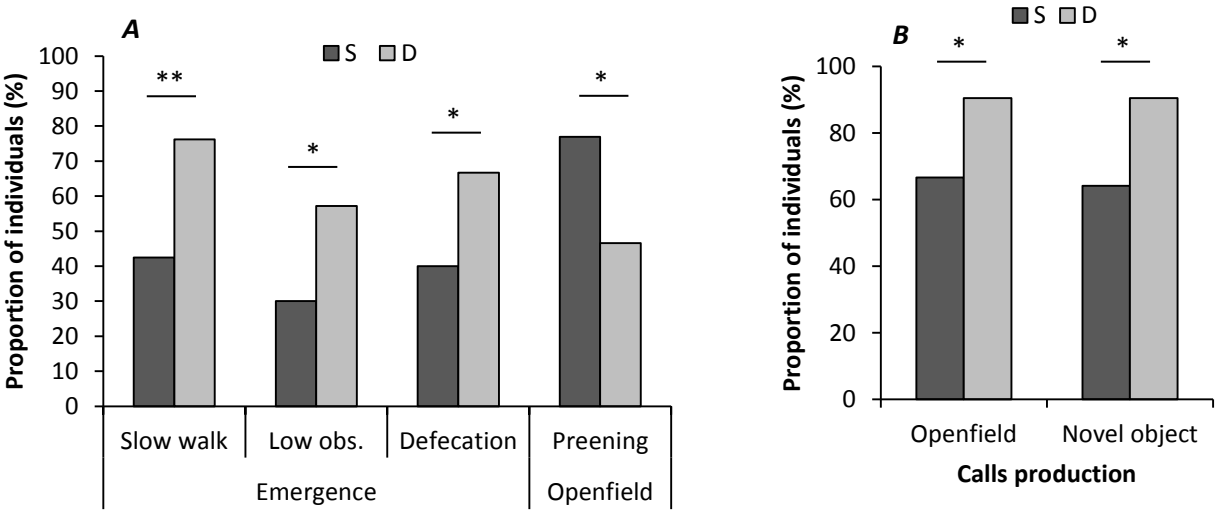



**Fig. 5.** Behavioral differences evidenced **A:** in the emergence tests: fear (slow walk, low observation and defecation) and in the openfield tests: comfort (i.e. preening) and **B:** emitted calls during openfield and novel object tests. S chicks: dark bars; D chicks: light bars. Khi²-tests: *: p < 0.05, **: p < 0.01.

## 4. Discussion

Our results demonstrate that females with different laying profiles present behavioral differences, produce eggs with different yolk hormonal compositions and offspring with different behavioral phenotypes.

This study investigated variability of adult Japanese quail females' behavioral traits in relation to their laying profile. Our results revealed that emotional reactivity differed between two sets of females. D females preened less in the emergence cage, suggesting their higher level of stress (Hawkins et al. 2001, Zimmerman et al. 2011) or poorer welfare state (Laurence et al. *in press*). D females took longer to leave the starting box in the runway test. Although this test assesses social motivation, we think that D females' longer latencies to move is related to their higher emotional reactivity, as no other differences concerning either time to reach unfamiliar conspecifics or time spent in the four zones of the runway corridor could be evidenced between sets.

Previous studies revealed relationships between circadian organisation of feeding activity and behavioral traits. Selection of quail on their circadian feeding rhythm was associated with effects on their emotive and social behaviors. Quail that express a robust circadian feeding rhythm are more fearful in stressful situations and more sensitive to social isolation (Formanek et al. 2011). Females with different daily laying profiles also present different circadian laying profiles under constant conditions (Houdelier et al. 2002b). Although no correlations between circadian laying and feeding rhythms have been evidenced (Houdelier et al. 2002b), our results suggest relationships between characteristics of individuals' circadian rhythms and their behavioral traits.

Moreover, quail's general daily activity budgets appear to be affected by their laying profile: D females spent less time feeding. This could be directly linked to an interaction between behavioral observations and laying profiles. Thus, delayed females could reorganize their daily activities constantly in relation to the time of day they lay, unlike stable females that lay every day at the same time. So, this difference in feeding could be linked to a

different daily organization of feeding known to present interindividual variations (Guyomarc'h et al. 1998). Nevertheless, this less feeding had no incidence on females' body mass.

Eggs laid by D females contained more shell. Eggshell deposition is the longest part of quail egg formation, it occurs in the uterus and lasts for more than 80% of the total time of egg formation (Woodard & Mather 1964). Our finding that differences in females' laying profiles are related to differences in shell weight is consistent with a previous report that weights of hens' eggshells were correlated with lengths of intervals between formation of two eggs (Halaj 1982, in Tumova et al. 2007). However, differences in quail's laying rhythms appeared to be linked with differences in follicular maturation (Houdelier et al. 2002a) and not only to duration of egg formation in the oviduct. Birds' ovulatory cycles are thought to be controlled by a circadian rhythm entrained by the daily light-dark cycle that times the pre-ovulatory surge of luteinizing hormone (LH) and the growth and maturation of follicles (Sharp 1980, Silver 1987). Pre-ovulatory LH release is controlled by a circadian rhythm that induces LH release during a restricted part of the light-dark cycle, named the "open window" that depends on species and photoperiodic conditions (Fraps 1961). Ovulation occurs when maturation of a follicle coincides with the "open window" indicating that laying takes place only during a limited part of the day (Sharp 1980, Silver 1987). So, when follicles mature at the rate of one every 24h, follicular maturation is synchronized with the 24h rhythm underlying the "open period" and a stable laying profile appears. However, when follicles grow more slowly, the two rhythms are not synchronized and birds present a delayed profile (Houdelier et al. 2002a). Consequently, our results showed that differences in the follicular maturation rhythm modulate not only the daily pattern of oviposition but also yolk hormonal contents as eggs of D females contained proportionally more progesterone and less testosterone than eggs of S females. Yolk steroids are produced by granulosa and theca cells that are organized in specialized layers and constitute the wall of the ovarian follicle (Huang et al. 1979). The temporal production of steroids changes with growth of the follicle during five to seven days before ovulation. Progesterone levels increase significantly during follicular development while estradiol concentrations decrease. Testosterone levels increase at first during follicular growth but later decline (Bahr et al. 1983, Okuliarova et al. 2010). Our data

suggest that the lengthening of D females' follicular maturation rhythm could have increased the duration of the last step of follicular development, when a follicle is mature, inducing in turn increase of progesterone production and thereby modification of yolk steroid proportions. However, steroid concentrations in the yolk appear to be influenced by photoperiodic conditions. For example, the first eggs of a canary's brood contain more testosterone when photoperiodic conditions approximate LD 12:12 than when they approximate LD 15:9 (Schwabl 1996). Although our photoperiodic conditions remained constant, interactions between light-dark conditions, circadian rhythm of the "open window" and follicular maturation processes differed between laying profiles and could therefore induce variations of follicular steroid production.

Yolk steroid contents could be influenced by females' behavioral characteristics as D females' emotional reactivity was higher than that of S females. Recent studies found a relationship between females' behavioral traits and their eggs' hormonal concentrations. Individuals from a genetic line selected for high social reinstatement behavior (HSR) lay eggs containing higher levels of yolk testosterone than individuals from the low line (LSR) (Gil & Faure 2007), and quail selected for high inherent fearfulness lay eggs with lower levels of progesterone and androstenedione than do quail from the low line (Bertin et al. 2009b). However, effects of behavioral traits on egg hormonal levels could be linked either to a genetic co-selection of the two characteristics or to the indirect impact of females' emotional reactivity on egg formation and thereby on the functioning of the HPG axis. Environmental conditions can enhance birds' emotional responses and modulate their egg steroid concentrations (Guibert et al. 2010, 2011, 2013). This could be the case for our quail whose emotional reactivity levels differ. However, previous studies showed that only very stressful conditions induced increases of yolk testosterone levels (Guibert et al. 2010, 2011, 2013). Under our standard living conditions, it seems very unlikely that differences of emotional reactivity between D and S females could modulate egg yolk hormonal contents.

Although similar proportions of eggs of the two sets hatched successfully, fewer D eggs were fertilized. We used control males for reproduction, but neither males' nor females' sexual behavior was assessed, and although we controlled that copulation was effective, D females may have been less sexually receptive than S females, causing this lower fertilization rate. Delayed laying could induce variation in receptivity, according to the time of ovulation.

On the contrary, under natural living conditions, as paired male and female Japanese quail synchronize their activities (Orcutt & Orcutt 1976), copulations are probably better synchronized with females' receptivity. Studies report that fertilization of precocial bird eggs can be impaired by high yolk testosterone levels (Rubolini et al. 2007) but this is not consistent with our findings showing that D eggs contained lower testosterone levels than S eggs. On the other hand, other studies report a beneficial effect of elevated yolk testosterone levels on male sexual behavior (Eising et al. 2006, Partecke & Schwabl 2008, Bertin et al. 2009a). Despite the lower fertilization rate of D eggs, fewer embryonic deaths occurred, leading to similar proportions of eggs of the two sets hatching. As eggs of the two sets were stored and incubated in the same incubator, material issues cannot be implied. Embryonic death in S eggs could be related either to genetic factors of S females, or to yolk differential composition. Yolk hormonal composition seems to influence embryonic development, but the precise mechanisms of steroid action remain poorly understood, studies showing converse effects according to species, steroids and methods ( natural variations or injections) (Groothuis & Schwabl 2008). Moreover, embryos could control the metabolism of yolk steroids leading to limit potential maternal effects on embryonic development (von Engelhardt et al. 2009). Overall, it seems that incubation of D eggs was more successful, but in a way that has still to be determined.

Chicks produced by S and D females presented phenotypic differences. One-week old D chicks appeared heavier and six week-old D chicks' sexual development was delayed. These developmental differences appear difficult to explain because of their transient characteristic. Weight differences seem due to postnatal living conditions, as chicks hatching weights did not differ between sets, suggesting no differential embryonic growth. However, incubation durations of D set eggs were shorter and D chicks could have had either more residual vitellus or an earlier access to starting food than S chicks. These enhanced energetic provisions could induce faster growth during the first week. Then, catch-up growth by S chicks could occur, leading to transiently advancing their sexual development, but overall the development of chicks of the two sets seems to be balanced.

Chicks' behavioral phenotypes differ according to their mothers' laying rhythm: D chicks appeared more reactive in a novel environment, expressing longer emergence latencies and more fear and less preening in the open field. Moreover, D chicks were more reactive to social separation as they vocalized sooner in the open field, and were more likely to emit calls in both the open field and the novel object test. Our results highlighted the consistency of behavioral differences in emotional reactivity of females and chicks between the two sets. Thus, D quail appeared more fearful than S quail. The absence of social motivation differences between adult females could be linked to the fact that this species is not social when adult. Similarity between mothers and offspring could be linked to a genetic transmission of behavior from mothers to offspring. Indeed, emotional reactivity and social motivation have a strong genetic basis that was used previously to obtain genetic lines of quail with different levels of social and emotional behavior (Mills et al. 1994). However, our subjects were unselected and expressed no extreme behavioral phenotype, and reproduction was realized with a standard population of males, so genetic transmission cannot explain all the effects we observed in offspring. Prenatal effects could also be involved. Egg characteristics and yolk hormonal modulations are known to affect birds' embryonic and postnatal development (Groothuis et al. 2005, Gil 2008). Mechanisms underlying the action of hormones on chicks' development appear complex, particularly concerning the converse effects of a same modulation on offspring phenotype according to studies. For example, higher yolk testosterone concentrations in precocial birds' eggs due to environmental or females' intrinsic characteristics lead either to heavier (Guibert et al. 2010, Henriksen et al. 2013) or lighter offspring (Bertin et al. 2008, Guibert et al. 2011, Guibert et al. 2012). Longitudinal studies reported consistently higher emotional reactivity of chicks that developed in eggs with high testosterone and low progesterone levels, but our results contradict this. Studies using hormonal injections to investigate consequences on offspring reported contradictory influences, with high yolk testosterone being either positively (Okuliarová et al. 2007, Bertin et al. 2009a) or negatively (Daisley et al. 2005) correlated with emotional reactivity levels. These differences could be due to dose-response relationships for a given hormone that instead of a linear correlation vary following an inverted U-shaped graph, with intermediate doses having greater effects than extreme doses (low or high, Groothuis & Schwabl 2008). Overall, evidence indicates that offspring emotional reactivity phenotype can be modulated by yolk hormonal composition. The yolk testosterone and

progesterone concentration differences between eggs of S and D females could induce differences in offspring morphological and behavioral development through a non-genetic process.

This last remark raises questions concerning the adaptive value of both these two laying profiles and offspring's different phenotypes under natural conditions. These questions could be answered by analysing mothers' laying profiles and their chicks' phenotypes in relation to reproductive strategies. Quail are migratory birds, and the common quail (*Coturnix c. coturnix*), a subspecies close to Japanese quail, presents two migration patterns: some quail present two or three short migratory periods interspersed by reproduction phases, whereas others make one long unique migration and so a late unique reproduction phase (Belhamra 1997). As the sexual development of short migratory quail is more precocious, they can potentially produce several clutches and their offspring can in turn reproduce during the same year. Common quail also present different laying profiles (Houdelier et al. 2004) that could be those of respectively short and long migratory quail. Females with a stable laying profile lay more eggs, produce offspring that seem to present a precocious sexual development and a proactive phenotype (i.e. they are less social and bolder) (Cockrem 2007) and this could facilitate early dispersion of chicks. These traits seem to correspond to quail with the short migratory profile. Conversely, the other reproduction strategy would correspond to the long migratory profile, these females laying fewer eggs and producing chicks with a reactive profile (i.e. more cautious and more social (Cockrem 2007). This phenotype could include an anti-predatory adaptation and enhance social tolerance, thus assuring maximum survival of chicks. According to Cockrem (2007), a reactive phenotype would be more successful in a changing environment, whereas a proactive phenotype would be more successful in a stable environment, suggesting that there is no optimal phenotype for all living situations and explaining why the two laying rhythms persist.

### Conclusion

Japanese quail's laying profiles are linked to behavioral modulations and differential hormonal deposition in eggs and affect offspring behavior. Non-genetic mechanisms are probably implied in this maternal influence, further investigations are necessary to validate this hypothesis. Thus, although we know that biological rhythms play a fundamental role in the adaptation of individuals to their environment our results show that they influence the phenotypes of further generations.

### Acknowledgements

We thank Dr Ann Cloarec for the improvement of the writing of the manuscript.

## References

**Bahr, J. M., Wang, S. C., Huang, M. Y. & Calvo, F. O.** 1983. Steroid concentrations in isolated theca and granulosa layers of preovulatory follicles during the ovulatory cycle of the domestic hen. *Biology of Reproduction* **29**, 326-334.

**Belhamra, M.** 1997. Les effets de la sélection sur la variabilité des tendances sexuelles et migratoires dans une population captive de cailles des blés (*Coturnix coturnix*). Contribution à la connaissance des processus micro-évolutifs dans les populations naturelles. Thesis, University of Rennes 1, France.

**Bertin, A., Chanson, M., Delaveau, J., Mercerand, F., Möstl, E., Calandreau, L., Arnould, C., Leterrier, C., & Collin, A.** 2013. Moderate Heat Challenge Increased Yolk Steroid Hormones and Shaped Offspring Growth and Behavior in Chickens. *PLoS ONE* **8**, e57670.

**Bertin, A., Hirschenhauser, K. & Kotrschal, K.** 2009. Trans-generational Influence of Human Disturbances in Japanese Quail: Egg Quality Influences Male Social and Sexual Behaviour. *Ethology* **115**, 879-887.

**Bertin, A., Richard-Yris, M. A., Houdelier, C., Lumineau, S., Möstl, E., Kuchar, A., Hireschenhauser, K. & Kotrschal, K.** 2008. Habituation to humans affects yolk steroid levels and offspring phenotype in quail. *Hormones and behavior* **54**, 396-402.

**Bertin, A., Richard-Yris, M. A., Houdelier, C., Richard, S., Lumineau, S., Kotrschal, K., & Mostl, E.** 2009. Divergent selection for inherent fearfulness leads to divergent yolk steroid levels in quail. *Behaviour* **146**, 757-770.

**Chemineau, P., Malpaux, B., Brillard, J. P. & Fostier, A.** 2009. Seasonal reproduction and production in fish, birds and farm mammals. *INRA Productions Animales* **22,** 77-90.

**Cockrem, J. F.** 2007. Stress, corticosterone responses and avian personalities. *Journal of Ornithology* **148**, 169-178.

**Cornetto, T., Estevez, I. & Douglass, L. W.** 2002.

Using artificial cover to reduce aggression and disturbances in domestic fowl. *Applied Animal Behaviour Science* **75,** 325-336.

**Daisley, J., Bromundt, V., Möstl, E. & Kotrschal, K.** 2005. Enhanced yolk testosterone influences behavioral phenotype independent of sex in Japanese quail chicks *Coturnix japonica*. *Hormones and Behavior* **47**, 185-194.

**Eising, C. M., Müller, W., & Groothuis, T. G.** 2006. Avian mothers create different phenotypes by hormone deposition in their eggs. *Biology Letters* **2**, 20-22.

**Faure, J. M., Jones, R. B. and Bessei, W.** 1983. Fear and social motivation as factors in open field behaviour of the domestic chick. A theoretical consideration. *Biol. Behav.* **8**, 103-116.

**Formanek, L., Richard-Yris, M. A., Arnould, C., Houdelier, C. & Lumineau, S.** 2009. Individual behavioural rhythmicity is linked to social motivation in Japanese quail. *Applied Animal Behaviour Science* **121**, 126-133.

**Formanek, L., Richard-Yris, M. A., Petton, C., Houdelier, C., & Lumineau, S.** 2011. Difference of social motivation in quail selected for divergent circadian activity. *Applied Animal Behaviour Science* **135**, 309-317.

**Fraps, R. M.** 1955. Egg production and fertility in poultry. *Progress in the physiology of farm animals* **2,** 661-740.

**Fraps, R. M.** 1961. Ovulation in the domestic fowl. *Control of ovulation* **1**, 133-162.

**Frésard, L., Morisson, M., Brun, J. M., Collin, A., Pain, B., Minvielle, F. & Pitel, F.** 2013. Epigenetics and phenotypic variability, some interesting insights from birds. *Genetics Selection Evolution* **45,** 16.

**Garcia-Fernandez, V., Guasco, B., Tanvez, A., Lacroix, A., Cucco, M., Leboucher, G., & Malacarne, G.** 2010. Influence **80**of mating preferences on yolk testosterone in the grey partridge. *Animal Behaviour*, 45-49.

**Gil, D.** 2008 Hormones in avian eggs: physiology, ecology and behavior. *Adv. Stud. Behav.* **38**, 337-398. (DOI: 10.1016/S0065-3454(08)00007-7)

**Gil, D., & Faure, J. M.** 2007. Correlated response in yolk testosterone levels following divergent genetic selection for social behaviour in Japanese quail. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* **307**, 91-94.

**Gil, D., Graves, J., Hazon, N. & Wells, A.** 1999. Male attractiveness and differential testosterone investment in zebra finch eggs. *Science* **286**, 126-128.

**Gil, D., Leboucher, G., Lacroix, A., Cue, R. & Kreutzer, M.** 2004. Female canaries produce eggs with greater amounts of testosterone when exposed to preferred male song. *Hormones & Behaviour* **45**, 64-70.

**Groothuis, T. G. G. & Maestripieri, D.** 2013. Parental influences on offspring personality traits in oviparous and placental vertebrates. In: *Animal Personalities : Behaviour, Physiology and Evolution*, 317-352. Editorss : Carere, C. & Maestripieri, D. University of Chicago Press, Chicago.

**Groothuis, T.G.G. & Schwabl, H.** 2008. Hormone-mediated maternal effects in birds: mechanisms matter but what do we know of them? *Philos. Trans. R. Soc. B* **363**, 1647-1661. (DOI: 10.1098/rstb.2007.0007)

**Groothuis, T.G.G., Müller, W., von Engelhardt, N., Carere, C. & Eising, C.M.** 2005 Maternal hormones as a tool to adjust offspring phenotype in avian species. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **29**, 329-52. (DOI: 10.1016/j.neubiorev.2004.12.002)

**Guibert, F., Lumineau, S., Kotrschal, K., Möstl, E., Richard-Yris, M. A. & Houdelier, C.** 2013. Trans-generational effects of prenatal stress in quail. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **280**, 20122368.

**Guibert, F., Richard-Yris, M. A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Bertin, A., Petton, C., Möstl, E. & Houdelier, C.** 2011. Unpredictable mild stressors on laying females influence the composition of Japanese quail eggs and offspring's phenotype. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **132,** 51-60. (DOI: 10.1016/j.applanim.2011.03.012)

**Guibert, F., Richard-Yris, M. A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Möstl, E., & Houdelier, C.** 2012. Yolk testosterone levels and offspring phenotype correlate with parental age in a precocial bird. *Physiology & behavior* **105,** 242-250.

**Guibert, F., Richard-Yris, M.-A. Lumineau, S., Kotrschal, K., Guémené, D., Bertin, A., Möstl, E. & Houdelier, C.** 2010. Social Instability in Laying Quail: consequences on Yolk Steroids and Offspring's Phenotype. *PLoS ONE* **5**. (DOI: 10.1371/journal.pone.0014069)

**Guyomarc'h, C., Lumineau, S. & Richard, J. P.** 1998. Circadian rhythm of activity in Japanese quail in constant darkness: variability of clarity and possibility of selection. *Chronobiology international* **15**, 219-230.

**Hawkins, P., Morton, D. B., Cameron, D., Cuthill, I., Francis, R., Freire, R., Gosler, A., Healy, S., Hudson, A., Inglis, I. *et al.*** 2001. Laboratory birds: refinements in husbandry and procedures. *Laboratory Animals* **35,** 1-163.

**Henriksen, R., Rettenbacher, S. & GG Groothuis, T.** 2013. Maternal corticosterone elevation during egg formation in chickens (*Gallus gallus domesticus*) influences offspring traits, partly via prenatal undernutrition. *General and comparative endocrinology* **191**, 83-91.

**Henriksen, R., Rettenbacher, S. & Groothuis, T. G.** 2011 Prenatal stress in birds: pathways, effects, function and perspectives. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **35**, 1484-1501. (DOI:10.1016/j.neubiorev.2011.04.010.)

**Houdelier, C., Guyomarc'h, C., Lumineau, S. & Richard, J. P.** 2004. Daily organization of laying in Japanese and European quail: Effect of domestication.*Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology* **301,** 186-194.

**Houdelier, C., Guyomarc'h, C., & Lumineau, S.** 2002. Daily temporal organization of laying in Japanese quail: variability and heritability 1.*Chronobiology international* **19,** 377-392.

**Houdelier, C., Guyomarc'h, C., Lumineau, S. & Richard, J. P.** 2002. Circadian rhythms of oviposition and feeding activity in Japanese quail: effects of cyclic administration of melatonin. *Chronobiology International* **19**, 1107-1119.

**Houdelier, C., Pittet, F., Guibert, F., de Margerie, E. & Lumineau, S.** 2013. Non-genetic Inheritance in Birds: transmission of behaviour from mother to offspring. *Non-Genet. Inherit.* **1**, 62–68.

**Huang, E.S.R., Kao, K.J. & Naldandov, A.V.** 1979. Synthesis of sex steroids by cellular components of chicken follicles. *Biology of Reproduction* **20,** 454-461.

**Janczak, A. M., Torjesen, P., Palme, R. & Bakken, M.** 2007. Effects of stress in hens on the behaviour of their offspring. *Applied Animal Behaviour Science* **107,** 66-77.

**Jones, R. B.** 1987. The assessment of fear in the domestic fowl. In: *Cognitive aspects of social behaviour in the domestic fowl* (Zahan, R. & Duncan, I.J.H. Eds.), pp. 40-81. Elsevier, Amsterdam.

**Jones, R. B.** 1996. Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives. *World Poult. Sci. J.* **52**, 131-174.

**Le Bot, O., Lumineau, S., de Margerie, E., Pittet, F., Trabalon, M. & Houdelier, C.** Long-life partners or sex friends? Impact of parental pair bond on offspring personality. *In press*.

**Lillpers, K.** 1991. Genetic variation in the time of oviposition in the laying hen. *British poultry science* **32**, 303-312.

**Meier, A. H. & McGregor, R.** 1972. Temporal organization in avian reproduction. *American Zoologist* **12**, 257-271.

**Merrill, R. J. N. & Nicol, C. J.** 2005. The effects of novel floorings on dustbathing, pecking and scratching behaviour of caged hens. *Animal Welfare* **14,** 179-186.

**Michel, V., Guinebretière, M., Aland, A. & Madec, F.** 2009. Challenges of the new requirements for welfare of laying hens housed in cages. Dans : *Sustainable Animal Production: The Challenges and Potential Developments for Professional Farming*. Editeurs : Aland, A. & Maded, F. pp 329-346. Wageningen, Pays-Bas.

**Mills, A. D. and Faure J. M.** 1986. The estimation of fear in domestic quail: correlations between various methods and measures. *Biol. Behav.* **11,** 235-243.

**Mills, A. D., Jones, R. B. and Faure J. M.** 1995. Species-specificity of social reinstatement in Japanese quail *Coturnix japonica* genetically selected for high or low-levels of social reinstatement behaviour. *Behav. Proc.* **34**, 13-22.

**Mills, A. D., Launay, F., Jones, R. B., Williams, J. and Faure, J. M.** 1994. Sélection divergente sur la peur et la socialité chez la caille japonaise Coturnix japonica: Réponses et conséquences. In: *Comportement et bien-être animal* (Picard, M., Porter, R. & Signoret, J.P. Eds.), pp. 127-139. Versailles.

**Möstl, E., Spendier, H. & Kotrschal, K.** 2001 Concentration of immunoreactive progesterone and androgens in the yolk of hens' eggs (*Gallus domesticus*). *Wiener Tierarztliche Monatsschrift* **88,**

62-65.

**Müller, M. S., Roelofs, Y., Erikstad, K. E., & Groothuis, T. G.** 2012. Maternal androgens increase sibling aggression, dominance, and competitive ability in the siblicidal black-legged kittiwake (*Rissa tridactyla*). *PLoS ONE* **7,** e47763.

**Naito, M., Komiyama, T. & Nirasawa, K.** 1984. Entrainment of oviposition under various light-dark cycles in the domestic fowl. *Japanese Poultry Science* **21**, 34-37**.**

**Okuliarova, M., Groothuis, T. G., Škrobánek, P., & Zeman, M.** 2011. Experimental evidence for genetic heritability of maternal hormone transfer to offspring. *The American Naturalist* **177**, 824-834.

**Okuliarova, M., Kankova, Z., Skrobanek, P., & Zeman, M.** 2014. Bidirectional selection for yolk testosterone content in Japanese quail. *Avian Biology Research* **7**, 18-24.

**Okuliarová, M., Šárniková, B., Rettenbacher, S., Škrobánek, P. & Zeman, M.** 2010. Yolk testosterone and corticosterone in hierarchical follicles and laid eggs of Japanese quail exposed to long-term restraint stress. *General and comparative endocrinology* **165**, 91-96.

**Okuliarová, M., Škrobánek, P. & Zeman, M.** 2007. Effect of increasing yolk testosterone levels on early behaviour in Japanese quail hatchlings. *Acta Veterinaria Brno* **76**, 325-331.

**Okuliarová, M., Skrobánek, P. & Zeman, M.** 2009. Variability of yolk testosterone concentrations during the reproductive cycle of Japanese quail. *Comparative Biochemistry & Physiology A* **154,** 530-534.

**Orcutt, F.S. Jr. & Orcutt, A.B.** 1976. Nesting and parental behavior in domestic common quail. *Auk* **93,** 135-141.

**Partecke, J. & Schwabl, H.** 2008. Organizational effects of maternal testosterone on reproductive behavior of adult house sparrows. *Developmental neurobiology* **68**, 1538-1548.

**Porter, T.E., Hargis, B.M., Silsby, J.L. & El Halawani, M.E.** (1989). Differential steroid production between theca interna and theca externa cells: A three cell model for follicular steroidogenesis in avian species. *Endocrinology* **125**, 109-116.

**Regolin, L., Vallortigara, G. & Zanforlin, M.** 1995. Object and spatial representations in detour problems by chicks. Animal Behaviour **49,** 195-199.

**Rubolini, D., Martinelli, R., von Engelhardt, N., Romano, M., Groothuis, T. G., Fasola, M. & Saino, N.** 2007. Consequences of prenatal androgen exposure for the reproductive performance of female pheasants (Phasianus colchicus).*Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **274**, 137-142.

**Schwabl, H.** 1993. Yolk is a source of maternal testosterone for developing birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **90**, 11446-11450.

**Schwabl, H.** 1996. Environment modifies the testosterone levels of a female bird and its eggs. *Journal of Experimental Zoology* ***276,*** 157-163.

**Schwabl, H.** 1997. The contents of maternal testosterone in house sparrow *Passer domesticus* eggs vary with breeding conditions. *Naturwissenschaften* **84**, 406-408. (DOI**:** 10.1007/s001140050418)

**Schweitzer, C., Schwabl, H., Baran, N. M., & Adkins-Regan, E.** 2014. Pair disruption in female zebra finches: consequences for offspring phenotype and sensitivity to a social stressor. *Animal Behaviour* **90,** 195-204.

**Sharp, P. J.** 1980. Female reproduction. In: *Avian endocrinology.* Epple, A., Stetson, M. H. Eds., pp 435-454. New-York, USA.

**Silver, R., & Norgren, R. B.** 1987. Circadian rhythms in avian reproduction. *Psychobiology of reproductive behavior* **1**, 121-47.

**Suarez, S. D. and Gallup, G. G.** 1983. Social reinstatement and open-field testing in chickens. *Anim. Learn. Behav.* **11**, 119-126.

**Tanvez, A., Parisot, M., Chastel, O. & Leboucher, G.** 2008. Does maternal social hierarchy affect yolk testosterone deposition in domesticated canaries? *Animal Behaviour* **75**, 929-934.

**Tůmová, E., Zita, L., Hubený, M., Skřivan, M. & Ledvinka, Z.** 2007. The effect of oviposition time and genotype on egg quality characteristics in egg type hens. *Czech Journal of Animal Science* **52,** 26-30.

**von Engelhardt, N., Henriksen, R. & Groothuis, T. G.** 2009. Steroids in chicken egg yolk: metabolism and uptake during early embryonic development. *General & comparative endocrinology* **163**, 175-183.

**Weinstock, M.** 2008. The long-term behavioural

consequences of prenatal stress. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **32,** 1073-1086. (DOI: 10.1016/j.neubiorev.2008.03.002)

**Whittingham, L.A. & Schwabl, H.** 2002. Maternal testosterone in tree swallow eggs varies with female aggression. *Anim. Behav.* **63**, 63-67. (DOI**:** 10.1006/anbe.2001.1889)

**Woodard, A. E. & Mather, F. B.** 1964. The timing of ovulation, movement of the ova through the oviduct, pigmentation and shell deposition in Japanese quail. *Poultry Sciense* **43,** 1427-1432.

**Zimmerman, P. H., Buijs, S. A. F., Bolhuis, J. E. & Keeling, L. J.** 2011. Behaviour of domestic fowl in anticipation of positive and negative stimuli. *Animal Behaviour* **81**, 569-577.

**Zucca, P., Antonelli, F. & Vallortigara, G.** 2005. Detour behaviour in three species of birds: quails (*Coturnix sp.*), herring gulls (*Larus cachinnans*) and canaries (*Serinus canaria*). Animal cognition **8,** 122-128.

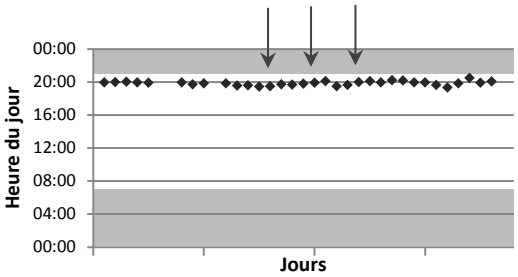
# IV. SYNTHESE DE L'ARTICLE 2

***OBJECTIFS***

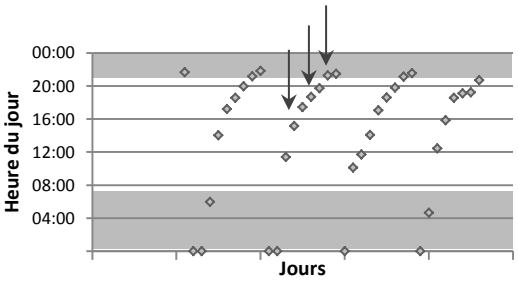
Nous avons analysé 3 œufs pondus à quelques jours d'intervalle de 13 femelles présentant un **rythme de ponte stable** (**S**) et de 12 femelles présentant un rythme **décalé** (**D**). Au sein de chaque profil, nous nous sommes intéressé aux effets du **rang de ponte**, de **l'heure de ponte** et de **l'intervalle de ponte** sur le poids des œufs ainsi qu'aux proportions des constituants (coquille, vitellus et albumen) et au contenu hormonal du vitellus (testostérone et progestérone).

***MÉTHODE***

- Profil **stable** : récolte de 3 œufs pondus à 3 ou 4 jours d'intervalle




- Profil **décalé** : récolte de 3 œufs au début, au milieu et à la fin d'une série




***RESULTATS***

❶ Au sein du profil stable, les **proportions des stéroïdes** étaient modulées par **l'intervalle de ponte** avec l'œuf précédent : plus cet intervalle était grand, plus le vitellus contenait de progestérone, et proportionnellement moins il contenait de testostérone.

❷ Au sein du profil décalé, les **caractéristiques de l'œuf** étaient modulées par **l'ordre de ponte** : plus l'heure d'oviposition était tardive, moins l'œuf était lourd. Ces œufs tardifs contenaient également moins de coquille et de vitellus et plus d'albumen.

***CONCLUSION***

- Cette étude révèle des différences de composition ou de caractéristiques des œufs **au sein de chaque profil de ponte**.
- Les mécanismes de la ponte pourraient donc impliquer **des processus différents** selon le profil de ponte. Une **interaction** entre des **facteurs endogènes** (i.e. des rhythmes biologiques) et **externes** (i.e. les conditions photopériodiques) est très probable.
- De telles modulations des caractéristiques des œufs ou de leur composition pourraient avoir **un impact sur le phénotype des descendants.**

# V. ARTICLE 2

## INVOLVEMENT OF INDIVIDUAL CIRCADIAN LAYING RHYTHM IN EGGS CHARACTERISTICS AND YOLK HORMONAL CONTENT IN A PRECOCIAL BIRD

**Le Bot, O.[1], Lumineau, S.[1], Trabalon, M.[1], Palme, R.[2], de Margerie, E.[1] & Houdelier, C.[1]**

[1] UMR-CNRS 6552 Laboratory of animal and human ethology, University of Rennes, France

[2] Institute of Biochemistry, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria

## Abstract

In temperate habitats, birds' laying behavior shows a strong seasonality but also a daily temporal organization. Previous studies have shown that Japanese quail presents two daily laying rhythms: in stable laying profile (S), oviposition occur at the same hour each day (i.e. time between successive eggs is closed to 24h); whereas in delayed profile (D) ovipositions occur later each day (i.e. laying interval up to 24h) until a pause day appears between the end of the laying sequence and the beginning the next one. We recently demonstrated that S and D females showed differences in their eggs characteristics and yolk hormonal content, as well as their offspring behavioral development suggesting prenatal maternal influence linked to the individual laying rhythm. This work aims to explore effects of laying sequence organization on eggs characteristics (i.e. weight of total egg, weight of shell, yolk, albumen and their relative proportions) and yolk progesterone and testosterone levels. For that, we collected 3 eggs laid at several days interval of 13 S females and 3 eggs within the same sequence but at different laying order (i.e. one early, one mid and one late egg) of 12 D females. Our data reveal within-set differences. In D set, laying order predicted eggs characteristic: the later the egg is in the series (i.e. the later the oviposition time is), the lesser its total weight, its yolk and albumen weights, and their proportions, are. In S set, laying interval predicted yolk hormonal content: the more the laying interval exceeds 24h, the higher the relative concentration of progesterone compared to testosterone is. Regulation of eggs' characteristics and yolk hormonal content seems to result from different

factors according to the set and could thus imply different mechanisms. Our work brings further insight in the understanding of eggs differences in the Japanese quail, that have to be deepened, particularly concerning consequences on offspring development.

Keywords: egg characteristics; laying order; laying rhythm; oviposition time; precocial bird; steroids.

## 1. Introduction

Birds' reproduction is under control of many endogenous mechanisms and environmental cues (Chemineau et al. 2007). This behavior shows a circannual rhythm based on photoperiod, temperature and food availability (Sauveur 1998, 1996, Gwinner 2003). Seasonality of reproduction allows both a synchronization of sexual activity of individuals within a given species (e.g. with control of migratory periods, Gwinner 2001) and adjusts gonadal development with environmental conditions (Chemineau et al. 2007).

Literature widely investigated some behavioral aspects of birds' reproduction, such as their sexual (Dunnington & Siegel 1983, Herrenkohl 1986, Galef 2008) or their maternal behaviors (Richard-Yris & Leboucher 1987, Leboucher et al. 1993, Richard-Yris et al. 1994, Wesolowski 1994, Pittet et al. 2014). The laying behavior has equally been explored, studies often interested in physiological regulation of laying on agronomical perspective (Sauveur 1998). Laying period presents obviously an annual organization in habitats in medium and high latitudes, but on a smaller scale there is a daily temporal organization of ovipositions. For example, many species lay during a particular period of the day, called the laying window, that presents a strong species-specific components (for example at sunrise for red-winged blackbird *Agelaius phoeniceus*: Muma 1986; or in the afternoon for the Japanese quail *Coturnix c. japonica*: Hémon et al. 1986). Few studies analyzed the role of such laying window, except in parasite species which laying time is moved forward or back compared to the parasitized species in order to favor parasitism behavior (Seel 1973, Scott 1991).

However, the temporal organization of laying can also influence eggs characteristics and thus offspring development. Therefore, the laying interval (time between two successive ovipositions) and the laying time (hour of oviposition during the day) influence egg weight (Zakaria & Omar 2013, Tumova et al. 2007), shell colour (Mills et al. 1991) and shell weight (Tumova et al. 2007).

Egg characteristics particularly interest prenatal maternal influences research as they can modulate offspring development in a non-genetic way. In this sense the egg size, that is positively correlated to the female's age (Sauveur 1988, Clutton-Brock 1991), appears to be positively correlated to offspring size and weight at birth and during the first weeks of their postnatal life (Wilson 1991, Christians 2002). Moreover, egg steroids levels play an important role in the somatic and behavioral development of offspring. Their modulations affect chick growth, competitiveness, emotional reactivity or social motivation (Groothuis et al. 2005, Groothuis & Schwabl 2008). The yolk hormonal contents are influenced by many factors including females' environmental conditions such as photoperiodic conditions (Schwabl 1996), social and sexual contexts (Schwabl 1997, Whittingham & Schwabl 2002, Gil et al. 1999, 2004, Garcia-Fernandez et al. 2010, Guibert et al. 2010) or stressful environment (Guibert et al. 2011), but also females' intrinsic characteristics such as their genetic background (Gil et al. 2007, Bertin et al. 2009) or age (Okuliarová et al. 2009, Guibert et al. 2012).

We recently demonstrated, in Japanese quail, the influence of the individual laying rhythm of female on their eggs' contents and their offspring development (Le Bot et al. *in prep*). In this species, the daily temporal organization of laying was previously analyzed (Houdelier et al. 2002a). Females lay during the afternoon in photoperiodic conditions but can present two different laying profiles: the stable profile (S) is characterized by laying at approximately the same time every day and thus a laying interval (time between two successive eggs) approximating 24 hours. By contrast, the delayed profile (D) is characterized by laying later and later every day and thus a laying interval above 24 hours, until a pause day (day without oviposition) indicating the end of the laying series and the beginning of another one. The laying interval in photoperiodic conditions is positively correlated to the circadian laying interval observed in constant darkness conditions and results of differences of synchronization processes between biological rhythm and external stimulation (Houdelier et

al. 2002b). D females produce eggs with more shell and proportionally more yolk progesterone and less testosterone compared to S females, and their chicks appear to be more reactive in novel environments and when they are separated from congeners (Le Bot et al. *in prep*). This first study highlights the potential role of intrinsic biological rhythm on maternal effects in birds.

However, if the laying rhythm of Japanese quail presents two different laying interval, the organization of laying sequence is also different following the laying profile. S females show continuous laying sequence whereas the D females presents laying organized in distinct laying sequences separated by one or more day pause (day without oviposition). Previous studies had shown, in the black-headed gull that lay a modal clutch of three eggs, an increase of yolk testosterone levels with laying order (Eising et al. 2001, Groothuis & Schwabl 2002). The yolk steroids modulation appeared to affect the behavioral development of chicks as chicks coming from eggs with higher yolk testosterone levels showed an increased aggressiveness in short and long terms (Groothuis & Meeuwissen 1992, Ros 1997). Such variations of yolk androgens levels have been demonstrated in several species. However, studies reveal that these levels can increase, decrease or remain stable among species (Groothuis et al. 2005). Especially, in Japanese quail, Okuliarova et al. (2010) showed no differences in yolk androgen contents in successive laid eggs. However, in all these studies, data on the temporal laying organization are unknown although it could impact the eggs hormonal levels.

In this context, the present paper aims to investigate the influence of temporal laying organization on Japanese quail females' eggs characteristics and yolk hormonal content. In order to bring new understanding on both egg differences that could lead to interindividual phenotypic variability in offspring, we analyzed eggs characteristics within laying profile and according to their laying order, laying interval and time of oviposition.

# 2. Materials and methods

### 2.1. Ethics

Experiments were approved by the departmental direction of veterinary services (Ille-et-Vilaine, France, permit number 005283) and were performed in accordance with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC).

### 2.2. Females

Forty-five four-weeks old female Japanese quail, *Coturnix c. japonica,* came from a commercial line (*Les cailles de Chanteloup*, Corps-Nuds, France), and were placed randomly, in individual cages (35 x 35 x 21 cm), in 16-compartment batteries in our experimental room. Each cage was equipped, along each half-side, with cork panels that stimulate females' environmental exploration and allow them to hide from one another (Cornetto et al. 2002); a piece of plastic turf (15 x 12 cm) was fastened in one corner of each cage to provide a dust-bath or a resting/laying substrate (Michel et al. 2009, Merrill & Nicol 2005). Food and water were provided *ad libitum*, and subjects were exposed to a 14:10 light cycle and to a temperature of 20 ± 1°C.

### 2.3. Assessment of laying characteristics

When females were nine-weeks old and after checking that all of them were layers, we assess their daily oviposition time with wireless infra-red IP cameras (ICA-108series, Planet). For more details about laying profile assessment see Le Bot et al. (*in prep*). When the laying rhythm of all females was characterized precisely, we selected 13 females that lay one egg per day at the same time (stable laying profile, set S) and 12 females that delayed their oviposition each day (delayed laying profile, set D). We calculated the mean laying interval (LI) for each female, i.e. the mean time between two successive layings (for each laying series for D females, i.e. pause days were not taken into account). The mean laying interval differ

significantly (Mann-Whitney U-test: $m_S$ = 24.04 ± 0.08, $m_D$ = 25.5 ± 0.66, U = 156.0, p < 0.0001). Three eggs per females laid at three days of interval were collected for hormonal assays, during the same period for S female. For D females, we collected three eggs in one series, i.e. one early egg, one middle egg and one late egg (fig. 1).

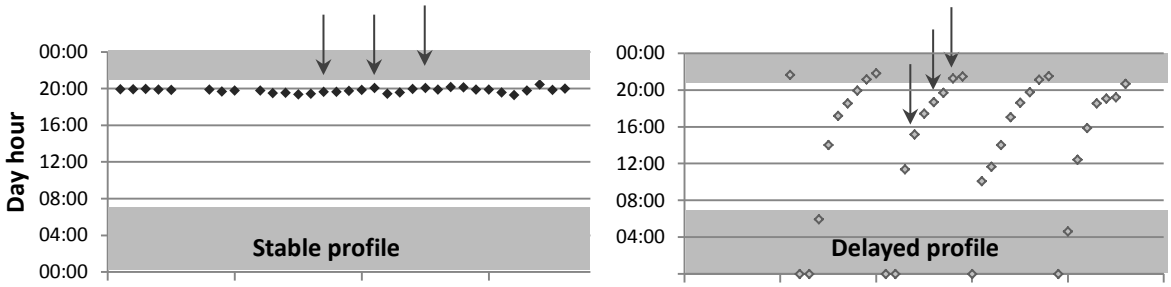



**Fig. 1.** Illustration of successive oviposition times for one female presented a stable laying profile (left) and one female presented a delayed laying profile (right). Arrows correspond to egg collection. Grey zones represent the scotophase.

### 2.3. Hormonal assays

Eggs were collected each morning, weighted and frozen (-18°C) in order to separate yolk from albumen easily, this last component liquefying faster. Yolks and shells were weighted, so that the subtraction of yolk and shell weights from the total egg weight gave us the albumen weight. The entire yolk of each egg was then suspended in 10 mL of distilled water and vortexed twice for 30 sec and samples were stored at 4°C. The next day, samples were vortexed, and we diluted 1 mL of the suspension in 4 mL of pure methanol. Samples were vortexed for 30 min and stored at -20°C to precipitate apolar lipids. The next day, samples were centrifuged 10 min at 4°C (2500 g). For progesterone, 10 µL of the supernatant were diluted in 500 µL of EIA buffer, and 10 µL of this dilution were used in the enzyme immunoassay. For testosterone, 100 µL of the supernatant were mixed with 500 µL of EIA buffer, and 50 µL of this mixture were used in immunoassay. Analyses were performed in the Institute of Biochemistry, University of Veterinary Medicine Vienna (Austria). For details of the EIAs see Möstl et al. (2001). All samples were run in duplicate and results only accepted if CV were below 10%.

### 2.4. Statistical analyses

Shell, yolk and albumen weights have been related to total egg weight to calculate proportions of these components. Similarly, we calculated relative proportions of yolk testosterone and progesterone. We used ANOVAS on repeated measurements followed by LSD fisher tests by set to test the effect of laying order on eggs characteristics and hormonal content. Spearman test were used to correlate variables with oviposition time and laying interval between each egg and the preceding. Eggs characteristics data were not normally distributed so we use box-cox transformations before statistical analysis. Analyzes were performed with XLSTAT 2014.4.10.

## 3. Results

Data and statistical results of ANOVAS on repeated measurements and LSD Fisher tests for eggs characteristics and yolk hormonal content are summarized in table 1. Analyzes reveal eggs' characteristics, but not hormonal content, differences in function of laying order; these effects appear mainly for D set. Correlations of Spearman (fig. 2) illustrate the link between laying interval and oviposition time with eggs characteristics and yolk hormonal content.

**Eggs' components.** A set effect tended to appear concerning shell proportion. ANOVAS on repeated measurements revealed an order effect on egg and yolk weights, with a set*order interaction effect. It reveals that laying order decreased total egg, shell (strong tendency) and yolk weights for D females only. In this set, concerning components proportions, yolk percentage decreased and albumen percentage increased with laying order. By contrast, analyzes revealed that laying order tended to increase yolk percentage in S set, and a significant decrease in albumen percentage appeared.

We found a negative correlation between oviposition time and egg weight, yolk weight and proportions, and a positive correlation between oviposition time and proportion

of albumen in D set. No significant correlations between oviposition time and eggs' characteristics appeared in S set ($p > 0.05$). Laying interval was not correlated to any eggs'characteristics neither in S set nor in D set ($p > 0.05$).

**Hormonal content.** Analyses revealed a set difference in progesterone levels, and if laying order tended to influence testosterone levels, we found neither set*order significant interactions nor post-hoc differences with LSD Fisher tests. Correlations of Spearman revealed a significant correlation between testosterone or progesterone proportions and laying interval in S set (fig. 2), but not in D set ($p > 0.05$). Hormonal content was not correlated with oviposition time, neither in S set nor in C set ($p > 0.05$).

Table 1. Data of eggs' characteristics and yolk hormonal content analyzes. For each variable, ANOVAS on repeated measurements indicate p-value of set, laying order and their interaction. Post-hoc LSD Fisher columns indicate means ± S.D. of the three eggs for each set; data followed by different letters are statistically different. Data are analyzed at two significant levels: bold p-values and letters correspond to $p < 0.05$, and italic p-values and letters correspond to $p < 0.1$.

| Variables | | ANOVAS on repeated measurements: p | | | Post-hoc LSD Fisher tests | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | *m* ± S.D. (**S** set) | | | *m* ± S.D. (**D** set) | | |
| | | Set | Order | Set*order | Egg #1 | #2 | #3 | #1 | #2 | #3 |
| Weight (g) | Egg | 0.724 | **0.026** | **0.032** | 13.8 ± 1.5 | 14 ± 1.5 | 13.8 ± 1.6 | 14.0 ± 1.5 **a** | 13.6 ± 1.5 **a** | 13.4 ± 1.6 **b** |
| | Shell | 0.463 | 0.233 | *0.055* | 1.06 ± 0.16 | 1.08 ± 0.13 | 1.06 ± 0.15 | 1.16 ± 0.16 **a** | 1.09 ± 0.16 **b** | 1.08 ± 0.13 **b** |
| | Yolk | 0.992 | **0.038** | **< 0.001** | 4.15 ± 0.50 | 4.2 ± 0.48 | 4.25 ± 0.55 | 4.35 ± 0.53 **a** | 4.25 ± 0.64 **a** | 3.96 ± 0.57 **b** |
| | Albumen | 0.532 | 0.172 | 0.124 | 8.61 ± 0.98 | 8.67 ± 0.82 | 8.44 ± 1.01 | 8.48 ± 0.91 | 8.23 ± 0.92 | 8.33 ± 0.95 |
| % shell | | *0.089* | 0.765 | 0.305 | 7.64 ± 0.61 | 7.76 ± 0.58 | 7.72 ± 0.69 | 8.34 ± 0.79 | 7.97 ± 1.12 | 8.09 ± 0.83 |
| % yolk | | 0.678 | 0.411 | **0.001** | 30 ± 1.7 *a* | 30.1 ± 1.5 *a* | 30.9 ± 1.4 *b* | 31 ± 1.6 **a** | 31.2 ± 3 **a** | 29.5 ± 2.1 **b** |
| % albumen | | 0.377 | 0.505 | **< 0.001** | 62.4 ± 1.8 **a** | 62.2 ± 1.4 **a**,**b** | 61.4 ± 1.5 **b** | 60.6 ± 1.8 **a** | 60.8 ± 3 **a** | 62.4 ± 2 **b** |
| Testo. (ng/g) | | 0.383 | 0.092 | 0.953 | 7.35 ± 2.61 | 8.97 ± 0.55 | 7.88 ± 3.2 | 8.64 ± 4.41 | 10.67 ± 7.48 | 9.62 ± 6.01 |
| Progest. (ng/g) | | **0.032** | 0.592 | 0.856 | 686.4 ± 188.5 | 710.3 ± 196.4 | 694.5 ± 220.5 | 798.7 ± 252.9 | 877.8 ± 175.5 | 820.6 ± 214.5 |
| % testo. | | 0.914 | 0.410 | 0.687 | 1.11 ± 0.46 | 1.25 ± 0.55 | 1.19 ± 0.48 | 1.13 ± 0.66 | 1.16 ± 0.72 | 1.18 ± 0.71 |
| % progest. | | 0.914 | 0.420 | 0.712 | 98.89 ± 0.46 | 98.75 ± 0.55 | 98.81 ± 0.48 | 98.87 ± 0.66 | 98.84 ± 0.72 | 98.82 ± 0.71 |

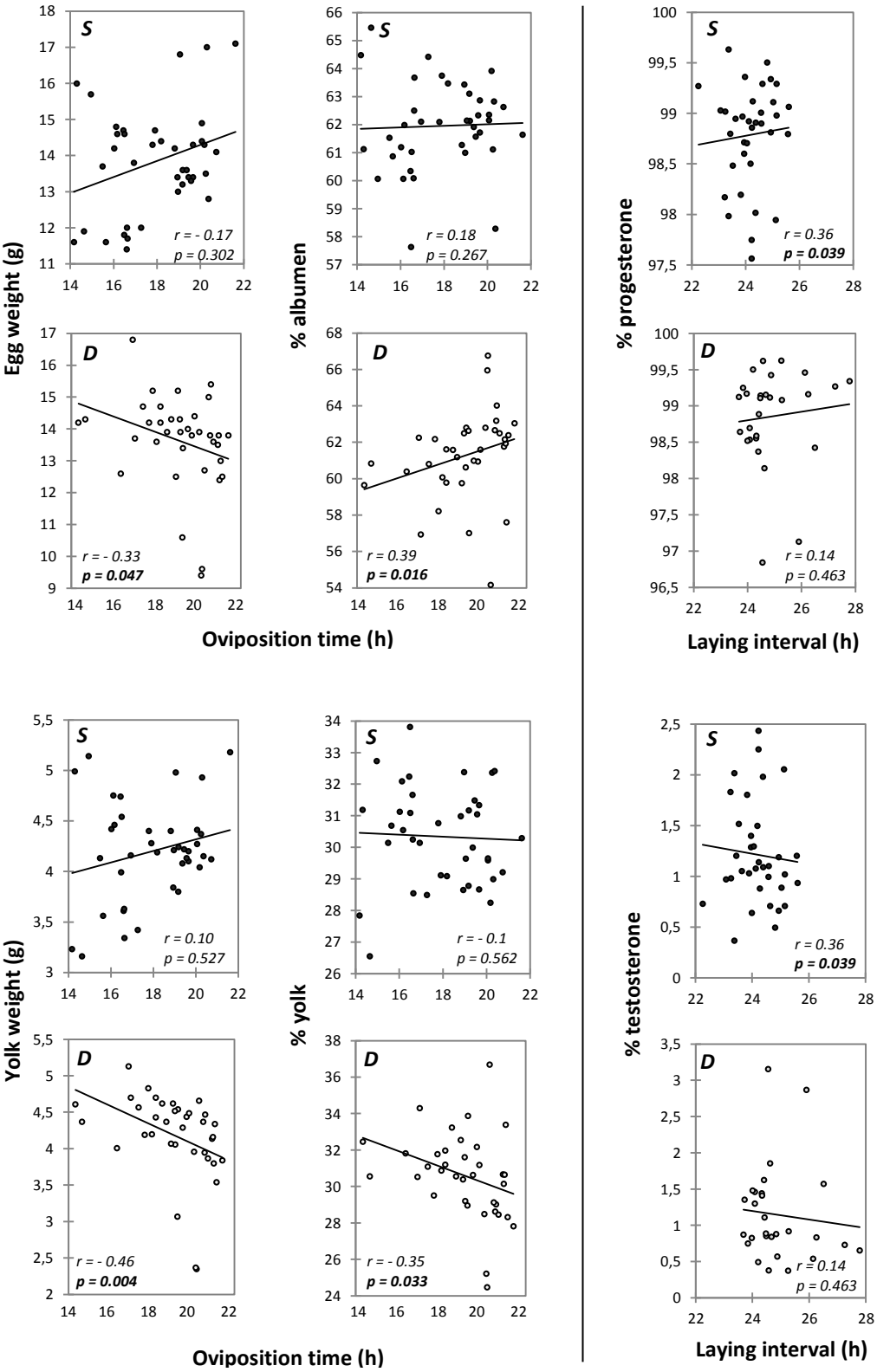



**Fig. 2.** Correlations of oviposition time and eggs' characteristics (left), and of laying interval between each three eggs collected and the preceding and progesterone proportion (right) for S and D sets. Statistics correspond to correlation of Spearman.

## 4. Discussion

This work analyzed eggs' characteristics and yolk hormonal content within each of the two laying profiles that exists in Japanese quail. Although comparison between set are in accordance with our previous findings (Le Bot et al. *in prep*) in that eggs of S females contain less shell and more testosterone, data reveal some within set differences that could imply different mechanisms for females of the stable or the delayed profile.

We found different effect of laying order in eggs characteristics in stable and delayed laying profiles. In D set, the more the laying order advances, the lighter the egg is, what seems to be due to lighter shell and yolks. As a result, we found that last-laid eggs in a series contain lower yolk proportions and higher albumen proportions than early-laid eggs. Beyond than laying order, data revealed that oviposition time is negatively correlated with egg weight, yolk weight and proportion, and positively correlated with albumen proportion. By contrast, in the S set, laying order led to higher yolks and lower albumen proportions but we found no correlation between eggs characteristics, neither with laying interval nor with oviposition time. These result showed that follicular maturation and egg formation are influenced by the daily laying rhythm, resulting in interactions between a circadian rhythm (notably follicular maturation rhythm), and an environmental synchronizer (photoperiodic conditions). Previous studies have shown that D quails present also a circadian laying period higher than those observed from S females (Houdelier et al. 2002). The endogenous period is known to influence the animal ability to synchronize their activity to environmental conditions. A high difference between endogenous and environmental periods can induce processes of partial synchronization, animal thus presenting a not exactly 24h daily activity period (Aschoff 1981). The delayed laying profile seems to match to this partial synchronization as laying interval is up to 24h. This hypothesis is reinforced by the fact that the delayed laying profile disappear when females are submitted to a 25h day-lenght (LD 14:11) (Houdelier 2002). In these lighting conditions, the circadian and environmental periods are closed, and as a consequence the biological clock can synchronize on photoperiodic conditions. In this context, modulation of eggs characteristics with laying order in D females could be linked to this process of partial synchronization. Indeed, the

biological system could try to synchronize with the lighting conditions, and so modulates the process of yolk accumulation and egg formation, that could particularly lead to decrease yolk deposition. With this hypothesis, the day pause observed in D females can reboot the system, allowing the endogenous rhythm to try a new synchronization. As a consequence, the analyze of eggs characteristics in successive laying sequences should reveal similarity between eggs of the same laying order in different sequences. The eggs characteristics' variation with laying order in S females appears more difficult to explain with our present data. Indeed, we expected slight variations of eggs characteristics as ovipositions occur continuously and at the same hour each day. However, this effect seems to be linked to between-egg developmental variations more than to the interaction between endogenous and external rhythms. Shahabi et al. (1975) found that there are intrinsic developmental differences among domestic hen follicles that should influence eggs characteristics. In order to understand the exact evolution of these eggs characteristics in S set, analyzes on a longer period are necessary.

Our work reveals that hormonal content did not change with laying order in both sets. However, a positive correlation appears with progesterone proportion and oviposition interval between the assayed egg and the precedent in S set. In our previous study, we have shown that D females' eggs contained in proportion more progesterone than those from S females (Le Bot et al. *in prep*). The laying interval increase can be related to the follicular maturation time increase, especially to the final stage of follicular maturation, when follicular cells produced mainly progesterone (Jonhson 2002). More surprisingly, we found no correlation between laying interval and hormonal contents in D females. Two hypotheses can be proposed to explain this result: first, as D females showed yet higher progesterone levels in their eggs in relation with the laying interval, a maximal physiological progesterone deposition level in the yolk from a particular laying interval length could occur. The increase of progesterone with laying interval can only occur in a certain physiological limit. Some physiological limits have been evidenced by Okuliarová et al. (2014) in their selection based on yolk testosterone levels in Japanese quail. Indeed, despite genetic selection, yolk testosterone levels can't decrease under a minimal value. Similarly, the increase of corticosterone in hen eggs yolk seems also limited. Authors suggest this limit could be linked

to the potential detrimental effects of high yolk corticosterone levels on embryo development (Henriksen et al. 2011). If the influence of progesterone on chicks development was less studied, some experiments showed that their modulation can affect offspring behavioral development (Bertin et al. 2008, 2013, Le Bot et al. *in prep*). In this context, it could be interested to complete our analyses with other eggs coming from longer laying intervals. Indeed, our data showed that analyzed eggs from D females represent a low level of laying interval variability that we could widen with more data. So, the absence of modulation of yolk progesterone levels with laying interval in D females could be linked to this lack of variability.

Overall, hypothalamo-pituitary-gonadal (HPG) axis seems to be implied in egg quality modulation according to laying profile. Indeed, steroids are secreted by the ovary, under control of Luteinizing Hormone (LH) and the Follicle Stimulating Hormone (FSH) (Goldsmith & Follett 1980, Bono-Gallo et al. 1983). Environmental conditions such as photoperiod or temperature control the synthesis of LH and FSH via the hypothalamic Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) (Sharp 1983). Our results suggest that both endogenous factors (i.e. biological rhythms) and external factors (photoperiod conditions when ovulation occurred) could interact to control HPG regulation, and so eggs' characteristics and yolk hormonal content. Unfortunately, all mechanisms that rule the follicular maturation, the steroidogenesis and even the entire egg formation are not yet fully understood.

**Conclusion**

Our work highlights specific within-profile differences in eggs characteristics and yolk hormonal content. This shows for the first time the important role of biological rhythms and synchronization abilities on eggs. It raises now the question of consequences on offspring. Particularly, different environmental conditions could thus modulate offspring phenotypes, that could present different responses in their milieu.

**Acknowledgements**

We thank Dr Ann Cloarec for the improvement of the writing of the manuscript.

## References

**Aschoff, J.** (Ed.) 1981. *Biological rhythms*. New York-London: Plenum Press.

**Bertin, A., Richard-Yris, M. A., Houdelier, C., Richard, S., Lumineau, S., Kotrschal, K., & Mostl, E.** 2009. Divergent selection for inherent fearfulness leads to divergent yolk steroid levels in quail. Behaviour 146 : 757-770.

**Bono-Gallo, A., Licht, P. & Papkoff, H.** 1983. Biological and binding activities of pituitary hormones from the ostrich *Struthio camelus*. *General & comparative endocrinology* 51 : 50-60.

**Chemineau, P., Malpaux, B., Brillard, J. P. & Fostier, A.** 2009. Seasonal reproduction and production in fish, birds and farm mammals. *INRA Productions Animales* **22,** 77-90.

**Christians, J.K.** 2002. Avian egg size: variation within species and inflexibility within individuals. *Biological Review* 77 : 1-26.

**Clutton-Brock, T.H.** 1991. The evolution of parental care. Princeton University Press, Princeton, NJ.

**Cornetto, T., Estevez, I. & Douglass, L. W.** 2002. Using artificial cover to reduce aggression and disturbances in domestic fowl. *Applied Animal Behaviour Science* 75 : 325-336.

**Dunnington, E. A. & Siegel, P. B.** 1983. Mating frequency in male chickens: long-term selection. *Theoretical and Applied Genetics* 64 : 317-323.

**Eising, C.M., Eikenaar, C., Schwabl, H. & Groothuis, T.G.G.** 2001. Maternal androgens in black-headed gull (*Larus ridibundus*) eggs: consequences for chick development. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 268 : 839-846.

**Galef Jr B. G.** 2008. Social influences on the mate choices of male and female Japanese quail. *Comparative Cognition & Behavior Reviews* 3 : 1-12.

**Gil, D., & Faure, J. M.** 2007. Correlated response in yolk testosterone levels following divergent genetic selection for social behaviour in Japanese quail. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology 307 : 91-94.

**Gil, D., Graves, J., Hazon, N. & Wells, A.** 1999. Male attractiveness and differential testosterone investment in zebra finch eggs. Science 286 : 126-128.

Gil, D., Leboucher, G., Lacroix, A., Cue, R. & Kreutzer, M. 2004. Female canaries produce eggs with greater amounts of testosterone when exposed to preferred male song. Hormones & Behaviour 45 : 64-70.

**Goldsmith, A. R. & Follett, B. K.** 1980. Anterior pituitary hormones. In *Avian Endocrinology* (A. Epple, and MH Stetson, eds) pp 147-165. Academic Press, London.

**Groothuis, T. & Meeuwissen, G.** 1992. The influence of testosterone on the development and fixation of the form of displays in two age classes of young black-headed gulls. *Animal Behaviour*,43 : 189-208.

**Groothuis, T.G.G. & Schwabl, H.** 2002. Determinants of within- and among-clutch variation in levels of maternal hormones in Black-Headed Gull eggs. *Functional Ecology* 16 : 281-289.

**Groothuis, T.G.G. & Schwabl, H.** 2008. Hormone-mediated maternal effects in birds: mechanisms matter but what do we know of them? *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 363 : 1647-1661.

**Groothuis, T.G.G., Müller, W., von Engelhardt, N., Carere, C. & Eising, C.M.** 2005. Maternal hormones as a tool to adjust offspring phenotype in avian species. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29 : 329-52.

**Guibert, F., Richard-Yris, M. A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Bertin, A., Petton, C., Möstl, E. & Houdelier, C.** 2011. Unpredictable mild stressors on laying females influence the composition of Japanese quail eggs and offspring's phenotype. Applied Animal Behavioural Sciences 132 : 51-60.

**Guibert, F., Richard-Yris, M. A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Möstl, E., & Houdelier, C.** 2012. Yolk testosterone levels and offspring phenotype correlate with parental age in a precocial bird. Physiology & behavior 105 : 242-250.

**Gwinner E.** 2001. Bird migration: its control by endogenous clocks. In: Frontiers of life, the living world 4 : 193-206. Baltimore D. (Ed), Academic Press, UK.

**Gwinner, E.** 2003. Circannual rhythms in birds. *Current opinion in neurobiology* 13 : 770-778.

**Hemon, Y. A., Guyomarc'h, J. C., & Saint-Jalme, M.** 1986. Les rythmes nycthéméraux d'activité de la caille des blés (Coturnix coturnix coturnix) en période de reproduction. *Gibier faune sauvage* 3 : 343-367.

**Henriksen, R., Rettenbacher, S. & Groothuis, T.G.G.** 2011. Prenatal stress in birds: Pathways, effects, function and perspectives. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35 : 1484-1501.

**Herrenkohl L. R.** 1986. Prenatal stress disrupts reproductive behavior and physiology in offspring. *Annals of the New York Academy of Sciences* 474 : 120-128.

**Houdelier, C., Guyomarc'h, C., Lumineau, S. & Richard, J. P.** 2004. Daily organization of laying in Japanese and European quail: Effect of domestication. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology 3*01 : 186-194.

**Houdelier, C., Guyomarc'h, C. & Lumineau, S.** 2002a. Daily temporal organization of laying in Japanese quail: variability and heritability. *Chronobiology International* 19 : 377-392.

**Houdelier, C., Guyomarc'h, C., Lumineau, S. & Richard, J. P.** 2002b. Circadian rhythms of oviposition and feeding activity in Japanese quail: effects of cyclic administration of melatonin. *Chronobiology International* 19 : 1107-1119.

**Johnson, A.L.** 2002. Reproduction in the female. In: *Sturkie's avian physiology, 5th edition* 569-591. Editeur ; Whittow, G. G. Academic Press, San Diego.

**Leboucher, G., Richard-Yris, M. A., Guemene, D. & Chadwick, A.** 1993. Respective effects of chicks and nest on behavior and hormonal concentrations of incubating domestic hens. *Physiology & behavior* 54 : 135-140.

**Merrill, R. J. N. & Nicol, C. J.** 2005. The effects of novel floorings on dustbathing, pecking and scratching behaviour of caged hens. *Animal Welfare* 14 *:* 179-186.

**Michel, V., Guinebretière, M., Aland, A. & Madec, F.** 2009. Challenges of the new requirements for welfare of laying hens housed in cages. Dans : *Sustainable Animal Production: The Challenges and Potential Developments for Professional Farming*. Editeurs : Aland, A. & Maded, F. pp 329-346. Wageningen, Pays-Bas.

**Mills, A. D., Nys, Y., Gautron, J., & Zawadski, J.** 1991. Whitening of brown shelled eggs: Individual variation and relationships with age, fearfulness, oviposition interval and stress. *British Poultry Science* 32 : 117-129.

**Möstl, E., Spendier, H. & Kotrschal, K.** 2001. Concentration of immunoreactive progesterone and androgens in the yolk of hens' eggs (*Gallus domesticus*). *Wiener Tierarztliche Monatsschrift* 88 : 62-65.

**Muma, K. E.** 1986. Seasonal changes in the hour of oviposition by Red-winged Blackbirds in southwestern Ontario. *Journal of Field Ornithology :* 228-229.

**Okuliarová, M., Kankova, Z., Skrobanek, P., & Zeman, M.** 2014. Bidirectional selection for yolk testosterone content in Japanese quail. *Avian Biology Research* 7 : 18-24.

**Okuliarová, M., Šárniková, B., Rettenbacher, S., Škrobánek, P. & Zeman, M.** 2010. Yolk testosterone and corticosterone in hierarchical follicles and laid eggs of Japanese quail exposed to long-term restraint stress. *General and comparative endocrinology* 165 : 91-96.

**Okuliarová, M., Skrobánek, P. & Zeman, M.** 2009. Variability of yolk testosterone concentrations during the reproductive cycle of Japanese quail. Comparative Biochemistry & Physiology A 154 : 530-534.

**Pittet, F., Houdelier, C., de Margerie, E., Le Bot, O., Richard-Yris, M. A., & Lumineau, S.** 2014. Maternal styles in a precocial bird. *Animal Behaviour* 87 : 31-37.

**Richard-Yris, M. A. & Leboucher, G.** 1987 Effects of exposure to chicks on maternal behaviour in domestic chickens. *Bird Behavior* 7 : 31-36.

**Richard-Yris, M. A.** 1994. Comportement parental chez les gallinacés: importance du facteur émotivité dans la vitesse d'émergence des réponses parentales. Apports du modèle caille japonaise. In: *Comportement et bien-être animal* (Ed. Picard, M., Porter, R. & Signoret, J. P.), pp. 61-76. Versailles.

**Ros, A. F.** 1999. Effects of testosterone on growth, plumage pigmentation, and mortality in Black-headed Gull chicks. *Ibis* 141 : 451-459.

**Sauveur, B.** 1988. Reproduction des volailles et production d'œufs. INRA, Paris.

**Sauveur, B.** 1996. Photopériodisme et reproduction des oiseaux domestiques femelles. *INRA Productions Animales* 9 : 25-34.

**Schwabl, H.** 1996. Environment modifies the testosterone levels of a female bird and its eggs. Journal of Experimental Zoology 276 : 157-163.

**Schwabl, H.** 1997. The contents of maternal testosterone in house sparrow Passer domesticus eggs vary with breeding conditions. Naturwissenschaften 84 : 406-408.

**Scott, D. M.** 1991. The time of day of egg laying by the Brown-headed Cowbird and other icterines. *Canadian Journal of Zoology* 69 : 2093-2099.

**Seel, D. C.** 1973. Egg-laying by the cuckoo. *British Birds* 66 : 528-535.

**Shahabi, N. A., Norton, H. W. & Nalbandov, A. V.** 1975. Steroid levels in follicles and the plasma of hens during the ovulatory cycle. *Endocrinology* 96 : 962-968.

**Sharp, P. J.** 1983. Hypothamamic control of gonadotrophin secretion in birds. In: *Progress in non-mammalian brain research* 123-164. Editeur : Nistico.

**Tůmová, E., Zita, L., Hubený, M., Skřivan, M. & Ledvinka, Z.** 2007. The effect of oviposition time and genotype on egg quality characteristics in egg type hens. *Czech Journal of Animal Science* **52** : 26-30.

**Wesolowski, T.** 1994. On the origin of parental care and the early evolution of male and female parental roles in birds. *American Naturalist* 39-58.

**Wilson, H.R.** 1991. Interrelationship of egg size, chick size, posthatching growth and hatchability. *World Poultry Science Journal* 47 : 5-20.

**Zakaria, A. H. & Omar, O. H.** 2013. Egg laying pattern, egg weight, body weight at hatch, and sex ratio bias relative to oviposition time of young-and mid-age broiler breeders. *Animal reproduction science* 141 : 80-85.

# CHAPITRE 4

# Influence de l'environnement

## *Étude du lien de couple avec le partenaire sexuel*

# I. INTRODUCTION

Chez les oiseaux, le **contexte social** dans lequel évolue la femelle pendant la phase de ponte influence le contenu hormonal des œufs. Ainsi, la concentration des androgènes varie selon la densité du groupe (Schwabl 1997, Reed & Vleck 2001, Groothuis & Schwabl 2002, Groothuis et al. 2005), les intrusions (Mazuc et al. 2003) et les agressions (Whittingham & Schwabl 2002, Guibert et al. 2010) des congénères. Ces modulations hormonales peuvent ensuite influencer le développement des oisillons issus de ces œufs, comme l'ont montré Guibert et ses collaborateurs (2010) lors d'une étude longitudinale sur les conséquences d'une instabilité sociale au sein de petits groupes de cailles japonaises. Ce stress social augmente les agressions entre femelles et le taux de testostérone dans le vitellus des œufs pondus par ces femelles, cette concentration accrue d'androgènes étant probablement à l'origine du retard observé dans l'éclosion des œufs, de la faible croissance de leurs cailleteaux et également de leur plus forte réactivité émotionnelle.

Parmi les congénères, le partenaire sexuel a également un impact sur la composition hormonale des œufs pondus par les femelles. Des études ont montré que **l'attractivité du mâle** (i.e. les caractéristiques du chant et du plumage) module les concentrations en androgènes des œufs pondus par les femelles chez les espèces nidicoles (Gil et al. 1999, 2004, Kingma et al. 2009). Le même phénomène a été démontré chez la perdrix grise, espèce nidifuge : les femelles qui ont été appariées avec le mâle qu'elles préféraient parmi deux mâles ont pondu des œufs qui contenaient plus de testostérone que les femelles appariées avec le mâle qu'elles ne préféraient pas (Garcia-Fernandez et al. 2010). L'attractivité du mâle joue un rôle majeur sur le choix du partenaire sexuel par les femelles, et pourrait donc avoir une influence prénatale indirecte sur le développement des descendants.

Au-delà de ce facteur d'attractivité, **le lien de couple** qui se développe entre le mâle et la femelle pourrait également avoir une influence sur les descendants. En effet, récemment, une étude qui s'est intéressée aux conséquences d'une perturbation du couple (i.e. une séparation définitive des partenaires) chez des espèces à appariement durable a montré que, lorsqu'elles sont appariées avec un nouveau mâle qui leur a été imposé, les femelles diamant mandarin produisent des jeunes moins sensibles à une séparation sociale (Schweit-

zer et al. 2014). Un tel changement de partenaire implique la rupture du lien de couple qui s'est développé entre le mâle et la femelle (ce qui est considéré comme un événement négatif) avant la formation d'un nouveau lien avec le partenaire imposé. Un lien de couple se développe également chez des espèces à appariement temporaire, comme c'est le cas pour la caille Japonaise. Chez cette espèce, une fois appariés, le mâle et la femelle restent à proximité l'un de l'autre, se recherchent activement lorsqu'ils sont séparés et synchronisent leurs activités indépendamment des couples voisins jusqu'au début de l'incubation des œufs (Potash 1975, Orcutt & Orcutt 1976, Nichols 1991). Nous nous sommes demandé si l'existence d'un tel lien de couple pouvait avoir une influence sur les descendants, en comparaison avec des individus dont les parents n'auraient pas développé de lien. Cette question a donné lieu à une expérimentation présentée dans **l'article 3**, accepté dans la revue *Journal of Experimental Biology.*

## II. SYNTHESE DE L'ARTICLE 3

***OBJECTIFS***

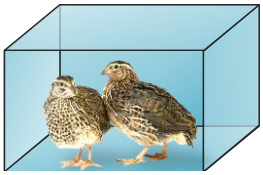
Dans cette étude, des couples sont **appariés selon deux protocoles** afin de mesurer :

❶ L'attachement entre les partenaires

❷ Les conséquences en termes de productivité et les caractéristiques de leurs œufs

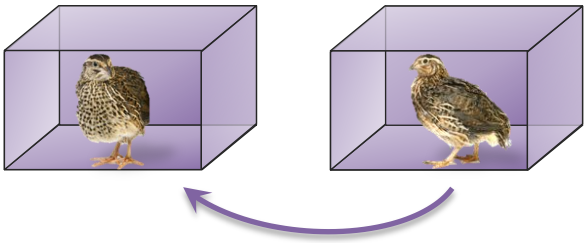
❸ Les conséquences sur le développement et le phénotype comportemental de leurs descendants

***MÉTHODE***



15 couples en **contact permanent** (**C**)

***vs.***



15 couples **ponctuellement en contact** (**NC**) :
5 minutes, 3 fois par semaine

***RESULTATS***

❶ Les couples en contact permanent ont montré **une recherche active du partenaire** lorsqu'ils étaient séparés, contrairement aux couples ponctuellement en contact.

❷ Ces couples C avaient tendance à produire **plus d'œufs fécondés** que les couples NC. Cependant **les caractéristiques des œufs ne différaient pas** selon le mode d'appariement.

❸ Leurs descendants, qui présentaient un **poids plus faible** durant la première semaine de vie, ont exprimé une **réactivité émotionnelle différente** selon le contexte (diminuée face à la nouveauté mais accrue face à la séparation sociale), comparés aux descendants des couples NC.

***CONCLUSION***

- Le protocole d'appariement réalisé a permis **le développement d'un lien de couple** chez les animaux en **contact permanent**.
- Ce lien a modulé le **développement de leur descendance**, probablement via des processus d'influences prénatales dont les mécanismes nécessitent d'être explorés.
- Le seul développement d'un lien de couple entre les parents joue donc **un rôle dans la variabilité phénotypique** des individus chez les oiseaux.

# III. ARTICLE 3

## LONG-LIFE PARTNERS OR SEX FRIENDS? IMPACT OF PARENTAL PAIR BOND ON OFFSPRING PERSONALITY

**Le Bot, O.[1], Lumineau, S.[1], de Margerie, E.[1], Pittet, F.[1], Trabalon, M.[1], Houdelier, C.[1]**

[1] Laboratory of Animal and Human Ethology UMR/CNRS 6552 Ethos, University of Rennes, 35042 Rennes, France.

**Summary**

Previous investigations reported that some traits of parental relationships, including pair-bond duration or mate behavioural compatibility, influence subsequent offspring fitness by acting on their behaviour, growth and thus their early survival. We hypothesized that the development of a pair-bond between sexual partners would have a prenatal influence. This study investigated the impact of two pairing managements on the egg characteristics and development of offspring of Japanese quail (*Coturnix c. japonica*). Thirty males and 30 females were paired either continuously (C) (mates together all the time) or non-continuously (NC) (pairs met only three times a week for five minutes). Separation-reunion tests evaluated parental pair bond. Egg yolk testosterone and androstenedione levels were evaluated, and the somatic and behavioural development of C and NC chicks was assessed. Our results revealed that members of C pairs were attached to their mates and, although no significant differences in androgen levels could be evidenced between egg sets, a higher proportion of C pairs' eggs were fertilized and their chicks appeared less emotive and more social. Our results revealed that parental relationship can modulate the behavioural development of their offspring, probably via non-genetic effects, and this could play a major role in the emergence of inter-individual variability.

Keywords: attachment; hormonal assay; pair bond; precocial bird; prenatal influence.

# 1. Introduction

Phenotypic variability is a fundamental trait that is determined by various mechanisms and plays a central role in the adaptation of species to their environment (Schiener, 1993). Although genes provide the innate matrix of individuals, non-genetic environmental factors influence their construction throughout their life. Parental effects are known to influence individual development through non-genetic inheritance mechanisms (Bjorklund, 2006; Houdelier et al., 2013). Mammal and bird mothers especially can modulate their offspring's behaviour. After giving birth, mothers' behavioural and/or maternal care characteristics are known to influence their offspring's emotive and social behaviours in the long term (Bertin et al., 2008; Fairbanks, 1996; Francis et al., 1999; Pittet et al., 2014). Before birth, various maternal factors can also influence offspring phenotype. Mammal mothers' intrinsic characteristics influence their offspring's physiological and behavioural development, through physiological differences. For example, high levels of hyenas' (*Crocuta crocuta*) maternal plasmatic androgens at the end of gestation, related to maternal rank, induce higher frequencies of offspring aggressive and mounting behaviours (Dloniak et al., 2006). Rodents' maternal plasmatic androgen levels during gestation decrease with maternal age, and could be related to lighter progeny at birth, delaying their sexual development and impairing their learning abilities (Matt et al., 1986; Tarin et al., 2003; Wang and vom Saal, 2000). Authors report similar influences of maternal age for birds: egg yolk hormonal modulations are related to maternal characteristics (Adkins-Regan et al., 2013; Gil, 2008; Groothuis and Schwabl, 2008; Groothuis et al., 2005). For instance, chicks of older Japanese quail (*Coturnix c. japonica* Linnaeus) parents were heavier at hatching, their sexual development occurred sooner, and their emotional reactivity was lower in the presence of novelty but higher following social separation (Guibert et al., 2012). These results could be related to the lower levels of yolk testosterone in older females' eggs (Guibert et al., 2012; Okuliarová et al., 2009).

Moreover, reports highlight the fact that females' environment during the reproduction period has a strong prenatal influence. Thus, an aversive social environment during gestation can increase offspring emotive behaviours, impair their cognitive abilities and impair their social, sexual and maternal behaviours. These effects are linked to

modulation of the expression of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical (HPA) axis, inducing in particular modification of the females' plasmatic concentrations of glucocorticoids and androgens (Braastad, 1998; Kaiser and Sachser, 2005; Welberg and Seckel, 2001). Similarly, negative social interactions during the laying period affect chicks' physiological and behavioural phenotypes in relation to modulation of females' eggs' hormonal contents (social instability: Guibert et al., 2010; Mazuc et al., 2003; breeding density: Reed and Vleck, 2001; Schwabl, 1997; aggression by conspecifics: Whittingham and Schwabl, 2002). Avian sexual partners that develop a pair bond, even for a short time, reap benefits that include mutual preening, fewer conflictual interactions between mates, joining forces against intruders, food sharing and/or behavioural synchronization (Amat, 2000; Emery et al., 2007; Komdeur and Hatchwell, 1999; Orcutt and Orcutt, 1976). Parental relationship is known to impact investment in offspring, and so to influence their development; most studies investigate this relationship in terms of long-term survival for offspring, often of altricial species. Authors suggest that male attractiveness influenced egg steroid levels as egg testosterone levels were higher when females were exposed to attractive males (Gil et al., 1999; Gil et al., 2004; Kingma et al., 2009), and this could influence chicks' development (Groothuis et al., 2005). Once a pair has formed, pair-bond duration impacts breeding success directly (Black, 1996; Hall, 1999; Nisbet and Dann, 2009). In particular, clutch size, hatching success and chick weights are directly linked to parental pair-bond duration of little penguins, *Eudyptula minor* (Nisbet and Dann, 2009). Besides this relationship duration, behavioural compatibility between mates influences offspring indirectly, as the more the traits of the two mates correspond, the better their activities, including nest attendance, are coordinated, and so the greater their breeding success (Coulson, 1966; Coulson, 1972; Spoon et al., 2006). On the contrary, divorce between long-lasting pairs can occur in some species; although this adaptive strategy induces females to leave their male partner (Coulson, 1966; Diamond, 1987; Ens et al., 1996), their reproductive success can increase despite the immediate costs of breaking a long lasting pair bond (e.g. fledging failure, Jacot et al., 2010). When biparental care occurs, the presence of both parents is crucial for rearing young successfully (Hall, 1999). Experiments show that one parent can compensate its failing partner (i.e. experimentally removed or handicapped) by increasing for example nest attendance and chick feeding, but this compensation remains limited and induces growth and survival consequences for offspring (Bijleveld and Mullers,

2009; Lendvai and Chastel, 2008). However, the fact that most of these studies concern altricial species implying postnatal parental care makes it difficult to separate prenatal and postnatal influences of parental relationships.

Our study evaluated the impact of Japanese quail's pair bond on offspring phenotype. Using two different pairing situations, i.e. a male and a female were either continuously housed in the same cage or not, we focused on the consequences of pairing situation on partners' relationships and females' behaviours, their egg characteristics and development of their offspring. Under natural conditions, male and female quail form monogamous pairs during the reproduction period at least until egg incubation starts, pair bonds last for 38 days on average (Nichols, 1991). Throughout this period, the two mates develop a special relationship, synchronizing their activities independently of those of their neighbours, staying close to each other, actively searching for their partner when separated and actively defending their partner from attacks by other mating conspecifics (Nichols, 1991; Orcutt and Orcutt, 1976; Potash, 1975). Japanese quail pair bonds are reinforced by individual recognition (Riters and Balthazart, 1998), and a preference to mate with an affiliate partner (Galef, 2008). In this context of pairing, we hypothesized that continuous pairing would facilitate the development of a pair-bond between partners and modulate offspring behavioural development via non-genetic prenatal effects.

## 2. Results

### 2.1. Adults

**Activity in home cage.** Except for C females' interactions with their male, C and NC females in their home cages expressed all the behavioural items assessed in similar proportions, before and after the treatment, evidencing no influence of pair situation on their activity budgets (Mann-Whitney U-tests, $p > 0.05$).

**Emotional reactivity.** Females' tonic immobility durations did not differ significantly between the two sets either before or after treatment (Mann-Whitney U-test, before treatment: $m_C =$

119.13 ± 22.96 s, $m_{NC}$ = 73.60 ± 14.15 s, U = 78, p = 0.16; after treatment: $m_C$ = 91.07 ± 20.32 s, $m_{NC}$ = 119.20 ± 20.22 s, U = 83.5, p = 0.24).

**Pair-bond.** A PCA analysis differentiated the reactions of C and NC quail to separation and reunion with their pair-mate. The projection of variables is illustrated in fig. 1, presenting the centroids of individual projections for each set; loadings of variables on each dimension are illustrated in fig. 2. The first dimension discriminated males according to their *activity when in pairs,* i.e. before separation and after reunion with their female. It separates C males expressing comfort behaviours from NC males expressing more high observations, courtship and sexual vocalizations in the presence of females, indicating that their pair bond is not well established (Mann-Whitney U-tests of individual scores, $m_C$ = -0.40 ± 0.22, $m_{NC}$ = 0.40 ± 0.25, U = 64, p = 0.046). The second dimension discriminated individuals according to their level of *distress when separated* from their mate opposing the C males that expressed active search for their female on the upper part of the axis (high observation, crowing and locomotion) to NC males that expressed comfort behaviours on the lower part of the axis ($m_C$ = 0.53 ± 0.20, $m_{NC}$ = -0.53 ± 0.22, U = 192, p < 0.001).

The PCA analysis indicated a similar pattern for females. First, an *activity when in pairs* dimension differentiated C females that expressed comfort behaviours (on the left) from NC females that expressed high observation and locomotion (on the right). We found no significant differences between sets for this dimension ($m_C$ = -0.14 ± 0.29, $m_{NC}$ = 0.14 ± 0.22, U = 85, p = 0.263). The second dimension concerned mainly *distress when separated* contrasting C females that actively searched for their mate by expressing vocalizations and high observation (upper part of the axis) to NC females that expressed comfort behaviours during separation (lower part of the axis) ($m_C$ = 0.54 ± 0.25, $m_{NC}$ = -0.54 ± 0.18, U = 192, p < 0.001). Moreover, distress during separation was associated with courtship displays after reunion (fig. 1).

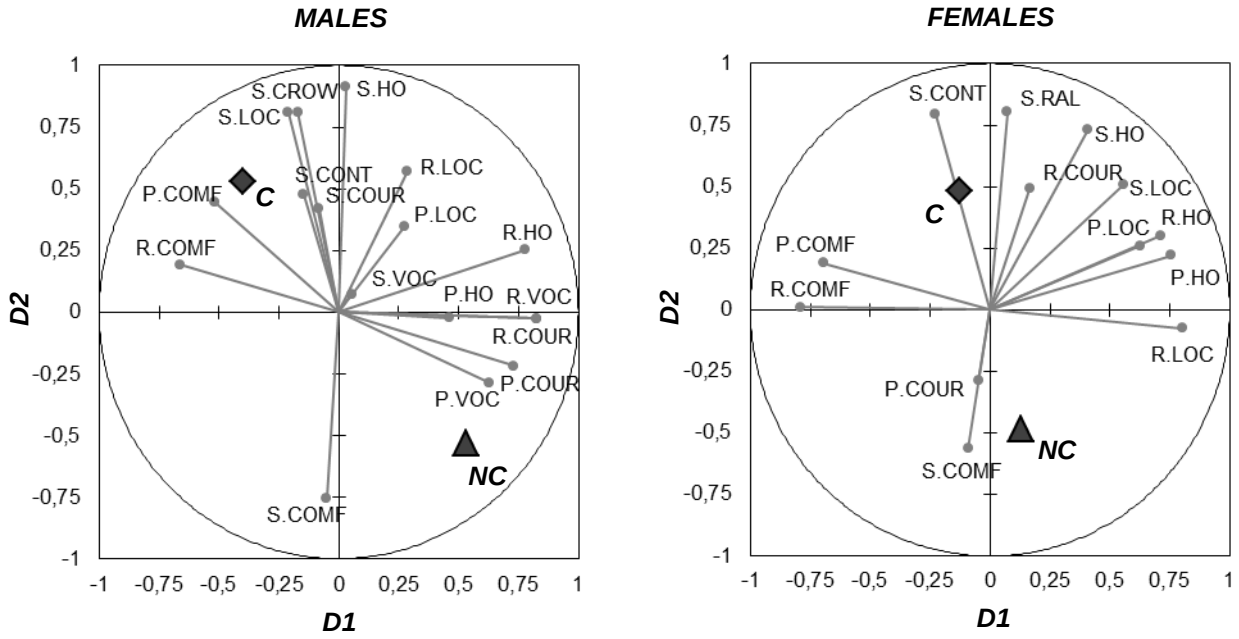



**Fig. 1. Males (left) and females (right) of continuous pairs search for their partner when separated.** Distribution in relation to the first two principal components extracted after principal component analyses (PCA). First letter: P: when in pair, S: when separated, R: after being reunited. Second letters: LOC: locomotion, HO: high observation, COMF: comfort behaviours, COUR: courtship, VOC: males' courtship vocalizations; CROW: males' crowing expressed during separation, RAL: females' rally calls expressed during separation and CONT: contact calls emitted by both sexes during separation. The 1st and the 2nd dimensions accounted respectively for 24.01% and 23.53% of total variation for males and 34.07% and 25.35% for females. Diamond: centroid of individual coordinates for the C set and triangle: centroid of individual coordinates for the NC set.

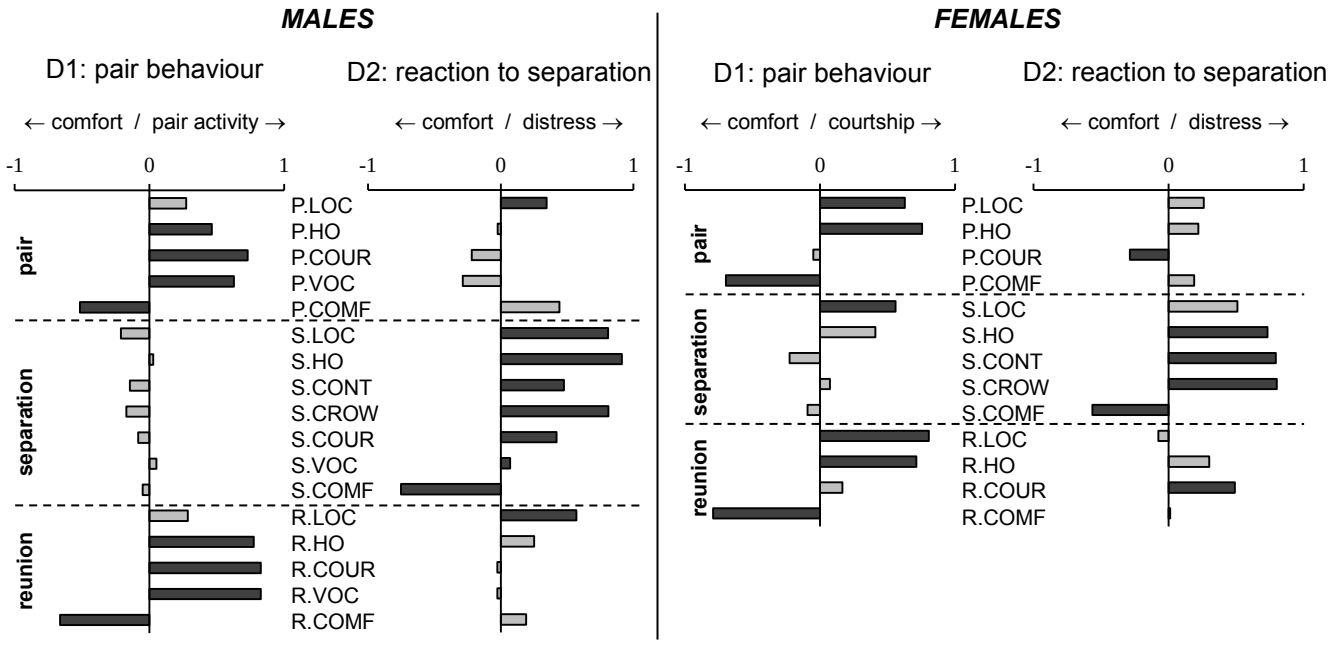



**Fig. 2. Loading of variables for males (left) and females (right) for the two first dimensions (D1 and D2) of the PCA.** First letter: P: when in pair, S: when separated, R: after being reunited. Second letters: LOC: locomotion, HO: high observation, COMF: comfort behaviours, COUR: courtship, VOC: males' courtship vocalizations; CROW: males' crowing expressed during separation, RAL: females' rally calls expressed during separation and CONT: contact calls emitted by both sexes during separation. Black bars: values > ± 0.40.

### 2.2. Eggs

C pairs tended to produce more fertilized eggs than did NC pairs (Mann-Whitney U-test: $m_{Cc}$ = 91.32% ± 6.61%, $m_{NCc}$ = 85.35% ± 5.32%, U = 269, p = 0.092). We could not evidence any other differences between the two sets concerning either egg traits (number laid, weight, length, proportions of albumen, yolk and shell, or the hormonal concentrations of androgens (testosterone and androstenedione) (table 1).

**Table 1. Egg characteristics for the two sets** (C and NC). Mean (± SEM) number, weight, length and width of all eggs laid from the third week to the end of the protocol, i.e. 28 days, for each set ($N_C$ = 355, $N_{NC}$ = 277). Component values (in %) and androgen levels (ng/g) were calculated for one egg per female ($N_C$ = 13, $N_{NC}$ = 15).

| | $m_C$ | $m_{NC}$ | $p$ |
|---|---|---|---|
| Number | 23.67 ± 0.83 | 25.13 ± 0.46 | 0.23 |
| Weight (g) | 13.98 ± 0.28 | 13.85 ± 0.29 | 1.00 |
| Length (mm) | 35.00 ± 0.33 | 34.69 ± 0.31 | 0.53 |
| Width (mm) | 27.02 ± 0.16 | 27.00 ± 0.19 | 0.93 |
| Shell proportion (%) | 8.47 ± 0.22 | 8.69 ± 0.16 | 0.29 |
| Yolk proportion (%) | 31.73 ± 0.67 | 32.16 ± 0.48 | 0.82 |
| Albumen proportion (%) | 59.80 ± 0.52 | 59.14 ± 0.47 | 0.31 |
| Testosterone (ng/g) | 9.69 ± 0.89 | 10.60 ± 1.07 | 0.72 |
| Androstenedione (ng/g) | 141.07 ± 14.58 | 163.50 ± 20.42 | 0.78 |

### 2.3. Offspring

#### *2.3.1. Development*

We found no significant differences between sets concerning sex ratio ($Cc_{males}$ = 46.99%, $NCc_{males}$ = 51.16%, Khi² = 3.84, dl = 1, p > 0.05). Chicks of C pairs tended to be lighter than chicks of NC pairs (table 2) at hatching, this difference became significant after a week. Cloacal vent width data did not reveal any differences in sexual development between the two sets (ANOVA: p > 0.05).

**Table 2. Mean (± SEM) weights of chicks of both sets** (Cc and NCc) in relation to age (from hatching to 4 weeks old) (N=175). Bold characters: significant differences. ANOVA, * p < 0.05.

| | $m_{Cc}$ (g) | $m_{NCc}$ (g) | p |
|---|---|---|---|
| D1 | 9.83 ± 0.11 | 10.08 ± 0.10 | 0.09 |
| D8 | 36.15 ± 0.78 | 38.22 ± 0.56 | **0.03** |
| D15 | 105.49 ± 1.87 | 108.02 ± 1.16 | 0.25 |
| D21 | 161.01 ± 2.54 | 164.02 ± 1.61 | 0.32 |
| D28 | 218.50 ± 2.98 | 215.74 ± 3.16 | 0.53 |

### *2.3.2. Emotional reactivity*

Tonic immobility tests could not evidence any differences between C and NC chicks, concerning either TI durations (Mann-Whitney U-test: $m_{Cc}$ = 59.65 ± 8.44 s, $m_{NCc}$ = 71.46 ± 7.32 s, U = 255.5, p = 0.17) or numbers of inductions ($m_{Cc}$ = 1.23 ± 0.08 s, $m_{NCc}$ = 1.20 ± 0.09 s, U = 368.0, p = 0.61). Emergence tests revealed that C chicks emerged from the box faster than NC chicks (fig. 3a). Furthermore, C chicks tended to walk more after their emergence ($m_{Cc}$ = 14.0 ± 0.80, $m_{NCc}$ = 11.9 ± 0.85, U = 281, p = 0.073). No other differences could be evidenced (Mann-Whitney U-test: p > 0.05). C chicks expressed fewer active (pacing, wall pecking) and passive (fear postures, low and high observation) fear reactions in the openfield (fig. 3b). They also pecked their environment less than did NC chicks (ground: $m_{Cc}$ = 1.77 ± 0.45, $m_{NCc}$ = 7.96 ± 2.05, U = 169, p = 0.005; walls: $m_{Cc}$ = 0.35 ± 0.16, $m_{NCc}$ = 2.17 ± 0.63, U = 178, p = 0.003). Similarly, C chicks were less fearful in the presence of the novel object, expressing fewer active fear reactions (fig. 3b) and preening more frequently ($m_{Cc}$ = 3.15 ± 0.50, $m_{NCc}$ = 1.82 ± 0.36, U = 187, p = 0.037).

### *2.3.3. Social behaviour*

Although no significant differences could be evidenced during the separation test, when C chicks were isolated from their conspecifics in an unfamiliar environment (i.e. openfield and novel object tests), they called sooner (in the novel object test: $m_{Cc}$ = 144.5 ± 20.55 s, $m_{NCc}$ = 225.68 ± 22.11 s, U = 148.5, p = 0.004) and more frequently (fig. 4a) than did

NC chicks. In the presence of unfamiliar conspecifics, C chicks entered the runway corridor later than did NC chicks ($m_{Cc}$ = 15.69 ± 8.25 s, $m_{NCc}$ = 10.43 ± 4.71 s, U = 252.5, p = 0.019), but reached the zone P quicker and spent less time far from unfamiliar conspecifics (fig. 4b). Moreover, C chicks tended to emit distress calls sooner ($m_{Cc}$ = 274.65 ± 10.40 s, $m_{NCc}$ = 289.43 ± 6.97 s, U = 305, p = 0.061) and more frequently ($m_{Cc}$ = 5.88 ± 2.23, $m_{NCc}$ = 2.23 ± 1.22, U = 310.5, p = 0.080) than did NC chicks.

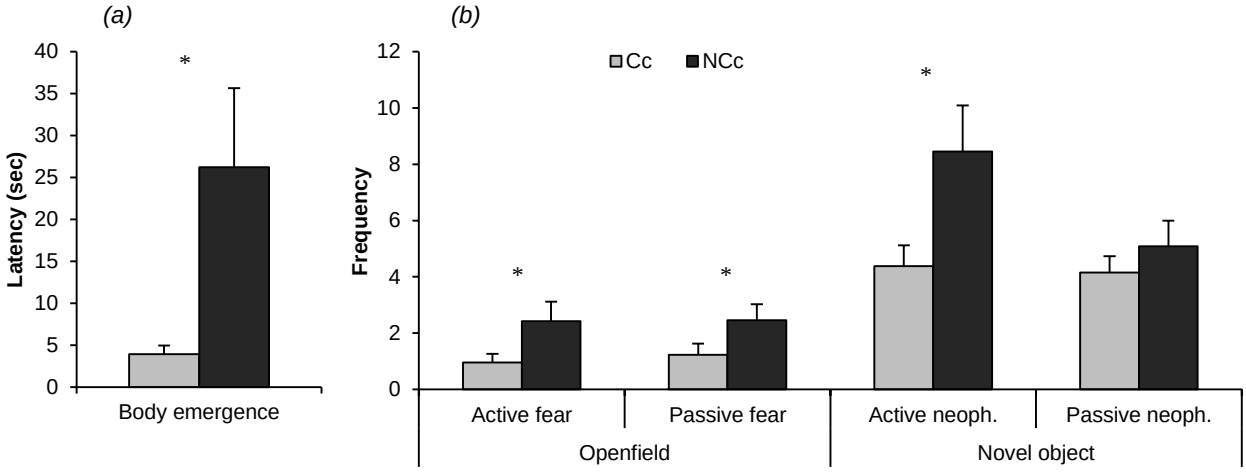



**Fig. 3. Chicks of C pairs are less fearful.** *(a)* latency of emergence and *(b)* frequency of fear behaviours in the openfield and novel object tests for C and NC chicks. Active fear: stereotypic locomotion and wall pecking in the openfield, locomotor avoidance of the novel object; passive fear: static fear postures and freezing, low and high observation postures. Means are given with SEM, Mann-Whitney U-test: * p < 0.05.

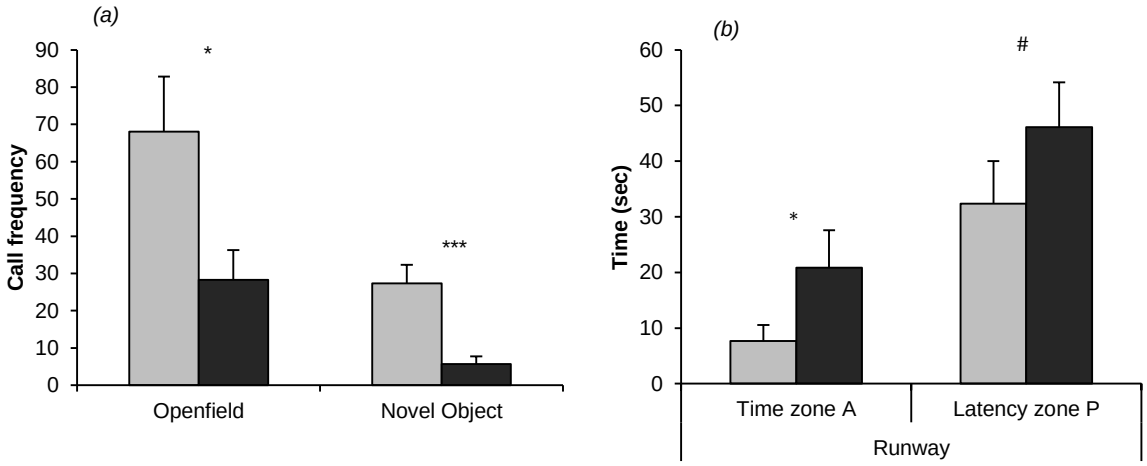



**Fig. 4. Chicks of continuous pairs are more social.** *(a)* call frequency in the openfield and novel object tests and *(b)* time spent in zone A of the runway and latency to arrive in zone P for Cc and NCc sets. Means are given ± SEM, Mann-Whitney U-tests: # p < 0.1, * p < 0.05, ***

## 3. Discussion

Our results showed that pair type influences the link between sexual partners and has an effect on offspring development.

We demonstrated that pair type influenced attachment between males and females, continuous pairing, but not non-continuous pairing, favoured the development of a pair bond. Whereas continuously paired males and females expressed comfort behaviours frequently when they were together, they expressed high levels of distress, such as locomotion, vigilance and vocalizations, when they were separated. These behaviours are generally associated with search for their social partner by isolated birds and are used as an indicator that Japanese quail pair bonds are well established (Mills et al., 1997; Potash, 1975; Rodríguez-Teijeiro et al., 2003; Thomson, 1964). These search behaviours are associated with increased plasma corticosterone levels, this physiological state being linked to disturbances (Remage-Healey et al., 2003; Shepherd and French, 1999). Following reunion, C females displayed courtship and this activity is known to be related to a good relationship between pair mates (Saint-Jalme, 1990). Comparatively, non-continuously paired males and females expressed comfort behaviours during separation, and males expressed vigilance, locomotion, vocalizations and courtship when their female was present. The fact that NC pairs show no distress during separation and more vigilance following reunion indicates that their pair bonds are not yet established. This is reinforced by the fact that NC males increased the frequency of their courtship displays following reunion whereas in a natural situation courtship decreases after pairing (Saint-Jalme, 1990).

Our results showed that both partners express attachment to their partner. Under natural conditions, quail partners synchronize their activities, remain in close proximity but at some distance from conspecifics (Nichols, 1991; Orcutt and Orcutt, 1976; Potash, 1975). This type of pair bonds can be beneficial for a male by increasing his paternity assurance and decreasing extra-pair copulations (Beecher and Beecher, 1979; Birkhead, 1979; Birkhead et al., 1987). Thus the development of a particular attachment to their female is important for mate guarding. Although a male does not provide any offspring parental care, he could have an indirect effect on the fitness of both his female and his offspring. The presence of male

white-tailed ptarmigans (*Lagopus leucura*), a Galliform with a mating system similar to that of Japanese quail, can increase females' foraging by their vigilance against predators and competitors (Artis and Martin, 1995). Moreover, male quail frequently offer food, especially invertebrates, to their female and this can be beneficial for females' energy state and thereby offspring survival (Pinczon du Sel 1994). Overall, a female's attachment to her mate could be important for her own fitness.

Our results revealed that the development of a pair bond affected offspring phenotype. Chicks of continuous pairs were lighter than NC chicks after hatching and one week later, although egg weights did not differ significantly between sets. Chicks of continuously paired parents presented a lower emotional reactivity, as they entered into a novel environment more quickly, expressed less fear there and less neophobia in the presence of a novel object. Furthermore, their social motivation was higher than that of NC offspring. Indeed, chicks of continuous pairs called sooner and more frequently when alone in a novel environment, reached unfamiliar conspecifics quicker and stayed near them for longer than did NC chicks. So, the existence of a pair bond in quail can modulate the growth and the behavioural phenotype of their offspring through a non-genetic prenatal process. The effects of mammal and bird females' social/sexual environment on the phenotype of their offspring have been analysed mainly in the context of a stressful social maternal environment. Prenatal social stress of mammal females (due to social instability, crowding, and agonistic social encounters) increases their offspring's emotional reactivity and impairs their social behaviours (Braastad, 1998; Kaiser and Sachser, 2005). Social instability of laying Japanese quail increases their offspring's emotional reactivity in the presence of novelty and when separated from conspecifics (Guibert et al., 2010). By contrast to stressful social situations our study shows that the establishment of a particular relationship with a partner can influence, prenatally, offspring development. Interestingly, whereas social stress induced an increase of quail offspring's emotional reactivity (Guibert et al. 2010) the establishment of a pair bond decreased offspring emotivity. Similar effects are observed when females are exposed to positive stimulations. For example, a physically-enriched maternal environment (i.e. a cage with numerous objects and a nest) decreased female mice pups' emotional reactivity in an open field (Maruoka et al., 2009). Similarly, tactile stimulations of pregnant rat dams (i.e. gentle stroking with a baby's hair-brush) reduced their pups' anxiety in an

open-field (Muhammad and Kolb, 2011). We cannot know, here, whether a continuous pairing is a more favorable situation for the females than non-continuous pairing. The fact that the behaviours (emotional reactivity, activities in home-cage) and reproductive performances of females of the two sets were similar seems to exclude potential effects of stress on non-continuous paired quail, and by contrast, the effects of a positive environment on continuous paired females. However, we showed that the ability for quail to build a pair bond influenced significantly their offspring's behavioural development, in a way similar to the effects of positive stimulations.

In our study, the effects of pairing type on offspring growth and behaviour cannot be related to modulation of egg yolk androgen levels as these levels were similar in the two sets of eggs. Previous studies showed that prenatal effects appeared linked to modulation of yolk hormonal contents. Indeed, many factors can influence yolk composition, such as females' intrinsic characteristics (e.g. maternal age, Guibert et al. 2012) and social environment (e.g. social instability: Guibert et al., 2010; Mazuc et al., 2003; breeding density: Reed and Vleck, 2001; Schwabl, 1997, Pilz and Smith, 2004; aggression by conspecifics: Whittingham and Schwabl, 2002). Moreover, males' characteristics influence androgen levels in eggs: females paired with attractive males, or having perceived attractive song emitted by males, lay eggs with higher levels of testosterone (Gil et al., 1999; Gil et al., 2004; Kingma et al., 2009). These yolk hormonal modulations can affect offspring growth and behaviour (Groothuis et al., 2005; Gil 2008), but these effects differ among studies and species. Increased yolk testosterone levels can enhance, or on the contrary impair, chicks' growth (Schwabl 1996; Eising et al. 2001; Pilz et al. 2004; Navara et al. 2006; Sockman & Schwabl 2000; Rubolini et al. 2006, Guibert et al. 2010; 2011). Similarly, increased yolk androgen levels can be either positively or negatively associated with chicks' emotional reactivity (Daisley et al. 2005; Okuliarova et al. 2007; Bertin et al. 2009; Guibert et al. 2010; 2011). Thus relationships between yolk androgen modulations and chicks' morphological and behavioural development are not clear and could be modulated by hormonal concentrations (with a U-shaped effect) (Groothuis and Schwabl, 2008), but also by other egg components. Avian egg yolks contain many components of maternal origin including carotenoids (Sauveur, 1988), thyroid hormones (McNabb and Wilson, 1997; Wilson and McNabb, 1997), or albumen antibodies and lysozymes (Boulinier and Staszewski, 2008) that can be modulated by

females' environment and affect offspring growth and immunity (Gil, 2008; Saino et al., 2002). Moreover, yolk estrogens, progesterone and corticosterone can also influence offspring development (Hayward and Wingfield, 2004; Groothuis et al., 2005; Gil, 2008; Henriksen et al., 2011). In this study, we can hypothesize the implication of mesotocin and vasotocin in these prenatal effects. As the formation of birds' pair bonds appears to be modulated by mesotocin and vasotocin, homologues of mammals' oxytocin and vasopressin (Klatt and Goodson, 2012; Perdersen and Tomaszycki, 2012), we reasonably suggest that our two sets of quail did not present the same levels of these nonapeptides. This raises questions concerning the influence of potential modulation of the oxytocinergic system on offspring. Vasotocin has been found in hens' ovary (Chaturvedi et al., 1994; Saito and Grossman, 1999) and it is precisely in the ovary, during yolk formation, that maternal state can modulate egg hormonal deposition impacting subsequent offspring development. All these considerations suggest implication of nonapeptides in the prenatal influence of parental relationships, probably through cascading actions. So, a variety of mechanisms could be involved in the observed prenatal maternal effects.

Prenatal influence could also include epigenetic inheritance processes. Many authors have investigated the involvement of histone acetylation and DNA methylation in the epigenetic regulation of genes (Borrelli et al., 2008; Danchin et al., 2011; Franklin et al., 2010, Jensen, 2013). For example, a stressful environment can change hens' hypothalamic gene expression profile, changes that are also found in their chicks, suggesting either inheritance or acquisition in the specific egg environment (Lindqvist et al., 2007). Similarly, among the multiple paths of epigenetic inheritance, the involvement of fathers must not be neglected. Our study focused on pair bond relationships that include both male and female as potential vectors of prenatal influence. In this context, males can have a direct impact on offspring through their gametes, potentially impacted by their living conditions (i.e. an attachment to a female or not in our case) via epigenetic mechanisms. Several reports investigated epigenetic paternal inheritance in mammals, in contrast to maternal effects, when maternal effects on germ cells are difficult to separate from effects of gestating environment (Anderson et al., 2006; Carone et al., 2010; Wei et al., 2014). No study to our knowledge has investigated paternally induced transgenerational inheritance in birds that could occur either directly through germ lines, or indirectly through females' modulation of yolk hormones, implicating

both parents in prenatal effects on offspring.

Prenatal modulation of offspring development raises the question of its adaptive consequences on offspring survival and parental fitness. Prenatal maternal influences can be adaptive by preparing offspring to particular postnatal environments. In a competitive context (for example a high density population) heavier offspring could be advantaged as they could express stronger competitive behaviour (i.e. aggressiveness, Groothuis et al., 2005). Thus, the adaptive consequences of prenatal maternal effects are related to postnatal living conditions. Although being lighter at fledging could induce greater subsequent fitness costs and poorer survival rates (Jarvis, 1974), lighter weight at hatching could be on the contrary an advantage in an expected restrictive environment (for example when food is scarce) (Henriksen et al., 2011). A recent report suggests that the adaptive significance of maternal prenatal influences should be considered more globally, by investigating systematically long-term consequences for the fitness of both mothers (or parents) and offspring (Sheriff and Love, 2013). The different phenotypes of our chicks could be related to two different strategies. Chicks of continuous pairs were lighter but less emotive, so they could compensate their lighter weight by more opportunistic behaviours (i.e. exploration of new food sources for example). This phenotype could be adaptive in a less constraining or stable environment (in terms of social/sexual interactions and food availability) that could be mimicked in the context of continuous pairing (i.e. with a stable sexual relationship). By contrast, chicks of non-continuous pairs were heavier but more fearful, and this could limit their exploratory behaviour but also increase their survival rate (by enhancing their vigilance) in a more constraining environment. Our non-continuous pairing situation can mimic this more constraining environment as sexual interactions are unstable. So, for parents, their social/sexual context could carry information about environmental conditions that could modulate offspring phenotype to increase their fitness. The characteristics of relationships between sexual partners can be an important factor influencing the phenotypic variability of populations in their evolution process.

***Conclusion***

We show here for the first time that continuous interactions between a male and a female Japanese quail is important for pair bonding, and that in turn a subsequent attachment forms a prenatal parental influence that strongly impacts chicks' social and emotive behaviour. By addressing the consequences of a lasting male/female relationship on the behaviour of both parents and offspring, our experiment opens an innovating field of research, especially regarding the mechanisms underlying the effects of the sexual environment as a prenatal influence.

# 4. Material and methods

## 4.1. Ethics

This study was approved by the regional ethics committee (agreement number: R-2012-SLu-01). Experiments were approved by the departmental direction of veterinary services (Ille-et-Vilaine, France, Permit number 005283) and were performed in accordance with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC).

## 4.2. Parental generation

### *4.2.1. Subjects*

Adult Japanese quail, *Coturnix c. Japonica*, (six weeks old) came from a broiler line and were provided by an industrial farm (Les cailles de Chanteloup, Ille-et-Vilaine, France). On their arrival at the laboratory 30 males and 30 females were placed individually in batteries in the same room (male cages: 35 x 25 x 21 cm; female cages: 33 x 50 x 23 cm) at 20 ± 2°C and with a LD 12:12 light cycle; this experimental room has been designed in order that all birds could have visual and auditory contacts with congeners, and even some tactile ones with neighbours. Water and food were provided *ad libitum*. After 2 weeks of habituation, 30 pairs were formed randomly, and each female met her assigned male for one

hour, the male being placed in the female's cage. This meeting occurred two other times, 3 and 6 days later. After this third meeting (defined as day 1 of the pairing protocol) and for 6 weeks, 15 males were left in their female's cage (continuously-paired: set C), whereas the other 15 males were returned to their cages and were put in their female's cage 3 times a week for 5 minutes between 09:30 and 10:30 am (non-continuously-paired: set NC). This time between two pairing of NC can ensure fecundation of all eggs as sperm can be stored in a female's genital tract for several days without any loss of its fertilizing capacity (Birkhead and Møller, 1993).

#### *4.2.2. Behavioural observations*

***Activity in home cage.*** We assessed the activity of the females in their home cage by *instantaneous scan sampling* on days 11 and 35 of the protocol (30 scans per activity-budget with 5-minutes intervals), when NC males were not in their female's cages. Hidden behind a one-way mirror, each scan recorded: maintenance behaviour (preening, dust bathing, resting, and defecation), locomotion (walking, running), "pacing" stereotypic locomotion (i.e. walking back and forth), exploration (i.e. pecking floor and cage), jumps, observation posture based on body position: vigilance (i.e. fixed posture: a quail stands upright on her tarsi and stretches her neck), high (i.e. similar to vigilance posture but the quail is not standing), medium (i.e. body neither stretched nor crouching) and low observation postures (i.e. the quail appears frightened and glances at her environment with neck stretched parallel to the floor, lower than her body), and fear postures (standing or walking slowly with ruffled feathers, or freezing i.e. fixed low posture).

***Emotional reactivity.*** Tonic immobility tests evaluated the emotional reactivity of the females of the two sets. In a dark room, a subject is maintained on her back for 10 seconds, head facing downwards, in a U-shaped wooden device. Tonic immobility (TI) duration, an anti-predator behaviour, is positively correlated with a subject's level of fear (Mills et al., 1994). Induction is successful when the quail does not move for at least 10 seconds. TI duration (i.e. until the quail stands up, with a maximum of 300 seconds) and the number of inductions (maximum of 5) are recorded. This test was replicated once the week before, and 6 weeks after, pairing C and NC subjects.

***Pair-bond.*** Separation-reunion tests assessed the level of affiliative attachment between the male and the female of each pair two weeks after pairing. First, we observed the behaviour of each member of the pair when they were together in a novel environment (a 100 x 44 x 32 cm cage with wood shavings) for 6 minutes. Then the male was removed and placed in a similar cage in another room for 6 minutes so that the two members of the pair could neither see nor hear each other. Finally, the male was placed again with the female for 6 minutes. During these three phases, we noted all behaviours: locomotion, maintenance, observations, stereotypies, vocalizations (contact calls i.e. a short distance vocalization, female's rally calls and male's crowing i.e. long distance vocalizations and male courtship vocalizations) and sexual interactions (i.e. male and female courtship displays and copulations). To avoid an effect of NC male's arrival during the test, each NC male was placed in his female's cage for five minutes before the test started.

#### *4.2.3. Eggs*

***Collection and incubation.*** As the formation of a pair bond can take several days and as the formation of a yolk takes 7 days (Sauveur and Picard 1987), fertilized eggs from each pair were collected only after 15 days of pairing and then for 28 days. Eggs were marked and measured (weight, length and width) each morning. Broken eggs were recorded but not measured. All eggs were then stored at 16 ± 1°C but we used only the last ten eggs produced by each pair to produce chicks. These eggs (N=300) were artificially incubated in the laboratory (Ova-Easy Advance 380, Brinsea ©, USA). During the first 14 days in the incubator, eggs were maintained at 37.7°C with a relative humidity of 45% and with a 45° automatic rotation of the plate twice a day. During the last 3 days, temperature was decreased to 37.2°C, humidity was raised to 60%, and plate rotation was stopped. Eggs that did not hatch were opened to evaluate embryonic development.

***Hormonal assays.*** One week before eggs were placed in the incubation, one of each pair's eggs was frozen for subsequent hormonal analyses. Our enzyme immuno-assays (EIA) were adapted from Guibert et al.'s method (2010). For steroid extraction, frozen yolks were separated from shell and albumin and then weighed. As the distribution of hormones varies between egg strata (Möstl et al., 2001) the entire yolk was mixed before analysis. Each yolk

was then suspended in 10ml of water and vortexed. For testosterone assay, 1ml of the suspension was transferred into a new vial. The suspension was then diluted with 4ml of methanol, vortexed for 30min and stored at -20°C overnight in order to precipitate apolar lipids. Afterwards samples were centrifuged (-10°C, 2500g, 10min) and 10µl of the supernatant were transferred into a new vial, centrifuged again in order to be dried (60°C, 2500g, 10min), and finally dissolved in 500µl of EIA buffer. For androstenedione assay, 100µL of the yolk and water solution was diluted in 1mL of diethylether, vortexed and stored similarly as for testosterone. After centrifugation, 10µL of the supernatant were centrifuged and dried, then dissolved in 100µL of EIA buffer, 10µL of this solution being diluted again in 990µL of EIA buffer. The concentrations of testosterone and androstenedione were evaluated according to EIA kit procedures (Enzo Life Sciences and Oxford Biomedical Research, respectively). The concentrations of hormones in yolk samples were estimated using a standard plot and expressed as ng/g of yolk. Intra-assay coefficients for testosterone and androstenedione were under 10.12% and 6.58%, respectively, inter-assay coefficients were under 15.11% and 4.13% respectively.

### 4.3. Chicks

#### *4.3.1. Housing and development*

As hatching of eggs laid the same day can be spread out over three days, we kept only chicks that hatched on the 17$^{th}$ day of incubation (this day corresponding to the hatching peak) for this study in order to standardize age and early experience. After hatching, 86 chicks of continuous pairs (Cc set) and 89 chicks of non-continuous pairs (NCc set) were marked with coloured rings around their tarsi and housed by set in small rooms (200 x 200 cm, approximately 45 chicks per room) with wood shavings covered by a mesh mat to facilitate chicks' locomotion during their first week. Two heaters (38 ± 1 °C) and a green light on 24h/24h were placed in each box with a LD 12:12 light cycle, and chicks were fed *ad libitum* with starting poultry meal. After two weeks, heaters and green lights were removed and the starting meal was gradually replaced by adult poultry meal. Chicks were weighed at hatching, and then each week for 5 weeks. Their sexual development was assessed 3 weeks after hatching, when males and females could be differentiated by plumage, by measuring

the cloacal vent.

#### *4.3.2. Behavioural tests*

Behavioural tests assessed C and NC chicks' intrinsic emotional reactivity (tonic immobility), in the presence of novelty or social isolation (i.e. emergence, openfield and novel object tests), and social motivation (i.e. runway test). All observations, except the runway tests that were screened, were recorded behind a one-way mirror. We tested two chicks of each parental pair, one male and one female, selected randomly, to counterbalance possible parent effects or chick sex effects. When it was not possible to test one chick of each sex of a pair, we tested two chicks of the same sex. Finally, as parental pairs with no or a single chick were excluded from chick analyses (i.e. two C pairs) we tested 56 chicks, 26 C (12 males and 14 females) and 30 NC (17 males and 13 females). We describe below the test protocols in relation to chick age.

***Tonic immobility (Post-hatching day, PHD, 10).*** The protocol was similar to that used for adult quail (see 4.2.2.).

***Separation test (PHD 11-12).*** To assess the reactivity of chicks when separated from their conspecifics, all the chicks of one room were transferred into another identical room. Then, each test subject was placed alone in the centre of its home room, and observed for 3 minutes. The observer recorded latencies of first step and first call, numbers of steps and calls, maintenance behaviours, locomotion, pacing, exploration, jumps, observation postures and fear postures that are similar to those described above for parents.

***Emergence test (PHD 14-15).*** The chick was placed in a little opaque box (18 x 18 x 18 cm) for one minute, during which latency of 1$^{st}$ distress call and number of calls were recorded. One side of the box was then opened and the subject was allowed 3 minutes to leave the box and go into a large lighted cage (62 x 60 x 33 cm) with wood shavings. Emergence latency is positively correlated with fear level (Jones, 1987; Mills and Faure, 1986). This latency was recorded and, for 3 minutes, all behaviours of chicks in the large cage: latency of 1$^{st}$ distress call and numbers of calls, maintenance behaviours, locomotion, exploration, jumps, observation postures and fear postures.

***Runway test (PHD 17-18).*** The chick was placed for 1 minute behind a transparent wall, at one end of a corridor (width = 30 cm, length = 100 cm). The social stimulus was a cage with 3 same-aged unfamiliar chicks placed at the opposite end of the corridor. The observer recorded latency and number of distress calls when the quail was in the start zone, then he raised the transparent wall so that the subject had access to the corridor. The observer recorded latency to emerge into the corridor; the subjects were allowed a maximum of 3 minutes to emerge. Once the chick was in the corridor, the observer recorded, for 5 minutes, time spent in the different zones of the corridor, which was divided into three 32cm-long zones (named A to C, beginning near the start zone) and one 4cm-long zone (P: close to the conspecifics' cage). The observer also recorded the latency and number of distress calls, the numbers of jumps, fear postures, and contacts with conspecifics that could be either positive (exploration of cage) or negative (aggression of conspecifics in cage). These traits indicate the level of social motivation of a chick (Mills et al., 1995; Suarez and Gallup, 1983).

***Openfield test (PHD 24 to 26).*** A chick was placed in the dark in the middle of a polygonal enclosure (9 sides, area = 1 $m^2$) with white opaque walls (60 cm high) and wood shavings. The observer switched on the light and then recorded all behaviours for 5 minutes to assess the subject's fear and social motivation levels (Faure et al. 1983): latencies of first step and of first call, and numbers of steps, calls, maintenance behaviours, locomotion, exploration, jumps, observation postures and fear postures.

***Novel-object test (PHD 24 to 26).*** Immediately after the openfield test, the light was switched off, an unfamiliar object (a yellow and black T-shape object, 20 cm high) was placed against a wall, and the subject was placed against the opposite wall before light was switched on again. The observer recorded for 10 minutes all the behaviours of the chick: moving away, escape, jumps and fear postures, i.e. activities that are positively correlated with fear (Jones, 1996); approach, exploration (of environment and novel-object), feeding, maintenance behaviours, and observation postures. Simultaneously an instantaneous scan sampling recorded every 10 seconds where the chick was located: half-cage opposite the novel-object or close to it or a 3$^{rd}$ zone corresponding to a semicircle around the novel object with a diameter of one chick-length.

### 4.4. Statistical analyses

A PCA analysed pair bond test data to extract pair behaviours when together and during separation. The centroid of the individual coordinates of each set was calculated to locate C and NC males and females on the variable axes. ANOVAs were used to compare continuous variables (weight, cloacal vent width) of sets, after checking that data were normally distributed. All the other variables (chicks' and parents' behaviours, ACP individual scores, yolk hormonal levels) were analysed using non-parametric tests (Mann-Whitney). Some data were pooled to categorize variables, as for instance fear behaviours (passive fear included freezing, low and high observations, active fear included stereotypic and avoidance locomotion and wall pecking), and comfort (preening, dust bathing and resting). Kendall's non-parametric concordance evaluated correlations between parents' and chicks' behaviours. Data were analysed with Statistica 10 and XLstat 2011.3.02.

**Acknowledgements**

We thank Dr A. Laurence and C. Petton for their help during experimental stage, and we are grateful to Dr Ann Cloarec for the improvement of the writing of the manuscript.

## References

**Adkins-Regan, E., Banerjee, S. B.Correa, S. M. and Schweitzer, C.** (2013). Maternal effects in quails and zebra finches: Behaviour and hormones. *Gen. Comp. Endocr.* **190**, 34-41.

**Amat, J. A.** (2000). Courtship feeding, food sharing, or tolerated food theft among paired Red-crested Pochards (*Netta rufina*)? *J. Ornithol.* **141**, 327-334.

**Anderson, L. M., Riffle, L., Wilson, R., Travlos, G. S., Lubomirski, M. S. and Alvord, W. G.** (2006). Preconceptional fasting of fathers alters serum glucose in offspring of mice. *Nutrition* **22**, 327-331.

**Artis, T. and Martin, K.** (1995). Male vigilance in white-tailed ptarmigan, *Lagopus leucurus*: mate guarding or predator detection? *Anim. Behav.* **49**, 1249-1258.

**Beecher, M. D. and Beecher, I. M.** (1979). Sociobiology of bank swallows: reproductive strategy of the male. *Science* **205**, 1282-1285.

**Bertin, A., Houdelier, C., Lumineau, S., Formanek, L. and Richard-Yris, M.-A.** (2008). Influence of early experience with mothers on the development of social and emotional behaviour in Japanese quail. In: *Biological Psychology: New Research* (Piccard, L.N. Ed.), pp. 193-211. Nova Science Publisher, New-York.

**Bertin, A., Richard-Yris, M. A., Möstl, E. and Lickliter, R.** (2009). Increased yolk testosterone facilitates

prenatal perceptual learning in Northern bobwhite quail (*Colinus virginianus*). *Horm. Behav.* **56**, 416-422.

**Bijleveld, A. I. and Mullers, R. H.** (2009). Reproductive effort in biparental care: an experimental study in long-lived Cape gannets. *Behav. Ecol.* **20**, 736-744.

**Birkhead, T. R.** (1979). Mate guarding in the magpie *Pica pica*. *Anim. Behav.* **27**, 866-874.

**Birkhead, T. R. and Møller, A. P.** (1993). Sexual selection and the temporal separation of reproductive events: sperm storage data from reptiles, birds and mammals. *Biol. J. Linn. Soc* **50**, 295-311.

**Birkhead, T. R., Atkin, L. and Møller, A. P.** (1987). Copulation behaviour of birds. *Behaviour*, 101-138.

**Bjorklund, D. F.** (2006). Mother knows best: Epigenetic inheritance, maternal effects, and the evolution of human intelligence. *Developmental Review* **26**, 213-242.

**Black, J.M.** (1996). Introduction: pair bonds and partnerships. In: *Partnerships in Birds – the study of monogamy* (Oxford onythology series)

**Borrelli, E., Nestler, E. J., Allis, C. D. and Sassone-Corsi, P.** (2008). Decoding the epigenetic language of neuronal plasticity. *Neuron* **60**, 961-974.

**Boulinier, T. and Staszewski, V.** (2008). Maternal transfer of antibodies: raising immuno-ecology issues. *Trends Ecol. Evol.* **23**, 282-288.

**Braastad, B.O.** (1998). Effects of prenatal stress on behaviour of offspring of laboratory and farmed mammals. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **61**, 159-180.

**Carone, B. R., Fauquier, L., Habib, N., Shea, J. M., Hart, C. E., Li, R. W., Bock, C., Li, C. J., Gu, H. C., Zamore, P. D. et al.** (2010). Paternally induced transgenerational environmental reprogramming of metabolic gene expression in mammals. *Cell* **143**, 1084-1096.

**Chaturvedi, C. M., Zheng, Z., Koike, T. I. and Cornett, L. E.** (1994). Arginine vasotocin gene expression in neuroendocrine, reproductive and gastrointestinal tissues of the domestic fowl: detection by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Neurosci. Letters* **178**, 247-250.

**Coulson, J. C.** (1966). The influence of the pair-bond and age on the breeding biology of the kittiwake gull *Rissa tridactyla*. *J. Anim. Ecol.* **35**, 269–279.

**Coulson, J. C.** (1972). The significance of the pair bond in the kittiwake. *Proceedings of the International Ornithological Congress* **15**, 424–433.

**Daisley, J., Bromundt, V., Möstl, E. and Kotrschal, K.** (2005). Enhanced yolk testosterone influences behavioral phenotype independent of sex in Japanese quail chicks *Coturnix japonica*. *Horm. Behav.***47**, 185-194.

**Danchin, E., Charmantier, A., Champagne, F. A., Mesoudi, A., Pujol, B. and Blanchet, S.** (2011). Beyond DNA: integrating inclusive inheritance into an extended theory of evolution. *Nature Reviews Genetics* **12**, 475-486.

**Diamond, J. M.** (1987). A darwinian theory of divorce. *Nature* **329**, 765-766.

**Dloniak, S. M., French, J. A. and Holekamp, K. E.** (2006). Rank-related maternal effects of androgens on behaviour in wild spotted hyaenas. *Nature* **440**, 1190-1193.

**Eising, C. M., Eikenaar, C., Schwabl, H. and Groothuis, T. G.** (2001). Maternal androgens in black-headed gull (*Larus ridibundus*) eggs: consequences for chick development. *Proc. Roy. Soc. London B* **268**, 839-846.

**Emery, N. J., Seed, A. M., Von Bayern, A. M. and Clayton, N. S.** (2007). Cognitive adaptations of social bonding in birds. *Philos. T. Roy. Soc. B* **362,** 489-505.

**Ens, B. J., Choudhury, S. and Black, J. M.** (1996). Mate fidelity and divorce in monogamous birds. *Oxford Ornithology Series* **6**, 344-401.

**Fairbanks L. A.** (1996). Individual Differences in Maternal Style: Causes and Consequences for Mothers and offspring. In: *Adv. Stud. Behav*. Academic Press: Rosenblatt J. and Snowdon C. **25**, 579–611.

**Faure, J. M., Jones, R. B. and Bessei, W.** (1983). Fear and social motivation as factors in open field behaviour of the domestic chick. A theoretical consideration. *Biol. Behav.* **8**, 103-116.

**Francis, D. D., Diorio, J., Liu, D. and Meaney, M. J.** (1999). Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. *Science* **286**, 1155-1158.

**Franklin, T., Russig, H., Weiss, I. and Gräff, J.** (2010). Epigenetic transmission of the impact of early stress across generations. *Biol. Psychiat.* **68**, 408-415.

**Galef, B. G.** (2008). Social influences on the mate choices of male and female Japanese quail.

*Comparative Cognition & Behavior Reviews*, **3**, 1-12.

**Gil, D.** (2008). Hormones in avian eggs: physiology, ecology and behavior. *Adv. Stud. Behav.* **38**, 337-398.

**Gil, D., Graves, J., Hazon, N. and Wells, A.** (1999). Male attractiveness and differential testosterone investment in zebra finch eggs. *Science* **286**, 126-128.

**Gil, D., Heim, C., Bulmer, E., Rocha, M., Puerta, M. and Naguib, M.** (2004). Negative effects of early developmental stress on yolk testosterone levels in a passerine bird. *J. Exp. Biol.* **207**, 2215-2220.

**Groothuis, T. G. G. and Schwabl, H.** (2008). Hormone-mediated maternal effects in birds: mechanisms matter but what do we know of them? *Philos. Trans. R. Soc. B* **363**, 1647-1661.

**Groothuis, T. G. G., Müller, W., von Engelhardt, N., Carere, C. and Eising, C. M.** (2005). Maternal hormones as a tool to adjust offspring phenotype in avian species. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **29**, 329-52.

**Guibert, F., Richard-Yris, M.-A. Lumineau, S., Kotrschal, K., Guémené, D., Bertin, A., Möstl, E. and Houdelier, C.** (2010). Social Instability in Laying Quail: consequences on Yolk Steroids and Offspring's Phenotype. *PLoS One* **5**. (DOI: 10.1371/journal.pone.0014069)

**Guibert, F., Richard-Yris, M. A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Bertin, A., Petton, C., Möstl, E. and Houdelier, C.** (2011). Unpredictable mild stressors on laying females influence the composition of Japanese quail eggs and offspring's phenotype. *App. Anim. Behav. Sci.* **132**, 51-60.

**Guibert, F., Richard-Yris, M.-A. Lumineau, S., Kotrschal, K., Möstl, E. and Houdelier, C.** (2012). Yolk testosterone levels and offspring phenotype correlate with parental age in a precocial bird. *Physiology & behavior*, **105**, 242-250.

**Hall, M. L.** (1999). The importance of pair duration and biparental care to reproductive success in the monogamous Australian magpie-lark. *Aust. J. Zool.* **47**, 439-454.

**Hayward, L. S. and Wingfield, J. C.** (2004). Maternal corticosterone is transferred to avian yolk and may alter offspring growth and adult phenotype. *Gen. Comp. Endocrinol.* **135**, 365-371.

**Henriksen, R., Rettenbacher, S. and Groothuis, T. G. G.** (2011). Prenatal stress in birds: Pathways, effects, function and perspectives. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35, 1484-1501.

**Houdelier, C., Pittet, F., Guibert, F., de Margerie, E. and Lumineau, S.** (2013). Non- genetic Inheritance in Birds: transmission of behaviour from mother to offspring. *Non-Genet. Inherit.* **1**: 62–68.

**Jacot, A., Valcu, M., and Kempenaers, B.** (2010). Within-season divorce in Blue Tits (*Cyanistes caeruleus*). *J. Ornithol.* **151**, 477-482.

**Jarvis, M. J. F.** (1974). The Ecological Significance of Clutch Size in the South African Gannet (*Sula capensis* (Lichtenstein). *J. Anim. Ecol.* **43,**1-17.

**Jensen, P.** (2013). Transgenerational epigenetic effects on animal behaviour. *Prog. Biophys. Mol. Bio.* **113**, 447-454.

**Jones, R. B.** (1987). The assessment of fear in the domestic fowl. In: *Cognitive aspects of social behaviour in the domestic fowl* (Zahan, R. & Duncan, I.J.H. Eds.), pp. 40-81. Elsevier, Amsterdam.

**Jones, R. B.** (1996). Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives. *World Poult. Sci. J.* **52**, 131-174.

**Kaiser, S. and Sachser, N**. (2005). The effects of prenatal social stress on behaviour: mechanisms and function. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **29**, 283-294.

**Kingma, S., Kondeur, J., Vedder, O., von Engelhardt, N., Korsten, P. and Groothuis, T. G. G.** (2009). Manipulation of male attractiveness induces rapid changes in avian maternal yolk androgen deposition. *Behav. Ecol.* **20**, 172-179.

**Klatt, J. D. and Goodson, J. L.** (2013). Oxytocin-like receptors mediate pair bonding in a socially monogamous songbird. *Proc. Roy. Soc. London B* **280**, 20122396.

**Komdeur, J., and Hatchwell, B. J.** (1999). Kin recognition: function and mechanism in avian societies. *Trends Ecol. Evol.* **14**, 237-241.

**Lendvai, Á. Z. and Chastel, O.** (2008). Experimental mate-removal increases the stress response of female House Sparrows: The effects of offspring value? *Horm. Behav.* **53**, 395-401.

**Lindqvist, C., Janczak, A. M., Nätt, D., Baranowska, I., Lindqvist, N., Wichman, A., Lundeberg, J., Lindberg, J., Torjesen, P. A. and Jensen, P.** (2007). Transmission of stress-induced learning impairment and associated brain gene expression from parents to offspring in chickens. PLoS One **2**, e364.

**Maruoka, T., Kodomari, I., Yamauchi, R., Wada, E. and Wada, K.** (2009). Maternal enrichment affects

prenatal hippocampal proliferation and open-field behaviors in female offspring mice. *Neurosci. Lett.* **454**, 28-33.

**Matt, D. W., Lee, J., Sarver, P. L., Judd, H. L. and Lu, J. K.** (1986). Chronological changes in fertility, fecundity and steroid hormone secretion during consecutive pregnancies in aging rats. *Biol. Reprod.* 34, 478-487.

**Mazuc, J., Bonneaud, C., Chastel, O. and Sorci, G.** (2003). Social environment affects female and egg testosterone levels in the house sparrow (*Passer domesticus*). *Ecol. Lett.* **6**, 1084-1090.

**McNabb, F. M. A. and Wilson, C. M.** (1997). Thyroid hormone deposition in avian eggs and effects on embryonic development. *Amer. Zool.* **37**, 553 -560.

**Mills, A. D. and Faure J. M.** (1986). The estimation of fear in domestic quail: correlations between various methods and measures. *Biol. Behav.* 11, 235-243.

**Mills, A. D., Launay, F., Jones, R. B., Williams, J. and Faure, J. M.** (1994). Sélection divergente sur la peur et la socialité chez la caille japonaise Coturnix japonica: Réponses et conséquences. In: *Comportement et bien-être animal* (Picard, M., Porter, R. & Signoret, J.P. Eds.), pp. 127-139. Versailles.

**Mills, A. D., Jones, R. B. and Faure J. M. (**1995). Species-specificity of social reinstatement in Japanese quail *Coturnix japonica* genetically selected for high or low-levels of social reinstatement behaviour. *Behav. Proc.* **34**, 13-22.

**Mills, A. D., Crawford, L. L., Domjan, M. and Faure, J. M**. (1997). The behavior of the Japanese or domestic quail Coturnix japonica. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **21**, 261-281.

**Möstl, E., Spendier, H. and Kotrschal, K.** (2001). Concentration of immunoreactive progesterone and androgens in the yolk of hens' eggs (Gallus domesticus). *Wien. Tierarztl. Monat.* **88**, 62-65.

**Muhammad, A. and Kolb, B.** (2011). Prenatal tactile stimulation attenuates drug-induced behavioral sensitization, modifies behavior, and alters brain architecture. *Brain Res.* **1400**, 53-65.

**Navara, K. J., Hill, G. E. and Mendonça, M. T.** (2006). Yolk testosterone stimulates growth and immunity in house finch chicks. *Physiol. Biochem. Zool.* **79**, 550-555.

**Nichols, C. R.** (1991). A comparison of the reproductive and behavioural differences in feral and domestic Japanese quail, thesis of the University of British Columbia.

**Nisbet, I. C. and Dann, P.** (2009). Reproductive performance of little penguins *Eudyptula minor* in relation to year, age, pair-bond duration, breeding date and individual quality. *J. Avian Biol.* **40**, 296-308.

**Okuliarová, M., Škrobánek, P. and Zeman, M.** (2007). Effect of increasing yolk testosterone levels on early behaviour in Japanese quail hatchlings. *Acta Veterinaria Brno* **76**, 325-331.

**Okuliarová, M., Skrobánek, P. and Zeman, M.** (2009). Variability of yolk testosterone concentrations during the reproductive cycle of Japanese quail. *Comp. Biochem. Physiol. A* **154**, 530-534.

**Orcutt, F. S. Jr. & Orcutt, A. B.** (1976). Nesting and parental behavior in domestic common quail. *Auk* **93**, 135-141.

**Pedersen, A. and Tomaszycki, M. L.** (2012). Oxytocin antagonist treatments alter the formation of pair relationships in zebra finches of both sexes. *Horm. Behav.* **62**, 113-119.

**Pilz, K. M. and Smith, H. G.** (2004). Egg yolk androgen levels increase with breeding density in the European starling, *Sturnus vulgaris*. *Funct. Ecol.* **18**, 58-66.

**Pilz, K. M., Quiroga, M., Schwabl, H. and Adkins-Regan, E.** (2004). European starling chicks benefit from high yolk testosterone levels during a drought year. *Horm Behav.* **46**, 179-192.

**Pinczon Du Sel, A. A.** (1994). La caractérisation vocale de l'individu chez la caille des blés(*Coturnix coturnix coturnix*): recherches sur les conséquences fonctionnelles de la diversité dans la sélection sexuelle. Doctoral dissertation, University Rennes 1.

**Pittet, F., Houdelier, C., de Margerie, E., Le Bot O., Richard-Yris, M.-A. and Lumineau, S.** (2014). Maternal styles in a precocial bird. *Anim. Behav.* **87**, 31-37.

**Potash, L. M.** (1975). An experimental analysis of the use of location calls by Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Behaviour* **54**, 153-179.

**Reed, W. and Vleck, C.** (2001). Functional significance of variation in egg-yolk androgens in the American coot. *Oecologia* **128**, 164-171.

**Remage-Healey, L., Adkins-Regan, E. and Romero, L. M.** (2003). Behavioral and adrenocortical responses to mate separation and reunion in the zebra finch.

*Horm. Behav.* **43**, 108-114.

**Riters, L.V. and Balthazart, J.** (1998). Behavioural evidence for individual recognition in Japanese quail. *Behaviour*, **135**, 551-578.

**Rodríguez-Teijeiro, J. D., Puigcerver, M., Gallego, S., Corderons, P. J. and Parkin, D. T.** (2003). Pair bonding and multiple paternity in the polygamous common quail *Coturnix coturnix*. *Ethology*, **109**, 291-302.

**Rubolini, D., Romano, M., Martinelli, R. and Saino, N.** (2006). Effects of elevated yolk testosterone levels on survival, growth and immunity of male and female yellow-legged gull chicks. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **59**, 344-352.

**Saino, N., Ferrari, R. P., Martinelli, R., Romano, M., Rubolini, D. and Møller, A. P.** (2002). Early maternal effects mediated by immunity depend on sexual ornamentation of the male partner. *Proc. Roy. Soc. London B* **269**, 1005-1009.

**Saint Jalme, M.** (1990). La reproduction chez la caille des blés (*Coturnix coturnix coturnix*). Etudes expérimentales des cycles saisonniers et de la variabilité interindividuelle, thesis of the university of Rennes, France.

**Saito, N. and Grossmann, R.** (1999). Gene Expression of Arginine Vasotocin in Ovarian and Uterine Tissues of the Chicken. *Asian Austral. J. Anim. Sci.* **12**, 695-701.

**Sauveur, B.** (1988). Reproduction des volailles et production d'œufs. INRA, Paris.

**Sauveur, B. and Picard, M.** (1987). Environmental effects on egg quality. In: *Egg quality: current problem and recent advances* (Wells, R. G. and Belyavin, C. G. Ed.) pp. 219-234. London: Butterworth.

**Schiener, S. M.** (1993). Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **24**, 35-68.

**Schwabl, H.** (1996). Maternal testosterone in the avian egg enhances postnatal growth. *Comp. Biochem. Physiol. A* **114**, 271-276.

**Schwabl, H.** (1997). The contents of maternal testosterone in house sparrow *Passer domesticus* eggs vary with breeding conditions. *Naturwissenschaften* **84**, 406-408.

**Shepherd, R. E. and French, J. A.** (1999). Comparative analysis of sociality in lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*) and marmosets (*Callithrix kuhli*): Responses to separation from long-term pairmates. *J. Comp. Psych.* **113**, 24.

**Sheriff, M. J. and Love, O. P.** (2013). Determining the adaptive potential of maternal stress. *Ecol. Letters* **16**, 271-280.

**Sockman, K. W. and Schwabl, H.** (2000). Yolk androgens reduce offspring survival. *Proc. Roy. Soc. London B* **267**, 1451-1456.

**Spoon, T. R., Millam, J. R. and Owings, D. H.** (2006). The importance of mate behavioural compatibility in parenting and reproductive success by cockatiels, *Nymphicus hollandicus*. *Anim. Behav.* **71**, 315-326.

**Suarez, S. D. and Gallup, G. G.** (1983). Social reinstatement and open-field testing in chickens. *Anim. Learn. Behav.* **11**, 119-126.

**Tarin, J., Gomez-Piquer, V., Manzanedo, C., Minarro, J., Hermenegildo, C. and Cano, A.** (2003). Long-term effects of delayed motherhood in mice on postnatal development and behavioural traits of offspring. *Hum. Reprod.* **18**, 1580-1587.

**Thomson, A. L.** (1964). A new dictionary of birds (Thomson A. L. Eds). London and Edinburgh.

**Wang, M. and vom Saal, F.** (2000). Maternal age and traits in offspring - The timing of a mouse's first litter influences the development of her pups. *Nature* **407**, 469-470.

**Wei, Y. C., Yang, C. R., Wei, Y. P., Zhao, Z. A., Hou, Y., Schatten, H. and Sun, Q. Y.** (2014). Paternally induced transgenerational inheritance of susceptibility to diabetes in mammals. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* **111**, 1873-1878.

**Welberg, L. A. and Seckl, J. R.** (2001). Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain. *J. Neuroendocrinol.* **13**, 113-128.

**Whittingham, L. A. and Schwabl, H.** (2002). Maternal testosterone in tree swallow eggs varies with female aggression. *Anim. Behav.* **63**, 63-67.

**Wilson, C. M. and McNabb, F. M. A.** (1997). Maternal thyroid hormones in Japanese quail eggs and their influence on embryonic development. *Gen. Comp. Endocrinol.* **107**, 153-165.

# Chapitre 5

# Interaction entre les environnements pré- et postnataux

# I. INTRODUCTION

Les recherches autour du stress prénatal s'intéressent de plus en plus aux actions postnatales possibles permettant de contrecarrer les éventuels déficits acquis prénatalement. En effet, alors que le stress prénatal a des effets délétères sur la synaptogénèse (par exemple dans l'hippocampe où ces effets induisent des déficits de mémoire) des travaux ont montré qu'élever des ratons stressés prénatalement dans un **milieu enrichi** permet une certaine **remédiation** de ces déficits. Ainsi, ces ratons stressés prénatalement mais élevés dans une grande cage, contenant de multiples objets et plateformes, et de nombreux congénères, n'ont pas les déficits cognitifs observés chez les ratons élevés en cage standard. Ce phénomène serait associé à la restauration de leur plasticité synaptique hippocampique (Koo et al. 2003, Yang et al. 2007, Lui et al. 2011). Coulon et ses collaborateurs (2013) ont observé des résultats similaires sur le comportement émotif chez le mouton : la néophobie d'agneaux stressés prénatalement est moindre s'ils sont élevés en milieu enrichi (présence d'objets et distribution fractionnée d'aliment, signalée par un son). Ces différents travaux révèlent donc **une interaction entre l'environnement prénatal et l'environnement postnatal** sur la construction phénotypique des individus**.**

Dans le cadre des influences maternelles, certains travaux mettent en évidence le rôle de la mère et de ses soins prodigués aux jeunes pour remédier aux effets d'un stress prénatal (Del Cerro et al. 2010, de Souza et al. 2012, Pérez-Laso et al. 2013). Ainsi, des rates stressées prénatalement mais élevées par une mère adoptive non stressée, présentent à l'âge adulte un comportement maternel correct contrairement à celui de rates élevées par leur mère biologique (Del Cerro et al. 2010). Dans ce cas, nous observons plus particulièrement **une interaction entre des influences maternelles prénatales et postnatales**, modulant le phénotype comportemental individuel.

Chez les oiseaux nidifuges, des influences maternelles prénatales et postnatales apparaissent également. Chez notre modèle, un stress subi par les femelles pendant la phase de ponte engendre par exemple une plus forte réactivité émotionnelle chez les descendants (Guibert et al. 2010, 2011). Après l'éclosion, la présence d'une mère a une influence sur de nombreux traits morphologiques et comportementaux. Les jeunes cailles maternées après

l'éclosion peuvent avoir une croissance réduite, leurs comportements émotifs et sociaux sont affectés, elles expriment en outre des rythmes circadiens et ultradiens, et montrent de meilleurs capacités exploratoires (Bertin & Richard-Yris 2005, Formanek et al. 2009, de Margerie et al. 2013, Pittet et al. 2013b) comparées à des cailleteaux qui n'ont pas été maternés. À plus long terme, le comportement maternel des femelles et leurs capacités cognitives lors d'une tâche spatiale sont améliorés si elles ont été maternées au jeune âge (Pittet et al. 2013b). Nos travaux sur les influences maternelles prénatales et postnatales nous ont amené à nous interroger sur leurs possibles interactions dans le déterminisme du phénotype comportemental. Nous avons ainsi voulu savoir si la présence d'une femelle maternelle lors du développement postnatal de jeunes cailleteaux pouvait moduler certaines caractéristiques comportementales induites par un stress prénatal. Ce travail est présenté dans **l'article 4**, en préparation pour une soumission dans la revue *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences.*

## II. SYNTHESE DE L'ARTICLE 4

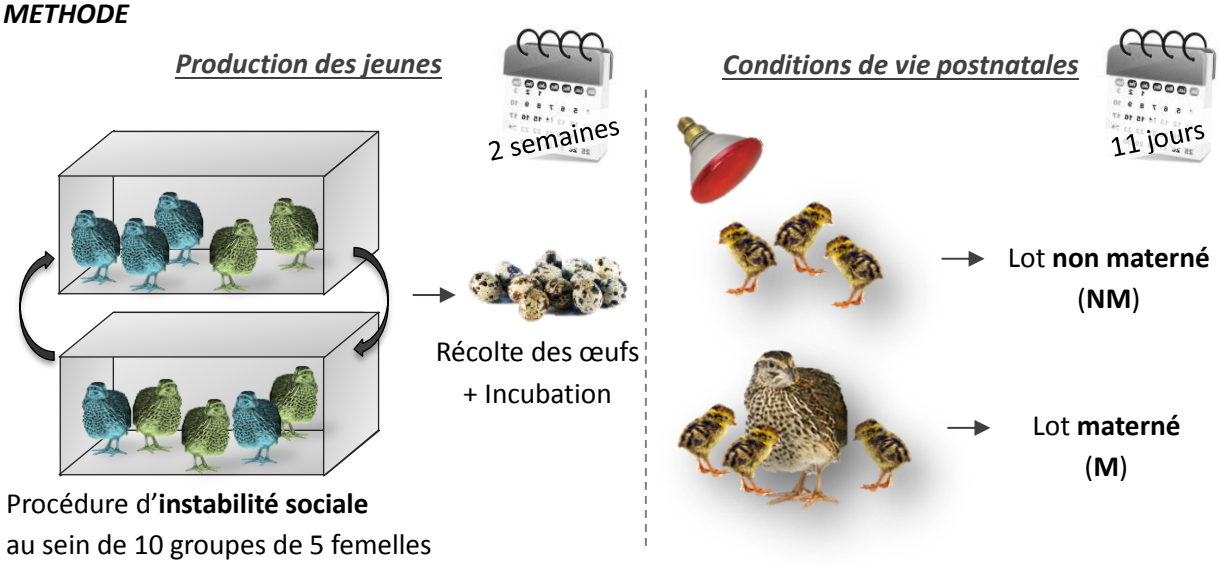
***OBJECTIFS***

Nous avons souhaité mesurer l'interaction entre deux influences maternelles, l'une prénatale, l'autre postnatale. Pour cela, des femelles adultes ont subi une procédure d'instabilité sociale. Les jeunes produits par ces femelles, **stressés prénatalement**, ont été élevés par une **mère adoptive** ou non, en groupes de jeunes. Après émancipation des jeunes, nous avons mesuré :

❶ La croissance et le développement sexuel des cailleteaux

❷ Leurs distances interindividuelles dans la cage de vie et leurs caractéristiques comportementales

***METHODE***




***RESULTATS***

❶ Les cailleteaux issus de femelles stressées et élevés avec une mère adoptive étaient **moins lourds** que les cailleteaux NM mais ne présentaient pas de différence de développement sexuel.

❷ Les cailleteaux M étaient **moins réactifs face à la nouveauté et à la séparation sociale**, et les fratries présentaient des **distances interindividuelles plus courtes** dans la cage de vie.

***CONCLUSION***

- Cette expérimentation révèle pour la première fois chez les oiseaux une **interaction non génétique entre les influences maternelles pré- et postnatales**.
- La **présence de la mère en phase postnatale** peut **moduler les effets du stress prénatal**, ceci mettant en évidence une grande **plasticité phénotypique** chez les jeunes à l'instar des mammifères.
- Ce travail ouvre des perspectives dans la compréhension des **phénomènes adaptatifs** et des **mécanismes d'évolution des populations**.

# III. ARTICLE 4

## MOTHERING BY A PRECOCIAL BIRD CAN MODULATE CONSEQUENCES OF PRENATAL STRESS

**Le Bot, O.[1], Houdelier, C. [1], Aigueperse, N. [1], de Margerie, E. [1], Nicolle, C. [1], Lumineau, S. [1]**

**[1] UMR-CNRS 6552 Laboratory of animal and human ethology, University of Rennes, France**

## Abstract

Both prenatal and postnatal maternal effects play a fundamental role in offspring behavioural development. Although interactions between these two maternal effects have rarely been studied in detail their analysis is crucial to understand behavioural development. This study evaluated the influence of the presence of a mother on the modulation of morphological and behavioural consequences of a prenatal stress on Japanese quail chicks. Previous reports showed that social instability of laying quail increased their offspring's emotional reactivity and that this was related to increase of yolk testosterone levels in their eggs. Here, offspring of stressed females were raised either with adoptive mothers (M set, N = 29) or in groups of three chicks (NM set, N = 27). The somatic and behavioural characteristics of these offspring were assessed. M chicks were lighter during their first three weeks, their emotional reactivity was lower and they kept shorter interindividual distances than did NM chicks. Thus, our results highlight that maternal care could reverse the phenotypic consequences of prenatal stress in birds, as M chicks became less emotive than NM chicks. Interactions between prenatal and postnatal maternal effects are a fundamental issue for the emergence of phenotypic variability and in the evolution of populations.

Keywords: emotional reactivity; maternal effects; precocial bird; pre- and postnatal interaction; prenatal stress.

# 1. Introduction

The literature widely attests that individual phenotypes are the result of genome – epigenome – environment interactions [1,2]. Environmental effects on the ontogeny of an individual act from the prenatal stages, especially through maternal effects that involve mothers who act as a passage between environmental conditions and embryo development through non genetic mechanisms. Investigations of the influence of mammals' prenatal maternal environment revealed in particular that stressful events impact the chemical gestational milieu [3-6] that in turn modulates several offspring physiological and behavioural traits, e.g. neurogenesis and the development of the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis, sexual development and dimorphism, fear and social behaviours, learning and memory abilities [7-9]. The environment of female birds also acts as a prenatal influence, modulating females' hormone deposition in eggs, with implications on subsequent offspring phenotype. Social instability [10,11], breeding density [12,13], aggression by conspecifics [14] or again physical disturbances [15] modulate egg androgens levels. These modulations of yolk composition are linked to subsequent differences in chicks' growth and behavioural phenotypes [10,15-19].

After birth, offspring's development can be influenced by their living conditions, especially by their social environment where the mother is the most obvious influential conspecific. Thus, young mammals' early experience with their mother influences neurophysiological processes related to behavioural consequences for social and emotional behaviour [20-22] and cognitive abilities [23,24]. Similar postnatal maternal influences on birds' offspring have been shown, especially for precocial birds, mothers can influence many behavioural aspects of the chicks they brood, including their vocal behaviour [25], their endogenous rhythms [26] or again their emotional and social behaviours [27-30] and the subsequent maternal care of their adoptive daughters [29].

Under natural conditions, the behavioural development of an individual is the result of interactions between prenatal and postnatal factors. Modulation of prenatal influences by postnatal rearing conditions can be evaluated by investigating interactions between prenatal and postnatal environmental effects. This is experimentally explored in mammals, particularly through investigations of young's postnatal experience that could modulate the

consequences of prenatal stress, for instance by postnatal enrichment [31-35] or early handling [36-39]. Physical enrichment of prenatally stressed rats' environment during periadolescence reversed impaired social play behaviour and prolonged secretion of corticosterone in a constrained situation [32]. Moreover, a large documentation deals with the impact of maternal care to counteract the consequences of prenatal negative events for offspring [40-43]. Particularly, as the maternal behaviour of females stressed during pregnancy appears altered, cross-adoption studies showed that the impaired development of offspring of these stressed females can be reshaped by care by non-stressed adoptive females. Despite numerous investigations involving mammals, very few studies focus on the effects of interactions between prenatal and postnatal environmental interactions on birds. To our knowledge, only three reports have addressed this issue by comparing the consequences of prenatal or postnatal stress or their combination on the physiological state and behaviour of Japanese quail offspring [44-46]. Thus, effects of a prenatal stress on the HPA axis seem to be mitigated by the occurrence of another stressful event after hatching [44]. Conversely, Zimmer et al. [46] revealed a cumulative effect of prenatal and postnatal stress, with significant decrease of birds' neophobia and increase of risk-taking when they have been stressed both prenatally and postnatally (these effects were lesser or inexistent when the subjects had been submitted to only prenatal or postnatal stress). These reports revealed a differential effect of prenatal and postnatal environmental interactions, depending on the level of investigation (i.e. physiological or behavioural), highlighting the complexity of these interactions and the importance to understand them.

Thus, the present study investigated how the consequences of prenatal maternal stress on offspring development can be modulated by postnatal maternal environment (i.e. maternal care provided by an adoptive mother). Therefore we evaluated these consequences on the morphology and behaviour of prenatally-stressed Japanese quail chicks brooded by adoptive mothers. We hypothesize that maternal care would modulate chicks' growth and behavioural traits, especially by decreasing their emotional reactivity, in order to counteract the effects of prenatal stress.

# 2. Material and methods

### 2.1. Ethics

Experiments were approved by the departmental direction of veterinary services (Ille-et-Vilaine, France, Permit number 005283) and were performed in accordance with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC).

### 2.2. Laying females

**Housing.** Fifty 6-week old laying females from a commercial line (*Les cailles de Chanteloup*, Corps-Nuds, France) were randomly divided into 10 groups of five females. Each group was housed in a wired cage (100 x 70 x 61 cm) in an experimental room. Food and water were provided *ad libitum*, and birds were exposed to a 14:10 light cycle and to a temperature of 20 ± 1°C.

**Social instability protocol.** We followed a procedure inducing social instability previously applied and known to induce a prenatal effect on offspring [10]. The schedule of the experiment is presented in fig. 1. This protocol consisted of placing two females of each group of five in another group every three days for two weeks. For this we placed all females of a cage in a dark box (30 x 30 x 45 cm) containing wood shaving to which they have been previously habituated. After 20 minutes, two females of each group were placed in the cage of another group whereas the three other females were replaced in their home cage. All females were involved in the changes during this period.

**Mating.** The day before the first instability change, all females met a male randomly assigned to a group of females. Mating then occurred the day following each instability change. Two males were assigned to each group of females and met them alternately, one male per mating session. First each male was placed in a small circular cage in the females' room, and then all females of one group were placed one by one with him until we observed successful copulations.

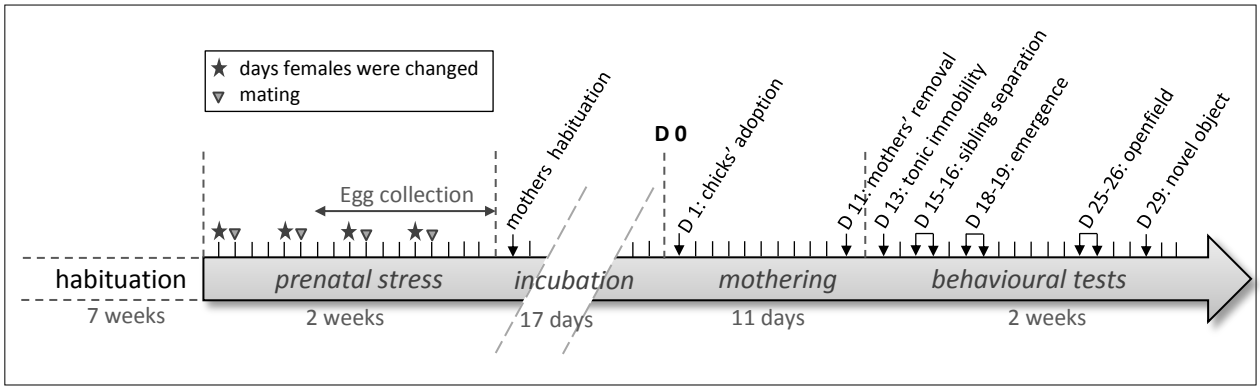



**Fig. 1. Diagram representing experiment schedule.**

### 2.3. Eggs and chicks

**Egg collection and incubation.** Egg collection started only one week after the beginning of the instability protocol to make sure that their formation occurred during the social instability protocol, as yolks take seven days to be produced [50]. Each egg was marked according to the group it came from and weighed, and then stored at 16 ± 1°C until incubation. 352 of these eggs were artificially incubated in the laboratory. During the first 14 days in the incubator, eggs were maintained at 37.7°C with a relative humidity of 45% and with a 45° automatic rotation of the plate twice a day. During the last three days, temperature was decreased to 37.2°C, humidity was raised to 60%, and plate rotation was stopped. Eggs that did not hatch were opened in order to estimate embryonic development. Thus, 139 eggs were fertilized, and 114 of them hatched.

**Chicks.** After hatching, chicks were all housed in the same room, in cages with wood shaving (50 x 44 x 32 cm). Starting pellets and water were provided *ad libitum*, a heater (38 ± 1°C) was placed in each cage to compensate chicks' immature thermoregulation. Chicks were weighed at hatching (scale Precisa Instrument AG, Switzerland, d = 0.1g), at the end of the mothering period and then once a week. Their sexual development was assessed by measuring the length of their cloacal vent (caliper Mitutoyo, Japan) at five weeks, when their sex can be determined correctly by their feathers, and once more two weeks later.

### 2.4. Mothering procedure

The adoptive mothers were 12 15-week old females from the same commercial line. They were placed in individual wire cages (40 x 51 x 35 cm) in our mothering room. Alternatively with cages containing these females, we placed ten similar cages equipped with heaters for non-mothered chicks. The day before eggs hatched, females were shut up in small nest boxes (20 x 20 x 20 cm) during the night for habituation. The next evening, i.e. the first day of chicks' life (fig. 1), females were again shut up in nest boxes and the light was switched off, following the maternal behaviour induction protocol described by Richard-Yris et al. 1994 [49]. One hour later three chicks, each from a different female group, were placed quietly under each female in the nest boxes (mothered set: M), or in nest boxes in cages with heaters (non-mothered set: NM). The next morning, nest boxes were opened and the induction of maternal behaviour was estimated. Although chicks' tactile and vocal solicitations during the night are generally sufficient to induce maternal responses [51-53], some females may not express efficient care. These non-mothering females were excluded from the experiment. Thus, one female was excluded during the first day of the mothering procedure. During the mothering period, chicks that presented signs of hypothermia (motionless, eyes closed and trembling) were immediately placed under a heater and were replaced by chicks of the same age. Only chicks that had been mothered at least since the third day post-hatching were included in analysis (i.e. 29 NM and 27 M). As natural dispersal of chicks occurs eleven days after hatching [53] we removed mothers and heaters from the cages at this age and chicks were left in their brood. For more details concerning the mothering protocol see [29-30].

### 2.5. Behavioural observations

All behavioural observations were recorded behind a one-way mirror. We used validated behavioural test procedures to assess chicks' emotional reactivity in a novel situation (e.g. a new environment or object) and following social separation (fig. 1).

**Interindividual distances.** *Instantaneous scan sampling* recorded the behaviour of 4- and 10-day old chicks during the mothering period, and when they were 17, 24 and 31 days old. Two

observers noted the position of each chick in their home cage that was virtually divided into six zones.

**Tonic immobility (post-hatching day 13).** Tonic immobility tests evaluated the emotional reactivity of the females of the two sets. In a dark room, a subject is maintained on her back for ten seconds, head facing downwards, in a U-shaped wooden device. Durations of tonic immobility (TI), an anti-predator reaction, are positively correlated with a subject's level of fear [54]. Induction was successful when the quail did not move for at least ten seconds. TI duration (i.e. until the quail stands up, with a maximum of 300 seconds) and the number of inductions (maximum of five) were recorded.

**Chick-isolation test (PHD 15-16).** Each chick was placed alone in a cage similar to its home cage. The observer noted during three minutes latencies and frequencies of steps and distress calls, distress behaviours (pacing i.e. a stereotypic locomotion by walking back and forth; and jumps) and comfort behaviours (i.e. feeding).

**Emergence test (PHD 18-19).** A quail was placed in a little opaque box (18 x 18 x 18 cm) for one minute during which latency of 1$^{st}$ distress call and number of calls were recorded. One side of the box was then opened and the subject was allowed three minutes to leave the box and go into a large, lighted cage (62 x 60 x 33 cm) with wood shavings. Emergence latency is positively correlated with fear level [55-56]. This latency and, for three minutes, all behaviours of the subject in this large cage were recorded: latency of 1$^{st}$ distress call and their frequency, maintenance behaviours (preening, dust bathing, resting, and defecations), locomotion (walking, running), pacing, exploration (i.e. pecking ground and cage), jumps, observation postures based on body posture: vigilance (i.e. fixed posture where the quail stands on its tarsi and stretches its neck), high (i.e. similar to vigilance except that the quail is not standing), medium (i.e. the quail's body is not particularly stretched or low) and low observations (i.e. the quail is frightened and is looking at its environment with its neck stretched parallel to the floor, lower than its body), and fear postures (standing or walking slowly with ruffled feathers, freezing i.e. fixed and low posture).

**Openfield test (PHD 25-26).** A quail was placed in the dark in the middle of a polygonal enclosure (9 sides, area = 1 m²) with white opaque walls (60 cm high) and wood shavings. The observer switched on the light and then recorded all behaviours for five minutes to

assess the subject's fear and social motivation levels [57]: 1st step and 1st call latencies, and numbers of steps and calls, maintenance behaviours, locomotion, exploration, jumps, observation postures and fear postures.

**Novel-object test (PHD 29).** For this test chicks remained in their group. An unfamiliar object (a yellow and black T-shaped object, 20 cm high) was placed in the cage against the opening. The observer recorded for ten minutes for each chick of the group latency to approach (i.e. to enter the half-cage with the object) and to explore the novel object (these latencies are positively correlated with fear [58]), and frequency of pecking the object. Simultaneously instantaneous scan sampling recorded every ten seconds the location of each chick: half-cage opposite the novel-object or close to it.

### 2.6. Statistical analysis

We used ANOVA tests for continuous variables (i.e. physiological data: weight and sexual development) after checking that data were normally distributed. For all other variables, we used Mann-Whitney non-parametric tests to assess differences between sets. Some variables were pooled into categories (i.e. fear behaviours: low observation, standing and walking fear postures; exploration: ground and wall pecking). For assessment of interindividual distances, we calculated a distance score *d* using the following formula:

$$d = \frac{(Nb\ scans{:}\ 3\ chicks\ in\ same\ zone)\times 0+(Nb\ scans{:}2\ chicks\ in\ same\ zone)\times 0{,}5+(Nb\ scans{:}\ 0\ chicks\ in\ samz\ zone)\times 1}{Nb\ scans}$$

Thus, each cage was given a score between 0 (all chicks were always observed in the same zone) to 1 (all chicks were always observed in different zones). All data were analyzed using Statistica©.

# 3. Results

### 3.1. Chicks' development

We found a significant interaction between set and age (table 1) (repeated measures ANOVA, $F_{4,216} = 4.64$, $p = 0.001$). Although weights did not differ significantly between the two sets of chicks at hatching (post-hoc Fisher LSD-test, $p > 0.05$), mothering appeared to slow down M chicks' growth until they were 3 weeks old (11 days old: $p = 0.018$; 18 days old: $p = 0.018$). The weights of the two sets of chicks were again similar during their 4$^{th}$ and 5$^{th}$ week ($p > 0.05$). Sexual development did not differ significantly between the two sets, either at five or seven weeks ($p > 0.05$).

**Table 1. Growth of NM and M chicks from hatching to 39 days old.** Means of the weight are given ± S.E.M., p-values correspond to post-hoc Fisher LSD-test (bold numbers are significant at the level of 0.05).

| Age (days) | $m_{NM}$ | $m_{M}$ | p-value |
|---|---|---|---|
| 1 | 10.47 ± 0.14 | 10.21 ± 0.19 | 0.956 |
| 11 | 64.00 ± 1.54 | 54.87 ± 1.95 | **0.018** |
| 18 | 135.49 ± 2.66 | 126.37 ± 2.47 | **0.018** |
| 25 | 208.60 ± 3.48 | 204.06 ± 3.38 | 0.237 |
| 39 | 295.66 ± 4.48 | 301.13 ± 3.04 | 0.155 |

### 3.2. Chicks' spatial distances in home-cage

Data for group cohesion in their home cage showed that M chicks spent more time closer to their group mates during the mothering period than NM chicks (distance score at 4 days: $m_{NM} = 0.40 \pm 0.03$, $m_{M} = 0.14 \pm 0.02$, $U = 0$, $p < 0.001$; at 10 days: $m_{NM} = 0.64 \pm 0.04$, $m_{M} = 0.37 \pm 0.04$, $U = 5$, $p = 0.003$). This difference tended to persist after the removal of mothers, when chicks were 17 days old ($m_{NM} = 0.43 \pm 0.02$, $m_{M} = 0.34 \pm 0.04$, $U = 16.5$, $p = 0.067$).

### 3.3. Chicks' emotional reactivity

**Novel environment.** Although we could evidence no significant differences between sets during the tonic immobility test, either for the TI duration ($m_{NM}$ = 72.17 ± 12.30 s, $m_M$ = 73.07 ± 11.96 s, U = 375.5, p > 0.05) or for the number of inductions ($m_{NM}$ = 1.62 ± 0.17, $m_M$ = 1.48 ± 0.13, U = 364.0, p > 0.05), M and NM chicks reacted differently in a novel environment. Latencies to leave the starting box in emergence tests did not differ significantly between the two sets ($m_{NM}$ = 19.38 ± 7.31 s, $m_M$ = 21.30 ± 9.34 s, U = 326.0, p > 0.05) but once chicks were in the cage, M chicks explored the environment more whereas NM chicks tended to express more fear behaviours (fig. 2A). In openfield tests, M chicks tended to defecate less than did NM chicks ($m_{NM}$ = 0.86 ± 0.17, $m_M$ = 0.44 ± 0.11, U = 289, p = 0.064), scores for all the other behaviours did not differ significantly between the two sets of chicks (p > 0.05).

**Neophobia.** Chicks' neophobia appeared to differ between the two sets: M chicks tended to approach the novel object and to explore it faster than did NM chicks (approach: $m_{NM}$ = 356.38 ± 45.41s, $m_M$ = 237.41 ± 40.22s, U = 285, p = 0.080; 1st exploration: $m_{NM}$ = 514.97 ± 35.37s, $m_M$ = 432.04 ± 41.97 s, U = 304.5, p = 0.087). In addition, they explored it more frequently (fig. 2B). Finally, M chicks spent more time close to the object than did NM chicks (fig. 2C).

**Social separation.** Emotional reactivity of chicks in social isolation differed between

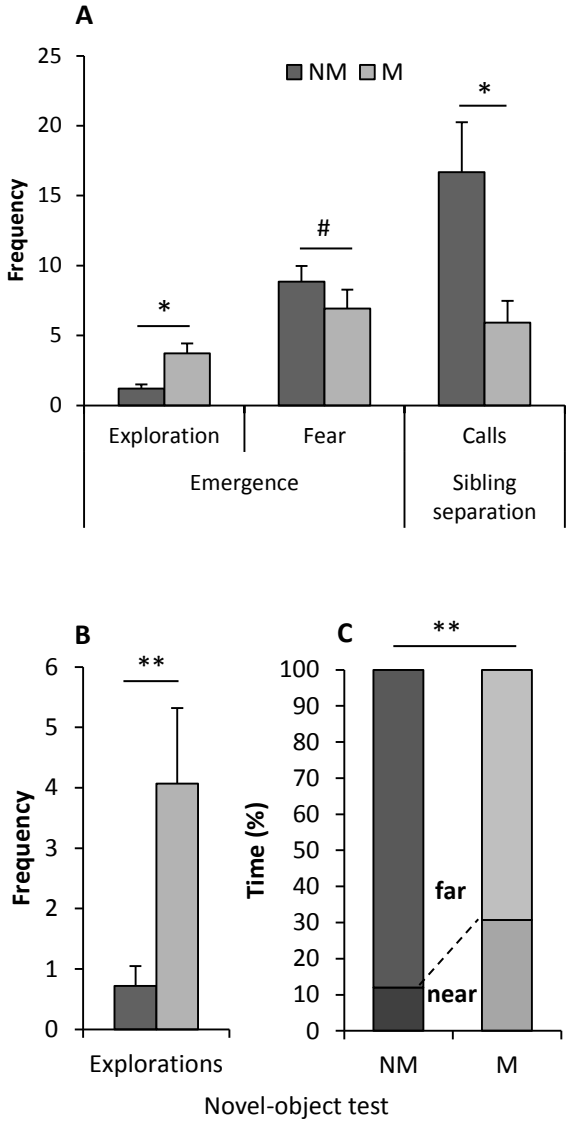



**Fig. 2. Emotional reactivity of NM** (dark bars) **and M** (light bars) **chicks. A**: number of environment explorations and fear behaviours in the emergence test, and number of calls during separation from group; **B**: number of explorations of the novel object and **C**: percentage of time spent near or far of the novel object. Means are given ± S.E.M., Mann-Whitney U-test: # p < 0.1, * p < 0.05, ** p < 0.01.

the two sets. In a similar environment M chicks tended to call later after separation from their group mates ($m_{NM}$ = 69.93 ± 13.26s, $m_M$ = 110.03 ± 14.31s, U = 321.5, p = 0.081) and they emitted fewer calls than did NM chicks (fig. 2A). Moreover, in this situation, M chicks tended to express more comfort behaviours and a higher proportion of M chicks ate ($N_{NM}$ = 6.90 %, $N_M$ = 25.93 %, Fisher test, p = 0.057). Finally, M chicks tended to emit fewer calls in the emergence test starting box ($m_{NM}$ = 6.24 ± 1.80, $m_M$ = 4.07 ± 1.82, U = 300, p = 0.092).

## 4. Discussion

The results of our present study showed that the phenotype of prenatally stressed chicks was modulated by their postnatal environment. Our results evidence for the first time that avian mothers can counterbalance prenatally-acquired behavioural changes.

Social instability during the laying period can stress female quail and as a consequence chicks hatched from eggs produced during this stressful period were lighter and expressed higher emotional reactivity [10]. Our results, confirming a previous report on maternal deprivation in Japanese quail [57], show first that mothering induced slower chicks' growth. This result is easily understandable as their growth is directly linked to their thermoregulation [60]. Unlike NM chicks in cages where heat was delivered uniformly over time, M chicks had to search for this source delivered by their mothers. Consequently they experienced larger temperature variations and probably spent more time warming up under their mothers at the expense of other activities such as feeding, and this delayed their growth. Nevertheless, this difference between sets disappeared after four weeks suggesting a catch-up growth by M chicks [61] and appeared to have no effects on chicks’ sexual development. In parallel, cohesion of M chick groups was stronger as their interindividual distances were shorter, even after the end of the mothering period. This strong group cohesion could be related to the synchronizer power of mothers on their brood's activity [26]. Indeed, during brooding, chicks' activity must be synchronized on their mother's activity

[27], leading to both longer phases of activity/non-activity and better group synchronization [62]. M chicks' shorter interindividual distances could be a consequence of their good synchronization. Our prenatally stressed chicks raised by mothers expressed fewer fear reactions both with group mates (i.e. lower neophobia) or alone in novel environments (i.e. more explorations and fewer fear reactions) than NM prenatally-stressed chicks. M chicks appeared less disturbed when separated from their group mates. Overall M chicks appeared less disturbed by stressful situations than NM chicks. Although the avian literature has previously described maternal influence on chicks' fear and social motivation levels [27-30,63,64], we demonstrate here for the first time that mothering during early life influences prenatally stressed chicks, thus underlining the strong influence of mothering that can modulate chicks' behavioural phenotype despite prenatal effects.

Our results evidence interactions between two non-genetic maternal influences, the first occurs following prenatal stress and the second can be attributed to maternal care, but the latter seems to take precedence over the first. Many reports have described reversion of the consequences of prenatal environment on mammals' offspring phenotypes by postnatal living conditions [31,34,40,42] suggesting that offspring phenotypic plasticity allows a kind of physiological and/or behavioural readjustment to challenges of the real environment. Our study reports for the first time that postnatal maternal care by a precocial bird can counteract behavioural consequences of a prenatal maternal effect, suggesting a similar phenotypic readjustment allowing chicks to cope with their real living conditions. Note that our animal model allows total elimination of unwanted postnatal maternal effects on NM chicks, unlike in mammal studies cited above. Raising young mammals without maternal care is impossible without important human interventions [65]. Our results are particularly relevant regarding our precocial bird model. Precocial hatchlings are sufficiently mature at birth. Despite quail's very short mothering period (i.e. 11 days), phenotypic reshaping by postnatal maternal care stresses the powerful impact of mothers who can modulate various chicks' behavioural traits such as their endogenous rhythms [26], their emotional and social behaviours [27-30] and, in the long-term, maternal care by these female chicks [29].

Questions remain concerning the mechanisms underlying the observed phenotypic reshaping. Birds are capable of social learning as their chicks can learn behavioural responses by observing their parents, for instance concerning food selection, avoidance [66,67] and reactions to humans [68]. The behavioural differences observed between our M and NM chicks could be linked simply to the presence or absence of a mother as a behavioural model. In addition to the mere presence of an adult female in M cages, the behaviour of these females towards chicks could have an influence. Our maternal induction protocol induces the development of maternal responses, the characteristics of which directly influence chicks' behaviour. For instance, chicks raised by females that presented low levels of fear and aggression towards them during the very early brooding period presented a low emotional reactivity [30,69,70]. Overall, the presence of an adult female as a behavioural model, plus the consequences of mother-chick interactions during mothering could explain the behavioural modulation of M chicks, compared to NM chicks that could neither use an adult model of behavioural responses nor interact with a mother. Another process could be involved in the mediation of maternal influences. Mammal studies indicate that epigenetic mechanisms are implied in some prenatal and postnatal maternal effects on offspring physiological and behavioural phenotypes [71-75]. Whereas epigenetic processes have been recently evidenced in birds [76,77] and that prenatal maternal environments seem to influence them [78,79], our results suggest reasonably involvement of the epigenome in the mediation of the pre- and post-natal maternal effects we described.

In this context, the role of chicks must not be neglected. Mammal mother-infant dyads are a dynamic system, with a young being able to modulate its mother's behaviour, according to its age, sex, or again the size of a sibling [80-84]. Similar parameters of bird broods, such as brood size and chicks' sex, influence maternal investment [85-87]. More interestingly, young mammals and birds do not have the same sensitivity to maternal effects according to their genetic background [88-89]. In particular, chicks from a line selected for high intrinsic emotional reactivity appeared more sensitive to maternal influence than chicks from the low level line (i.e. short and long tonic immobility duration, respectively, see [90-91]). As our prenatal stress procedure is known to increase chicks' emotional reactivity [10], they could be more sensitive to the maternal care they received. Young mammals and birds

can stimulate their mothers, particularly by their tactile and vocal behaviours [51,52,80,91,92]. Authors have suggested that enhanced maternal care by mice of prenatally stressed pups could be related to greater stimulation of the mother by pups [93]. Our prenatally stressed chicks, besides their increased potential sensitivity to maternal care, could modulate their mother's behaviour by over-stimulating her. All these considerations indicate that the mother-brood system is dynamic, with potentially mutual bidirectional influences, and stress that analyzing mother-young interactions during mothering is necessary to fully understand mechanisms underlying postnatal maternal effects.

Debates concerning the functional role of prenatal stress have developed during the last decade. Whereas physiological and behavioural consequences of prenatal stress on offspring were once considered to be pathological issues, authors argue now that on the contrary this could be adaptive [2,61,94]. In this perspective, prenatal effects would be a way for parents to prepare offspring to face postnatal environmental challenges, expected to be similar to those experienced by the parents [47,95-96]. Our study pointed out for the first time that when birds' postnatal environment is not the one to which individuals were prenatally prepared (i.e. more favourable and less stressful) a reversal-like phenotypic plasticity can occur potentially to adjust offspring's behaviour to their real living conditions. However, reports show evolutionary limits of non-genetic mechanisms in that consequences of rodents' prenatal environment can be "favoured" although postnatal living conditions differ. Mothers stressed during gestation expressed altered maternal care after their pups' birth although postpartum living conditions were undisturbed, leading in particular to offspring being more fearful [93,97]. In contrast, 50 % of the pups that had been prenatally exposed to a light-dark rhythm but raised after birth under the opposite rhythm expressed their prenatal rhythm, foster mothers failed to entrain their adopted pups' rhythm [98]. Moreover, genetic background can interact with postnatal maternal effects. Houdelier et al. [89] showed that chicks from lines selected for low or high emotional reactivity and cross-fostered by mothers of the other line resisted more to postnatal maternal care than did chicks from a control line. These results suggest that offspring could resist postnatal maternal influence if it did not match the offspring's characteristics, enhancing chicks' influence on their own phenotype.

### Conclusion

The present study highlights for the first time that birds' postnatal environment can reshape the phenotypes of prenatally-stressed offspring. More importantly, the behavioural consequences of a prenatal stress seem to be reversed by the mother, suggesting phenotypic plasticity of chicks and the fundamental role of environmental conditions for individual development. In addition, our work opens a new perspective for improving quail husbandry welfare. Indeed, farm and laboratory birds, as mammals, often experience social pressures [9,99-101]. According to our results, specific actions concerning postnatal environment taking into account its interactions with individuals' prenatal experience should be explored as a valuable way to reverse unwanted prenatally-acquired physiological and behavioural issues.

## Acknowledgments

We are grateful to Dr Ann Cloarec for the improvement of the writing of the manuscript.

## References

1. Schiener, S. M. 1993 Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **24**, 35-68. (DOI:10.2307/2097172)
2. Jensen, P. 2013 Transgenerational epigenetic effects on animal behaviour. *Prog. Biophys. Mol. Bio.* **113**, 447-454. (DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2013.01.001)
3. Rohde, W., Ohkawa, T., Götz, F., Stahl, F., Tönjes, R., Takeshita, S., Arakawa, S., Kambegawa, A., Arai, K., Okinaga, S. & Dörner, G. 1989 Sex-Specific Effects on the Fetal Neuroendocrine System during Acute Stress in Late Pregnancy of Rat and the Influence of a Simultaneous Treatment by Tyrosine[1]. *Exp. Clin. Endocri. Diab.* **94**, 23-42.
4. Takahashi, L. K., Turner, J. G. & Kalin, N. H. 1998 Prolonged stress-induced elevation in plasma corticosterone during pregnancy in the rat: implications for prenatal stress studies. *Psychoneuroendocrinology* **23**, 571-581.
5. Williams, M. T., Davis, H. N., Mccrea, A. E., Long, S. J. & Hennessy, M. B. 1999 Changes in the hormonal concentrations of pregnant rats and their fetuses following multiple exposures to a stressor during the third trimester. *Neurotoxicology & teratology* **21**, 403-414. (DOI: 10.1016/S0892-0362(98)00060-9)
6. Schneider, M. L., Moore, C. F., Kraemer, G. W., Roberts, A. D. & DeJesus, O. T. 2002 The impact of prenatal stress, fetal alcohol exposure, or both on development: perspectives from a primate

model. *Psychoneuroendocrinology* **27**, 285-298. (DOI: 10.1016/S0306-4530(01)00050-6)

7. Weinstock, M. 2008 The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **32,** 1073-1086. (DOI: 10.1016/j.neubiorev.2008.03.002)
8. Brunton, P. J. 2013 Effects of maternal exposure to social stress during pregnancy: consequences for mother and offspring. *Reproduction* **146,** R175-R189. (DOI: 10.1530/REP-13-0258)
9. Merlot, E., Quesnel, H. & Prunier, A. 2013 Prenatal stress, immunity and neonatal health in farm animal species. *Animal* **7,** 2016-2025. (DOI: 10.1017/S175173111300147X)
10. Guibert, F., Richard-Yris, M.-A. Lumineau, S., Kotrschal, K., Guémené, D., Bertin, A., Möstl, E. & Houdelier, C. 2010 Social Instability in Laying Quail: consequences on Yolk Steroids and Offspring's Phenotype. *PLoS ONE* **5**. (DOI: 10.1371/journal.pone.0014069)
11. Mazuc, J., Bonneaud, C., Chastel, O. & Sorci, G. 2003 Social environment affects female and egg testosterone levels in the house sparrow (*Passer domesticus*). *Ecol. Lett.* **6**, 1084-1090. (DOI: 10.1046/j.1461-0248.2003.00535.x)
12. Schwabl, H. 1997 The contents of maternal testosterone in house sparrow *Passer domesticus* eggs vary with breeding conditions. *Naturwissenschaften* **84**, 406-408. (DOI**:** 10.1007/s001140050418)
13. Reed, W. and Vleck, C. 2001 Functional significance of variation in egg-yolk androgens in the American coot. *Oecologia* **128**, 164-171. (DOI**:** 10.1007/s004420100642)
14. Whittingham, L.A. & Schwabl, H. 2002 Maternal testosterone in tree swallow eggs varies with female aggression. *Anim. Behav.* **63**, 63-67. (DOI**:** 10.1006/anbe.2001.1889)
15. Guibert, F., Richard-Yris, M. A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Bertin, A., Petton, C., Möstl, E. & Houdelier, C. 2011 Unpredictable mild stressors on laying females influence the composition of Japanese quail eggs and offspring's phenotype. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **132,** 51-60. (DOI: 10.1016/j.applanim.2011.03.012)
16. Groothuis, T.G.G., Müller, W., von Engelhardt, N., Carere, C. & Eising, C.M. 2005 Maternal hormones as a tool to adjust offspring phenotype in avian species. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **29**, 329-52. (DOI: 10.1016/j.neubiorev.2004.12.002)
17. Gil, D. 2008 Hormones in avian eggs: physiology, ecology and behavior. *Adv. Stud. Behav.* **38**, 337-398. (DOI: 10.1016/S0065-3454(08)00007-7)
18. Groothuis, T.G.G. & Schwabl, H. 2008 Hormone-mediated maternal effects in birds: mechanisms matter but what do we know of them? *Philos. Trans. R. Soc. B* **363**, 1647-1661. (DOI: 10.1098/rstb.2007.0007)
19. Adkins-Regan, E., Banerjee, S. B.Correa, S. M. & Schweitzer, C. 2013 Maternal effects in quails and zebra finches: Behaviour and hormones. *Gen. Comp. Endocr.* **190**, 34-41. (DOI: 10.1016/j.ygcen.2013.03.002)
20. Berman, C. M., Rasmussen, K. L. R. & Suomi, S. J. 1997 Group size, infant development and social networks in free-ranging rhesus monkeys. *Anim. Behav.* **53**, 405-421. (DOI: 10.1006/anbe.1996.0321)
21. Caldji, C., Francis, D., Sharma, S., Plotsky, P. M. & Meaney, M. J. 2000 The effects of early rearing environment on the development of GABAA and central benzodiazepine receptor levels and novelty-induced fearfulness in the rat. *Neuropsychopharmacology* **22**, 219-229. (DOI: 10.1016/S0893-133X(99)00110-4)
22. Francis, D. D. & Meaney, M. J. 1999 Maternal care and the development of stress responses. *Curr. Opin. Neurobiol.* **9**, 128-134. (DOI: 10.1016/S0959-4388(99)80016-6)
23. Bredy, T. W., Grant, R. J., Champagne, D. L. & Meaney, M. J. 2003 Maternal care influences neuronal survival in the hippocampus of the rat. *Eur. J. Neurosci.* **18**, 2903-2909. (DOI: 10.1046/j.1460-9568.2003.02965.x)
24. Liu, D., Diorio, J., Day, J. C., Francis, D. D. & Meaney, M. J. 2000 Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nat. Neurosci.* **3,** 799-806.
25. Wauters, A. M., Perré, Y., Bizeray, D., Leterrier, C. & Richard-Yris, M. A. 2002 Mothering influences the distribution of activity in young domestic chicks. *Chronobiol. Int.* **19**, 543-559. (DOI: 10.1081/CBI-120004224)
26. Formanek, L., Richard-Yris, M. A., Houdelier, C. & Lumineau, S. 2009 Epigenetic maternal effects on endogenous rhythms in precocial birds. *Chronobiol. Int.* **26**, 396-414. (DOI: 10.1080/07420520902892433)
27. Roden, C. & Wechsler, B. 1998 A comparison of the behaviour of domestic chicks reared with or without a hen in enriched pens. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **55**, 317-326. (DOI: 10.1016/S0168-1591(97)00073-7)
28. Bertin, A. & Richard-Yris, M. A. 2005 Mothering during early development influences subsequent emotional and social behaviour in Japanese quail. *J. Exp. Zool. Part A.* **303**, 792-801. (DOI: 10.1002/jez.a.202)
29. Pittet, F., Le Bot, O., Houdelier, C., Richard-Yris, M. A. & Lumineau, S. 2014 Motherless quail mothers display impaired maternal behavior and produce more fearful and less socially motivated offspring. *Dev. Psychobiol.* **56**, 622-634. (DOI : 10.1002/dev.21129)
30. Pittet, F., Houdelier, C., de Margerie, E., Le Bot O., Richard-Yris, M.-A. & Lumineau, S. 2014 Maternal styles in a precocial bird. *Anim. Behav.*

**87**, 31-37. (DOI: 10.1016/j.anbehav.2013.10.025)

31. Chapillon, P., Patin, V., Roy, V., Vincent, A. & Caston, J. 2002 Effects of pre-and postnatal stimulation on developmental, emotional, and cognitive aspects in rodents: A review. *Dev. Psychobiol.* **41**, 373-387. (DOI: 10.1002/dev.10066)
32. Morley-Fletcher, S., Rea, M., Maccari, S. & Laviola G. 2003 Environmental enrichment during adolescence reverses the effects of prenatal stress on play behaviour and HPA axis reactivity in rats. *Eur. J. Neurosci.* **18**, 3367-3374. (DOI: 10.1046/j.1460-9568.2003.03070.x)
33. Yang, J., Hou, C., Ma, N., Liu, J., Zhang, Y., Zhou, J., Xu, L. & Li, L. 2007 Enriched environment treatment restores impaired hippocampal synaptic plasticity and cognitive deficits induced by prenatal chronic stress. *Neurobiol. Learn. Mem.* **87**, 257-263. (DOI: 10.1016/j.nlm.2006.09.001)
34. Emack, J., & Matthews, S. G. 2011 Effects of chronic maternal stress on hypothalamo–pituitary–adrenal (HPA) function and behavior: no reversal by environmental enrichment. *Horm. Behav.* **60**, 589-598. (DOI: 10.1016/j.yhbeh.2011.08.008)
35. Lui, C. C., Wang, J. Y., Tain, Y. L., Chen, Y. C., Chang, K. A., Lai, M. C. & Huang, L. T. 2011 Prenatal stress in rat causes long-term spatial memory deficit and hippocampus MRI abnormality: Differential effects of postweaning enriched environment. *Neurochem. Int.* **58**, 434-441. (DOI: 10.1016/j.neuint.2011.01.002)
36. Wakshlak, A. & Marta, W. 1990 Neonatal handling reverses behavioral abnormalities induced in rats by prenatal stress. *Physiol. Behav.* **48**, 289-292. (DOI: 10.1016/0031-9384(90)90315-U)
37. Lee, M. H. & Rabe, A. 1999 Infantile handling eliminates reversal learning deficit in rats prenatally exposed to alcohol. *Alcohol* **18**, 49-53. (DOI: 10.1016/S0741-8329(98)00067-6)
38. Lemaire, V., Lamarque, S., Le Moal, M., Piazza, P. V. & Abrous, D. N. 2006 Postnatal stimulation of the pups counteracts prenatal stress-induced deficits in hippocampal neurogenesis. *Bio. Psychiat.* **59**, 786-792. (DOI: 10.1016/j.biopsych.2005.11.009)
39. Nachum-Biala, Y., Salomon, S. & Weinstock, M. 2006 Postnatal handling prevents abnormalities in behaviour and memory induced by prenatal stress. *Eur. Neuropsychopharm.* **16**, S78. (DOI: 10.1016/S0924-977X(06)80092-1)
40. Maccari, S., Piazza, P. V., Kabbaj, M., Barbazanges, A., Simon, H. & Le Moal, M. 1995 Adoption reverses the long-term impairment in glucocorticoid feedback induced by prenatal stress. *J. Neurosci.* ***15***, 110-116.
41. Bergman, K., Sarkar, P., Glover, V. & O'Connor, T. G. 2010 Maternal prenatal cortisol and infant cognitive development: Moderation by infant–mother attachment. *Bio. Psychiat.* **67**, 1026-1032. (DOI: 10.1016/j.biopsych.2010.01.002)
42. Del Cerro, M. C. R., Perez-Laso, C., Ortega, E., Martín, J. L. R., Gomez, F., Perez-Izquierdo, M. A. & Segovia, S. 2010 Maternal care counteracts behavioral effects of prenatal environmental stress in female rats. *Behav. Brain Res.* **208**, 593-602. (DOI: 10.1016/j.bbr.2010.01.003)
43. Sharp, H., Pickles, A., Meaney, M., Marshall, K., Tibu, F. & Hill, J. 2012 Frequency of infant stroking reported by mothers moderates the effect of prenatal depression on infant behavioural and physiological outcomes. *PLoS ONE* ***7***, e45446. (DOI: 10.1371/journal.pone.0045446)
44. Marasco, V., Robinson, J., Herzyk, P. & Spencer, K. A. 2012 Pre-and post-natal stress in context: effects on the stress physiology in a precocial bird. *J. Exp. Biol.* **215,** 3955-3964. (DOI**:** 10.1242/jeb.071423)
45. Marasco, V., Spencer, K. A., Robinson, J., Herzyk, P. & Costantini, D. 2013 Developmental post-natal stress can alter the effects of pre-natal stress on the adult redox balance. *Gen. Comp. Endocrinol.* **191**, 239-246. (DOI**:** 10.1016/j.ygcen.2013.07.003)
46. Zimmer, C., Boogert, N. J. & Spencer, K. A. 2013 Developmental programming: Cumulative effects of increased pre-hatching corticosterone levels and post-hatching unpredictable food availability on physiology and behaviour in adulthood. *Horm. Behav.* **64**, 494-500. (DOI**:** 10.1016/j.yhbeh.2013.07.002)
47. Lee Y.-A. & Goto, Y. 2013 The effects of prenatal and postnatal environmental interaction: prenatal environmental adaptation hypothesis. *J. Physiol.-Paris* **107**, 483-492. (DOI: 10.1016/j.jphysparis.2013.04.007)
48. Kinney, D. K., Munir, K. M., Crowley, D. J. & Miller, A. M. 2008 Prenatal stress and risk for autism. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **32**, 1519-1532. (DOI: 10.1016/j.neubiorev.2008.06.004)
49. Ringgenberg, N., Bergeron, R., Meunier-Salaün, M. C. & Devillers, N. 2012 Impact of social stress during gestation and environmental enrichment during lactation on the maternal behavior of sows. *App. Anim. Behav. Sci.* **136**, 126-135. (DOI: 10.1016/j.applanim.2011.12.012)
50. Sauveur, B. & Picard, M. 1987 Environmental effects on egg quality. In: *Egg quality: current problems and recent advances* (Ed. Well, R. G. & Belyavin, C. G.), pp. 219-234. London: Butterworth.
51. Richard-Yris, M. A. 1994 Comportement parental chez les gallinacés: importance du facteur émotivité dans la vitesse d'émergence des réponses parentales. Apports du modèle caille japonaise. In: *Comportement et bien-être animal* (Ed. Picard, M., Porter, R. & Signoret, J. P.), pp. 61-76. Versailles.

52. Richard-Yris, M. A. & Leboucher, G. 1987 Effects of exposure to chicks on maternal behaviour in domestic chickens. *Bird Behavior* **7**, 31-36.
53. Orcutt Jr, F. S., & Orcutt, A. B. 1976. Nesting and parental behavior in domestic common quail. *The Auk* 135-141.
54. Mills, A.D., Launay, F., Jones, R.B., Williams, J. & Faure, J.-M. 1994 Sélection divergente sur la peur et la socialité chez la caille japonaise Coturnix japonica: Réponses et conséquences. In: *Comportement et bien-être animal* (Picard, M., Porter, R. & Signoret, J.P. Eds.), pp. 127-139. Versailles.
55. Mills, A.D. & Faure J.-M. 1986 The estimation of fear in domestic quail: correlations between various methods and measures. *Biol. Behav.* 11, 235-243.
56. Jones, R.B. 1987 The assessment of fear in the domestic fowl. In: *Cognitive aspects of social behaviour in the domestic fowl* (Zahan, R. & Duncan, I.J.H. Eds.), pp. 40-81. Elsevier, Amsterdam.
57. Faure, J.M., Jones, R.B. & Bessei, W. 1983 Fear and social motivation as factors in open field behaviour of the domestic chick. A theoretical consideration. *Biol. Behav.* **8**, 103-116.
58. Jones, R.B. 1996 Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives. *World Poult. Sci. J.* **52**, 131-174. (DOI: 10.1079/WPS19960013)
59. De Margerie, E., Peris, A., Pittet, F., Houdelier, C., Lumineau, S. & Richard-Yris, M. A. 2013 Effect of mothering on the spatial exploratory behavior of quail chicks. *Dev. Psychobiol*, **55**, 256-264. (DOI**:** 10.1002/dev.21019)
60. Krijgsveld, K. L., Visser, G. H. & Daan, S. 2003 Foraging behavior and physiological changes in precocial quail chicks in response to low temperatures. *Physiol. Behav.* **79**, 311-319. (DOI: 10.1016/S0031-9384(03)00117-3)
61. Henriksen, R., Rettenbacher, S. & Groothuis, T. G. 2011 Prenatal stress in birds: pathways, effects, function and perspectives. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **35**, 1484-1501. (DOI:10.1016/j.neubiorev.2011.04.010.)
62. Riber, A. B., Nielsen, B. L., Ritz, C. & Forkman, B. 2007 Diurnal activity cycles and synchrony in layer hen chicks (*Gallus gallus domesticus*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* **108**, 276-287. (DOI: 10.1016/j.applanim.2007.01.001)
63. Fält, B. 1978 Differences in aggressiveness between brooded and non-brooded domestic chicks. *Applied Animal Ethology* **4**, 211-221.
64. Perré, Y., Wauters, A. M., & Richard-Yris, M. A. 2002 Influence of mothering on emotional and social reactivity of domestic pullets. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **75**, 133-146. (DOI: 10.1016/S0168-1591(01)00189-7).
65. Gonzalez, A., Lovic, V., Ward, G. R., Wainwright, P. E., & Fleming, A. S. 2001 Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Dev. Psychobiol.* **38**, 11-32. (DOI: 10.1002/1098-2302(2001)38:1<11::AID-DEV2>3.0.CO;2-B)
66. Avery, M. L. 1996 Food avoidance by adult house finches, *Carpodacus mexicanus*, affects seed preferences of offspring. *Anim. Behav.* **51**, 1279-1283. (DOI: 10.1006/anbe.1996.0132)
67. Mason, J. R., & Reidinger, R. F. 1982 Observational learning of food aversions in red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*). *The Auk* 548-554.
68. Bertin, A. & Richard-Yris, M. A. 2004 Mothers' fear of human affects the emotional reactivity of young in domestic Japanese quail. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **89**, 215-231. (DOI: 10.1016/j.applanim.2004.06.004)
69. Pittet, F., Houdelier, C., Le Bot, O., Leterrier, C. & Lumineau, S. 2014 Fearfulness Affects Quail Maternal Care and Subsequent Offspring Development. *PLoS ONE* **9**, e102800. (DOI: 10.1371/journal.pone.0102800)
70. Pittet, F., Coignard, M., Houdelier, C., Richard-Yris, M. A. & Lumineau, S. 2013 Effects of maternal experience on fearfulness and maternal behaviour in a precocial bird. *Anim. Behav.* **85**, 797-805. (DOI: 10.1016/j.anbehav.2013.01.026)
71. Meaney, M. J., Tannenbaum, B., Francis, D., Bhatnagar, S., Shanks, N., Viau, V., O'Donnell, D. & Plotsky, P. M. 1994 Early environmental programming hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. In *Seminars in Neuroscience* **6**, 247-259.
72. Pryce, C. R. & Feldon, J. 2003 Long-term neurobehavioural impact of the postnatal environment in rats: manipulations, effects and mediating mechanisms. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **27**, 57-71. (DOI: 10.1016/S0149-7634(03)00009-5)
73. Cannizzaro, C., Plescia, F., Martire, M., Gagliano, M., Cannizzaro, G., Mantia, G., & Cannizzaro, E. 2006 Single, intense prenatal stress decreases emotionality and enhances learning performance in the adolescent rat offspring: interaction with a brief, daily maternal separation. *Behav. Brain Res.* **169**, 128-136. (DOI: 10.1016/j.bbr.2005.12.010)
74. Weinstock, M. 2005 The potential influence of maternal stress hormones on development and mental health of the offspring. *Brain Behav. Immun.* **19**, 296-308. (DOI : 10.1016/j.bbi.2004.09.006)
75. Koolhaas, J. M., Bartolomucci, A., Buwalda, B., De Boer, S. F., Flügge, G., Korte, S. M., Meerlo, P., Murison, R., Palanza, P., Richter-Levin, G., Sgoifo, A., Steimer, T., Stiedl, O., van Dijk, G., Wöhr, M. & Fuchs, E. 2011 Stress revisited: a critical evaluation of the stress con-

cept. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **35**, 1291-1301. (DOI: 10.1016/j.neubiorev.2011.02.003)

76. Lindqvist, C., Janczak, A. M., Nätt, D., Baranowska, I., Lindqvist, N., Wichman, A., Lundeberg, J., Lindberg, J, Torjesen, P. A. & Jensen, P. 2007 Transmission of stress-induced learning impairment and associated brain gene expression from parents to offspring in chickens. *PLoS ONE* **2**, e364. (DOI: 10.1371/journal.pone.0000364)
77. Kisliouk, T., Ziv, M. & Meiri, N. 2010 Epigenetic control of translation regulation: Alterations in histone H3 lysine 9 post-translation modifications are correlated with the expression of the translation initiation factor 2B (Eif2b5) during thermal control establishment. *Dev. Neurobiol.* **70**, 100-113. (DOI**:** 10.1002/dneu.20763)
78. Hayward, L. S. & Wingfield, J. C. 2004 Maternal corticosterone is transferred to avian yolk and may alter offspring growth and adult phenotype. *Gen. Comp. Endocrinol.* **135**, 365-371. (DOI: 10.1016/j.ygcen.2003.11.002)
79. Henriksen, R., Rettenbacher, S. & GG Groothuis, T. 2013 Maternal corticosterone elevation during egg formation in chickens (*Gallus gallus domesticus*) influences offspring traits, partly via prenatal undernutrition. *Gen. Comp. Endocrinol.* **191**, 83-91. (DOI: 10.1016/j.ygcen.2013.05.028)
80. Harlow, H. F. & Suomi, S. J. 1971 Social recovery by isolation-reared monkeys. *P. Natl. Acad. Sci.* **68**, 1534-1538.
81. Dwyer, C. M. & Lawrence, A. B. 1998 Variability in the expression of maternal behaviour in primiparous sheep: effects of genotype and litter size. *Appl. Anim. Behav. Sci.* **58**, 311-330. (DOI: 10.1016/S0168-1591(97)00148-2)
82. Rosenzweig, M. R., Leiman, A. L., & Breedlove, S. M. 1998. Le Sexe. In: *Psychology* (Ed. DeBoeck Université), pp. 431-443. Bruxelles.
83. Chiang, C. F., Johnson, R. K. & Nielsen, M. K. 2002 Maternal behavior in mice selected for large litter size. *App. Anim. Behav. Sci.* **79**, 63-73. (DOI: 10.1016/S0168-1591(02)00094-1)
84. Wallen, K. 2005 Hormonal influences on sexually differentiated behavior in nonhuman primates. *Front. Neuroendocrin.* **26**, 7-26. (DOI: 10.1016/j.yfrne.2005.02.001)
85. Thornhill, R. 1989 Nest defense by red jungle fowl (*Gallus gallus spadiceus*) hens: the roles of renesting potential, parental experience and brood reproductive value. *Ethology* **83**, 31-42.
86. Wright, J. & Cuthill, I. 1990 Biparental care: short-term manipulation of partner contribution and brood size in the starling, *Sturnus vulgaris*. *Behav. Ecol.* **1**, 116-124. (DOI: 10.1093/beheco/1.2.116)
87. Harding, A. M. A., Kitaysky, A. S., Hamer, K. C., Hall, M. E., Welcker, J., Talbot, S. L., Karnovsky, N. J., Gabrielsen, G. W. & Gremillet, D. 2009 Impacts of experimentally increased foraging effort on the family: offspring sex matters. *Anim. Behav.* **78**, 321-328. (DOI: 10.1016/j.anbehav.2009.05.009)
88. Anisman, H., Zaharia, M. D., Meaney, M. J. & Merali, Z. 1998 Do early-life events permanently alter behavioral and hormonal responses to stressors? *Int. J. Dev. Neurosci.* ***16***, 149-164. (DOI: 10.1016/S0736-5748(98)00025-2)
89. Houdelier, C., Lumineau, S., Bertin, A., Guibert, F., De Margerie, E., Augery, M. & Richard-Yris, M. A. 2011 Development of fearfulness in birds: genetic factors modulate non-genetic maternal influences. *PLoS ONE* **6**, e14604. (DOI: 10.1371/journal.pone.0014604)
90. Mills, A. D. & Faure, J. M. 1991 Divergent selection for duration of tonic immobility and social reinstatement behavior in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) chicks. *J. Comp. Psychol.* **105**, 25. (DOI: 10.1037//0735-7036.105.1.25)
91. Rosenblatt, J. S. 1990 Landmarks in the physiological study of maternal behavior with special reference to the rat. In: *Mammalian Parenting: Biochemical, Neurobiological and Behavioural Determinants* (Ed. Krasnegor, N. A. & Bridges, R. S.), pp. 40-60. Oxford University Press, New-York.
92. Eising, C. M. & Groothuis, T. G. 2003 Yolk androgens and begging behaviour in black-headed gull chicks: an experimental field study. *Anim. Behav.* ***66***, 1027-1034. (DOI: 10.1006/anbe.2003.2287)
93. Meek, L. R., Dittel, P. L., Sheehan, M. C., Chan, J. Y. & Kjolhaug, S. R. 2001 Effects of stress during pregnancy on maternal behavior in mice. *Physiol. Behav.* ***72***, 473-479. (DOI: 10.1016/S0031-9384(00)00431-5)
94. Mousseau, T. A. & Fox, C. W. 1998 The adaptive significance of maternal effects. *Trends Ecol. Evol.* **13**, 403-407. (DOI: 10.1016/S0169-5347(98)01472-4)
95. Kaiser, S. & Sachser, **N.** 2005 The effects of prenatal social stress on behaviour: mechanisms and function. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **29** 283-294. (DOI: 10.1016/j.neubiorev.2004.09.015)
96. Kaiser, S. & Sachser, N. 2009 Effects of Prenatal Social Stress on Offspring Development Pathology or Adaptation? *Curr. Dir. Psychol. Sci.* **18,** 118-121. (DOI: 10.1111/j.1467-8721.2009.01620.x)
97. Patin, V., Lordi, B., Vincent, A., Thoumas, J. L., Vaudry, H. & Caston, J. 2002 Effects of prenatal stress on maternal behavior in the rat. *Dev. Brain Res.* **139**, 1-8. (DOI: 10.1016/S0165-3806(02)00491-1)
98. Davis, F. C. & Gorski, R. A. 1985 Development of hamster circadian rhythms. I. Within-litter synchrony of mother and pup activity rhythms at weaning. *Biol. Reprod.* **33**, 353-362. (DOI: 10.1095/biolreprod33.2.353)

99. Braastad, B. O. 1998 Effects of prenatal stress on behaviour of offspring of laboratory and farmed mammals. *App. Anim. Behav. Sci.* **61,** 159-180. (DOI: 10.1016/S0168-1591(98)00188-9)
100. Kranendonk, G., Mulder, E. J. H., Parvizi, N. & Taverne, M. A. M. 2008 Prenatal stress in pigs: experimental approaches and field observations. *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* **116**, 413-422. (DOI: 10.1055/s-2008-1065335)
101. Chojnacki, R. M., Vas, J., & Andersen, I. L. 2014 The Effects of Prenatal Stocking Densities on the Fear Responses and Sociality of Goat (*Capra hircus*) Kids. *PLoS ONE* **9**, e94253. (DOI: 10.1371/journal.pone.0094253)

# CHAPITRE 6 | Discussion

# I. BILAN DES RESULTATS

Ce projet de thèse avait pour objectif d'approfondir nos connaissances sur les influences maternelles prénatales chez les oiseaux nidifuges et de fournir une première investigation d'interaction maternelle pré- et postnatale chez ce modèle.

Nos travaux se sont déroulés en trois temps. Tout d'abord, nous avons étudié l'influence d'une caractéristique intrinsèque de la femelle, son rythme journalier de ponte, sur son comportement, les caractéristiques de ses œufs et le phénotype de ses descendants (expérimentation RYTHME). Ainsi, **le profil de ponte** de la caille japonaise apparaît lié aux traits d'émotivité des femelles adultes. De plus, les femelles montrant des profils de ponte différent ont produit des œufs et des jeunes différents : en comparaison aux femelles présentant un rythme de ponte « stable », les femelles de profil « décalé » ont pondu des œufs contenant, d'une part, plus de coquille et moins de contenant (albumen-vitellus), et d'autre part, un vitellus proportionnellement plus riche en progestérone mais moins riche en testostérone. De plus, ces femelles au profil décalé ont pondu moins d'œufs fertilisés mais avec une mortalité embryonnaire plus faible, et une durée d'incubation des œufs plus courte. Enfin, leurs cailleteaux se sont révélés plus émotifs en environnement nouveau et face à une séparation sociale.

Nous avons également cherché à savoir comment variaient les caractéristiques des œufs au cours du temps au sein de chaque profil de ponte (expérimentation RANG). Cette évolution est ainsi propre à chaque profil : l'heure de ponte est un facteur décisif pour les caractéristiques des œufs chez le profil décalé (l'heure de ponte est positivement corrélée à la quantité d'albumen et négativement corrélée à la quantité de vitellus, de coquille et au poids total de l'œuf). Quant au profil stable, des variations hormonales dans le vitellus sont liées à l'intervalle de ponte.

Ensuite, nous nous sommes intéressé à l'influence des congénères, et plus particulièrement du **partenaire sexuel** (expérimentation COUPLE). Notre étude a montré qu'un appariement durable permet le développement d'un lien de couple entre le mâle et la femelle. Ce lien s'est exprimé par une détresse lorsque les partenaires ont été séparés (recherche active

sous la forme de locomotion et de vocalisations), et des comportements de confort lorsque les partenaires étaient ensembles (toilette, bain de poussière). Le développement d'un lien de couple n'a pas influencé les caractéristiques des œufs que nous avons mesurées outre une tendance à une meilleure fertilisation des œufs. Néanmoins, lorsque les parents avaient développé un lien de couple, les jeunes ont présenté une réactivité émotionnelle moindre et une motivation sociale accrue.

Enfin, la dernière partie du projet de thèse était consacrée à l'étude d'une **interaction entre une influence maternelle prénatale et une influence maternelle postnatale** (expérimentation INTERACTION). Nos travaux ont révélé une forte influence de la présence d'une mère lors de la vie précoce des jeunes. Les cailleteaux stressés prénatalement et élevés par une mère pendant onze jours sont apparus moins émotifs en environnement nouveau et face à la nouveauté, et maintenaient entre eux des distances plus courtes.

Nos travaux ont ainsi montré l'influence prénatale de facteurs endogènes (i.e. les caractéristiques du comportement de ponte) et environnementaux (i.e. le développement d'un lien avec le partenaire sexuel). De plus, nous avons mis en évidence pour la première fois une interaction entre une influence maternelle prénatale (i.e. un stress) et une influence maternelle postnatale (i.e. la présence d'une femelle maternante après l'éclosion) chez un oiseau nidifuge.

Ces quatre études soulèvent d'abord des questions mécanistiques au niveau de la génération des parents d'une part, puis au niveau des descendant d'autre part. Nous allons discuter des potentiels mécanismes impliqués dans le chapitre suivant.

# II. MECANISMES IMPLIQUES DANS LES INFLUENCES MATERNELLES

## A. Influences maternelles prénatales

Les études sur les influences maternelles prénatales et leurs conséquences sur le développement phénotypique des descendants se multiplient depuis quelques décennies, mais les mécanismes qui régissent ces effets restent mal connus (Groothuis & Schwabl 2008, Frésard et al. 2013). Nous allons aborder dans ce chapitre l'état actuel des connaissances à ce sujet, en y intégrant les résultats de nos expérimentations. Deux aspects seront abordés : la modulation des caractéristiques des œufs d'une part, puis les voies d'actions sur le développement des descendants d'autre part.

### *1. Modulation des caractéristiques des œufs*

La régulation de la reproduction, et donc de la production des œufs, fait appel à plusieurs mécanismes. Si des facteurs génétiques sont impliqués, des mécanismes neurophysiologiques peuvent également jouer un rôle.

Les variations de stéroïdes dans les œufs peuvent avoir **une origine génétique**. En effet, si les concentrations de stéroïdes dans le vitellus varient d'une espèce à l'autre (Groothuis et al. 2005, Gil 2008), des variations d'origine génétique existent aussi au sein d'une même espèce, comme le montrent par exemple les sélections divergentes effectuées chez la caille japonaise. Ainsi, une sélection sur la concentration vitelline en testostérone est possible, conduisant à une lignée à forte concentration et une lignée à faible concentration (Okuliarová et al. 2011, figure 21). Des travaux supplémentaires des mêmes auteurs révèlent toutefois des limites à cette sélection : la lignée à faible concentration en testostérone dans le vitellus atteint sa limite dès la seconde génération, tandis que, pour la lignée à forte concentration, aucun plateau n'est encore apparu à la cinquième génération (Okuliarová et al. 2014). Les auteurs suggèrent alors que la lignée à faible concentration atteint rapidement un seuil minimal physiologique de testostérone vitelline. Ensuite, des travaux ont montré que

des femelles sélectionnées pour un haut niveau de motivation sociale (lignée HSR) pondent des œufs contenant de fortes concentrations en testostérone comparées à des femelles de la lignée à faible motivation sociale (LSR) (Gil & Faure 2007). De la même façon, des cailles sélectionnées pour une forte réactivité émotionnelle intrinsèque (lignée LTI) pondent des œufs dont les concentrations en progestérone et androstènedione sont supérieures aux œufs pondus par des femelles de la lignée à faible réactivité émotionnelle (STI) (Bertin et al. 2009a). Si la concentration hormonale des œufs a une base génétique, des co-sélections entre cette caractéristique et des traits comportementaux seraient donc également possibles. Toutefois, nos connaissances actuelles ne permettent pas de distinguer cette éventuelle co-sélection d'un autre mécanisme : la modulation des stéroïdes du vitellus pourrait être une conséquence de la sélection, des animaux très émotifs ayant par exemple un fonctionnement physiologique différent des animaux peu émotifs, modulant alors le dépôt hormonal dans les œufs. L'implication d'un facteur génétique pourrait néanmoins expliquer partiellement les modulations hormonales observées lors de notre expérimentation RYTHME. En effet, le rythme de ponte exprimé par une femelle est en partie d'origine génétique, comme le montre l'héritabilité de 0,5 (Houdelier et al. 2002). Il est donc possible que ces différences génétiques liées à un rythme soient également à l'origine des concentrations différentes mesurées dans les œufs des femelles.

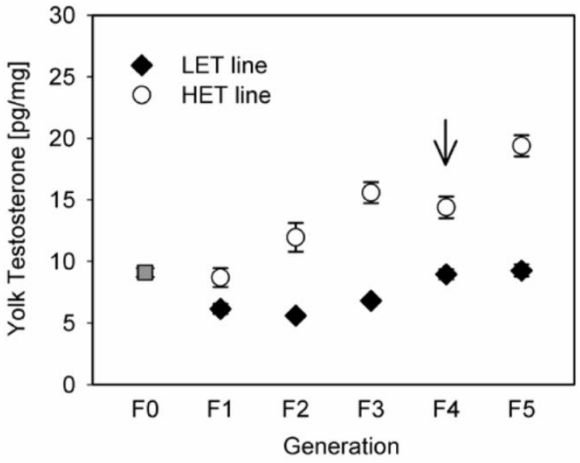



***Fig 21.*** *Sélection divergente sur la concentration du vitellus en testostérone, créant une lignée à faible concentration (HET) et une lignée à forte concentration (LET). La flèche correspond à une sélection "relâchée" : les mâles reproducteurs de la génération F4 ne sont pas sélectionnés, afin de rafraîchir la variation génétique. D'après Okuliarová et al. 2014.*

Les **mécanismes physiologiques** impliqués dans la modulation du contenu hormonal des œufs par les influences environnementales ou les caractéristiques intrinsèques de la femelle restent inconnus aujourd'hui. Tout d'abord, les concentrations plasmatiques de différentes molécules ne sont pas toujours corrélées avec les modulations observées au niveau de la composition des œufs. Par exemple, le taux de testostérone plasmatique peut être corrélé au taux de testostérone dans le vitellus positivement (Schwabl 1996, Badyaev et al. 2005) ou négativement (Mazuc et al. 2003, Navara et al. 2006). De plus, la synthèse des stéroïdes au niveau des ovaires est elle-même complexe, puisque nombre de molécules sont précurseurs d'autres molécules. Par exemple, la progestérone est le précurseur de la corticostérone, l'androstènedione est le précurseur de la testostérone qui donne ensuite l'estradiol (Huang et al. 1979, Porter et al. 1989). Les mécanismes enzymatiques qui régissent la conversion de ces hormones (dans un sens ou dans l'autre) pourraient être influencés par les conditions de vie de la femelle ou ses caractéristiques propres. Notons, par exemple, l'étude de Henriksen et ses collaborateurs (2011a), où un implant sous-cutané libérant de la corticostérone dans la circulation générale de poules pondeuses a entraîné une diminution des niveaux de progestérone et de testostérone plasmatiques, diminution également observée dans le vitellus des œufs.

Malgré ces difficultés, nous pouvons émettre des hypothèses mécanistiques expliquant nos résultats. Il est probable que **l'axe HPG soit impliqué**. En effet, les stéroïdes sont produits par l'ovaire, et plus particulièrement par l'activité synthétique des couches cellulaires des follicules (Huang et al. 1979). Cette production est régulée par la LH et la FSH (Groothuis & Schwabl 2008), hormones hypophysaires elles-mêmes sous le contrôle de la GnRH, hormone hypothalamique. Le fonctionnement de l'axe HPG est probablement modulé dans un premier temps par les caractéristiques intrinsèques de la femelle. Par exemple, l'âge de la femelle pondeuse apparaît diminuer la sensibilité à la LH des cellules folliculaires d'une part, et du système nerveux central d'autre part (William & Sharp 1978, Johnson et al. 1986), ce qui entraînerait une diminution de la production de stéroïdes (Okuliarová et al. 2009, Guibert et al. 2012) voire une modification plus large de la production de l'œuf (taille des follicules, synthèse de l'albumen dans le magnum et de la coquille dans l'utérus). De la même façon, nous pourrions supposer un fonctionnement de l'axe HPG différent selon le profil de ponte, expliquant nos différences entre les œufs de femelles stables et décalées (expérimen-

tation RYTHME). Par exemple, le fait que les œufs de femelles présentant un profil décalé contiennent plus de coquille pourrait être lié à un dépôt accru de la coquille par les cellules de l'utérus. Ensuite, l'activité de l'axe HPG et donc la production de stéroïdes apparaissent également être influencées par des facteurs environnementaux, tels que la photopériode ou la température, qui agissent directement sur la production de GnRH par l'hypothalamus. Les conditions photopériodiques, ou plus précisément l'action des stimulations lumineuses environnementales, pourraient affecter différemment la maturation du follicule selon son état de développement et donc selon le profil de ponte des femelles. Ces différences d'interactions entre les stimuli environnementaux et le follicule en développement pourraient alors conduire aux modulations des caractéristiques des œufs selon les profils de ponte. De plus, il est probable qu'une interaction entre des facteurs environnementaux (comme la photopériode par exemple) au moment de la maturation folliculaire et le fonctionnement de base de l'axe HPG au sein de chaque profil de ponte soit à l'origine des différences observées dans notre expérimentation RANG. Enfin, l'axe HPG étant impliqué dans la régulation de nombres de fonctions reproductrices (Doi et al. 1980, Ball & Balthazart 2004), nous pensons que le fonctionnement de l'axe HPG de nos femelles en couple permanent (expérimentation COUPLE) a pu être influencé par le développement d'un lien entre le mâle et la femelle. Ce fonctionnement serait différent de celui des couples qui n'ont pas développé de lien. Toutefois, dans cette expérimentation, l'axe HPA pourrait également être impliqué. Il a en effet été démontré que les activités de ces deux axes pouvaient interagir, expliquant notamment une stéroïdogénèse affectée dans des contextes environnementaux stressants (Rivier & Rivest 1991, Brunton 2013). Chez notre modèle, des conditions de vie stressantes concernant l'environnement physique (Guibert et al. 2011) mais aussi l'environnement social (Guibert et al. 2010) ont conduit à une modulation des caractéristiques des œufs, et donc probablement de l'activité de l'axe HPG. Notre expérimentation COUPLE, qui impliquait le développement d'un attachement particulier au partenaire sexuel, pourrait donc également révéler une telle interaction entre les axes HPA et HPG.

Si nos résultats ne montrent pas d'effet significatif sur les niveaux d'androgènes et de progestérone dans les œufs, le lien du couple pourrait cependant affecter d'autres composants présents dans l'œuf et jusque-là peu explorés. Ainsi, notre expérience COUPLE pourrait impliquer le **système ocytocinergique** des parents. En effet, l'arginine vasotocine et la méso-

tocine, hormones peptidiques homologues de la vasopressine et de l'ocytocine des mammifères, sont impliquées dans la régulation de plusieurs comportements socio-sexuels chez les oiseaux : grégarisme (Goodson et al. 2012), construction du nid (Klatt & Goodson 2013) ou encore comportement maternel (Thayananuphat et al. 2011). Récemment, des travaux ont montré qu'une injection cérébrale intraventriculaire d'un antagoniste de l'ocytocine a réduit les capacités d'appariement chez le diamant mandarin, montrant l'importance de ces peptides dans la régulation de la formation du couple et de son maintien chez l'oiseau. Nos couples permanents ont développé un lien qui pourrait être lié à l'activité de ce système ocytocinergique (Klatt & Goodson 2012, Pedersen & Tomaszycki 2012). L'ocytocine et la vasotocine ne sont pas synthétisées par l'ovaire comme les stéroïdes gonadiques dont nous avons parlé précédemment, leur synthèse par l'hypophyse et les noyaux supra-optiques et paraventriculaires donne lieu à une libération dans la circulation sanguine. Néanmoins, l'arginine-vasotocine a été trouvée dans l'ovaire chez la poule (Chaturvedi et al. 1994, Saito & Grossman 1999), et dans l'utérus chez la caille japonaise (Srivastava et al. 2007). Dans cette dernière étude en outre, les auteurs ont montré une influence directe des œstrogènes sur les récepteurs utérins à l'ocytocine et à l'arginine vasotocine suggérant des relations entre le système ocytocinergique et l'axe HPG. À notre connaissance, aucune étude n'a mesuré la présence éventuelle de ces nonapeptides dans les œufs, mais nous pouvons penser que les caractéristiques de l'environnement socio-sexuel des femelles au moment de la phase de ponte, en modulant les concentrations plasmatiques de ces peptides, pourraient créer des interactions entre le système ocytocinergique et l'axe HPG, et moduler les concentrations vitellines en stéroïdes, voire en hormones peptidiques.

La compréhension des mécanismes impliqués dans la modulation des niveaux d'hormones dans les œufs apparait donc très complexe puisqu'elle implique certainement différents systèmes physiologiques qui fonctionnent en interaction, ainsi que des facteurs environnementaux et intrinsèques. De plus, la maturation folliculaire est un processus dynamique qui se fait en deux phases depuis l'éclosion de l'animal. Si le dépôt des hormones se fait dans la phase de croissance rapide du follicule, la croissance totale du follicule se fait sur plusieurs jours (sept jours en moyenne chez la caille) et donc l'évaluation des relations entre les niveaux hormonaux plasmatiques et vitellins implique la prise en compte de ce processus

temporel. Enfin, il apparait également que des variabilités maturationnelles apparaissent entre différents follicules d'une même femelle (Bahr et al. 1983), ceci pouvant être alors associé à des sensibilités différentes des follicules aux facteurs environnementaux (Okuliarová et al. 2010), créant enfin une certaine variabilité « inter-œufs » des caractéristiques hormonales.

### 2. ***Modulation du phénotype des descendants***

Nos expérimentations ont montré une modulation du phénotype des cailleteaux selon le profil de ponte de leur mère et le développement d'un lien entre leurs parents. Cette influence pourrait être liée à l'environnement prénatal de l'embryon, c'est-à-dire les caractéristiques de l'œuf dans lequel il se développe. Ce chapitre explore les effets de cet environnement prénatal ainsi que les mécanismes neurophysiologiques associés.

Les études ayant exploré l'influence des **caractéristiques de l'œuf** sur le développement embryonnaire se sont surtout focalisées sur les conséquences en termes de croissance. La taille de l'œuf apparaît ainsi positivement corrélée à la taille et au poids des oisillons après l'éclosion (Wilson 1991, Christians 2002). Si la proportion d'albumen semble être positivement corrélée avec la croissance embryonnaire et postnatale du poussin (Hill 1993, Finkler et al. 1998, Ferrari et al. 2006), le vitellus ne semble pas influencer directement la croissance mais, plus la quantité de vitellus au début de l'éclosion est faible, plus le sac vitellin résiduel à l'éclosion le sera également, ce qui aurait des conséquences nutritives défavorables pour l'oisillon nouvellement éclos (Finkler et al. 1998, Moran 2007). Enfin, la qualité de la coquille semble avoir une influence sur le taux d'éclosion des oisillons. Ainsi, plus la coquille est fine, meilleur sera le taux d'éclosion, probablement en lien avec de meilleurs échanges gazeux entre l'intérieur de l'œuf et l'environnement (Narushin & Romanov 2002, Moyle et al. 2008).

La relation entre les caractéristiques des œufs et le phénotype comportemental des oisillons issus de ces œufs reste méconnue. Seule une étude à notre connaissance fait le lien entre un composant de l'œuf et le comportement des oisillons issus des œufs : un retrait artificiel d'albumen conduirait à une augmentation du comportement de quémande chez le

goéland leucophée (Bonisoli-Alquati et al. 2007), mais cette augmentation est corrélée à l'ordre de ponte, suggérant l'implication d'autres facteurs dans ces résultats. Nous avons montré que les descendants des femelles présentant un profil de ponte stable ou décalé présentent des phénotypes comportementaux différents. Or, les œufs dont sont issus ces jeunes présentaient des différences, puisque les œufs pondus par les femelles du profil décalé avaient des coquilles plus lourdes que les œufs des femelles du profil stable. Nous avons observé des taux d'éclosion similaires entre les deux profils de ponte (expérimentation RYTHME) mais les œufs pondus par les femelles décalées ont subi moins de morts embryonnaires, ce qui ne semble donc pas cohérent avec les études déjà réalisées (Narushin & Romanov 2002, Moyle et al. 2008). Néanmoins, nos mesures nous permettent seulement de comparer le poids total des coquilles, nous n'avons donc pas d'information sur leur porosité ni leur composition (i.e. quantité de calcium et autres minéraux). De plus, notre expérimentation RANG montre qu'au sein de chaque profil de ponte les caractéristiques des œufs varient spécifiquement. En particulier, l'heure de ponte est négativement corrélée avec le poids de l'œuf et la quantité de vitellus, et positivement corrélée avec la quantité d'albumen. Pour résumer, les œufs pondus tardivement (ce qui correspond aux derniers œufs d'une série) sont moins lourds, contiennent moins de vitellus et plus d'albumen. Chez les espèces où les couvées sont nombreuses, certains auteurs estiment que les jeunes issus des derniers œufs produits pourraient servir de jeunes de remplacement en cas de décès des premiers jeunes éclos (Müller & Groothuis 2013, figure 22). Ainsi, l'investissement maternel prénatal pourrait être différent selon le rang de ponte. La diminution de la quantité de vitellus dans les derniers œufs de la série chez notre modèle est cohérente avec cette hypothèse : comme nous l'avons évoqué, une faible quantité de vitellus pourrait avoir des répercussions défavorables sur la croissance après l'éclosion (Finkler et al. 1998, Moran et al. 2007). Au-delà de ces conséquences nutritives, il serait intéressant d'explorer l'impact de telles variations sur le développement comportemental des jeunes. Il faut cependant noter que nous ne savons pas à l'heure actuelle si une couvée naturelle chez une caille exprimant un rythme de ponte décalé correspondrait à une ou plusieurs séries complètes, ou serait « à cheval » sur plusieurs séries. Nous pouvons néanmoins émettre l'hypothèse qu'une couvée, chez une femelle décalée, comporte des œufs d'au moins deux séries de ponte, au vu du nombre moyen d'œufs que contient une couvée chez la caille japonaise (Taka-Tsukasa 1935).

***Fig 22.*** *Chez de nombreuses espèces nidifuges, les couvées sont nombreuses (cette femelle réchauffe une dizaine de cailleteaux). Des auteurs suggèrent qu'une partie des jeunes, en « surplus », permettrait soit d'augmenter le succès reproducteur si les conditions de vie sont favorables (survie de tous les jeunes), soit ils serviraient d'unités de remplacement en cas de mortalité d'une partie de la couvée (Müller & Groothuis 2013).*

Une large littérature démontre une influence de la **composition hormonale** de l'œuf sur le phénotype des descendants (Groothuis et al. 2005, Groothis & Schwabl 2008). L'action des hormones sur le développement embryonnaire est encore un mécanisme mal connu, qui se heurte à un phénomène : l'utilisation de ces hormones par l'embryon. En effet, l'extraction des hormones du vitellus par l'embryon est un processus encore méconnu (Moore & Johnston 2008). On sait néanmoins que l'embryon possède des récepteurs aux stéroïdes dès quatre jours de développement (Andrews et al. 1997, Smith et al. 1997), et synthétise des enzymes métabolisant les stéroïdes dès deux jours d'incubation (Woods & Weeks 1969, Nomura et al. 1999). L'embryon est donc sensible très tôt aux stéroïdes maternels, mais sa propre activité d'assimilation et de synthèse biochimique lui donnerait un certain contrôle sur les effets des doses de stéroïdes présentent dans le vitellus (von Engelhardt et al. 2009). Ainsi, les concentrations hormonales mesurées dans les œufs peuvent ne pas correspondre à l'exposition réelle que le jeune subit.

Des auteurs proposent néanmoins trois hypothèses pouvant expliquer comment les stéroïdes influencent le développement embryonnaire. Premièrement, ces hormones pourraient affecter certaines **structures cérébrales à un niveau organisationnel**. Des travaux montrent en effet que les stéroïdes maternels affecteraient la mise en place des structures cérébrales et leur fonctionnement. La latéralisation cérébrale (i.e. la mise en place du contrôle par l'un ou l'autre des hémisphères cérébraux d'une multitude de fonctions) serait ainsi affectée par l'exposition prénatale à la testostérone (Pfannkuche et al. 2009), tout comme la différentiation sexuelle (Balthazart & Adkins-Regan 2002). Ensuite, l'axe HPG de l'embryon est probablement soumis aux influences des androgènes maternels, ce qui affecterait à long terme sa **production endogène d'hormones**. Chez l'étourneau, l'injection d'androgènes dans les œufs avant même le début de l'incubation conduit à des niveaux de testostérone plasmatique supérieurs chez les individus issus de ces œufs en comparaison à des étourneaux contrôle (Müller et al. 2007). Enfin, l'exposition à certains niveaux d'androgènes pourrait moduler la sensibilité à ces hormones en agissant sur la **quantité de récepteurs** présents dans le système nerveux central et/ou périphérique. Ainsi, une exposition prénatale à de forts niveaux de testostérone entraînerait une diminution de la synthèse de récepteurs à cette hormone, probablement pour prévenir des effets délétères (Pfannkuche et al. 2011). Néanmoins, la majorité de ces études utilisent des protocoles d'augmentations artificielles d'androgènes dans le vitellus de l'œuf, et il parait désormais nécessaire de réaliser des travaux dans lesquels les variations hormonales sont naturelles pour pouvoir être validées.

Il semble difficile d'établir une relation directe entre l'exposition à une hormone et des réponses physiologiques ou comportementales particulières. Le tableau 3 résume les résultats des modulations hormonales dans les œufs suite à différents facteurs, et les conséquences phénotypiques chez les jeunes. On remarque aisément que, quel que soit le type d'influence prénatale étudiée, il existe une forte variabilité dans les réponses hormonales et les conséquences développementales chez les jeunes. Il semble donc qu'aucun schéma général ne puisse être dressé quant aux modulations hormonales des œufs et leurs conséquences sur le phénotype des descendants. Les facteurs pouvant expliquer cette variabilité sont multiples. D'abord, des auteurs ont suggéré que l'influence d'un stéroïde sur le comportement pouvait suivre une courbe en U inversé (Groothuis & Schwabl 2008), les effets des doses intermédiaires étant alors supérieurs aux doses minimale ou maximale. Ensuite, comme nous

***Tableau 3.*** *Variations hormonales dans les œufs de cailles et de poules (testostérone, androstènedione, progestérone et estradiol) en relation avec différents facteurs environnementaux ou intrinsèques, et conséquences morphologiques et comportementales chez les jeunes (R.E. : réactivité émotionnelle ; M.S. : motivation sociale). Le symbole = signifie que les concentrations hormonales ne diffèrent pas pour ce stéroïde, et le symbole - signifie que ce paramètre n'a pas été testé.*

| | | Hormones | | | | Jeunes | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Effet testé** ***(Réf.)*** | **Modèle** | **Testo.** | **Andr.** | **Prog.** | **Estr.** | **Poids** | **R.E.** | **M.S.** | **Commentaire** |
| **Influence des caractéristiques intrinsèques** | | | | | | | | | |
| Sélection divergente : M.S. Gil & Faure 2007 | Caille | ↗ | = | - | - | | | | Effet sur la lignée à forte M.S. en comparaison avec la lignée à faible M.S. |
| Sélection divergente : R.E. *Bertin et al. 2009a* | Caille | = | ↘ | ↘ | - | | | | Effet sur la lignée très émotive en comparaison avec la lignée peu émotive |
| Âge *Guibert et al. 2012* | Caille | ↘ | = | = | - | ↗ | ↘ | ↗ | |
| Rythme de ponte > 24h *Le Bot et al.* en préparation | Caille | ↘ | - | ↗ | - | ↗ | ↗ | ↗ | |
| **Influences environnementales** | | | | | | | | | |
| Habituation à l'Homme *Bertin et al. 2008* | Caille | ↗ | ↗ | ↘ | - | ↗ | ↗ | ↗ | |
| Instabilité sociale *Guibert et al. 2010* | Caille | ↗ | = | = | - | ↘ | ↗ | ↗ | ↗ corticostérone plasmatique des mères |
| Absence d'abris *Guesdon et al. 2011* | Caille | ↗ | ↗ | = | - | ↗ | ↗ | ↗ | |
| Perturbations physiques *Guibert et al. 2011* | Caille | ↗ | = | = | - | ↗ | ↗ | ↗ | |
| Stress de chaleur *Bertin et al. 2013* | Poule | ↗ | = | ↗ | ↗ | ↘ | - | - | ↘ néophobie et sélectivité alimentaires |
| Privation maternelle *Guibert et al.* en préparation | Caille | = | ↘ | ↗ | - | = | ↘ | ↗ | |
| Lien de couple *Le Bot et al.* sous presse | Caille | = | = | - | - | ↘ | ↘ | ↗ | |
| **Autres études** | | | | | | | | | |
| Stress transgénérationnel *Guibert et al. 2013* | Caille | ↗ | = | ↗ | - | = | ↗ | ↗ | |
| Implant de corticostérone *Henriksen et al. 2011a, 2013* | Poule | ↘ | - | ↘ | = | ↘ | ↘ | - | ↘ compétitivité alimentaire des jeunes |

l'avons évoqué, les concentrations hormonales des différents stéroïdes pourraient interagir entre elles, et donc modifier *in fine* le développement comportemental du jeune.

Notre expérimentation COUPLE, quant à elle, n'a pas montré de différence hormonale entre les deux lots d'œufs, mais les jeunes présentaient des différences phénotypiques. En particulier, il est intéressant de noter que les jeunes des parents ayant développé un lien de couple sont plus sociaux. Si la présence de nonapeptides (i.e. mésotocine et arginine vasotocine) dans le vitellus n'a pas été démontrée à l'heure actuelle, nous suggérons néanmoins l'implication de ces molécules dans la régulation des comportements sociaux des cailleteaux dans notre étude, au vu de l'influence prénatale considérée. Cette hypothèse est étayée par des études chez les mammifères ayant montré une transmission intergénérationnelle des niveaux basaux de ces nonapeptides (Feldman et al. 2010).

Par ailleurs, d'autres composants sont présents dans l'œuf, comme des hormones thyroïdiennes, des caroténoïdes, des lysozymes ou encore des anticorps, susceptibles de moduler le développement embryonnaire et la croissance postnatale (McNabb & Wilson 1997, Wilson & McNabb 1997, Gil 2008). Les conséquences comportementales de l'exposition à ces hormones n'a pas encore fait l'objet de travaux à notre connaissance, exception faite de l'étude de Cucco et ses collaborateurs (2006) qui n'ont pas montré d'impact d'un enrichissement en β-carotènes du régime alimentaire de femelles perdrix grises sur le comportement anti-prédateur de leurs descendants.

Des **mécanismes épigénétiques** participent également très probablement à l'origine des effets maternels que nous avons démontrés. Les modulations épigénétiques impliquent un changement de l'expression d'un ou plusieurs gènes, sans que sa séquence en soit modifiée (Richard 2006). Très étudiés chez les mammifères, de tels mécanismes ont été démontrés récemment chez les oiseaux (Lindqvist et al. 2007, Nätt et al. 2009, 2012, Goerlich et al. 2012). Classiquement, deux « voies d'action épigénétiques », non exclusives, sont discutées (Danchin et al. 2011) : **l'héritage épigénétique dans la lignée germinale** implique qu'un événement durant la gestation ou l'incubation (génération $F_0$) impacte les cellules de l'embryon

($F_1$) à l'origine des gamètes. Ainsi, cet événement prénatal devrait moduler le phénotype de la génération suivante ($F_2$) (figure 23). **L'héritage épigénétique expérience-dépendant** implique que l'individu $F_1$ soit lui-même affecté par ces modulations épigénétiques, que ce soit pendant le développement embryonnaire ou après la naissance ou l'éclosion. En particulier, chez l'oiseau, la composition de l'œuf pourrait moduler l'expression du génome de l'embryon, et en conséquence son développement (Frésard et al. 2013). Les résultats de nos expérimentations, penchent en faveur de la seconde voie d'action, au vu des modulations phénotypiques observées chez les jeunes $F_1$. Néanmoins, nous ne pouvons pas pour autant réfuter la voie d'action sur la lignée germinale car nous n'avons pas exploré les phénotypes des générations suivantes. Notons que ces deux mécanismes ne sont pas exclusifs et pourraient agir de concert dans la modulation phénotypique des individus.

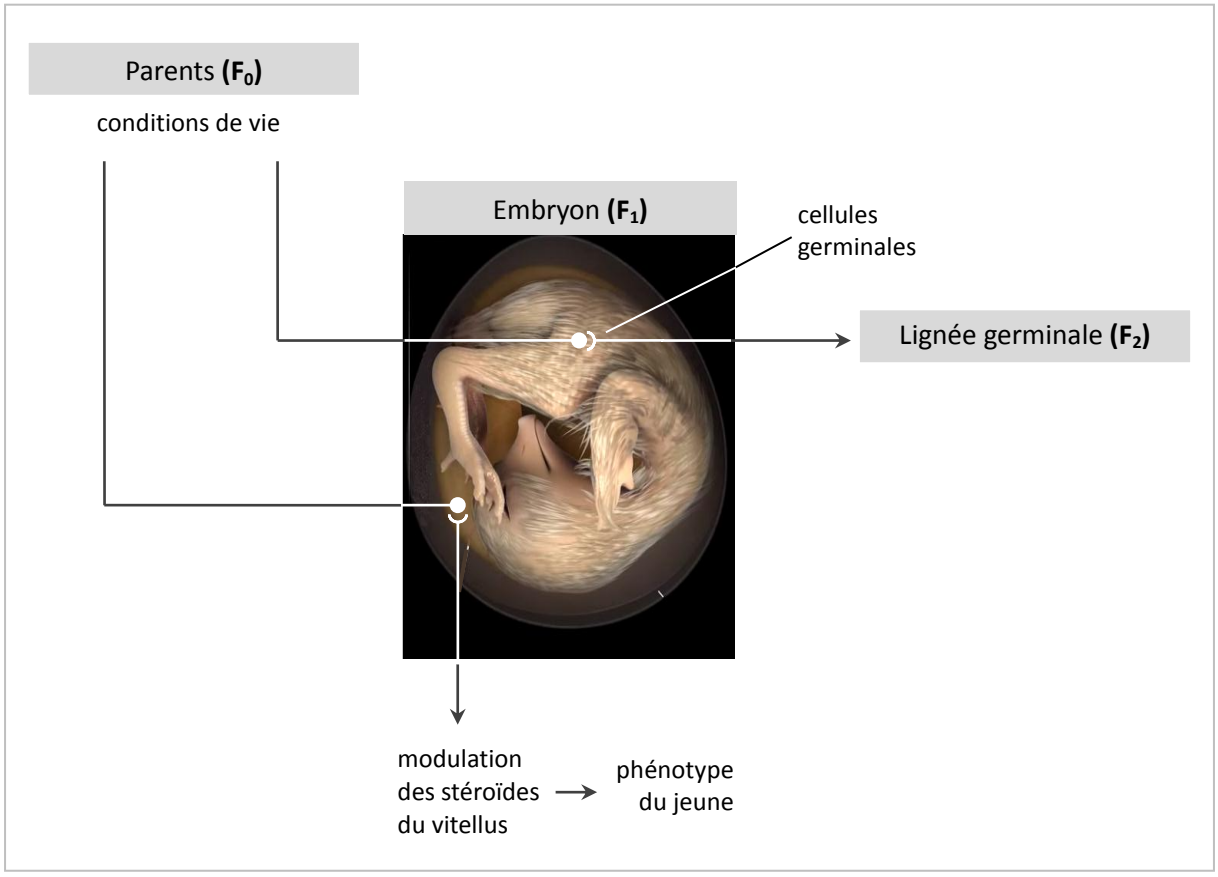



***Fig 23.*** *Représentation schématique des deux voies d'action épigénétiques, adapté de Frésard et al. (2013). Les conditions de vie des parents peuvent directement influencer le développement de l'embryon notamment via des modulations hormonales du vitellus (voie* ***expérience-dépendant****), ou alors influencer la génération suivante en agissant sur les* ***cellules germinales*** *de l'embryon. L'image d'embryon est issue d'une séquence d'animation créée par le Poultry Cooperative Research Center et les studios AXS.*

Dans notre expérience COUPLE, l'influence prénatale implique le développement d'un lien de couple entre les deux partenaires sexuels. Même si, dans cette étude, il s'agit bien de la relation établie entre les deux partenaires qui semble à l'origine des modulations phénotypiques observées chez les jeunes, ces résultats soulèvent la question de l'implication du père dans les influences prénatales. En effet, des travaux ont montré que le mâle pouvait également avoir une influence prénatale dans le développement physiologique et comportemental de ses descendants, et ce via des mécanismes épigénétiques (Curley et al. 2011). Par exemple, des jeunes rats dont le père présente des risques de diabète montrent une intolérance au glucose et une résistance à l'insuline, liées à des modulations de méthylation au niveau des gènes régulant l'insulinémie (Wei et al. 2014). De plus, les auteurs ont montré une altération du pattern de méthylation du sperme chez les pères, expliquant cette transmission intergénérationnelle du diabète.

Dans cette première partie, nous avons abordé les mécanismes qui régissent les influences maternelles prénatales. Une particularité méthodologique de ces études concerne l'élevage postnatal des oiseaux, qui s'est déroulé en l'absence d'une femelle maternante. Ce protocole a permis de nous affranchir des influences maternelles postnatales qui pourraient interagir avec les effets prénataux que nous souhaitions étudier. Toutefois, une telle interaction représente un aspect réel des influences maternelles, nous allons donc dans une deuxième partie discuter de ces influences maternelles postnatales et de leur interaction avec les effets maternels prénataux.

## B. Influences maternelles postnatales

Guibert et ses collaborateurs (2010) ont montré qu'un stress vécu par des femelles pondeuses, sous la forme d'une instabilité sociale, engendre une augmentation de la concentration en testostérone dans le vitellus de leurs œufs. En conséquence, les cailleteaux issus de ces œufs présentent une réactivité émotionnelle élevée face à la nouveauté et à la séparation sociale. Lors de ce projet de thèse, nous avons démontré dans notre expérimentation INTERACTION que la présence d'une femelle maternante pendant la vie précoce de tels cailleteaux stressés prénatalement permet une diminution de cette émotivité. Ces résultats doivent être maintenant confrontés aux mécanismes par lesquels la mère peut influencer le développement de ses jeunes après leur éclosion.

### *1. Mécanismes non génétiques*

Les mécanismes impliqués dans les influences maternelles postnatales chez les oiseaux ont été moins étudiés que chez les mammifères. Nous pensons néanmoins que la modulation comportementale observée chez nos cailleteaux stressés prénatalement et élevés par une mère lors de l'expérimentation INTERACTION implique plusieurs mécanismes non exclusifs.

La **simple présence d'une femelle maternante** durant les premiers jours de vie peut déjà avoir un fort impact sur le comportement des jeunes. En effet, les études chez des espèces nidifuges montrent qu'une privation maternelle des oisillons module leur émotivité, diminue leur motivation sociale, altère leurs capacités d'organisation hiérarchique et exploratoires et la netteté de leurs rythmes biologiques (Perré et al. 2002, Bertin & Richard-Yris 2005, Formanek et al. 2009, de Margerie et al. 2013). Nos résultats révèlent en plus que la présence d'une mère durant la vie précoce module les influences maternelles prénatales. Les jeunes non maternés n'ont que leur fratrie comme congénères sociaux, alors que les jeunes maternés ont un congénère très particulier dans la cage de vie (i.e. une femelle maternante). La présence de la mère pourrait ainsi avoir plusieurs effets.

Le comportement d'un adulte diffère de celui d'un cailleteau, ainsi nos jeunes maternés ont expérimentés une plus grande gamme de comportements, les forçant à s'adapter à

plus de situations différentes. En effet, la mère constitue un **modèle comportemental** pour ses jeunes, et sa présence au jeune âge influence leur construction comportementale. Par exemple, des cailleteaux élevés par une mère émotive présenteront à leur tour une émotivité élevée, comparés à des cailleteaux élevés par une mère peu émotive (Bertin & Richard-Yris 2005, Pittet et al. 2014b). Il est probable que le comportement moins réactif observé chez les jeunes maternés lors de situations stressantes (i.e. lors des tests comportementaux) soit lié à un apprentissage des réponses maternelles. Nous pensons notamment aux événements liés à la maintenance des animaux (i.e. l'approvisionnement en eau et en aliment), qui nécessite une intrusion du soigneur dans la cage. Les jeunes maternés avaient alors comme modèle comportemental pour réagir à cette situation une femelle habituée à une telle intrusion. On peut ainsi émettre l'hypothèse que les jeunes utilisaient ensuite le même type de réponse lors des tests comportementaux, en étant notamment moins perturbés par les manipulations.

De plus, le **comportement maternel** délivré par une femelle à sa couvée peut directement influencer son développement. Ainsi, une caille japonaise exprimant un fort taux de rejet envers sa couvée produit des jeunes à forte motivation sociale : pendant la période de maternage, des jeunes rejetés par leur mère restent entre eux et peuvent même se réchauffer mutuellement en se regroupant en fratrie (Pittet et al. 2014a). Après leur émancipation, ces jeunes présentent alors une plus grande motivation sociale envers des congénères de même âge. Nous pensons que ces interactions mère-jeunes peuvent également expliquer nos résultats. En effet, il a été montré chez les mammifères que des jeunes stressés prénatalement stimulent davantage leur mère adoptive, conduisant à des quantités de soins maternels accrues (Meek et al. 2001). Chez notre modèle, l'induction du comportement maternel est liée à des stimulations tactiles et vocales. Il est probable que le comportement des cailleteaux envers leur mère lors des premiers jours de vie ait conduit à l'expression de soins maternels intenses, ce qui aurait alors contribué à inverser les conséquences comportementales d'un stress prénatal. Récemment, des investigations en ce sens au laboratoire ont d'ailleurs révélé que les jeunes stressés prénatalement effectuent plus de sollicitations envers leur mère adoptive (i.e. des coups de bec non agonistiques induisant l'adoption d'une posture de réchauffement par la mère) que des jeunes non stressés (Aigueperse et al. *in prep*). De plus, les femelles ayant adopté ces jeunes stressés prénatalement sont peu agressives envers eux

et adoptent des postures de réchauffement de meilleure qualité, en comparaison avec des femelles maternant des jeunes non stressés.

### 2. *Neurophysiologie et épigénétique*

D'un point de vue physiologique, la réactivité émotionnelle est liée à **l'activation de l'axe HPA**. Les études sur les mécanismes physiologiques liés au stress chez les mammifères montrent une hyperactivation de l'axe HPA chez des nouveau-nés ayant subi un stress prénatal (Weinstock 2005, Weinstock 2008, Koolhaas et al. 2011). Après la naissance, la qualité du maternage peut à l'inverse réduire cette activité (Liu et al. 1997, Meaney 2001, Caldji et al. 2004). D'autre part, de telles modulations de l'activité de l'axe HPA suite à un stress prénatal ou à un environnement postnatal particulier seraient régies par des **mécanismes épigénétiques** (Champagne et al. 2007, Darnaudéry & Maccari 2008, Heijmans et al. 2008). Un tel lien n'a pas encore été clairement démontré chez le modèle oiseau, mais des études rapportent d'une part l'implication de l'axe HPA dans les réponses émotives, qu'elle soit liée à l'environnement prénatal ou postnatal (Hayward & Wingfield 2004, Henriksen et al. 2011b) ; et l'existence de mécanismes épigénétiques d'autre part (Lindqvist 2007, Nätt et al. 2009, Nätt et al. 2012). De manière générale, le système neuroendocrinien des mammifères et des oiseaux montrent de nombreuses similarités (Wingfield 2005). Aussi, des mécanismes épigénétiques liés au stress subi par les femelles pondeuses pourraient être à l'origine d'une modulation de l'activité de l'axe HPA, ayant pour conséquence le phénotype comportemental observé chez nos jeunes stressés prénatalement. Ensuite, la présence d'une mère et son comportement envers la couvée pourrait avoir à nouveau modulé l'activité de cet axe, toujours en relation avec une action de l'épigénome, expliquant le pouvoir potentiellement remédiateur des femelles maternantes.

### 3. *Plasticité phénotypique*

Notre expérimentation INTERACTION a permis de mettre en évidence la très grande **plasticité phénotypique** des jeunes. En effet, si le stress prénatal influence le phénotype des jeunes, la présence de la mère a modulé à nouveau leur développement comportemental, et

en sens opposé : alors qu'un stress prénatal augmente la réactivité émotionnelle des cailleteaux (Guibert et al. 2010, 2011), la présence de la mère permet de diminuer ce trait comportemental chez les cailleteaux.

Nous insistons sur le pouvoir de la femelle pendant la vie précoce au vu des caractéristiques de notre modèle. En effet, la caille japonaise est un oiseau nidifuge, dont les jeunes à l'éclosion montrent une maturité avancée en comparaison avec les espèces nidicoles. De plus, les jeunes restent avec leur mère seulement pendant les onze premiers jours de vie, avant de se disperser (Orcutt & Orcutt 1976). Mais malgré la maturité du jeune à l'éclosion et la courte durée de la période de maternage, la présence de la mère module son phénotype comportemental d'une part, et cette modulation semble permettre de renverser des traits comportementaux acquis prénatalement d'autre part. Ces résultats suggèrent, à l'instar des mammifères, des réajustements neurophysiologiques (Bergman et al. 2010, Del Cerro et al. 2010, de Souza et al. 2012, Sharp et al. 2012, Pérez-Laso et al. 2013). On peut ainsi supposer que l'expérience avec la mère influence la neurogénèse et l'organisation de diverses structures cérébrales, mais aussi l'expression du génome par l'action de l'épigénome. Tout ceci pourrait alors avoir pour conséquence une modulation du fonctionnement physiologique et des réponses comportementales de l'organisme, en dépit du schéma développemental initialement programmé par l'expérience prénatale.

## III. ASPECTS ADAPTATIFS ET EVOLUTION DES POPULATIONS

Actuellement, la littérature mammalienne s'accorde pour attribuer une **valeur adaptative aux influences maternelles prénatales**. Classiquement, les recherches sur les conséquences développementales d'un stress prénatal prônaient en général l'idée qu'un environnement prénatal négatif induit des *déficits*, des *anormalités* et des *déficiences*. Lee & Goto

(2013) remettent en question cette vision du stress prénatal par une remarque : le cerveau des jeunes étant plastique, s'il y avait réellement un « défaut » cérébral suite à un environnement prénatal négatif, les mécanismes de plasticité devraient potentiellement pouvoir y remédier, ce qui n'a pourtant jamais été montré. Ainsi, ces auteurs proposent que les modulations lors du développement fœtal causées par un environnement prénatal particulier ne soient pas des déficits, mais une adaptation pour se préparer de façon optimale au milieu de vie postnatal, supposé similaire à l'environnement de gestation : c'est **l'hypothèse d'adaptation prénatale à l'environnement**. De nombreux exemples chez les mammifères illustrent cette hypothèse. Dès 1992, Schaal & Orgeur ont suggéré avec la *transnatal chemosensory continuity hypothesis* que les apprentissages sensoriels prénataux (i.e. l'exposition prénatale à des odeurs ou des arômes) permettraient aux animaux d'exploiter de façon optimale leur environnement en termes de préférence alimentaire ou d'orientation par exemple. Les expériences de Kaiser et al. (2003a, 2003b) donnent un autre exemple d'adaptation à l'environnement suite à un événement prénatal. Ces travaux ont montré qu'un stress social prénatal induit une masculinisation chez des jeunes femelles cochon d'Inde, tandis que les jeunes mâles seraient, eux, démasculinisés et infantilisés. Les auteurs expliquent ces résultats par une adaptation comportementale des jeunes à un environnement postnatal socialement difficile. Ainsi, les femelles, plus agressives, pourraient avoir accès à une classe sociale dominante, à la nourriture et à un abri. Quant aux mâles, leur développement sexuel retardé permettrait de limiter la compétition avec les mâles plus matures, et donc favoriserait leur survie et leur reproduction à long terme.

Ces processus adaptatifs, quand ils impliquent des mécanismes épigénétiques, permettraient une **adaptation très rapide à l'environnement** (Frésard et al. 2013, Jensen 2013). En effet, non seulement les modulations épigénétiques peuvent être transmises sur plusieurs générations, mais elles sont également réversibles si l'environnement change (Danchin et al. 2011). Ainsi, les implications de tels mécanismes en termes d'évolution des populations peuvent être très intéressantes dans un environnement changeant. Pour résumer, deux mécanismes pourraient co-exister et régir les processus évolutifs à deux niveaux différents : des changements environnementaux fréquents pourraient impliquer des mécanismes épigénétiques, alors que les mutations génétiques permettraient une adaptation des espèces à beaucoup plus long terme (figure 24).

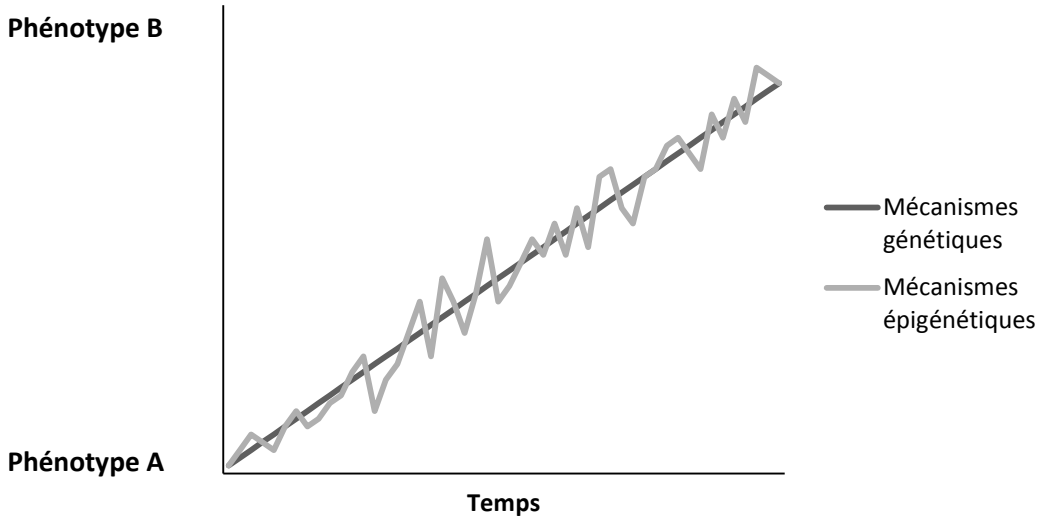



***Fig. 24.*** *Représentation de l'évolution d'un phénotype A vers un phénotype B, régie par des mécanismes génétiques (i.e. mutations, en gris foncé) ou épigénétiques (en gris clair). Cette proposition est très schématique, l'évolution des populations faisant appel à l'interaction complexe de ces mécanismes.*

Cependant, toutes les influences maternelles prénatales ne semblent pas bénéfiques à court terme, et ce à cause des **influences maternelles postnatales**, comme le montrent là encore des travaux menés chez les mammifères. Rappelons les travaux de Barker que nous avons évoqués précédemment (Barker 1997, Godfrey & Barker 2000) : les conséquences développementales d'une sous-nutrition pendant la grossesse (conservation accrue de l'énergie) engendrent des pathologies à l'âge adulte si l'apport nutritif après la naissance est normal. Ensuite, les études de stress prénatal chez les rongeurs nous montrent les limites de l'hypothèse d'adaptation prénatale à l'environnement. En effet, bien qu'elles aient été stressées pendant la gestation, les femelles souris et rates de ces expériences expérimentent après la parturition des conditions de vie non stressantes, et pourtant leur comportement maternel, altéré, renforce les conséquences physiologiques et comportementales du stress prénatal chez les ratons (Meek et al. 2001). Le modèle aviaire présente dans ce cas précis un avantage. En effet, une étude chez l'étourneau sansonnet a justement comparé le succès reproducteur des mâles selon la correspondance entre leur expérience prénatale et l'environnement postnatal dans lequel ils évoluent (Love & Williams 2008). Les résultats montrent que les individus ayant la meilleure fitness sont ceux dont les environnements pré-

et postnataux sont similaires, et il s'agit des conditions les plus contraignantes. Concrètement, les jeunes issus d'œufs artificiellement enrichis en corticostérone (pour mimer une mauvaise condition physique maternelle) et qui sont élevés par une femelle justement en mauvaise condition physique montrent une fitness meilleure que les animaux contrôle. Néanmoins dans cette étude, plusieurs facteurs peuvent biaiser notre interprétation des résultats, comme le protocole de stress (i.e. l'injection de corticostérone), que l'on ne peut pas uniquement relier à une mauvaise condition maternelle prénatale ; et il faut noter que cette espèce présente un soin au jeune biparental, nous ne pouvons donc pas exclure un phénomène de compensation par le mâle. Dans notre étude INTERACTION, les jeunes stressés prénatalement ont été élevés par des femelles adoptives, non stressées. Ainsi, il serait intéressant d'explorer, chez notre modèle, (1) comment se comporteraient des femelles stressées pendant la phase de ponte avec leur couvée, si les conditions de maternage étaient peu contraignantes et (2) quel serait le phénotype comportemental des jeunes si l'environnement postnatal présentait les mêmes contraintes que celui expérimenté par leurs mères (i.e. une instabilité sociale).

Chez les oiseaux nidicoles, beaucoup de travaux s'intéressent à la valeur adaptative des modulations hormonales observées dans les œufs en fonction de **l'ordre de ponte** (Groothuis et al. 2005). Plusieurs auteurs pensent que ce phénomène permettrait une compensation de l'asynchronisme de l'éclosion (figure 25). En effet, chez les espèces nidicoles, les œufs d'une même couvée n'éclosent pas de manière synchrone, ce qui crée un décalage au niveau des caractéristiques des oisillons, les premiers éclos ayant eu le temps de s'alimenter avant l'éclosion des derniers. Les fortes concentrations en testostérone dans les œufs des derniers-nés permettraient alors d'augmenter à court terme leurs capacités compétitrices, par exemple dans la quémande alimentaire, afin de ne pas être défavorisés par rapports aux oisillons plus âgés de la couvée (von Engelhardt & Groothuis 2011). Toutefois, ce bénéfice compétitif semble peu avantageux au regard du handicap engendré par l'asynchronisme des éclosions (en termes de poids et de capacités locomotrices, Müller et al. 2013). Ainsi, cette allocation différentielle de testostérone n'apparaitrait que chez les espèces à faible asynchronisme des éclosions, tandis que chez les espèces où les jeunes sont nombreux et l'asynchronisme fort, on observe une diminution de la testostérone avec l'ordre de ponte.

***Figure 25**. Eclosion de jeunes carouges à épaulettes (*Agelaius phoeniceus*) illustrant l'asynchronisme des éclosions. Les premiers-nés, plus gros et nourris plus tôt par les parents, ont de meilleures chances de survie, phénomène supposé être partiellement compensé par des concentrations d'androgènes différentielles dans le vitellus des œufs de la couvée en fonction du rang de ponte (Groothuis et al. 2005).*

D'après Müller et ses collaborateurs (2013), dans ces groupes où les jeunes sont nombreux, les derniers éclos subissent des conditions alimentaires défavorables. S'ils montraient une forte compétitivité alimentaire (due à des concentrations de testostérone vitellines élevées pour les premiers éclos), cela engendrerait une dépense énergétique excessive au regard de la disponibilité alimentaire. Toutes ces hypothèses, applicables aux oiseaux nidicoles, ne sont pas forcément validées lorsqu'elles sont confrontées à notre expérimentation RANG. En effet, notre modèle d'oiseau nidifuge présente à la fois des couvées nombreuses et une grande synchronisation des éclosions. L'ordre de ponte observé au sein d'une série de ponte chez les femelles présentant un rythme décalé n'a pas montré de corrélation avec les concentrations en testostérone ou en progestérone, mais avec les caractéristiques des œufs (diminution du poids de l'œuf, de la coquille et du vitellus). En revanche, nous avons trouvé une modulation hormonale dans les œufs pondus par les femelles du profil stable, cette fois en corrélation avec l'intervalle de ponte entre deux œufs successifs. Ainsi, les différences entre les œufs successifs d'une même femelle chez la caille diffèrent selon le rythme de ponte, ce qui semble impliquer des mécanismes très différents de ce qui est rapporté chez les espèces nidicoles, et la valeur adaptative de ces modulations reste à établir.

Alors que la majorité des travaux cherche à comprendre les mécanismes adaptatifs du stress pré- ou postnatal, notre modèle et le choix de nos expérimentations nous ont permis d'aborder d'autres aspects. Ainsi, si l'environnement socio-sexuel peut être source de stress et donc induire des influences maternelles prénatale « stressantes », il peut également, dans un contexte **d'interactions normales entre congénères**, induire des effets prénataux. Nous avons en effet montré que si la femelle peut développer un lien particulier avec son parte-

naire sexuel, le développement comportemental de ses descendants est modulé. Ainsi, au même titre que des interactions négatives, des interactions « positives » ou enrichies en modifiant la relation de l'animal à son milieu peuvent également être la source d'effets maternels. Ceci ouvre alors de nouvelles perspectives, d'une part dans la compréhension des effets maternels, mais aussi dans des problématiques de bien-être animal, notamment chez les animaux d'élevage. De plus, notre étude sur la relation entre les rythmes de ponte et les influences maternelles permet également de replacer ce comportement de ponte dans son **contexte naturel initial**, au sein d'une organisation temporelle particulière contrôlée par des facteurs rythmiques endogènes et externes. La rythmicité des comportements est un phénomène important dans les processus d'adaptation des organismes à leur milieu, tant à l'échelle saisonnière que journalière. À ce titre, la modulation des effets maternels en lien avec le rythme de ponte pourrait donc avoir un rôle important dans ces processus d'adaptation.

Au terme de cette discussion mécanistique et adaptative, nous pouvons essayer de dresser un **schéma global** des influences maternelles chez l'oiseau. La figure 26 résume ainsi notre compréhension des influences maternelles prénatales (facteurs, mécanismes et conséquences pour les descendants). Sur ce schéma apparaissent également des perspectives de recherche, que nous allons développer dans le chapitre suivant.

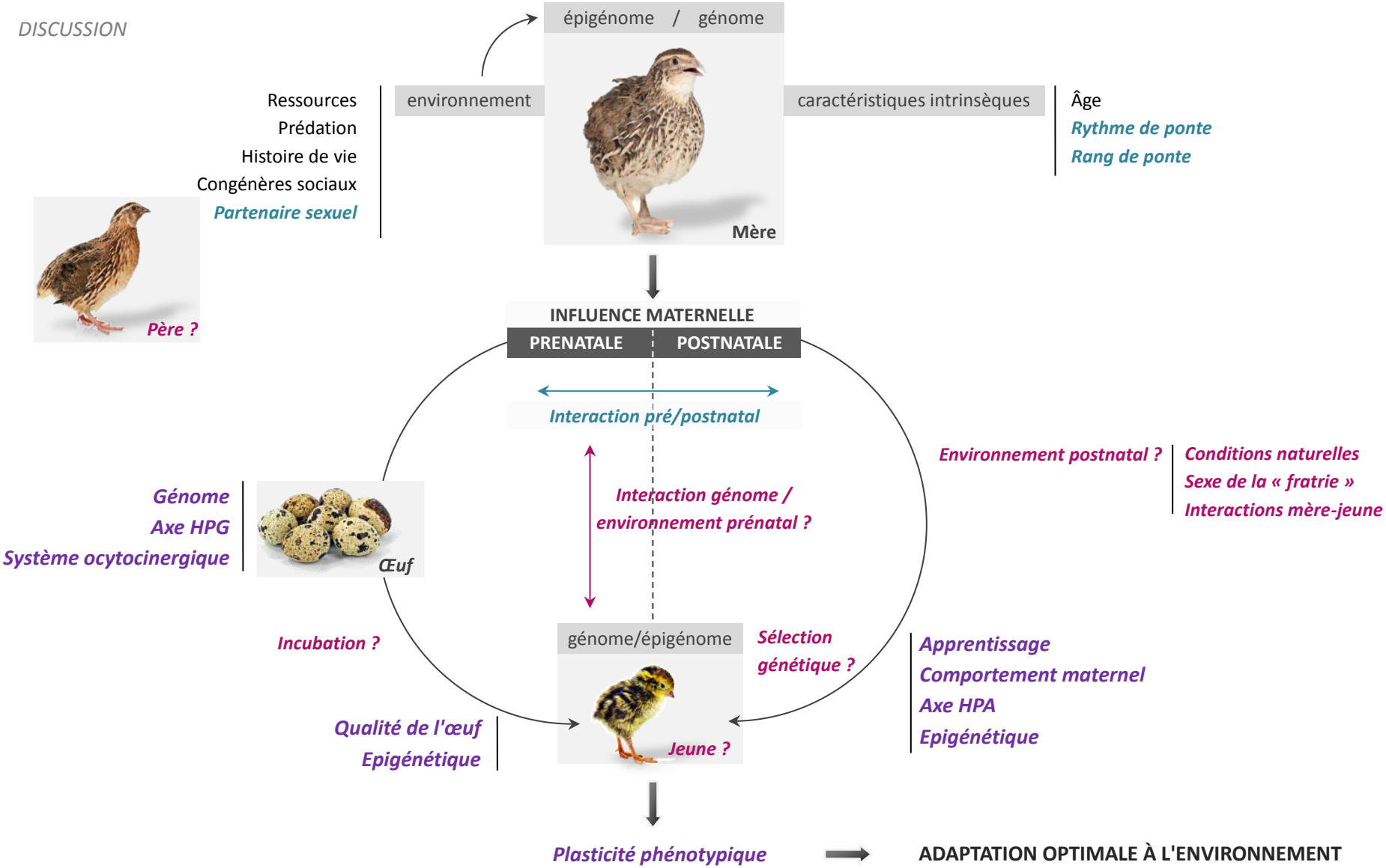



***Figure 26.*** *Schéma récapitulatif reprenant les différents facteurs d'influences maternelles mis en évidence dans les différentes expérimentations (**en bleu**) : influence prénatale du rythme de ponte maternel, du rang de ponte, du partenaire sexuel, et interaction entre une influence maternelle prénatale et une influence maternelle postnatale. Les mécanismes associés sont indiqués **en violet**. Ces influences maternelles prénatales et postnatales sont possibles grâce à une grande plasticité phénotypique chez le jeune, et permettent une adaptation optimale à l'environnement dans lequel ils vont à leur tour évoluer. Les perspectives de recherches et appliquées à l'issue de ce travail de thèse sont indiquées **en rose**.*

# IV. PERSPECTIVES

Ce travail s'est inscrit dans le cadre d'une thèse, qui doit être réalisée en un temps limité. Ainsi, beaucoup de questions restent à explorer. Nous allons aborder ce sujet selon deux axes : les perspectives de recherche et les applications possibles.

## A. Recherche

Dans un premier temps, nous pensons qu'il est nécessaire de garder à l'esprit que les résultats obtenus grâce à des études expérimentales sont difficilement généralisables aux mêmes phénomènes qui se dérouleraient en conditions naturelles. En effet, les conditions d'expérimentation se doivent d'être extrêmement contrôlées, mais cette rigueur pourrait masquer certains effets. Par exemple, les conditions d'élevage en laboratoire sont en général très peu contraignantes, du point de vue de la disponibilité des ressources ou du risque de prédation. Il est probable que dans des conditions un peu plus contraignantes (c'est-à-dire plus proches des conditions de vie naturelles), certaines influences maternelles seraient renforcées. À l'inverse, malgré l'amélioration des conditions d'hébergement que l'on peut apporter, il est évident que les comportements exprimés par les animaux de laboratoire et leurs proportions quotidiennes diffèrent de ceux d'un animal en conditions naturelles. Enfin, dans le cadre des questions d'ordre prénatal, lors des expérimentations les jeunes oiseaux ne sont pas maternés après l'éclosion. Pourtant, notre expérimentation INTERACTION suggère qu'en conditions naturelles les influences prénatales dépendent des conditions de vie postnatales. Il serait donc intéressant de poursuivre les recherches sur les influences maternelles (prénatales notamment) en adaptant au mieux les **conditions d'expérimentation** à l'habitat naturel de notre espèce. Des investigations menées en milieu semi-naturel, par exemple dans des volières extérieures, fourniraient à la fois un substrat végétal naturel, et des conditions photopériodiques et de température soumises au rythme saisonnier.

Au cours de cette discussion, nous avons évoqué plusieurs fois une possible **influence du père** sur le phénotype des descendants (au-delà de l'apport de la moitié du patrimoine génétique). En effet, l'environnement prénatal peut affecter les descendants via des mécanismes épigénétiques impliquant les gamètes paternels (Curley et al. 2011). Si cela a été démontré chez les mammifères, il serait intéressant de l'explorer chez un modèle aviaire.

De plus, si plusieurs travaux démontrent l'influence prénatale des caractéristiques du père sur le développement des jeunes (Spoon et al. 2006, Lendvai & Chastel 2008, Bijleveld & Mullers 2009, Nisbet & Dann 2009), notre expérience COUPLE montre que la relation même qui se développe entre les partenaires sexuels a une forte influence. Actuellement, de nombreuses équipes de recherche s'intéressent au lien entre le **système ocytocinergique** et ces phénomènes affiliatifs, que ce soit chez les mammifères ou chez les oiseaux. Les techniques actuelles ne permettent pas de mesurer la présence éventuelle de nonapeptides dans les œufs mais, au vu de la plus forte motivation sociale observée chez les cailleteaux dont les parents ont développé un lien, il serait intéressant de mesurer les concentrations plasmatiques de ces molécules chez ces jeunes.

Si la relation entre les partenaires sexuels a une influence prénatale sur le développement des descendants, il pourrait en être de même avec **les autres congénères**. Nous avons réalisé une pré-expérimentation chez un autre modèle gallinacé, la poule domestique, pour analyser l'influence prénatale du rang hiérarchique maternel sur le phénotype des poussins (non maternés). En effet, il a été montré que le rang hiérarchique de la femelle dans son groupe de vie influence les concentrations hormonales de ses œufs (Müller et al. 2002). Nous avons donc voulu savoir quel serait le comportement des poussins issus de ces œufs, en nous affranchissant de l'influence maternelle postnatale. Ce travail faisait initialement partie du projet de thèse, mais le faible taux d'éclosion que nous avons obtenu nous donne un effectif relativement faible. Toutefois, les résultats nous semblent très prometteurs, c'est pourquoi nous les présentons dans l'annexe 1 (page 249). Ainsi, ce travail révèle que des poussins dont la mère était dominée dans son groupe de vie présentent une plus forte détresse sociale lorsqu'ils sont séparés de leurs congénères, en comparaison avec des poussins dont la mère était dominante. De plus, ces jeunes semblent présenter une prise de risque moindre, et sont plus susceptibles d'être dominés lors d'une rencontre avec un congénère inconnu, suggérant notamment une transmission prénatale du rang hiérarchique

maternel. Si les relations hiérarchiques au sein du groupe de vie influencent le comportement des descendants, une prochaine investigation pourrait cette fois s'intéresser aux affinités qui peuvent exister entre les différents membres du groupe.

Des études rapportent une **différence sexuée** de sensibilité à l'influence maternelle postnatale chez les oiseaux. Ainsi, le niveau de motivation sociale d'une femelle maternante influence davantage la motivation sociale des cailleteaux mâles que celle des cailleteaux femelles (Formanek et al. 2008). Cet effet peut aussi exister dans le cadre d'influences prénatales : l'injection de testostérone dans l'œuf n'augmente la fréquence du comportement alimentaire que chez les jeunes femelles diamants mandarin (von Engelhardt et al. 2006). Nos différentes études n'ont pas révélé d'effet contradictoire sur le développement des jeunes mâles et des jeunes femelles, mais certains effets pouvaient apparaître plus forts pour l'un des deux sexes. Il semble dont important de prendre en compte le sexe du jeune dans les résultats des études sur les influences maternelles prénatales. Par ailleurs, le sex-ratio au sein des groupes peut également moduler le développement comportemental des jeunes, et ainsi interagir avec les conséquences de l'effet testé (Odén et al. 2005, Pittet et al. 2014c). La difficulté ici réside dans le fait que les cailleteaux ne montrent un dimorphisme sexuel évaluable par l'homme qu'à partir de la troisième semaine après l'éclosion. Il nous est donc impossible de former des groupes sexués de jeunes, ni des groupes mixtes au sex-ratio équilibré. L'utilisation d'une souche particulière de cailles dont la couleur au jeune âge diffère selon le sexe de l'individu, à cause d'une mutation d'un gène codant pour le plumage situé sur le chromosome sexuel Z (Minvielle et al. 1999), pourrait résoudre ce problème. Toutefois, nous ne pouvons pas exclure que la différence de plumage entre les individus des deux sexes pourrait avoir un impact sur la relation à la femelle maternante.

Nous nous sommes centrés dans nos différentes expérimentations sur la caractérisation de deux traits comportementaux principaux chez nos animaux. La réactivité émotionnelle et la motivation sociale sont considérées comme des traits de base constituant la personnalité des individus (Boissy 1998, Réale et al. 2007). Pour émettre une réponse émotionnelle à une situation donnée, l'animal doit évaluer la situation à laquelle il est

confronté (Lazarus 1991, Scherer 1999), faisant appel à des **fonctions cognitives**. Ainsi, la cognition est définie par l'ensemble des processus (et des représentations mentales associées) qui permettent à l'animal de recevoir des informations de son environnement par ses sens, de les traiter et de les retenir, afin d'agir en conséquence (Shettleworth 2001). Quatre processus majeurs existent selon Paul et ses collaborateurs (2005) : l'attention, l'évaluation, l'apprentissage et la mémoire. Au cours de ce projet de thèse, nous avons abordé cette notion de capacités cognitives lors d'une tâche spatiale (i.e. le test du détour). Lors de ce test, les animaux doivent perdre de vue un stimulus pour pouvoir ensuite y accéder. Cela implique donc une mémorisation (courte) de la localisation du stimulus, une capacité de représentation spatiale égocentrée, ainsi que la persistance mentale du stimulus alors qu'il n'est plus visible (Regolin et al. 1995). Ce test ne nécessite pas de procédure d'entraînement, sa simplicité de mise en œuvre a donc favorisé notre choix en comparaison avec des tests d'apprentissage nécessitant de nombreuses séances d'entraînement. Pourtant, les études chez les mammifères montrent que les capacités d'apprentissage et de mémorisation des jeunes peuvent être influencées par leur expérience maternelle prénatale et/ou postnatale, impliquant notamment des modulations de la neurogénèse ou de l'organisation cérébrale (e.g. Liu et al. 2000, Lemaire et al. 2006, Van den Hove et al. 2006). Il serait donc intéressant d'explorer également les conséquences des influences maternelles sur l'apprentissage et la mémoire chez l'oiseau, ainsi que les modulations cérébrales potentiellement associées.

Comme nous l'avons évoqué, nos conditions d'expérimentation sont très contrôlées. Ainsi, les **conditions d'incubation** sont standardisées par l'utilisation d'une couveuse. Mais en conditions naturelles, l'incubation constitue toute une phase de l'environnement prénatal. À l'heure actuelle, les travaux qui se sont intéressés aux conditions d'incubation n'ont exploré les conséquences chez les jeunes qu'en termes de croissance. Il serait donc intéressant d'explorer les conséquences comportementales de conditions d'incubation particulières, en modulant par exemple les conditions de température et de lumière. Nous pourrions aussi agir sur l'environnement sensoriel, en diffusant par exemple des sons suggérant une forte densité sociale ou la présence de prédateurs.

Ce projet de thèse a permis de mettre en évidence une **interaction entre les influences maternelles prénatales et postnatales**. Ce domaine d'étude, déjà bien exploré chez les mammifères, demande désormais à être approfondi chez les oiseaux. Notamment, il nous reste à comprendre les mécanismes précis, dans l'interaction mère-jeune, qui conduisent à cette influence. Ensuite, comme nous venons de l'évoquer, les conditions d'incubation dans lesquelles se développe l'embryon peuvent avoir une influence sur son développement. Il serait intéressant maintenant d'explorer l'interaction entre ces conditions d'incubation et l'environnement postnatal, dans une optique de remédiation par exemple.

De nombreux axes de recherche s'ouvrent ainsi à l'issue de ce travail. Néanmoins, il est important de considérer également les applications possibles de l'étude des influences maternelles.

## B. Applications

Nous pensons que l'étude des influences prénatales, et la compréhension des interactions entre les environnements pré- et postnataux, ouvrent des perspectives très prometteuses en termes de bien-être animal. En effet, dans les élevages, qu'ils soient agricoles ou liés à la recherche, il est admis que de très nombreux événements créent un stress pour les animaux. Ces événements sont liés à l'environnement physique (espace, conditions de température, de lumière et de bruit) ainsi qu'au fonctionnement de l'élevage lui-même, qui nécessite des transports et des manipulations, créant pour les animaux des instabilités sociales, des privations alimentaires ou à l'inverse une compétition alimentaire avec les congénères, et de nombreux changements d'environnements (figure 27). Une étude récente chez la caille Japonaise a montré qu'un stress chronique dès le jeune âge, sous la forme d'événements répétés imprévisibles impliquant pour certains la présence d'un expérimentateur, augmente le niveau de peur que les animaux ont envers l'Homme (Laurence et al. 2014). Tous ces événements sont également vécus par les femelles gestantes et pondeuses, ce qui engendre des problèmes à la fois chez ces animaux adultes et chez leurs descendants, allant de troubles

comportementaux et physiologiques jusqu'à une mortalité accrue (Merlot et al. 2013), et soulevant donc un questionnement éthique. Il a été montré qu'un enrichissement postnatal après le sevrage pouvait partiellement compenser les conséquences comportementales d'un stress prénatal chez la brebis (Coulon et al. 2013), ce qui a l'air moins évident chez la truie (Ringgenberg et al. 2012). Ceci révèle bien l'importance de la compréhension des mécanismes qui sous-tendent les interactions entre les conditions de vie prénatales et post-natales.

***Fig. 27.*** *Logette d'une batterie d'un élevage de cailles japonaises, contenant des individus reproducteurs (1 mâle pour 8 femelles).*

Il est donc possible d'agir après la naissance pour moduler les conséquences développementales d'un stress prénatal, mais nous pensons qu'il serait intéressant **d'agir directement sur l'environnement prénatal**, ce qui préviendrait bien sûr des problèmes non désirés chez les descendants mais permettrait d'agir également pour limiter le mal-être que peuvent subir les reproducteurs, que ce soit dans les élevages ou en laboratoire. Dans les exploitations aviaires, les jeunes ne sont presque jamais élevés avec leurs parents, puisque leur survie ne dépend que d'un apport de chaleur et d'aliment. Ainsi, nous pensons que le modèle oiseau est idéal pour étudier d'une part les événements prénataux qui peuvent impacter le comportement des descendants, et d'autre part les améliorations possibles à apporter au sein des groupes d'adultes, qui permettraient à la fois d'améliorer leur bien-être et de prévenir des conséquences néfastes chez les descendants. D'après Boissy (2012), la compréhension des mécanismes impliqués dans la construction des liens sociaux est une approche

éthologique qui permet d'améliorer les pratiques d'élevage, en prenant en compte les besoins sociaux des animaux. En ce sens, notre expérimentation COUPLE semble indiquer que les cailleteaux dont les parents ont pu développer un lien de couple sont moins émotifs et plus sociaux. Ainsi, ce phénotype comportemental pourrait permettre de diminuer les interactions agonistiques entre congénères et donc les blessures, et les animaux seraient moins perturbés lors de changements d'environnement. Le plus faible poids de ces animaux à l'éclosion ne serait en outre pas délétère au rendement de l'élevage puisqu'il n'apparait que pendant les premières semaines de vie. Ces considérations restent bien sûr à prendre avec précaution puisque nous n'avons les données phénotypiques que de jeunes animaux, et leur faisabilité reste à étudier, notamment concernant le coût d'une telle mise en pratique d'un point de vue matériel et humain.

Au-delà de ces aspects éthiques au niveau de l'animal, certains auteurs soulignent l'importance de comprendre les mécanismes sous-jacents aux influences prénatales d'un **point de vue agronomique**. Frésard et ses collaborateurs (2013) se basent sur les changements climatiques à venir et la demande croissante d'approvisionnement alimentaire des populations pour justifier la nécessité de mieux comprendre les mécanismes qui permettent à l'embryon de s'adapter à son environnement de développement. De plus, les systèmes agronomiques actuels favorisent certains phénotypes chez les animaux, mieux adaptés à l'élevage d'un point de vue comportemental et ayant un meilleur rendement. Mais les mécanismes non génétiques qui sous-tendent les influences parentales créent de la variabilité phénotypique au sein des populations, qui peut être transmise entre les générations d'une part, et qui est réversible d'autre part. Une nouvelle question se pose alors, concernant les conséquences de l'interaction entre ces effets parentaux non génétiques et la sélection génétique opérée dans l'agriculture (Fulton 2012, Frésard et al. 2013).

Ce projet de thèse a permis de mettre en évidence le rôle fondamental des influences maternelles dans le développement comportemental de l'individu, impliquant des mécanismes divers et complexes. De plus, ces mécanismes fonctionnent potentiellement en interaction les uns avec les autres, ce qui ouvre de nombreuses perspectives de recherche. Cette thématique est également fondamentale dans le cadre de la production animale, mais aussi dans des perspectives écologiques d'évolution des populations dans l'environnement actuel, qui change de plus en plus vite sous la pression anthropique. Enfin, cette thèse soulève également un questionnement sociétal, à la fois dans le cadre de l'éthologie humaine, via notamment les influences maternelles prénatales et leurs interactions avec l'environnement postnatal, mais aussi dans les caractéristiques et les effets des interactions entre l'Homme et l'animal.

*« Ce n’est pas dans la science qu’est le bonheur, mais dans l’acquisition de la science. »*

Edgar Allan Poe, *Puissance de la parole*, 1845

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Abel, E. L., & Berman, R. F.** 1994. Long-term behavioral effects of prenatal alcohol exposure in rats. *Neurotoxicology & teratology* 16 : 467-470.

**Aigueperse, N., Calandreau, L. & Bertin, A.** 2013. Maternal Diet Influences Offspring Feeding Behavior and Fearfulness in the Precocial Chicken. *PLoS ONE* 8 : e77583.

**Aisa, B., Tordera, R., Lasheras, B., Del Río, J. & Ramírez, M. J.** 2007. Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. *Psychoneuroendocrinology* 32 : 256-266.

**Albers, P. C. H., Timmermans, P. J. A., & Vossen, J. H. M.** 1999a. Evidence for the existence of mothering styles in Guinea pigs (*Cavia aperea f. porcellus*). *Behaviour* 136 : 469-480.

**Albers, P., Timmermans, P., & Vossen, J.** 1999b. Maternal behaviour in the guinea pig (*Cavia aperea f. porcellus*): a comparison of multiparous, and primiparous, and hand reared primiparous mothers. *Netherlands Journal of Zoology* 49 : 275-288.

**Allee, W. C., Collias, N. E. & Lutherman, C. Z.** 1939. Modification of the social order in flocks of hens by the injection of testosterone propionate. *Physiological Zoology* 12 : 412-440.

**Altmann, J.** 1974. Observational study of behavior: sampling methods. *Behaviour* 49 : 227-267.

**Altmann, J.** 1980. *Baboon mothers and infants. Harvard University Press. Cambridge, Massachussetts.*

**Ammerman, R. T., Cassisi, J. E., Hersen, M., & Van Hasselt, V. B.** 1986. Consequences of physical abuse and neglect in children. *Clinical Psychology Review* 6 : 291-310.

**Andrews, J. E., Smith, C. A. & Sinclair, A. H.** 1997. Sites of Estrogen Receptor and Aromatase Expression in the Chicken Embryo. *General and comparative endocrinology* 108 : 182-190.

**Archer, J.** 1973. Tests for emotionality in rats and mice: a review. *Animal Behaviour* 21 : 205-235.

**Archer, J.** 1976. The organization of aggression and fear in vertebrates. Dans : *Perspectives in Ethology* pp. 231-298. Editeurs : Bateson, P.P.G. & Klopfer, P.H. New York, USA.

**Aschoff, J.** (Ed.) 1981. *Biological rhythms*. New York-London: Plenum Press.

**Astheimer, L. B.** 1985. Long laying intervals: a possible mechanism and its implications. *The Auk :* 401-409.

**Avery, M. L.** 1996. Food avoidance by adult house finches, *Carpodacus mexicanus*, affects seed preferences of offspring. *Animal Behaviour* 51 : 1279-1283.

**Badyaev, A.V., Schwabl, H., Young, R.L., Duckworth, R.A., Navara, K.J. & Parlow, A.F.** 2005. Adaptive sex differences in growth of pre-ovulation oocytes in a passerine bird. *Proceeding of the Royal Society B : Biological Sciences* 272 : 2165 -2172.

**Bahr, J. M., Wang, S. C., Huang, M. Y., & Calvo, F. O.** 1983. Steroid concentrations in isolated theca and granulosa layers of preovulatory follicles during the ovulatory cycle of the domestic hen. *Biology of Reproduction* 29 : 326-334.

**Ball, G. F., & Balthazart, J.** 2004. Hormonal regulation of brain circuits mediating male sexual behavior in birds. *Physiology & behavior* 83 : 329-346.

**Balthazart, J. & Adkins-Regan, E.** 2002: Sexual differentiation of brain and behavior in birds. Dans : Hormones, Brain and Behavior pp 223–301. Editeur : Pfaff, D. Academic Press, San Diego, USA.

**Barbazanges, A., Piazza, P.V., Le Moal, M. & Maccari, S.** 1996. Maternal glucocorticoid secretion mediates long-term effects of prenatal stress. *Journal of Neuroscience* 16 : 3943-3949.

**Bardi, M., & Huffman, M. A.** 2002. Effects of maternal style on infant behavior in Japanese macaques (*Macaca fuscata*). *Developmental Psychobiology* 41 : 364-372.

**Barker, D. J. P.** 1997. Fetal nutrition and cardiovascular disease in later life. *British Medical Bulletin* 53 : 96-108.

**Baumrind, D.** 1991. The influence of parenting style on adolescent competence and substance use. *The Journal of Early Adolescence* 11 : 56-95.

**Bergman, K., Sarkar, P., Glover, V. & O'Connor, T. G.** 2010. Maternal prenatal cortisol and infant cognitive development: Moderation by infant–mother attachment. *Biological Psychiatry.* 67 : 1026-1032.

**Berman, C. M.** 1990. Consistency in maternal behavior within families of free‐ranging rhesus monkeys: An extension of the concept of maternal style. *American Journal of Primatology* 22 : 159-169.

**Bertin, A. & Richard-Yris, M. A.** 2004. Mothers' fear of human affects the emotional reactivity of young in domestic Japanese quail. *Applied Animal Behaviour Science* 89 : 215-231.

**Bertin, A., & Richard-Yris, M. A.** 2005. Mothering during early development influences subsequent emotional and social behaviour in Japanese quail. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology* 303 : 792-801.

**Bertin, A., Richard-Yris, M.-A., Houdelier, C., Lumineau, S., Möstl, E., Kuchar, A., Hirschenhauser, K. & Kotrschal, K.** 2008. Habituation to humans affects yolk steroid levels and offspring phenotype in quail. *Hormones & Behavior* 54 : 396-402.

**Bertin, A., Richard-Yris, M. A., Houdelier, C., Richard, S., Lumineau, S., Kotrschal, K., & Mostl, E.** 2009a. Divergent selection for inherent fearfulness leads to divergent yolk steroid levels in quail. *Behaviour* 146 : 757-770

**Bertin, A., Richard-Yris, M.A., Möstl, E. & Lickliter, R.** 2009b. Increased yolk testosterone facilitates prenatal perceptual learning in Northern bobwhite quail (*Colinus virginianus*). *Hormones & Behavior* 56 : 416-422.

**Bertin, A., Calandreau, L., Arnould, C., & Lévy, F.** 2012. The developmental stage of chicken embryos modulates the impact of in ovo olfactory stimulation on food preferences. *Chemical senses* 37 : 253-261.

**Bertin, A., Chanson, M., Delaveau, J., Mercerand, F., Möstl, E., Calandreau, L., Arnould, C., Leterrier, C., & Collin, A.** 2013. Moderate Heat Challenge Increased Yolk Steroid Hormones and Shaped Offspring Growth and Behavior in Chickens. *PLoS ONE* 8 : e57670.

**Bijleveld, A. I. & Mullers, R. H.** 2009. Reproductive effort in biparental care: an experimental study in long-lived Cape gannets. *Behavioural Ecology* 20 : 736-744.

**Birkhead, T. & Møller, A.** 1993. Sexual selection and the temporal separation of reproductive events-sperm storage data from reptiles, birds and mammals. *Biological Journal of the Linnean Society* 50 : 295-311.

**Boesch, C.** 1991. Teaching among wild chimpanzees. *Animal Behaviour* 41 : 530-532.

**Bogdanova, M.I., Nager, R.G. & Monaghan, P.** 2006 Does parental age affect offspring performance through differences in egg quality? *Functional Ecology* 20 : 132-141.

**Boissy, A.** 1998. Fear and fearfulness in determining behaviour. Dans : *Genetics and the behaviour of domestic animals* pp. 67-113. Editeur : Grandin, T. Academic Press.

**Boissy, A.** 2012. Ethological research applied to farm animals: Reconciling animal welfare and production. *Bulletin de l'académie vétérinaire de France* 165 : 137-148.

**Bond, N. W., & di Giusto, E. L.** 1976. Effects of prenatal alcohol consumption on open-field behaviour and alcohol preference in rats. *Psychopharmacologia* 46 : 163-165.

**Bonisoli-Alquati, A., Rubolini, D., Romano, M., Boncoraglio, G., Fasola, M. & Saino, N.** 2007. Effects of egg albumen removal on yellow-legged gull chick phenotype. *Funct. Ecol.* 21 : 310-316.

**Boulinier, T. & Staszewski, V.** 2008. Maternal transfer of antibodies: raising immuno-ecology issues. *Trends in Ecology & Evolution* 23 : 282-288.

**Braastad, B. O.** 1998. Effects of prenatal stress on behaviour of offspring of laboratory and farmed mammals. *Applied Animal Behaviour Science* 61 : 159-180.

**Brunton, P. J.** 2013. Effects of maternal exposure to social stress during pregnancy: consequences for mother and offspring. *Reproduction* 146 : R175-R189.

**Buchwalder, T. & Wechsler, B.** 1997. The effect of cover on the behaviour of Japanese quail *(Coturnix*

*japonica*). *Applied Animal Behaviour Science* 54 : 335-343.

**Bustamante, C., Henríquez, R., Medina, F., Reinoso, C., Vargas, R., & Pascual, R.** 2013. Maternal exercise during pregnancy ameliorates the postnatal neuronal impairments induced by prenatal restraint stress in mice. *International Journal of Developmental Neuroscience* 31 : 267-273.

**Caldji, C., Diorio, J., Anisman, H., & Meaney, M. J.** 2004. Maternal behavior regulates benzodiazepine/GABAA receptor subunit expression in brain regions associated with fear in BALB/c and C57BL/6 mice. *Neuropsychopharmacology* 29 : 1344-1352.

**Cameron, E. Z., Linklater, W. L., Stafford, K. J., & Minot, E. O.** 2000. Aging and improving reproductive success in horses: declining residual reproductive value or just older and wiser? *Behavioral Ecology & Sociobiology* 47 : 243-249.

**Cameron, E. Z., Linklater, W. L., Stafford, K. J., & Minot, E. O.** 2003. Social grouping and maternal behaviour in feral horses (Equus caballus): the influence of males on maternal protectiveness. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 53 : 92-101.

**Campan, R. & Scapini, F.** 2002. *Ethologie: approche systémique du comportement*. De Boeck Supérieur.

**Cannizzaro, C., Martire, M., Steardo, L., Cannizzaro, E., Gagliano, M., Mineo, A., & Provenzano, G.** 2002. Prenatal exposure to diazepam and alprazolam, but not to zolpidem, affects behavioural stress reactivity in handling-naïve and handling-habituated adult male rat progeny. *Brain research* 953 : 170-180.

**Cannizzaro, E., Martire, M., Gagliano, M., Plescia, F., La Barbera, M., Mantia, G., Mineao, A., Cannizzaro, G. & Cannizzaro, C.** 2005. Reversal of prenatal diazepam-induced deficit in a spatial-object learning task by brief, periodic maternal separation in adult rats. *Behavioural Brain Research* 161 : 320-330.

**Cannizzaro, C., Plescia, F., Martire, M., Gagliano, M., Cannizzaro, G., Mantia, G. & Cannizzaro, E.** 2006. Single, intense prenatal stress decreases emotionality and enhances learning performance in the adolescent rat offspring: interaction with a brief, daily maternal separation. *Behavioural Brain Research* 169 : 128-136.

**Carvalho, M. C., Nazari, E. M., Farina, M., & Muller, Y. M.** 2008. Behavioral, morphological, and biochemical changes after in ovo exposure to methylmercury in chicks. *Toxicological sciences* 106 : 180-185.

**Chae, S.-M. & Covington, C.Y.** 2009. Biobehavioral Outcomes in Adolescents and Young Adults Prenatally Exposed to Cocaine: Evidence From Animal Models. *Biological Research For Nursing* 10 : 318 -330.

**Champagne, F. A., Francis, D. D., Mar, A., & Meaney, M. J.** 2003. Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiology & Behavior* 79 : 359-371.

**Champagne, F. A., Curley, J. P., Keverne, E. B., & Bateson, P. P.** 2007. Natural variations in postpartum maternal care in inbred and outbred mice. *Physiology & Behavior* 91 : 325-334.

**Champagne, F. A., & Curley, J. P.** 2009. Epigenetic mechanisms mediating the long-term effects of maternal care on development. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 33 : 593-600.

**Chaturvedi, C. M., Zheng, Z., Koike, T. I. & Cornett, L. E.** 1994. Arginine vasotocin gene expression in neuroendocrine, reproductive and gastrointestinal tissues of the domestic fowl: detection by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Neuroscience Letters* 178 : 247-250.

**Chen, L., & Nyomba, B. L. G.** 2003. Glucose intolerance and resistin expression in rat offspring exposed to ethanol in utero: modulation by postnatal high-fat diet. *Endocrinology* 144 : 500-508.

**Chiang, C. F., Johnson, R. K. & Nielsen, M. K.** 2002. Selection for maternal behavior in mice-direct and correlated responses. *Applied Animal Behaviour Science* 79, 311-323.

**Christians, J.K.** 2002. Avian egg size: variation within species and inflexibility within individuals. *Biological Review* 77 : 1-26.

**Clarke, A. S. & Schneider, M. L.** 1997. Effects of prenatal stress on behavior in adolescent rhesus mon-

keys. *Integrative Neurobiology of Affiliation* 807 : 490-491.

**Cloutier, S., Beaugrand, J. P. & Lague, P. C.** 1996. The role of individual differences and patterns of resolution in the formation of dominance orders in domestic hen triads. *Behavioural Processes* 38 : 227-239.

**Cloutier, S. & Newberry, R. C.** 2000. Recent social experience, body weight and initial patterns of attack predict the social status attained by unfamiliar hens in a new group. *Behaviour* 137 : 705-726.

**Coe, C. L., Krmaer, M., Czéh, B., Gould, E., Reeves, A. J., Kirschbaum, C. & Fuchs, E.** 2003. Prenatal Stress Diminishes Neurogenesis in the Dentate Gyrus of Juvenile Rhesus Monkeys. *Biological Psychatry* 54 : 1025-1034.

**Cooper, J. J. & Appleby, M. C.** 1995. Nesting behaviour of hens: Effects of experience on motivation. *Applied Animal Behaviour Science* 42 : 283–295.

**Cornetto, T., Estevez, I. & Douglass, L. W.** 2002. Using artificial cover to reduce aggression and disturbances in domestic fowl. *Applied Animal Behaviour Science* 75 : 325-336.

**Coulon, M., Mallet, C., Lévy, F., Nowak, R. & Boissy, A.** 2013. Conséquences d'un stress durant la gestation des brebis sur le comportement de leurs agneaux et effets d'un enrichissement des conditions d'élevage post-sevrage. *Rencontres autour des recherches sur les ruminants*, 205-208.

**Coureaud, G., Schaal, B., Hudson, R., Orgeur, P. & Coudert, P.** 2002. Transnatal olfactory continuity in the rabbit: Behavioral evidence and short-term consequence of its disruption. *Developmental Psychobiology* 40 : 372-390.

**Crawford, R. D.** 1990. Chapter 1. Origin and history of poultry species. Dans : *Poultry breeding and genetics*. Editeur : Crawford, R. D. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

**Cucco, M., Guasco, B., Malacarne, G. & Ottonelli, R.** 2006. Effects of [beta]-carotene supplementation on chick growth, immune status and behaviour in the grey partridge, *Perdix perdix*. *Behavioural Processes* 73 : 325–332.

**Curley, J. P., Mashoodh, R. & Champagne, F. A.** 2011. Epigenetics and the origins of paternal effects. *Hormones & behavior* 59 : 306-314.

**Dahle, B., & Swenson, J. E.** 2003. Factors influencing length of maternal care in brown bears (Ursus arctos) and its effect on offspring. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 54 : 352-358.

**Daisley, J., Bromundt, V., Möstl, E. & Kotrschal, K.** 2005 Enhanced yolk testosterone influences behavioral phenotype independent of sex in Japanese quail chicks *Coturnix japonica*. *Hormones & Behavior* 47 : 185-194.

**Danchin, E., Charmantier, A., Champagne, F. A., Mesoudi, A., Pujol, B. & Blanchet, S.** 2011. Beyond DNA: integrating inclusive inheritance into an extended theory of evolution. *Nature Reviews Genetics* 12 : 475-486.

**Darnaudéry, M. & Maccari, S.** 2008. Epigenetic programming of the stress response in male and female rats by prenatal restraint stress. *Brain Research Review* 57 : 571-585.

**Davis, F. C. & Gorski, R. A.** 1985. Development of hamster circadian rhythms. I. Within-litter synchrony of mother and pup activity rhythms at weaning. *Biology of Reproduction* 33 : 353-362.

**Davis, E. P., Glynn, L. M., Waffarn, F. & Sandman, C. A.** 2011. Prenatal maternal stress programs infant stress regulation. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines* 52 : 119-129.

**de Margerie, E., Peris, A., Pittet, F., Houdelier, C., Lumineau, S., & Richard - Yris, M. A.** 2013. Effect of mothering on the spatial exploratory behavior of quail chicks. *Developmental Psychobiology* 55 : 256-264.

**de Souza, M. A., Szawka, R. E., Centenaro, L. A., Diehl, L. A. & Lucion, A. B.** 2012. Prenatal stress produces sex differences in nest odor preference. *Physiology & Behavior* 105 : 850-855.

**de Souza, M., Centenaro, L. A., Menegotto, P. R., Henriques, T. P., Bonini, J., Achaval, M. & Lucion, A. B.** 2013. Prenatal Stress Produces Social Behavior

Deficits and Alters the Number of Oxytocin and Vasopressin Neurons in Adult Rats. *Neurochemical Research* 38 : 1479-1489.

**DeCasper, A.J. & Fifer, W.P.** 1980. Of human bonding: Newborns prefer their mothers' voices. *Science* 208 : 1174.

**DeCasper, A.J. & Spence, M.J.** 1986. Prenatal maternal speech influences newborns' perception of speech sounds. *Infant Behavioural Development* 9 : 133–150.

**Del Cerro, M. C. R., Perez-Laso, C., Ortega, E., Martín, J. L. R., Gomez, F., Perez-Izquierdo, M. A. & Segovia, S.** 2010. Maternal care counteracts behavioral effects of prenatal environmental stress in female rats. *Behavioural Brain Research* 208 : 593-602.

**Dell, P. A. & Rose, F. D.** 1987. Transfer of effects from environmentally enriched and impoverished female rats to future offspring. *Physiology & behavior* 39 : 187-190.

**Derégnaucourt, S.** 2000. Hybridation entre la caille des blés (*Coturnix c. coturnix*) et la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*) : mise en évidence des risques de pollution génétique des populations naturelles par des cailles domestiques. Thèse, Université de Rennes 1, France.

**Dettling, A. C., Feldon, J., & Pryce, C. R.** 2002. Early deprivation and behavioral and physiological responses to social separation/novelty in the marmoset. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* 73 : 259-269.

**Disney, E.R., Iacono, W., McGue, M., Tully, E. & Legrand, L.** 2008. Strengthening the case: prenatal alcohol exposure is associated with increased risk for conduct disorder. *Pediatrics* 122 : 1225-1230.

**Dixon, L. M., Brocklehurst, S., Sandilands, V., Bateson, M., Tolkamp, B. J. & D'Eath, R. B.** 2014. Measuring Motivation for Appetitive Behaviour: Food-Restricted Broiler Breeder Chickens Cross a Water Barrier to Forage in an Area of Wood Shavings without Food. *PLoS ONE* 9 : e102322.

**Doi, O., Takai, T., Nakamura, T., & Tanabe, Y.** 1980. Changes in the pituitary and plasma LH, plasma and follicular progesterone and estradiol, and plasma testosterone and estrone concentrations during the ovulatory cycle of the quail (*Coturnix coturnix japonica*). *General & Comparative Endocrinology* 41 : 156-163.

**Duckworth, J. W.** 2009. Recent observations of Galliformes in degraded parts of Laos. *Galliformed* 1: 18-20.

**Dunn, J. F., Plomin, R., & Nettles, M.** 1985. Consistency of mothers' behavior toward infant siblings. *Developmental Psychology* 21 : 1188.

**Dunn, J. F., Plomin, R., & Daniels, D.** 1986. Consistency and change in mothers' behavior toward young siblings. *Child development* 57 : 348-356.

**Dwyer, C. M. & Lawrence, A. B.** 1998. Variability in the expression of maternal behaviour in primiparous sheep: effects of genotype and litter size. *Applied Animal Behaviour Science* 58 : 311-330.

**Dwyer, C. M., & Lawrence, A. B.** 2000. Maternal behaviour in domestic sheep (Ovis aries): constancy and change with maternal experience. *Behaviour* 137 : 1391.

**Dwyer, C. M.** 2008. The welfare of the neonatal lamb. *Small Ruminant Research* 76 : 31-41.

**Eising, C.M., Eikenaar, C., Schwabl, H. & Groothuis, T.G.G.** 2001. Maternal androgens in black-headed gull (*Larus ridibundus*) eggs: consequences for chick development. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 268 : 839-846.

**Eising, C.M. & Groothuis, T.G.G.** 2003. Yolk androgens and begging behaviour in black-headed gull chicks: an experimental field study. *Animal Behaviour* 66 : 1027-1034.

**Eldegard, K., & Sonerud, G. A.** 2009. Female offspring desertion and male-only care increase with natural and experimental increase in food abundance. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276 : 1713-1721.

**Eriksen, M. S., Haug, A., Torjesen, P. A., & Bakken, M.** 2003. Prenatal exposure to corticosterone impairs embryonic development and increases fluctuating asymmetry in chickens (*Gallus gallus domesticus*). *British Poultry Science* 44 : 690-697.

**Eroschenko, V.P., Amstislavsky, S.Y., Schwabl, H. & Ingermann, R.L.** 2002. Altered behaviors in male mice, male quail, and salamander larvae following early exposures to the estrogenic pesticide methoxychlor. *Neurotoxicology & Teratology* 24 : 29-36.

**Evans, H. E. & Heiser, J. B.** 2001. What's inside: anatomy and physiology. Dans : Handobook of bird biology. Editeurs : Podulka, S., Rohrbaugh, R. Jr., & Bonney, R. The Cornell Lab of Ornithology. Ithaca, New-York.

**Fairbanks, L. A. & McGuire, M. T.** 1993. Maternal protectiveness and response to the unfamiliar in vervet monkeys. *American Journal of Primatology* 30 : 119-129.

**Fairbanks, L. A.** 1996. Individual Differences in Maternal Styles: Causes and Consequences for Mothers and Offspring. *Advances in the Study of Behavior* 25 : 579-611.

**Fairbanks, L. A., & McGuire, M. T.** 1987. Mother-infant relationships in vervet monkeys: response to new adult males. *International Journal of Primatology* 8 : 351-366.

**Fairbanks, L. A., & McGuire, M. T.** 1988. Long-term effects of early mothering behavior on responsiveness to the environment in vervet monkeys. *Developmental Psychobiology* 21 : 711-724.

**Faure, J.M., Jones, R.B. & Bessei, W.** 1983. Fear and social motivation as factors in open field behaviour of the domestic chick. A theoretical consideration. *Biol. Behav.* 8 : 103-116.

**Feldman, R., Gordon, I., & Zagoory-Sharon, O.** 2010. The cross-generation transmission of oxytocin in humans. *Hormones & Behavior* 58 : 669-676.

**Ferrari, R.P., Martinelli, R. & Saino, N.** 2006. Differential effects of egg albumen content on barn swallow nestlings in relation to hatch order. *J. Evol. Biol.* 19 : 981-993.

**Finkler, M.S., Van Orman, J.B. & Sotherland, P.R.** 1998. Experimental manipulation of egg quality in chickens: influence of albumen and yolk on the size and body composition of near-term embryos in a precocial bird. *Journal of Comparative Physiology B* 168 : 17-24.

**Forkman, B., Boissy, A., Meunier-Salaün, M.-C., Canali, E. & Jones, R.B.** 2007. A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology & Behavior* 92 : 340-374.

**Formanek, L.** 2002. Rythmicité comportementale et vie sociale chez la caille japonaise. Thèse de doctorat, université de Rennes 1.

**Formanek, L., Houdelier, C., Lumineau, S., Bertin, A. & Richard-Yris, M. A.** 2008. Maternal epigenetic transmission of social motivation in birds.*Ethology* 114 : 817-826.

**Formanek, L., Richard-Yris, M. A., Houdelier, C., & Lumineau, S.** 2009. Epigenetic maternal effects on endogenous rhythms in precocial birds. *Chronobiology International* 26 : 396-414.

**Forslund, P. & Larsson, K.** 1995. Intraspecific nest parasitism in the barnacle goose: behavioural tactics of parasites and hosts. *Animal Behaviour* 50 : 509-517.

**Frésard, L., Morisson, M., Brun, J. M., Collin, A., Pain, B., Minvielle, F. & Pitel, F.** 2013. Epigenetics and phenotypic variability, some interesting insights from birds. *Genetics Selection Evolution* 45 : 16.

**Fry, D.M.** 1995. Reproductive effects in birds exposed to pesticides and industrial chemicals. *Environmental Health Perspectives* 103 : 165-171.

**Frye, C. A. & Orecki, Z. A.** 2002. Prenatal stress alters reproductive responses of rats in behavioral estrus and paced mating of hormone-primed rats. *Hormones & behavior* 42 : 472-483.

**Fulton, J. E.** 2012. Genomic selection for poultry breeding. *Animal Frontiers* 2 : 30-36.

**Furr, B. J. A., Bonney, R. C., England, R. J., & Cunningham, F. J.** 1973. Luteinizing hormone and progesterone in peripheral blood during the ovulatory cycle of the hen Gallus domesticus. *Journal of Endocrinology* 57 : 159-169.

**Garcia-Fernandez, V., Guasco, B., Tanvez, A., Lacroix, A., Cucco, M., Leboucher, G., & Malacarne, G.** 2010. Influence of mating preferences on yolk testosterone in the grey partridge. *Animal Behaviour* 80 : 45-49.

**Giesbrecht, G. F., Poole, J. C., Letourneau, N., Campbell, T. & Kaplan, B. J.** 2013. The Buffering Effect of Social Support on Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Function During Pregnancy. *Psychosomatic Medicine* 75 : 856-862.

**Gil, D.** 2008. Hormones in avian eggs: physiology, ecology and behavior. *Advances in the Study of Behavior* 38 : 337-398.

**Gil, D., Graves, J., Hazon, N. & Wells, A.** 1999. Male attractiveness and differential testosterone investment in zebra finch eggs. *Science* 286 : 126-128.

**Gil, D., Leboucher, G., Lacroix, A., Cue, R. & Kreutzer, M.** 2004. Female canaries produce eggs with greater amounts of testosterone when exposed to preferred male song. *Hormones & Behaviour* 45 : 64-70.

**Gil, D., & Faure, J. M.** 2007. Correlated response in yolk testosterone levels following divergent genetic selection for social behaviour in Japanese quail. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* 307 : 91-94.

**Giussani, D.A., Salinas, C.E., Villena, M. & Blanco, C.E.** 2007. The role of oxygen in prenatal growth: studies in the chick embryo. *Journal of Physiology* 585 : 911–917.

**Godfrey, K. M. & Barker, D. J.** 2000. Fetal nutrition and adult disease. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71 : 1344s-1352s.

**Goerlich, V. C., Nätt, D., Elfwing, M., Macdonald, B. & Jensen, P.** 2012. Transgenerational effects of early experience on behavioral, hormonal and gene expression responses to acute stress in the precocial chicken. *Hormones & Behavior* 61 : 711-718.

**Gonzalez, A., Lovic, V., Ward, G. R., Wainwright, P. E., & Fleming, A. S.** 2001. Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Developmental Psychobiology* 38 : 11-32.

**Goodson, J. L., Kelly, A. M. & Kingsbury, M. A.** 2012 Evolving nonapeptide mechanisms of gregariousness and social diversity in birds. *Hormones & Behavior* 61 : 239-250

**Gottlieb, G.** 1971. Ontogenesis of sensory function in birds and mammals. Dans : *The biopsychology of development*, pp 67-128.

**Groothuis, T.G.G. & Schwabl, H.** 2002. Determinants of within- and among-clutch variation in levels of maternal hormones in Black-Headed Gull eggs. *Functional Ecology* 16 : 281-289.

**Groothuis, T.G.G. & von Engelhardt, N.** 2005 Investigating maternal hormones in avian eggs: measurement, manipulation, and interpretation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1046 : 168-80.

**Groothuis, T.G.G., Müller, W., von Engelhardt, N., Carere, C. & Eising, C.M.** 2005. Maternal hormones as a tool to adjust offspring phenotype in avian species. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29 : 329-52.

**Groothuis, T.G.G. & Schwabl, H.** 2008. Hormone-mediated maternal effects in birds: mechanisms matter but what do we know of them? *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 363 : 1647-1661.

**Groothuis, T. G. G. & Maestripieri, D.** 2013. Parental influences on offspring personality traits in oviparous and placental vertebrates. Dans : *Animal Personalities : Behaviour, Physiology and Evolution*, 317-352. Editeurs : Carere, C. & Maestripieri, D. University of Chicago Press, Chicago.

**Guesdon, V., Bertin, A., Houdelier, C., Lumineau, S., Formanek, L., Kotrschal, K., Möstl, E. & Richard-Yris, M. A.** 2011. A place to hide in the home-cage decreases yolk androgen levels and offspring emotional reactivity in Japanese quail. *PLoS ONE* 6 : e23941.

**Guibert, F., Richard-Yris, M. A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Guémené, D., Bertin, A., Möstl, E. & Houdelier, C.** 2010. Social instability in laying quail: consequences on yolk steroids and offspring's phenotype. *PLoS ONE* 5 : e14069.

**Guibert, F.** 2011. Influences maternelles prénatales sur le développement comportemental ; étude chez la caille japonaise *Coturnix c. japonica*. Thèse de doctorat, Université de Rennes 1.

**Guibert, F., Richard-Yris, M. A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Bertin, A., Petton, C., Möstl, E. &**

**Houdelier, C.** 2011. Unpredictable mild stressors on laying females influence the composition of Japanese quail eggs and offspring's phenotype. *Applied Animal Behavioural Sciences* 132 : 51-60.

**Guibert, F., Richard-Yris, M. A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Möstl, E., & Houdelier, C.** 2012. Yolk testosterone levels and offspring phenotype correlate with parental age in a precocial bird. *Physiology & behavior* 105 : 242-250.

**Guibert, F., Lumineau, S., Kotrschal, K., Möstl, E., Richard-Yris, M. A., & Houdelier, C.** 2013. Trans-generational effects of prenatal stress in quail. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280 : 20122368.

**Gutteling, B. M., de Weerth, C., Willemsen-Swinkels, S. H., Huizink, A. C., Mulder, E. J., Visser, G. H., & Buitelaar, J. K.** 2005. The effects of prenatal stress on temperament and problem behavior of 27-month-old toddlers. *European Child & Adolescent Psychiatry* 14 : 41-51.

**Guyomarc'h, C.** 1985. Recherches sur l'influence des facteurs sociaux dans la maturation sexuelle de la Caille japonaise: *Coturnix coturnix japonica*. Thèse, Université de Rennes 1, France.

**Guyomarc'h, J.-C.** 1974. Les vocalisations des gallinacés - structure des sons et des répertoires. Ontogenèse motrice et acquisition de leur sémantique. Thèse, Université de Rennes 1, France.

**Guyomarc'h, J.-C.** 1995. Abrégés d'Ethologie. Masson, Paris.

**Guyomarc'h, J.-C., Yris, M.-A. & Fontelle, G.** 1973. Influence de l'expérience prénatale sur le rythme d'activité du poussin domestique. *Bulletin de la société scientifique de Bretagne* 48 : 49-57.

**Guyomarc'h, J.-C. & Saint-Jalme, M.** 1986. La reproduction chez la caille des blés (*Coturnix c. coturnix*): (II) croissance et développement sexuel des jeunes. *Gibier Faune Sauvage* 3 : 281-295.

**Guyomarc'h, C. & Guyomarc'h, J.-C.** 1994. Influence of a daily cycle of crowing on mature male japanese quail. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris* 317 : 621-626.

**Guyomarc'h, J.-C. & Guyomarc'h, C.** 1996. Vocal communication in European quail; comparaison with Japanese quail. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris* 319 : 827-834.

**Guyomarc'h, J.-C., Combreau, O., Puigcerver, M., Fontura, P. & Aebischer, N.** 1998. Quail. Dans : *Bird West and Palearctic.* Editeur : Olgivie, pp. 27-46.

**Hackl, R., Bromundt, V., Daisley, J., Kotrschal, K. & Möstl, E.** 2003. Distribution and origin of steroid hormones in the yolk of Japanese quail eggs (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of Comparative Physiology B* 173 : 327-31.

**Hagelin, J. C., Simonet, J. C., & Lyson, T. R.** 2013. Embryonic Domestic Chickens Can Detect Compounds in an Avian Chemosignal Before Breathing Air. Dans : *Chemical Signals in Vertebrates 12* : 363-377). Springer, New York.

**Harlow, H. F., & Suomi, S. J.** 1971. Social recovery by isolation-reared monkeys. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 68 : 1534-1538.

**Hayward, L.S. & Wingfield, J.C.** 2004. Maternal corticosterone is transferred to avian yolk and may alter offspring growth and adult phenotype. *General & Comparative Endocrinology* 135 : 365-371.

**Heijmans, B. T., Tobi, E. W., Stein, A. D., Putter, H., Blauw, G. J., Susser, E. S., Slagboom, P. E. & Lumey, L. H.** 2008. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 : 17046-17049.

**Heitor, F., & Vicente, L.** 2008. Maternal care and foal social relationships in a herd of Sorraia horses: Influence of maternal rank and experience. *Applied Animal Behaviour Science* 113 : 189-205.

**Hellemans, K.G.C., Verma, P., Yoon, E., Yu, W. & Weinberg, J.** 2008. Prenatal Alcohol Exposure Increases Vulnerability to Stress and Anxiety-Like Disorders in Adulthood. *Annals of the New-York Academy of Sciences* 1144 : 154-175.

**Hennache, A. & Ottaviani, M.** 2011. *Cailles, Perdrix et Francolins de l'Ancien Monde*. Editeur : WPA, France.

**Hennessy, M. B., Vogt, J. & Levine, S.** 1982. Strain of foster mother determines long-term effects of early handling: evidence for maternal mediation. *Physiological Psychology* 10 : 153-157.

**Henriksen, R., Groothuis, T. G., & Rettenbacher, S.** 2011a. Elevated plasma corticosterone decreases yolk testosterone and progesterone in chickens: linking maternal stress and hormone-mediated maternal effects. *PLoS ONE* 6 : e23824.

**Henriksen, R., Rettenbacher, S. & Groothuis, T.G.G.** 2011b. Prenatal stress in birds: Pathways, effects, function and perspectives. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35 : 1484-1501.

**Henriksen, R., Rettenbacher, S., & GG Groothuis, T.** 2013. Maternal corticosterone elevation during egg formation in chickens (*Gallus gallus domesticus*) influences offspring traits, partly via prenatal undernutrition. *General & Comparative Endocrinology* 191 : 83-91.

**Hersek, M. J., & Owings, D. H.** 1993. Tail flagging by adult California ground squirrels: a tonic signal that serves different functions for males and females. *Animal Behaviour* 46 : 129-138.

**Hill, W.L.** 1993. Importance of prenatal nutrition to the development of a precocial chick. *Developmental Psychobiology* 26 : 237-249.

**Hinde, R. A., & Spencer-Booth, Y.** 1971. Towards understanding individual differences in rhesus mother-infant interaction. *Animal Behaviour* 19 : 165-173.

**Hirschenhauser, K., Möstl, E. & Kotrschal, K.** 1999. Seasonal patterns of sex steroids determined from feces in different social categories of Greylag Geese (*Anser anser*). *General & Comparative Endocrinology* 114 : 67-79.

**Hoffman, C. L., Higham, J. P., Mas-Rivera, A., Ayala, J. E., & Maestripieri, D.** 2010. Terminal investment and senescence in rhesus macaques (Macaca mulatta) on Cayo Santiago. *Behavioral Ecology* 21 : 972-978.

**Hoffmann, E.** 1988. *Coturnix Quail. Yi Hisien Publishing Co, Taipei.*

**Holson, R. R., Gough, B., Sullivan, P., Badger, T. & Sheehan, D. M.** 1995. Prenatal dexamethasone or stress but not ACTH or corticosterone alter sexual behavior in male rats. *Neurotoxicology and teratology* 17 : 393-401.

**Hötzel, M. J., Wolf, F. M., & Costa, O. A. D.** 2004. Behaviour of sows and piglets reared in intensive outdoor or indoor systems. *Applied Animal Behaviour Science* 86 : 27-39.

**Houdelier, C.** 2002. L'organisation temporelle du comportement de ponte chez les oiseaux : caille – étourneau. Thèse de doctorat, université de Rennes 1.

**Houdelier, C., Guyomarc'h, C. & Lumineau, S.** 2002. Daily temporal organization of laying in Japanese quail: variability and heritability. *Chronobiology International* 19 : 377-392.

**Houdelier, C., Guyomarc'h, C., Lumineau, S. & Richard, J. P.** 2004. Daily organization of laying in Japanese and European quail: Effect of domestication. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology 3*01 : 186-194.

**Houpt, K. A.** 2000. Equine Maternal Behavior and its Aberrations. Dans : *Recent Advances in Companion Animal Behavior Problems*. Editeurs : Houpt , K. A. International Veterinary Information Service Editions. Ithaca, New-York.

**Huang, E.S.R., Kao, K.J. & Naldandov, A.V.** 1979. Synthesis of sex steroids by cellular components of chicken follicles. *Biology of Reproduction* 20 : 454-461.

**Immelmann, K.** 1972. Sexual and other long-term aspects of imprinting in birds and other species. Dans : *Advances in the study of behavior vol 4.* Editeurs : Lehrman, D. S., Hinde, R. A., Shaw, E. Academic Press. New-York.

**Jablonka E. & Raz, G**. 2009. Transgenerational epigenetic inheritance: prevalence, mechanisms, and implications for the study of heredity and evolution. *Quaterly Review of Biology* 84 : 131-176.

**Jarvis, S., Moinard, C., Robson, S. K., Baxter, E., Ormandy, E., Douglas, A. J., Seck, J. R., Russell, J. A. & Lawrence, A. B.** 2006. Programming the offspring of the pig by prenatal social stress: neuroendocrine

activity and behaviour. *Hormones & behavior* 49 : 68-80.

**Jensen, P.** 2013. Transgenerational epigenetic effects on animal behaviour. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 113 : 447-454.

**Jilge, B.** 1995. Ontogeny of the rabbit's circadian rhythms without an external zeitgeber. *Physiology & behavior* 58 : 131-140.

**Johnsgard, P.A.** 1988. Genus *Coturnix* Bonnaterre 1791. Dans : *The Quails, Partridges, and Francolins of the world.* Editeur : Johnsgard, P. A. pp. 192-205. Oxford University Press, Oxford.

**Johnson, A.L.** 2002. Reproduction in the female. Dans : *Sturkie's avian physiology, 5th edition* 569-591. Editeur ; Whittow, G. G. Academic Press, San Diego.

**Johnson, P.A., Dickerman, R.W. & Bahr, J.M.** 1986. Decreased granulosa cell luteinizing hormone sensitivity and altered thecal estradiol concentration in the aged hen, *Gallus domesticus*. *Biol. Reprod.* 35 : 641-646.

**Jones, R.B.** 1986. The tonic immobility reaction of the domestic fowl - a review. *World Poultry Science Journal* 42 : 82-97.

**Jones, R.B.** 1987. The assessment of fear in the domestic fowl. Dans : *Cognitive aspects of social behaviour in the domestic fowl*, pp. 40-81. Editeurs : Zahan, R. & Duncan, I.J.H. Elsevier, Amsterdam, Pays-Bas.

**Jones, R.B.** 1996. Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives. *World Poultry Science Journal* 52 : 131-174.

**Jones, K.L. & Smith, D.W.** 1975. The fetal alcohol syndrome. *Teratology* 12 : 1-10.

**Kaati, G., Bygren, L. O., Pembrey, M. & Sjöström, M.** 2007. Transgenerational response to nutrition, early life circumstances and longevity. *European Journal of Human Genetics* 15 : 784-790.

**Kaiser, S., Kruijver, F. P. M., Straub, R. H., Sachser, N. & Swaab, D. F.** 2003. Early Social Stress in Male Guinea-Pigs Changes Social Behaviour, and Autonomic and Neuroendocrine Functions. *Journal of Neuroendocrinology* 15 : 761-769.

**Kaiser, S., Kruijver, F. P., Swaab, D. F. & Sachser, N.** 2003. Early social stress in female guinea pigs induces a masculinization of adult behavior and corresponding changes in brain and neuroendocrine function. *Behavioural Brain Research* 144 : 199-210.

**Kaiser, S. & Sachser, N.** 2005. The effects of prenatal social stress on behaviour: mechanisms and function. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29 : 283-294.

**Kapoor, A. & Matthews, S. G.** 2011. Testosterone is involved in mediating the effects of prenatal stress in male guinea pig offspring. *The Journal of Physiology* 589 : 755-766.

**Kendrick, K. M., Haupt, M. A., Hinton, M. R., Broad, K. D., & Skinner, J. D.** 2001. Sex differences in the influence of mothers on the sociosexual preferences of their offspring. *Hormones & Behavior* 40 : 322-338.

**Kilner, R. M.** 2006. The evolution of egg colour and patterning in birds. *Biological Reviews* 81 : 383-406.

**Kingma, S., Kondeur, J., Vedder, O., von Engelhardt, N., Korsten, P. & Groothuis, T. G. G.** 2009. Manipulation of male attractiveness induces rapid changes in avian maternal yolk androgen deposition. *Behavioural Ecology* 20 : 172-179.

**Kitaysky, A. S., Wingfield, J. C., & Piatt, J. F.** 1999. Dynamics of food availability, body condition and physiological stress response in breeding black-legged kittiwakes. *Functional Ecology* 13 : 577-584.

**Kiyono, S., Seo, M.L., Shibagaki, M. & Inouye, M.** 1985. Facilitative effects of maternal environmental enrichment on maze learning in rat offspring. *Physiology & Behavior* 34 : 431-435.

**Klatt, J. D. & Goodson, J. L.** 2012 Oxytocin-like receptors mediate pair bonding in a socially monogamous songbird. *Proceeding of the Royal Society B : Biological Sciences* 280 : 20122396.

**Klatt, J. D. & Goodson, J. L.** 2013 Sex-specific activity and function of hypothalamic nonapeptide neurons during nest-building in zebra finches. *Hormones & behavior* 64 : 818-824.

**Konig, B.** 1989. Kin recognition and maternal care under restricted feeding in house mice (Mus domesticus). *Ethology* 82 : 328-343.

**Koo, J. W., Park, C. H., Choi, S. H., Kim, N. J., Kim, H. S., Choe, J. C. & Suh, Y. H.** 2003. The postnatal environment can counteract prenatal effects on cognitive ability, cell proliferation, and synaptic protein expression. *FASEB journal* 17 : 1556-1558.

**Koolhaas, J. M., Bartolomucci, A., Buwalda, B., De Boer, S. F., Flügge, G., Korte, S. M., ... & Fuchs, E.** 2011. Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 35 : 1291-1301.

**La Fontaine, J.** 1678. Livre IX, fable 20, Discours à Madame de la Sablière. Editeur : Barbin, C. Paris, France.

**Latham, N. R., & Mason, G. J.** 2008. Maternal deprivation and the development of stereotypic behaviour. *Applied Animal Behaviour Science* 110 : 84-108.

**Launay, F.** 1993. Conséquences comportementales et physiologiques de sélections pour l'émotivité et l'attraction sociale chez la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*). Thèse, Université de Rennes 1, France.

**Laurence, A., Houdelier, C., Petton, C., Calandreau, L., Arnould, C., Favreau-Peigné, A., Leterrier, C., Boissy, A. & Lumineau, S.** 2014. Environmental enrichment increases adaptability to chronic stress in Quail. *Animal sous presse.*

**Lazarus, R. S.** 1991. Cognition and motivation in emotion. *American psychologist* 46 : 352-367.

**Le Masne, G.** 1996.Sociétés animales. Dans : Encyclopaedia Universalis. Paris, France.

**Lee, M. H. & Rabe, A.** 1999. Infantile handling eliminates reversal learning deficit in rats prenatally exposed to alcohol. *Alcohol* 18 : 49-53.

**Lee, H. H., Kim, H., Lee, J. W., Kim, Y. S., Yang, H. Y., Chang, H. K., Lee, T. H., Shin, M. C., Lee; M. H., Shin, M. S., Park, S., Baek, S. & Kim, C. J.** 2006. Maternal Swimming during pregnancy enhances short-term memory and neurogenesis in the hippocampus of rat pups. *Brain & Development* 28 : 147-154.

**Lee, P. R., Brady, D. L., Shapiro, R. A., Dorsa, D. M. & Koenig, J. I.** 2007. Prenatal stress generates deficits in rat social behavior: reversal by oxytocin. *Brain Research* 1156 : 152-167.

**Lee Y.-A. & Goto, Y.** 2013. The effects of prenatal and postnatal environmental interaction: prenatal environmental adaptation hypothesis. *Journal of Physiolology-Paris* 107 : 483-492.

**Lehmann, J., Stöhr, T. & Feldon, J.** 2000. Long-term effects of prenatal stress experience and postnatal maternal separation on emotionality and attentional processes. *Behavioural Brain Research* 107 : 133-144.

**Leksrisompong, N., Romero-Sanchez, H., Plumstead, P.W., Brannan, K.E. & Brake, J.** 2007. Broiler incubation. 1. Effect of elevated temperature during late incubation on body weight and organs of chicks. *Poultry Science* 86 : 2685-2691.

**Leksrisompong, N., Romero-Sanchez, H., Plumstead, P.W., Brannan, K.E., Yahav, S. & Brake, J.** 2009. Broiler incubation. 2. Interaction of incubation and brooding temperatures on broiler chick feed consumption and growth. *Poultry Science* 88 : 1321-1329.

**Lemaire, V., Lamarque, S., Le Moal, M., Piazza, P. V. & Abrous, D. N.** 2006. Postnatal stimulation of the pups counteracts prenatal stress-induced deficits in hippocampal neurogenesis. *Biological Psychiatry* 59 : 786-792.

**Lendvai, Á. Z. & Chastel, O.** 2008. Experimental mate-removal increases the stress response of female House Sparrows: The effects of offspring value? *Hormones & Behaviour* 53 : 395-401.

**Levine, S.** 2000. Influence of psychological variables on the activity of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *European Journal of Pharmacology* 405 : 149-160.

**Levine, S., Haltmeyer, G. C., Karas, G. G. & Denenberg, V. H.** 1967. Physiological and behavioral effects of infantile stimulation. *Physiology & Behavior* 2 : 55-59.

**Lickliter, R., Bahrick, L. E. & Honeycutt, H.** 2004. Intersensory redundancy enhances memory in bobwhite quail embryos. *Infancy* 5 : 253-269.

**Lindqvist, C., Janczak, A. M., Nätt, D., Baranowska, I., Lindqvist, N., Wichman, A., Lundeberg, J., Lindberg, J., Torjesen, P. A. and Jensen, P.** 2007. Transmission of stress-induced learning impairment and associated brain gene expression from parents to offspring in chickens. *PLoS One* 2 : e364.

**Lipar, J.L., Ketterson, E.D., Nolan, V. & Casto, J.M.** 1999. Egg yolk layers vary in the concentration of steroid hormones in two avian species. *General & Comparative Endocrinology* 115 : 220-227.

**Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A., Sharma, S., Pearson, D., Plotsky, P. M. & Meaney, M. J.** 1997. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 277 : 1659-1662.

**Liu, D., Diorio, J., Day, J. C., Francis, D. D., & Meaney, M. J.** 2000. Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nature Neuroscience* 3 : 799-806.

**Lonsdorf, E. V.** 2005. Sex differences in the development of termite-fishing skills in the wild chimpanzees, *Pan troglodytes schweinfurthii*, of Gombe National Park, Tanzania. *Animal Behaviour* 70 : 673-683.

**Lorenz, K. Z.** 1937. The companion in the bird's world. *The Auk* 245-273.

**Love, O. P. & Williams, T. D.** 2008. Plasticity in the adrenocortical response of a free-living vertebrate: the role of pre-and post-natal developmental stress. *Hormones and Behavior* 54 : 496-505.

**Love, O.P., Wynne-Edwards, K.E., Bond, L. & Williams, T.D.** 2008. Determinants of within- and among-clutch variation in yolk corticosterone in the European starling. *Hormones & Behavior* 53 : 104-111.

**Lovell, P. G., Ruxton, G. D., Langridge, K. V. & Spencer, K. A.** 2013. Egg-laying substrate selection for optimal camouflage by quail. *Current Biology* 23 : 260-264.

**Lui, C. C., Wang, J. Y., Tain, Y. L., Chen, Y. C., Chang, K. A., Lai, M. C. & Huang, L. T.** 2011. Prenatal stress in rat causes long-term spatial memory deficit and hippocampus MRI abnormality: Differential effects of postweaning enriched environment. *Neurochemistry International* 58 : 434-441.

**Lumineau, S., Houdelier, C. & Guyomarc'h, C.** 2005. Individual differences in sexual display behaviour in the male Japanese quail. *Ethology Ecology & Evolution* 17 : 121–134.

**Lynch, A. M., McDonald, S., Magann, E. F., Evans, S. F., Choy, P. L., Dawson, B., Blanksby, B. A. & Newnham, J. P.** 2003. Effectiveness and safety of a structured swimming program in previously sedentary women during pregnancy. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine* 14 : 163-9.

**Maccari, S., Piazza, P., Kabbaj, M., Barbazanges, A., Simon, H. & Le Moal, M.** 1995. Adoption reverses the long-term impairment in glucocorticoid feedback induced by prenatal stress. *Journal of Neurosciences* 15 : 110-116.

**Maestripieri, D.** 1993. Maternal anxiety in rhesus macaques (*Macaca mulatta*): II. Emotional bases of individual differences in mothering styles. *Ethology* 95 : 32-42.

**Maestripieri, D. & Mateo, J. M.** 2009. Maternal effects in Mammals. University of Chicago press, Chicago.

**Marasco, V., Robinson, J., Herzyk, P. & Spencer, K. A.** 2012. Pre-and post-natal stress in context: effects on the stress physiology in a precocial bird. *Journal of Experimental Biology* 215 : 3955-3964.

**Marasco, V., Spencer, K. A., Robinson, J., Herzyk, P. & Costantini, D.** 2013. Developmental post-natal stress can alter the effects of pre-natal stress on the adult redox balance. *General & Comparative Endocrinology* 191 : 239-246.

**Markman, S., Yom-tov, Y., & Wright, J.** 1996. The effect of male removal on female parental care in the orange-tufted sunbird. *Animal Behaviour* 52 : 437-444.

**Maruoka, T., Kodomari, I., Yamauchi, R., Wada, E. & Wada, K.** 2009. Maternal enrichment affects prenatal hippocampal proliferation and open-field behaviors in female offspring mice. *Neuroscience Letters* 454 : 28-33.

**Mason, J. R., & Reidinger, R. F.** 1982. Observational learning of food aversions in red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*). *The Auk* 548-554.

**Massart, R., Suderman, M., Provencal, N., Yi, C., Bennett, A. J., Suomi, S., & Szyf, M.** 2014. Hydroxymethylation and DNA methylation profiles in the prefrontal cortex of the non-human primate rhesus macaque and the impact of maternal deprivation on hydroxymethylation. *Neuroscience* 268 : 139-148.

**Mazuc, J., Bonneaud, C., Chastel, O. & Sorci, G.** 2003. Social environment affects female and egg testosterone levels in the house sparrow (*Passer domesticus*). *Ecology Letters* 6 : 1084-1090.

**McNabb, F.M.A. & Wilson, C.M.** 1997. Thyroid hormone deposition in avian eggs and effects on embryonic development. *American Zoologist* 37 : 553 -560.

**Meaney, M. J.** 2001. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual Review of Neuroscience*, 24 : 1161-1192.

**Meaney, M.J., Aitken, D.H., Bodnoff, S.R., Iny, L.J., Tatarewicz, J.E. & Sapolsky, R.M.** 1985. Early postnatal handling alters glucocorticoid receptor concentrations in selected brain regions. *Behav. Neurosci.* 99: 765–770

**Meaney, M. J., Aitken, D. H., Van Berkel, C., Bhatnagar, S. & Sapolsky, R. M.** 1988. Effect of neo-natal handling on age-related impairments associated with the hippocampus. *Science* 239 : 766-768.

**Meaney, M. J., Mitchell, J. B., Aitken, D. H., Bhatnagar, S., Bodnoff, S. R., Iny, L. J. & Sarrieau, A.** 1991. The effects of neonatal handling on the devel-opment of the adrenocortical response to stress: implications for neuropathology and cognitive deficits in later life. *Psychoneuroendocrinology* 16 : 85-103.

**Meek, L. R., Dittel, P. L., Sheehan, M. C., Chan, J. Y. & Kjolhaug, S. R.** 2001. Effects of stress during pregnancy on maternal behavior in mice. *Physiology & behavior* 72 : 473-479.

**Mehler, J., Jusczyk, P., Lambertz, G., Halsted, N., Bertoncini, J. & Amiel-Tison, C.** 1988. A precursor of language acquisition in young infants. *Cognition* 29 : 143-178.

**Melo, A. I., Lovic, V., Gonzalez, A., Madden, M., Sinopoli, K., & Fleming, A. S.** 2006. Maternal and littermate deprivation disrupts maternal behavior and social‐learning of food preference in adulthood: Tactile stimulation, nest odor, and social rearing prevent these effects. *Developmental Psychobiology* 48 : 209-219.

**Merlot, E., Quesnel, H. & Prunier, A.** 2013. Prenatal stress, immunity and neonatal health in farm animal species. *Animal* 7 : 2016-2025.

**Merrill, R. J. N. & Nicol, C. J.** 2005. The effects of novel floorings on dustbathing, pecking and scratching behaviour of caged hens. *Animal Welfare* 14 *:* 179-186.

**Metcalfe, N. B. & Monaghan, P.** (2001). Compensation for a bad start: grow now, pay later? *Trends in Ecology & Evolution* 16 : 254-260.

**Michel, V., Guinebretière, M., Aland, A. & Madec, F.** 2009. Challenges of the new requirements for welfare of laying hens housed in cages. Dans : *Sustainable Animal Production: The Challenges and Potential Developments for Professional Farming*. Editeurs : Aland, A. & Maded, F. pp 329-346. Wageningen, Pays-Bas.

**Mignon-Grasteau, S., Roussot, O., Delaby, C., Faure, J.-M., Mills, A.D., Leterrier, C., Guéméné, D., Constantin, P., Mills, M., Lepape, G. & Beaumont, C.** 2003. Factorial correspondence analysis of fear-related behaviour traits in Japanese quail. *Behavioural Processes* 61 : 69-75.

**Mills, A.D. & Faure J.-M.** 1986. The estimation of fear in domestic quail: correlations between various methods and measures. *Biology of Behaviour* 11 : 235-243.

**Mills, A.D. & Faure, J.-M.** 1991 Divergent selection for duration of tonic immobility and social reinstatement behavior in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) chicks. *Journal of Comparative Psychology* 105 : 25-38.

**Millstein, R. A., & Holmes, A.** 2007. Effects of repeated maternal separation on anxiety-and

depression-related phenotypes in different mouse strains. *Neuroscience & Biobehavioral Review* 31 : 3-17.

**Mineka, S., & Cook, M.** 1988. Social learning and the acquisition of snake fear in monkeys. *Social Learning: Psychological & Biological Perspectives* 51-73.

**Minvielle, F., Hirigoyen, E. & Boulay, M.** 1999 Associated effects of the roux plumage color mutation on growth, carcass traits, egg production, and reproduction of Japanese quail. *Poultry Science* 78 : 1479-1484.

**Moore, M. C. & Johnston, G. I.** 2008. Toward a dynamic model of deposition and utilization of yolk steroids. *Integrative and comparative biology* 48 : 411-418.

**Moran, E. T.** 2007. Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poultry Science* 86 : 1043-1049.

**Möstl, E., Spendier, H. & Kotrschal, K.** 2001. Concentration of immunoreactive progesterone and androgens in the yolk of hens' eggs (*Gallus domesticus*). *Wiener Tierarztliche Monatsschrift* 88 : 62-65.

**Mousseau, T.A. & Fox, C.W.** 1998. Maternal effects as adaptations. Oxford University Press, New York.

**Moyle, J.R., Yoho, D.E., Harper, R.S., Swaffar, A.D., Bramwell, R.K. & Elfick, D.J.** 2008. Egg shell color, specific gravity and hatchability, in eggs from broiler breeders. Poultry Science 87 : 146.

**Muhammad, A.** & Kolb, B. 2011. Prenatal tactile stimulation attenuates drug-induced behavioral sensitization, modifies behavior, and alters brain architecture. *Brain Research* 1400 : 53-65.

**Mulder, E.J.H., Robles de Medina, P.G., Huizink, A.C., Van den Bergh, B.R.H., Buitelaar, J.K. & Visser, G.H.A.** 2002. Prenatal maternal stress: effects on pregnancy and the (unborn) child. *Early Human Development* 70: 3-14.

**Müller, W., Eising, C. M., Dijkstra, C. & Groothuis, T. G.** 2002. Sex differences in yolk hormones depend on maternal social status in Leghorn chickens (Gallus gallus domesticus). *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 269 : 2249-2255.

**Müller, W., Deptuch, K., López-Rull, I. & Gil, D.** 2007. Elevated yolk androgen levels benefit offspring development in a between-clutch context. *Behavioral Ecology* 18 : 929-936.

**Müller, M. S., Roelofs, Y., Erikstad, K. E., & Groothuis, T. G.** 2012. Maternal androgens increase sibling aggression, dominance, and competitive ability in the siblicidal black-legged kittiwake (*Rissa tridactyla*). *PLoS ONE* 7 : e47763.

**Müller, M. & Groothuis, T. G.** 2013. Within-clutch variation in yolk testosterone as an adaptive maternal effect to modulate avian sibling competition: evidence from a comparative study. *The American Naturalist* 181 : 125-136.

**Multigner, L.** 2005. Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, Risques & Santé* 4 : 187–194.

**Mychasiuk, R., Zahir, S., Schmold, N., Ilnytskyy, S., Kovalchuk, O. & Gibb, R.** 2012. Parental enrichment and offspring development: Modifications to brain, behavior and the epigenome. *Behavioural Brain Research* 228 : 294-298.

**Nachum-Biala, Y., Salomon, S. & Weinstock, M.** 2006. Postnatal handling prevents abnormalities in behaviour and memory induced by prenatal stress. *European Neuropsychopharmacology* 16 : S78.

**Narushin, V. A., & Romanov, M. N.** 2002. Egg physical characteristics and hatchability. *World's Poultry Science Journal* 58 : 297-303.

**Nätt, D., Lindqvist, N., Stranneheim, H., Lundeberg, J., Torjesen, P.A. & Jensen, P.** 2009. Inheritance of acquired behaviour adaptations and brain gene expression in chickens. *PLoS ONE* 4 : e6405.

**Nätt, D., Rubin, C. J., Wright, D., Johnsson, M., Beltéky, J., Andersson, L. & Jensen, P.** 2012. Heritable genome-wide variation of gene expression and promoter methylation between wild and domesticated chickens. *BMC genomics* 13 : 59.

**Navara, K.J., Hill, G.E. & Mendonca, M.T.** 2005. Variable effects of yolk androgens on growth, survival, and immunity in eastern bluebird nestlings. *Physiol. Biochem. Zool.* 78 : 570-578.

**Navara, K.J., Hill, G.E. & Mendonca, M.T.** 2006. Yolk testosterone stimulates growth and immunity in house finch chicks. *Physiol. Biochem. Zool.* 79 : 550-555.

**Nichols, C. R.** 1991. A comparison of the reproductive and behavioural differences in feral and domestic Japanese quail. Thèse de doctorrt. University of British Columbia.

**Nichols, C. A., Robinson, C. A. F. & Cheng, K. M.** 1992. Influence of domestication on fecundity and reproductive behaviour of japanese quail (coturnix japonica). *Gibier faune sauvage* 9 : 743-755.

**Nicol, C. J.** 2004. Development, direction, and damage limitation: Social learning in domestic fowl. *Animal Learning & Behavior* 32 : 72-81.

**Nisbet, I. C. & Dann, P.** 2009. Reproductive performance of little penguins *Eudyptula minor* in relation to year, age, pair-bond duration, breeding date and individual quality. *Journal of Avian Biology* 40 : 296-308.

**Nomura, O., Nakabayashi, O., Nishimori, K., Yasue, H., & Mizuno, S.** 1999. Expression of five steroidogenic genes including aromatase gene at early developmental stages of chicken male and female embryos. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 71 : 103-109.

**Nunez, J. F., Ferre, P., Escorihuela, R. M. & Tobena, F. T. A.** 1996. Effect of postnatal handling of rats on emotional, HPA-axis and prolactin reactivity to novelty and conflict. *Physiology & Behavior* 60 : 1355-1359.

**O'Brien, P. H.** 1984. Leavers and stayers: maternal post-partum strategies in feral goats. *Applied Animal Behaviour Science* 12 : 233-243.

**O'Connor, T. G., Ben-Shlomo, Y., Heron, J., Golding, J., Adams, D., & Glover, V.** 2005. Prenatal anxiety predicts individual differences in cortisol in pre-adolescent children. *Biological Psychiatry*, 58 : 211-217.

**O'Connor, T. G., Heron, J., Golding, J., Beveridge, M., & Glover, V.** 2002. Maternal antenatal anxiety and children's behavioural/emotional problems at 4 years Report from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *The British Journal of Psychiatry* 180 : 502-508.

**O'Connor, T. G., Heron, J., Golding, J., & Glover, V.** 2003. Maternal antenatal anxiety and behavioural/emotional problems in children: a test of a programming hypothesis. *Journal of Child Psychology & Psychiatry* 44 : 1025-1036.

**Odén K, Gunnarsson S, Berg C & Algers B.** 2005. Effects of sex composition on fear measured as tonic immobility and vigilance behaviour in large flocks of laying hens. *Applied Animal Behavioural Sciences* 95 : 89-102.

**Ogilvie, K. M., & Rivier, C.** 1997. Prenatal Alcohol Exposure Results in Hyperactivity of the Hypothalamic - Pituitary - Adrenal Axis of the Offspring: Modulation by Fostering at Birth and Postnatal Handling. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 21 : 424-429.

**Okuliarová, M., Škrobánek, P. & Zeman, M.** 2007. Effect of increasing yolk testosterone levels on early behaviour in Japanese quail hatchlings. *Acta Vet. Brno* 76 : 325-331.

**Okuliarová, M., Skrobánek, P. & Zeman, M.** 2009. Variability of yolk testosterone concentrations during the reproductive cycle of Japanese quail. *Comparative Biochemistry & Physiology A* 154 : 530-534.

**Okuliarová, M., Šárniková, B., Rettenbacher, S., Škrobánek, P. & Zeman, M.** 2010. Yolk testosterone and corticosterone in hierarchical follicles and laid eggs of Japanese quail exposed to long-term restraint stress. *General and comparative endocrinology* 165 : 91-96.

**Okuliarová, M., Groothuis, T. G., Škrobánek, P., & Zeman, M.** 2011. Experimental evidence for genetic heritability of maternal hormone transfer to offspring. *The American Naturalist* 177 : 824-834.

**Okuliarová, M., Kankova, Z., Skrobanek, P., & Zeman, M.** 2014. Bidirectional selection for yolk testosterone content in Japanese quail. *Avian Biology Research* 7 : 18-24.

**Okuyama, M.** 2004. Current Status of the Japanese Quail Coturnix japonica as a Game Bird. *Journal of the Yamashina Institute for Ornithology* 35: 189-202.

**Opel, H.** 1966. The timing of oviposition and ovulation in the quail (*Coturnix coturnix japonica*). *British Poultry Science* 7 : 29-38.

**Orcutt, F.S. Jr. & Orcutt, A.B.** 1976. Nesting and parental behavior in domestic common quail. *Auk* 93 : 135-141.

**Otten, W., Kanitz, E., Couret, D., Veissier, I., Prunier, A., & Merlot, E.** 2010. Maternal social stress during late pregnancy affects hypothalamic-pituitary-adrenal function and brain neurotransmitter systems in pig offspring. *Domestic animal endocrinology* 38 : 146-156.

**Ottinger, M. A., Schleidt, W. M. & Russek, E.** 1982. Daily patterns of courtship and mating behavior in the male Japanese quail. *Behavioural Processes* 7 : 223-233.

**Ottinger, M. A., Lavoie, E. T., Abdelnabi, M., Quinn Jr, M. J., Marcell, A., & Dean, K.** 2009. An overview of dioxin-like compounds, PCB, and pesticide exposures associated with sexual differentiation of neuroendocrine systems, fluctuating asymmetry, and behavioral effects in birds. *Journal of Environmental Science and Health, Part C* 27 : 286-300.

**Padgett, C.A. & Ivey, W.D.** 1959. *Coturnix* quail as a laboratory research animal. *Science* 129 : 267-268.

**Palme, R. & Möstl, E.** 1994. Biotin-streptavidin enzyme immunoassay for the determination of oestrogens and androgens in boar faeces. In: *Advances of Steroid Analysis*. Editeur : Görög, S. pp. 111-117. Akademiai Kiado, Budapest, Hongrie.

**Parnpiansil, P., Jutapakdeegul, N., Chentanez, T. & Kotchabhakdi, N.** 2003. Exercise during pregnancy increases hippocampal brain-derived neurotrophic factor mRNA expression and spatial learning in neonatal rat pup. *Neuroscience Letters* 352 : 45-8.

**Paul, E. S., Harding, E. J., & Mendl, M.** 2005. Measuring emotional processes in animals: the utility of a cognitive approach. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29 : 469-491.

**Pedersen, P. E. & Blass, E. M.** 1982. Prenatal and postnatal determinants of the 1st suckling episode in albino rats. *Developmental Psychobiology* 15 : 349-355.

**Pedersen, A., & Tomaszycki, M. L.** 2012. Oxytocin antagonist treatments alter the formation of pair relationships in zebra finches of both sexes. *Hormones & behavior* 62 : 113-119.

**Pembrey, M. E.** 2010. Male-line transgenerational responses in humans. *Human Fertility* 13 : 268-271.

**Pennington, J. S., Shuvaeva, T. I., & Pennington, S. N.** 2002. Maternal dietary ethanol consumption is associated with hypertriglyceridemia in adult rat offspring. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 26 : 848-855.

**Perera, F. P., Wang, S., Rauh, V., Zhou, H., Stigter, L., Camann, D., Jedrycowski, W., Mroz, E., & Majewska, R.** 2013. Prenatal Exposure to Air Pollution, Maternal Psychological Distress, and Child Behavior. *Pediatrics* 132 : e1284-e1294.

**Pérez-Laso, C., Ortega, E., Martín, J. L. R., Pérez-Izquierdo, M. A., Gómez, F., Segovia, S. & Del Cerro, M. C. R.** 2013. Maternal care interacts with prenatal stress in altering sexual dimorphism in male rats. *Hormones & Behavior* 64 : 624-633.

**Perré, Y., Wauters, A. M., & Richard-Yris, M. A.** 2002. Influence of mothering on emotional and social reactivity of domestic pullets. *Applied Animal Behaviour Science* 75 : 133-146.

**Pfannkuche, K. A., Bouma, A., & Groothuis, T. G.** 2009. Does testosterone affect lateralization of brain and behaviour? A meta-analysis in humans and other animal species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364 : 929-942.

**Pfannkuche, K. A., Gahr, M., Weites, I. M., Riedstra, B., Wolf, C., & Groothuis, T. G. G.** 2011. Examining a pathway for hormone mediated maternal effects–Yolk testosterone affects androgen receptor expression and endogenous testosterone production in young chicks (*Gallus gallus domesticus*). *General and comparative endocrinology* 172 : 487-493.

**Pham, T. M., Söderström, S., Henriksson, B. G. & Mohammed, A. H.** 1997. Effects of neonatal stimula-

tion on later cognitive function and hippocampal nerve growth factor. *Behavioural Brain Research* 86 : 113-120.

**Pike, T. W.** 2011. Egg recognition in Japanese quail. *Avian Biology Research* 4 : 231-236.

**Pilz, K.M., Smith, H.G., Sandell, M.I. & 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.

**Pilz, K.M. & Smith, H.G.** 2004. Egg yolk androgen levels increase with breeding density in the European Starling, *Sturnus vulgaris*. Functional Ecology 18 : 58-66.

**Pittet, F.** 2012. Comportement maternel chez la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*) : caractérisation, facteurs de variation et conséquences sur les jeunes. Thèse, Université de Rennes 1, France.

**Pittet, F., Coignard, M., Houdelier, C., Richard-Yris, M. A., & Lumineau, S.** 2012. Age affects the expression of maternal care and subsequent behavioural development of offspring in a precocial bird. PLoS ONE 7 : e36835.

**Pittet, F., Coignard, M., Houdelier, C., Richard-Yris, M. A., & Lumineau, S.** 2013a. Effects of maternal experience on fearfulness and maternal behaviour in a precocial bird. *Animal Behaviour* 85 : 797-805.

**Pittet, F., Le Bot, O., Houdelier, C., Richard-Yris, M. A., & Lumineau, S.** 2013b. Motherless quail mothers display impaired maternal behavior and produce more fearful and less socially motivated offspring. *Developmental Psychobiology* 56 : 622-634.

**Pittet, F., Houdelier, C., de Margerie, E., Le Bot, O., Richard-Yris, M. A., & Lumineau, S.** 2014a. Maternal styles in a precocial bird. *Animal Behaviour* 87 : 31-37.

**Pittet, F., Houdelier, C., Le Bot, O., Leterrier, C., & Lumineau, S.** 2014b. Fearfulness Affects Quail Maternal Care and Subsequent Offspring Development. PLoS ONE 9 : e102800.

**Pittet, F., Houdelier, C. & Lumineau, S.** 2014c. Precocial bird mothers shape sex differences in the behavior of their chicks. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* 321 : 265-275.

**Plusquellec, P., Muckle, G., Dewailly, E., Ayotte, P., Bégin, G., Desrosiers, C., Després, C., Saint-Amour, D. & Poitras, K.** 2010. The relation of environmental contaminants exposure to behavioral indicators in Inuit preschoolers in Arctic Quebec. *NeuroToxicology* 31 : 17-25.

**Podulka, S., Eckhardt, M. & Otis, D.** 2001. Birds and Human : a Historical Perspective. Dans : Handbook of Bird Biology. Editeurs : Podulka, S., Rohrbaugh, R. Jr., & Bonney, R. The Cornell Lab of Ornithology. Ithaca, New-York.

**Porter, T.E., Hargis, B.M., Silsby, J.L. & El Halawani, M.E.** 1989. Differential steroid production between theca interna and theca externa cells: A three cell model for follicular steroidogenesis in avian species. *Endocrinology* 125 : 109-116.

**Potash, L. M.** 1975. An experimental analysis of the use of location calls by Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Behaviour* 54 : 153-179.

**Pratt, B. L., & Goldman, B. D.** 1986. Maternal influence on activity rhythms and reproductive development in Djungarian hamster pups. *Biology of Reproduction* 34 : 655-663.

**Provençal, N., Suderman, M. J., Guillemin, C., Massart, R., Ruggiero, A., Wang, D., Benett, A. J., Pierre, P. J., Friedman, D. P., Cote, S. M., Hallett, M., Tremblay, R. E., Suomi, S. J. & Szyf, M.** 2012. The signature of maternal rearing in the methylome in rhesus macaque prefrontal cortex and T cells. *Journal of Neuroscience* 32 : 15626-15642.

**Pryce, C. R., Bettschen, D., Bahr, N. I. & Feldon, J.** 2001. Comparison of the effects of infant handling, isolation, and nonhandling on acoustic startle, pre-pulse inhibition, locomotion, and HPA activity in the adult rat. *Behavioral Neuroscience* 115 : 71.

**Quillfeldt, P., Poisbleau, M., Parenteau, C., Trouvé, C., Demongin, L., Van Noordwijk, H. J. & Möstl, E.** 2011. Measuring corticosterone in seabird egg yolk and the presence of high yolk gestagen concentrations. *General & Comparative Endocrinology* : 173 : 11-14.

**Réale, D., Reader, S. M., Sol, D., McDougall, P. T. & Dingemanse, N. J.** 2007. Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews* 82 : 291–318.

**Reed, W. & Vleck, C.** 2001. Functional significance of variation in egg-yolk androgens in the American coot. *Oecologia* 128 : 164-171.

**Regolin, L., Vallortigara, G. & Zanforlin, M.** 1995. Object and spatial representations in detour problems by chicks. Animal Behaviour 49 : 195-199.

**Rendell, L., & Whitehead, H.** 2001. Culture in whales and dolphins. *Behavioral & Brain Sciences* 24 : 309-324.

**Reppert, S. M. & Schwartz, W. J.** 1983. Maternal coordination of the fetal biological clock in utero. *Science* 220 : 969-971.

**Rettenbacher, S., Möstl, E. & Groothuis, T.G.G.** 2009. Gestagens and glucocorticoids in chicken eggs. *General & Comparative Endocrinology* 164 : 125-129.

**Richards, E.** 2006. Inherited epigenetic variation: revisiting soft inheritance. *Nature Reviews Genetics* 7 : 395-401

**Richard-Yris, M. A.** 1987. Etude expérimentale des facteurs de régulation du comportement maternel chez la poule domestique. Thèse de doctorat d'état, Université de Rennes I.

**Riedstra, B. & Groothuis, T.G.G.** 2004. Prenatal light exposure affects early feather-pecking behaviour in the domestic chick. *Animal Behaviour* 67 : 1037-1042.

**Ringgenberg, N., Bergeron, R., Meunier-Salaün, M. C., & Devillers, N.** 2012. Impact of social stress during gestation and environmental enrichment during lactation on the maternal behavior of sows. *Applied Animal Behaviour Science* 136 : 126-135.

**Rivier, C. & Rivest, S.** 1991 Effect of stress on the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. *Biol. Reprod.* 45 : 523-532.

**Rodricks, C.L., Rose, I.A., Camm, E.J., Jenkin, G., Miller, S.L. & Gibbs, M.E.** 2004. The effect of prenatal hypoxia and malnutrition on memory consolidation in the chick. *Developmental Brain Research* 148 : 113–119.

**Roque, S., Mesquita, A. R., Palha, J. A., Sousa, N., & Correia-Neves, M.** 2014. The behavioral and immunological impact of maternal separation: a matter of timing. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 8.

**Rosenblatt, J. S., Mayer, A. D. & Siegel, H. I**. 1985. Maternal behavior among the nonprimate mammals. Dans : *Reproduction* pp. 229-298. Editeurs : Adler ; N. Pfaff, D. & Goy, R. W. Springer US.

**Rubolini, D., Romano, M., Boncoraglio, G., Ferrari, R. P., Martinelli, R., Galeotti, P., Fasola, M., & Saino, N.** 2005. Effects of elevated egg corticosterone levels on behavior, growth, and immunity of yellow-legged gull (*Larus michahellis*) chicks. *Hormones & Behavior* 47 : 592-605.

**Rutherford, K. M., Robson, S. K., Donald, R. D., Jarvis, S., Sandercock, D. A., Scott, E. M., Nolan, A. M. & Lawrence, A. B.** 2009. Pre-natal stress amplifies the immediate behavioural responses to acute pain in piglets. *Biology letters* 5 : 452-454.

**Saino, N., Dall'ara, P., Martinelli, R. & Moller, A.P.** 2002. Early maternal effects and antibacterial immune factors in the eggs, nestlings and adults of the barn swallow. *Journal of Evolutionary Biology* 15 : 735-743.

**Saino, N., Romano, M., Ferrari, R. P., Martinelli, R., & Møller, A. P.** 2005. Stressed mothers lay eggs with high corticosterone levels which produce low‐quality offspring. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology* 303 : 998-1006.

**Saito, N. & Grossmann, R.** 1999. Gene Expression of Arginine Vasotocin in Ovarian and Uterine Tissues of the Chicken. *Asian Austral. J. Anim. Sci.* 12 : 695-701.

**Salaün, C., Le Roux, N., Vieuille, C., Meunier-Salaün, M., & Ramonet, Y.** 2004. Effet du mode de logement et du niveau de liberté de la truie allaitante sur son comportement, celui de ses porcelets et conséquences au niveau zootechnique. *Journées de la Recherche Porcine en France* 36 : 371.

**Sasaki, T., Shimada, K., & Saito, N.** 1998. Changes of AVT levels in plasma, neurohypophysis and hypothalamus in relation to oviposition in the laying hen. *Comparative Biochemistry & Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 121 : 149-153.

**Sauveur, B.** 1988. Reproduction des volailles et production d'œufs. INRA, Paris.

**Sauveur, B. & Picard, M.** 1987. Environmental effects on egg quality. Dans : *Egg Quality: Current Problems and Recent Advances*. Editeurs : Wells, R.G., Belyavin C.G. pp. 219-234. Butterworth, London.

**Schaal, B., & Orgeur, P.** 1992. Olfaction in utero: can the rodent model be generalized? *Quarterly Journal of Experimental Psychology: Section B* 44 : 245-278.

**Schaal, B., Orgeur, P. & Arnould, C.** 1995. Olfactory preferences in newborn lambs : possible influence of prenatal experience. *Behaviour* 132 : 351-365.

**Schaal, B., Coureaud, G., Marlier, L., & Soussignan, R.** 2001. Fetal olfactory cognition preadapts neonatal behavior in mammals. Dans : *Chemical Signals in Vertebrates 9* 197-204. Springer US.

**Scherer, K. R.** 1999. On the sequential nature of appraisal processes: Indirect evidence from a recognition task. *Cognition & Emotion* 13 : 763-793.

**Schino, G., Speranza, L., & Troisi, A.** 2001. Early maternal rejection and later social anxiety in juvenile and adult Japanese macaques. *Developmental Psychobiology* 38 : 186-190.

**Schulz, K. M., Pearson, J. N., Neeley, E. W., Berger, R., Leonard, S., Adams, C. E. & Stevens, K. E.** 2011. Maternal stress during pregnancy causes sex-specific alterations in offspring memory performance, social interactions, indices of anxiety, and body mass. *Physiology & behavior*, 104 : 340-347.

**Schwabl, H.** 1996. Environment modifies the testosterone levels of a female bird and its eggs. *Journal of Experimental Zoology* 276 : 157-163.

**Schwabl, H.** 1997. The contents of maternal testosterone in house sparrow Passer domesticus eggs vary with breeding conditions. *Naturwissenschaften* 84 : 406-408.

**Schwartz, C. W. & Schwartz, E. R.** 1949. A reconnaissance of the game birds in Hawaii. Hawaii Board of Commissioners of Agriculture and Forestry, Hilo, Hawaii.

**Schweitzer, C., Schwabl, H., Baran, N. M., & Adkins-Regan, E.** 2014. Pair disruption in female zebra finches: consequences for offspring phenotype and sensitivity to a social stressor. *Animal Behaviour* 90 : 195-204.

**Sealy, S. G., Neudorf, D. L. & Hill, D. P.** 1995. Rapid laying by Brown-headed Cowbirds *Molothrus ater* and other parasitic birds. *Ibis* 137 : 76-84.

**Sharp, P. J.** 1983. Hypothamamic control of gonadotrophin secretion in birds. Dans : *Progress in non-mammalian brain research* 123-164. Editeur : Nistico.

**Sharp, H., Pickles, A., Meaney, M., Marshall, K., Tibu, F. & Hill, J.** 2012. Frequency of infant stroking reported by mothers moderates the effect of prenatal depression on infant behavioural and physiological outcomes. *PLoS ONE* 7 : e45446.

**Shettleworth, S. J.** 2001. Animal cognition and animal behaviour. *Animal Behaviour* 61 : 277-286.

**Shinder, D., Rusal, M., Giloh, M. & Yahav, S.** 2009. Effect of repetitive acute cold exposures during the last phase of broiler embryogenesis on cold resistance through the life span. *Poultry Science* 88 : 636-646.

**Siegel, P.B., Blair, M., Gross, W.B., Meldrum, B., Larsen, C., Boa-Amponsem, K. & Emmerson, D.A.** 2006. Poult performance as influenced by age of dam, genetic line, and dietary vitamin E. *Poultry Science* 85 : 939-942.

**Skutch, A. F.** 1952. On the hour of laying and hatching of birds' eggs. *Ibis* 94 : 49-61.

**Smith, C. A., Andrews, J. E. & Sinclair, A. H.** 1997. Gonadal sex differentiation in chicken embryos: expression of estrogen receptor and aromatase genes. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 60 : 295-302.

**Sneddon, H., Hadden, R. & Hepper, P.G.** 1998. Chemosensory Learning in the Chicken Embryo. *Physiology & Behavior* 64, 133-139.

**Sockman, K.W. & Schwabl, H.** 2000. Yolk androgens reduce offspring survival. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 267 : 1451-1456.

**Spoon, T. R., Millam, J. R. & Owings, D. H.** 2006. The importance of mate behavioural compatibility in parenting and reproductive success by cockatiels, *Nymphicus hollandicus*. *Animal Behaviour* 71 : 315-326.

**Srivastava, R., Cornett, L. E., & Chaturvedi, C. M.** 2007. Effect of photoperiod and estrogen on expression of arginine vasotocin and its oxytocic-like receptor in the shell gland of the Japanese quail. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 148 : 451-457.

**Stevens, V. C.** 1961. Experimental study of nesting by coturnix quail. *Journal of Wildlife Management* 25 : 99-101.

**Stratton, K.R., Howe, C.J. & Battaglia, F.C.** 1996. Fetal alcohol syndrome: Diagnosis, epidemiology, prevention, and treatment. National Academies Press.

**Stroud, L.R., Paster, R.L., Papandonatos, G.D., Niaura, R., Salisbury, A.L., Battle, C., Lagasse, L.L. & Lester, B.** 2009. Maternal smoking during pregnancy and newborn neurobehavior: effects at 10 to 27 days. *Journal of Pediatrics* 154 : 10-16.

**Taka-Tsukasa, N.** 1935. *Coturnix coturnix japonica* Temminck & Shlegel. Dans : *The birds of Nippon, Vol. 1*. Editeurs : Witherby, H. F. & Witherby, G. N., pp. 177-207. London.

**Tanabe, Y., & Nakamura, T.** 1980. Endocrine mechanism of ovulation in chickens (*Gallus domesticus*), quail (*Coturnix coturnix japonica*) and ducks (*Anas platyrhynchos domestica*). Dans : *Biological rhythms in birds: neural and endocrine aspects* 179-188. Editeurs : Tanabe, Y., Tanaka, K. & Ookawa, T. Springer-Verlag, New-York.

**Tanaka, I.** 1989. Variability in the development of mother-infant relationships among free-ranging Japanese macaques. *Primates* 30 : 477-491.

**Tanvez, A., Parisot, M., Chastel, O. & Leboucher, G.** 2009. Does maternal social hierarchy affect yolk testosterone deposition in domesticated canaries? *Animal Behaviour* 75 : 929-934.

**Terranova, M., & Laviola, G.** 1995. Individual differences in mouse behavioural development: effects of precocious weaning and ongomg sexual segregation. *Animal Behaviour* 50 : 1261-1271.

**Thayananuphat, A., Youngren, O. M., Kang, S. W., Bakken, T., Kosonsiriluk, S., Chaiseha, Y. & El Halawani, M. E.** 2011 Dopamine and mesotocin neurotransmission during the transition from incubation to brooding in the turkey. *Hormones & Behavior* 60 : 327-335.

**Thornhill, R.** 1989. Nest defense by red jungle fowl (*Gallus gallus spadiceus*) hens: the roles of renesting potential, parental experience and brood reproductive value. *Ethology* 83 : 31-42.

**Tourgueniev, I.** 1883. La caille. Dans : *Souvenirs d'Enfance.* Editeurs : Hetzel, J. & Cie., Paris, France.

**Van den Bergh, B. R. H., Mulder, E. J. H., Visser, G. H. A., Poelmann-Weesjes, G., Bekedam, D. J. & Prechtl, H. F. R.** 1989. The effect of (induced) maternal emotions on fetal behaviour: a controlled study. *Early human development* **19,**9-19.

**Van den Bergh, B. R., Van Calster, B., Smits, T., Van Huffel, S., & Lagae, L.** 2007. Antenatal maternal anxiety is related to HPA-axis dysregulation and self-reported depressive symptoms in adolescence: a prospective study on the fetal origins of depressed mood. *Neuropsychopharmacology* 33 : 536-545.

**Van den Hove, D. L. A., Steinbusch, H. W. M., Scheepens, A., Van de Berg, W. D. J., Kooiman, L. A. M., Boosten, B. J. G., Prickaerts, J. & Blanco, C. E.** 2006. Prenatal stress and neonatal rat brain development. *Neuroscience* 137 : 145-155.

**Vialar, P.** 1945. La caille. Editeur : Denoël, R. Paris, France.

**Vieira, S.L. & Moran Jr, E.T.** 1998. Eggs and chicks from broiler breeders of extremely different age. *Journal of Applied Poultry Research* 7 : 372-376.

**Viswanathan, N., & Chandrashekaran, M. K.** 1985. Cycles of presence and absence of mother mouse

entrain the circadian clock of pups. *Nature* 317 : 530-531.

**von Engelhardt, N., Carere, C., Dijkstra, C. & Groothuis, T. G.** 2006. Sex-specific effects of yolk testosterone on survival, begging and growth of zebra finches. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 273 : 65-70.

**von Engelhardt, N., Henriksen, R. & Groothuis, T. G.** 2009. Steroids in chicken egg yolk: metabolism and uptake during early embryonic development. *General and comparative endocrinology* 163 : 175-183.

**von Engelhardt, N., & Groothuis, T. G. G.** 2011. Maternal hormones in avian eggs. *Hormones and reproduction of vertebrates*, *4*.

**Walsh, R.N. & Cummins, R.A.** 1976. The open-field test: A critical review. *Psychological Bulletin* 83 : 482-504.

**Wauters, A. M.** 1999. Le cri d'offrande alimentaire chez la Poule domestique: déterminismes et fonctions. Thèse de doctorat de l'université de Rennes 1.

**Wauters, A. M. & Richard-Yris, M. A.** 2002. Mutual influence of the maternal hen's food calling and feeding behavior on the behavior of her chicks. *Developmental psychobiology* 41 : 25-36.

**Wauters, A. M., Perré, Y., Bizeray, D., Leterrier, C., & Richard-Yris, M. A.** 2002. Mothering influences the distribution of activity in young domestic chicks. *Chronobiology International* 19 : 543-559.

**Weaver, I. C., Champagne, F. A., Brown, S. E., Dymov, S., Sharma, S., Meaney, M. J., & Szyf, M.** 2005. Reversal of maternal programming of stress responses in adult offspring through methyl supplementation: altering epigenetic marking later in life. *The Journal of Neuroscience* 25 : 11045-11054.

**Weeks, C. A.** 2001. Development of a newmethod for quantitatively assessing lameness in broilers. *British Poultry Science* 42 : 79-80.

**Weeks, C. A., Knowles, T. G., Gordon, R. G., Kerr, A. E., Peyton, S. T., et al.** 2002. New method for objectively assessing lameness in broiler chickens. *Veterinary Record* 151 : 762-764.

**Wei, Y., Yang, C. R., Wei, Y. P., Zhao, Z. A., Hou, Y., Schatten, H. & Sun, Q. Y.** 2014. Paternally induced transgenerational inheritance of susceptibility to diabetes in mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111 : 1873-1878.

**Weiner, I., Schnabel, I., Lubow, R. E. & Feldon, J.** 1985. The effects of early handling on latent inhibition in male and female rats. *Developmental Psychobiology* 18 : 291-297.

**Weinstock, M.** 1997. Does Prenatal Stress Impair Coping and Regulation of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 21 : 1-10.

**Weinstock, M.** 2005. The potential influence of maternal stress hormones on development and mental health of the offspring. *Brain, behavior, and immunity* 19 : 296-308.

**Weinstock, M.** 2008. The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 32 : 1073-1086.

**Welberg, L.A. & Seckl, J.R.** 2001. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain. *Journal of Neuroendocrinology* 13 : 113-128.

***Wetmore, A.*** *1952. A revised classification of the birds of the world. Smithsonian Misc. Collect. 117 : 1-22.*

**Wewers, D., Kaiser, S. & Sachser, N.** 2005. Application of an antiandrogen during pregnancy infantilizes the male offsprings' behaviour. *Behavioural Brain Research* 158 : 89-95.

**Whittingham, L.A. & Schwabl, H.** 2002. Maternal testosterone in tree swallow eggs varies with female aggression. *Animal Behaviour* 63 : 63-67.

**Williams, J.B. & Sharp, P.J.** 1978. Age-dependent changes in the hypothalamo-pituitary-ovarian axis of the laying hen. *J. Reprod. Fertil.* 53 : 141-146.

**Wilson, H.R.** 1991. Interrelationship of egg size, chick size, posthatching growth and hatchability. *World Poultry Science Journal* 47 : 5-20.

**Wilson, C.M. & McNabb, F.M.A.** 1997. Maternal thyroid hormones in Japanese quail eggs and their

influence on embryonic development. *General and Comparative Endocrinology,* 107 : 153-165.

**Wingfield, J. C.** 2005. Historical contributions of research on birds to behavioral neuroendocrinology. *Hormones & behavior* 48 : 395-402.

**Winkler, D. W.** 2001. Nests, Eggs, and Young : Breeding Biology of Birds. Dans : Handbook of Bird Biology. Editeurs : Podulka, S., Rohrbaugh, R. Jr., & Bonney, R. The Cornell Lab of Ornithology. Ithaca, New-York.

**Wolstenholme, J. T., Edwards, M., Shetty, S. R., Gatewood, J. D., Taylor, J. A., Rissman, E. F. & Connelly, J. J.** 2012. Gestational exposure to bisphenol a produces transgenerational changes in behaviors and gene expression. *Endocrinology* 153 : 3828-3838.

**Woodard, A. E. & Mather, F. B.** 1964. The timing of ovulation, movement of the ova through the oviduct, pigmentation and shell deposition in Japanese quail. *Poultry Sciense* 43 : 1427-1432.

**Woodard, A. E., Abplanalp, H., Wilson, W. O. & Vohra, P.** 1973. Japanese Quail Husbandry in the Laboratory (*Coturnix coturnix japonica*). Marsh Far Publications, Garden Grove, California, USA.

**Woods, J. E. & Weeks, R. L.** 1969. Ontogenesis of the pituitary-gonadal axis in the chick embryo. *General and comparative endocrinology* 13 : 242-254.

**Wright, J., & Cuthill, I.** 1990. Biparental care: short-term manipulation of partner contribution and brood size in the starling, *Sturnus vulgaris*. *Behavioral Ecology* 1 : 116-124.

**Yamashima, Y.** 1961. Quail breeding in Japan. *Journal of Bombay natural history society* 58 : 216-222.

**Yang, J., Hou, C., Ma, N., Liu, J., Zhang, Y., Zhou, J., Xu, L. & Li, L.** 2007. Enriched environment treatment restores impaired hippocampal synaptic plasticity and cognitive deficits induced by prenatal chronic stress. *Neurobiology of Learning and Memory* 87 : 257-263.

**Yokota, S., Moriya, N., Iwata, M., Umezawa, M., Oshio, S., & Takeda, K**. 2013. Exposure to diesel exhaust during fetal period affects behavior and neurotransmitters in male offspring mice. *Journal of Toxicological Siences* 38 : 13-23.

**Young, T. K., Martens, P. J., Taback, S. P., Sellers, E. A., Dean, H. J., Cheang, M., & Flett, B.** 2002. Type 2 diabetes mellitus in children: prenatal and early infancy risk factors among native Canadians. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine* 156 : 651-655.

**Zagron, G. & Weinstock, M.** 2006. Maternal adrenal hormone secretion mediates behavioural alterations induced by prenatal stress in male and female rats. *Behavioural Brain Research* 175 : 323-328.

**Zimmer, C., Boogert, N. J. & Spencer, K. A.** 2013. Developmental programming: Cumulative effects of increased pre-hatching corticosterone levels and post-hatching unpredictable food availability on physiology and behaviour in adulthood. *Hormones & Behavior* 64 : 494-500.

**Zucca, P., Antonelli, F. & Vallortigara, G.** 2005. Detour behaviour in three species of birds: quails (*Coturnix sp.*), herring gulls (*Larus cachinnans*) and canaries (*Serinus canaria*). Animal cognition 8 : 122-128.

# Annexe 1 | Influence prénatale du rang hiérarchique maternel

# I. INTRODUCTION

Une hiérarchie de dominance entre les individus d'un même groupe de vie apparait chez de nombreuses espèces animales. Des travaux chez les mammifères montrent que le comportement maternel peut être influencé par le rang hiérarchique de la femelle (cheval *Equus caballus* : Heitor & Vicente 2008 ; primates non humains : Fairbanks 1996), ce qui peut avoir des conséquences sur le développement comportemental des jeunes (Fairbanks 1996). Une étude chez la poule rapporte également une influence du rang hiérarchique de la femelle sur l'apparition du comportement maternel : les poules dominantes présentent des réponses maternelles plus rapidement que les poules subordonnées (Richard-Yris 1987). Chez les oiseaux, l'état endocrinien des femelles varie avec leur rang dans la hiérarchie (Allee et al. 1939), et cela semble influencer les concentrations hormonales de leurs œufs (Müller et al. 2002, Tanvez et al. 2009). Par exemple, plus les femelles canari sont dominantes, plus la concentration de testostérone dans leurs œufs est importante (Tanvez et al. 2009). Il semble qu'il puisse donc y avoir une influence maternelle prénatale liée à ce rang hiérarchique. Nous avons voulu savoir quelles sont les conséquences du rang hiérarchique maternel sur le développement des jeunes produits par ces femelles chez une espèce d'oiseau nidifuge hautement sociale : la poule domestique. Cette espèce s'organise en groupes sociaux, les mâles étant au sommet de la hiérarchie, suivis par les femelles selon une hiérarchie la plupart du temps linéaire. Nous nous sommes demandé si le rang hiérarchique de la mère pouvait agir comme influence prénatale pour les descendants, et pour cela nous avons analysé la croissance et les caractéristiques comportementales de poussins **non maternés** issus d'œufs pondus par des femelles de différents rangs hiérarchiques.

Nous avons étudié la réactivité émotionnelle et la motivation sociale des poussins à l'aide des tests comportementaux décrits dans le chapitre *Méthodologie Générale* pour la caille japonaise (voir chapitre 2-III page 64), mais nous avons également abordé d'autres caractéristiques comportementales. Ainsi, pour tester la **prise de risque** des animaux, nous avons construit un dispositif adapté de Dixon et ses collaborateurs (2014), le test de barrière d'eau. De plus, en relation avec la problématique de l'étude, nous avons mesuré la **propen-**

**sion des poussins à être dominant ou dominé**, grâce à des rencontres entre deux poussins non familiers, dans un contexte de compétition alimentaire.

Malgré des résultats prometteurs, cette étude n'a pas été intégrée au reste du manuscrit car elle nécessite d'être réitérée pour augmenter l'effectif des poussins. Néanmoins, nous avons choisi de la présenter en annexe : une synthèse permet d'abord d'avoir une vision globale de l'expérimentation, puis les dispositifs de tests particuliers à cette étude ainsi que les différents résultats obtenus sont présentés.

# II. SYNTHESE DE L'EXPERIMENTATION

***OBJECTIFS***

Nous avons observé l'ordre des **relations hiérarchiques** entre les poules au sein de 6 groupes composés de 3 poules et 1 coq. Nous avons ensuite mesuré :

❶ Les caractéristiques comportementales des femelles en fonction de leur rang hiérarchique : réactivité émotionnelle intrinsèque (i.e. immobilité tonique) et en groupe (i.e. réaction à un objet nouveau et à un homme non familier)

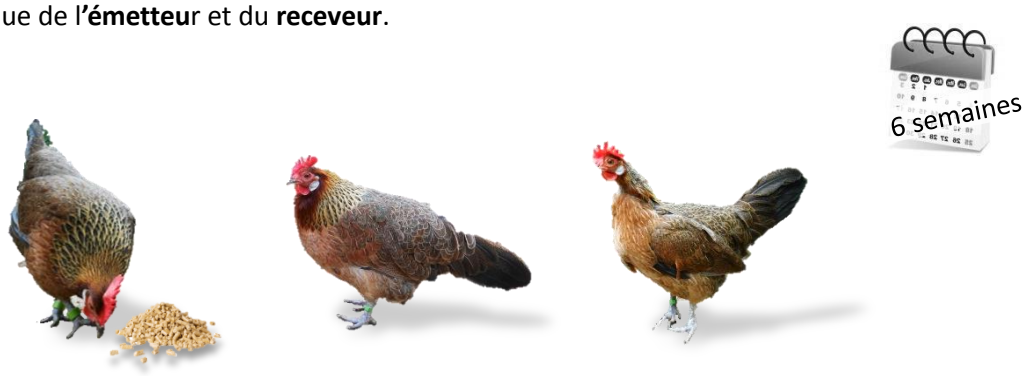
❷ Les conséquences en termes de productivité et les proportions des constituants des œufs

❸ L'influence de cette caractéristique maternelle sur la croissance des jeunes, ainsi que leurs caractéristiques comportementales : réactivité émotionnelle face à la nouveauté et à la séparation sociale, motivation sociale, prise de risque et capacités compétitives.

***MÉTHODE***

*PARENTS*

- Formation de groupes de poules du même âge, de poids similaire et non familières
- Caractérisation du rang hiérarchique en contexte de **compétition alimentaire** : relevé de la fréquence des **comportements agonistiques** (d'agression et d'évitement) ainsi que de l'**émetteur** et du **receveur**.




dominante (**D**$^{+}$) > intermédiaire (**INT**) > dominée (**D**$^{-}$)

*ŒUFS*

- Récolte des œufs chaque jour pendant 2 semaines, pesée et mesure des proportions des constituants (vitellus, albumen, coquille).

*JEUNES*

- Elevage en groupes de 5 à 7 jeunes **non maternés**, séparés par lot : un groupe de jeunes **D**$^{+}$ (N = 5), trois groupes de jeunes **INT** (N = 18) et trois groupes de jeunes **D**$^{-}$ (N = 20).

***RESULTATS***

❶ Le rang hiérarchique a une influence sur les caractéristiques émotionnelles des femelles qui diffère selon le test : les $D^+$ présentent **une émotivité intrinsèque supérieure** mais **s'approchent en premier** d'un objet inconnu ou d'un homme non familier en situation de groupe.

❷ Les femelles $D^+$ avaient **des taux de ponte et de fécondation moindres**, mais leurs œufs ne présentaient **pas de différence de poids ou de proportion des constituants** en comparaison avec les œufs des INT et des $D^-$.

❸ Les poussins des trois lots **montrent une différence de croissance** : les poussins $D^+$ sont les plus lourds, puis viennent les poussins $D^-$, et enfin les poussins INT.

Alors qu'il est difficile de conclure sur les différences de réactivité émotionnelle des poussins des trois lots, il apparaît clairement **une différence dans leur comportement social** : après une séparation sociale, les poussins issus d'une femelle dominée ne sont pas apaisés par la présence d'un congénère non familier, contrairement aux poussins issus d'une femelle dominante. De plus, les poussins du lot $D^+$ **semblent plus à même de dominer un congénère**, et montrent **une plus grande prise de risque**.

---

***CONCLUSION***

- Nos résultats montrent que le rang hiérarchique maternel agit **comme une influence maternelle prénatale** sur la croissance et le développement comportemental des jeunes.
- Le test de barrière d'eau et les rencontres deux-à-deux en situation de compétition alimentaire semblent montrer que plus la mère a un rang hiérarchique élevé, plus les poussins montrent une prise de risque élevée et dominent des congénères inconnus, ce qui suggère **une transmission prénatale du rang hiérarchique**.
- Néanmoins, pour confirmer ces hypothèses, des études complémentaires sont nécessaires :

  1/ pour **augmenter l'effectif** des individus et appréhender l'effet « sexe du jeune »

  2/ pour **améliorer nos mesures**, notamment concernant la prise de risque des jeunes

- Dans le cadre des **interactions entre les influences maternelles prénatales et postnatales**, il serait intéressant, si nos résultats étaient confirmés, de procéder à des **adoptions croisées** (par exemple faire élever des jeunes issus d'œufs pondus par une femelle dominante par une mère adoptive dominée) pour observer le phénotype qui en résulte.

# III. PRESENTATION DES DISPOSITIFS COMPORTEMENTAUX PARTICULIERS

## A. Test de la barrière d'eau

Ce dispositif de test, inspiré d'une étude réalisée sur la poule domestique (Dixon et al. 2014), permet de mesurer la prise de risque des animaux. En effet, cette espèce présente une certaine aversion pour marcher dans de l'eau (Cooper & Appleby 1995, Weeks 2001, Weeks et al. 2002). Notre dispositif est composé d'un couloir de 2 m de long et de 45 cm de large, divisé en trois zones : une zone de départ, une dépression, et une zone d'arrivé (figure 28). La dépression est constituée de deux rampes d'accès (30 cm de long et une pente de 15°) entre lesquelles se situe une surface plane. Un plafond grillagé (30 cm de hauteur), épousant la forme de la dépression, a été installé pour éviter que les animaux ne puissent sauter par-dessus la dépression pour la traverser.

Nous avons créé un protocole de test en trois étapes, toujours inspiré de l'étude de Dixon et ses collaborateurs (2014), décrit dans le tableau 4. La première phase consiste à habituer les animaux au dispositif en groupe de trois à cinq individus, lors de quatre séances de vingt minutes. Puis les animaux sont placés seuls dans le dispositif pendant trois séances de dix minutes maximum lors de la seconde phase. Durant ces sept premières séances, le dispositif est vide (sans eau ni récompense alimentaire) uniquement lors de la première séance, puis pour toutes les séances suivantes nous remplissons légèrement la dépression avec de l'eau (i.e. cinq mm) de façon à recouvrir tout juste les phalanges des oiseaux, l'eau étant à température ambiante (i.e. 24°C) ; et nous plaçons une récompense alimentaire dans la zone d'arrivée (i.e. des vers de farine), de façon à ce que les oiseaux, motivés par une légère privation alimentaire (i.e. deux heures), traversent la dépression et s'habituent au contact de l'eau. Lors de la première phase, les groupes d'oiseaux qui traversent la dépression avant la fin des vingt minutes sont laissés libres d'explorer le dispositif jusqu'à la fin du temps imparti. En revanche, lors de la seconde phase, le test est terminé lorsque l'oiseau testé parvient à traverser la dépression et consomme la récompense alimentaire. La troisième phase consiste à tester la prise de risque des animaux, dans les mêmes conditions de privation

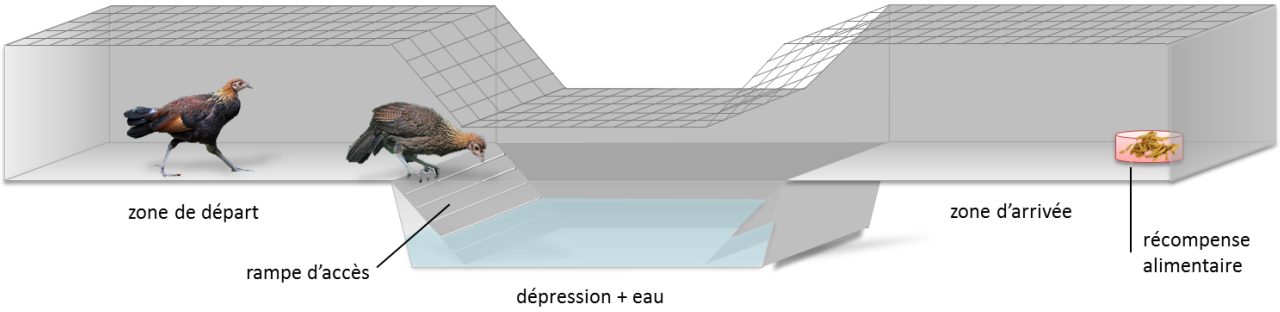



***Figure 28.*** *Représentation schématique du dispositif de test de barrière d'eau.*

alimentaire. Pour cela, lors d'un premier test de dix minutes maximum, chaque oiseau doit, pour rejoindre la zone d'arrivée et la récompense alimentaire, traverser la dépression qui contient une hauteur d'eau égale à un tiers de la hauteur des pattes. Dans notre cas, les trois lots d'animaux testés différaient sur leur croissance somatique. Nous avons donc mesuré la longueur moyenne des pattes (du pied jusqu'en haut de la cuisse) pour chaque lot de poussin, puis calculé le tiers de cette longueur pour chaque lot. Lors du test, nous notons la latence de contact avec l'eau, la latence de traversée et le temps de traversée, puis la latence à atteindre la récompense alimentaire. Lorsqu'un poussin n'a pas traversé la barrière d'eau au bout des dix minutes, le score maximum de 600 secondes lui est alors attribué. Un second test a été réalisé le lendemain, la hauteur d'eau étant augmentée à deux tiers de la hauteur des pattes.

***Tableau 4.*** *Protocole du test de barrière d'eau, adapté de Dixon et al. (2014).*

| | | | **Dispositif** | |
|---|---|---|---|---|
| **Etape** | **Durée** | **Séance** | **Eau** | **Récompense alimentaire** |
| Habituation en groupe | 20' | 1 | Non | Non |
| | | 2 | Oui (5 mm) | Oui |
| | | 3 | Oui (5 mm) | Oui |
| | | 4 | Oui (5 mm) | Oui |
| Habituation seul | 10' max | 1 | Oui (5 mm) | Oui |
| | | 2 | Oui (5 mm) | Oui |
| | | 3 | Oui (5 mm) | Oui |
| Test | 10' max | 1 | Oui (**1/3** de la longueur moyenne des pattes) | Oui |
| | | 2 | Oui (**2/3** de la longueur moyenne des pattes) | Oui |

## B. Rencontres avec un congénère non familier

Chaque juvénile rencontre un congénère non familier du même sexe dans un box (200 cm x 200 cm) au centre duquel nous plaçons une mangeoire remplie des granulés connus des animaux (figure 29). Chacun des deux protagonistes est placé dans le noir à un coin opposé du box, à distance égale de la mangeoire, puis la lumière est allumée et l'observateur note pendant dix minutes tous les comportements agonistiques, en précisant l'émetteur et le receveur : menaces (mouvement de tête vers le congénère), coups de bec, attaques (saut pattes en avant), poursuites, évitements (mouvement de la tête en réponse ou non à une menace), éloignements (même réponse mais avec en marchant), fuites (même réponse, en courant), soumissions (aplatissement au pied du congénère). À l'issue de ces rencontres, un score de dominance a été calculé selon la formule suivante :

$$S_D = \frac{Nb\ comportements\ agonistiques\ émis}{Nb\ comportements\ agonistiques\ reçus}$$

Ainsi, l'animal est dominant si le score obtenu est supérieur à 1, et dominé si le score obtenu est inférieur à 1.

Il faut noter que le choix des duos à se rencontrer n'a pas été aléatoire. En effet, les poussins étaient élevés en petits groupes allant de quatre à sept individus, et une hiérarchie s'est formée au sein de chaque groupe. Nous avons déterminé tout d'abord cette hiérarchie au sein des box de vie, puis nous avons pesé les animaux et mesuré l'aire de leur crête,

***Figure 29.*** *Photo d'une rencontre entre deux mâles juvéniles en situation de compétition alimentaire, une mangeoire remplie de granulés se trouve au centre de la pièce.*

caractères influençant le statut hiérarchique (Cloutier et al. 1996, Cloutier & Newberry 2000). Ainsi, pour mesurer l'influence du rang hiérarchique maternel sur le caractère dominant des descendants indépendamment du rang hiérarchique du poussin dans son groupe de vie et de ses caractéristiques physiques, nous avons fait se rencontrer des poussins issus de lots différents (par exemple un poussin issu d'une mère dominante *vs.* un poussin issu d'une mère dominée), mais dont le rang hiérarchique au sein de leur groupe de vie était similaire (par exemple deux individus dominants) tout comme leurs caractéristiques physiques (même poids, même surface de crête).

# IV. PRINCIPAUX RESULTATS

## A. Caractéristiques émotionnelles des femelles adultes

Le rang hiérarchique semble avoir un effet sur la réactivité émotionnelle des femelles, mais qui diffère selon le contexte. Lors de la mesure de l'émotivité intrinsèque (i.e. test d'immobilité tonique), les femelles étant isolées de leur groupe, plus les femelles étaient dominantes plus elles ont montré une émotivité forte, c'est-à-dire une durée d'immobilité tonique longue (figure 30A). En revanche, ces femelles avaient tendance à s'approcher les premières d'un objet inconnu et d'un homme non familier lors d'un test en groupe (figure 30B), ce qui montre l'influence du rang hiérarchique comme modulateur des réponses comportementales au sein du groupe de vie.

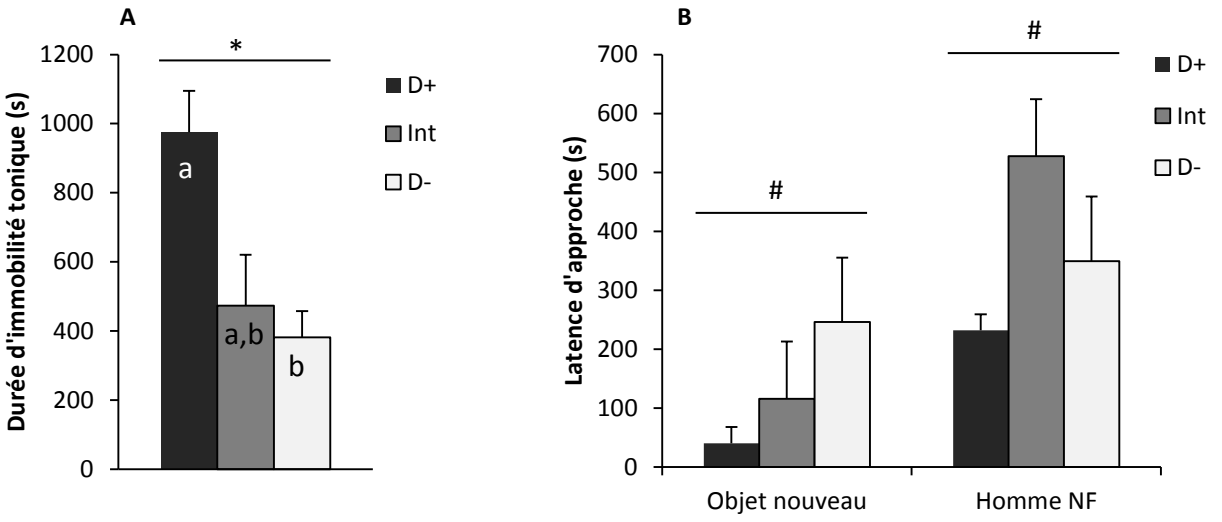



***Fig. 30.*** *Durée d'immobilité tonique (**A**) et latence d'approche d'un objet nouveau et d'un homme non familier (**B**) pour les poules dominantes (en noir), intermédiaires (en gris) et dominées (en blanc). Les moyennes sont données ± E.S. Les symboles correspondent au test de Kruskal-Wallis : # p < 0,1, * p < 0,05. Les lettres correspondent au test de Mann-Whitney, des lettres différentes indiquant une différence significative au seuil de 0,017 après correction de Bonferroni.*

## B. Productivité et caractéristiques des œufs

Le tableau 5 présente les données de productivité et de caractéristiques des œufs pondus par les femelles des trois lots. Au-delà d'une tendance concernant le nombre d'œufs pondus sur une période de récolte de 18 jours, nous n'avons pas mis en évidence d'autre différence de productivité en fonction du rang hiérarchique. Seules les femelles dominées semblent avoir une descendance au sex-ratio déséquilibré, privilégiant les mâles. Les œufs ne montraient pas de différence significative ni concernant leur poids, ni pour les proportions de coquille, de vitellus et d'albumen (p > 0,05).

***Tableau 5.*** *Données des femelles dominantes ($D^+$), intermédiaires (INT) et dominées ($D^-$) concernant leur productivité (nombre d'œufs pondus lors de 18 jours de récolte, taux de fécondation et d'éclosion), le sex-ratio des descendants et les caractéristiques des œufs. Le poids moyen correspond à un total de 132 œufs ($N_{D+}$ = 28, $N_{INT}$ = 48 et $N_{D-}$ = 56), et la proportion de coquille, de vitellus et d'albumen correspondent à 1 œuf par femelle sachant que 3 femelles dominantes n'ont jamais pondu ($N_{D+}$ = 4, $N_{INT}$ = 6 et $N_{D-}$ = 6).*

| ***Productivité*** | $m_{D+}$ ± E.S. | $m_{INT}$ ± E.S. | $m_{D-}$ ± E.S. | ***p (Test de Kruskal-Wallis)*** |
|---|---|---|---|---|
| Nombre d'œufs pondus | 5,3 ± 2,3 | 9,5 ± 0,8 | 11,3 ± 0,9 | 0,09 |
| Taux de fécondation | 66,3 ± 11,3 % | 76,9 ± 16 % | 80,32 ± 7,2 % | 0,14 |
| Taux d'éclosion | 40,5 ± 16,5 % | 46,3 ± 11,7 % | 45,9 ± 12,3 % | 0,20 |
| | | | | |
| ***Sex-ratio*** | | | | |
| Nombre ♂/♀ | 4/0 | 7/11 | 16/4 | |
| *p* (test de Khi²) | / | 0,50 | 0,07 | |
| | | | | |
| ***Caractéristiques des œufs*** | $m_{D+}$ ± E.S. | $m_{INT}$ ± E.S. | $m_{D-}$ ± E.S. | ***p (Test de Kruskal-Wallis)*** |
| Poids | 54,1 ± 1,5 | 53,6 ± 2,1 | 53,2 ± 1,5 | 0,93 |
| Proportion coquille | 9,3 ± 0,7 % | 9,4 ± 0,2 % | 10 ± 0,3 % | 0,35 |
| Proportion vitellus | 32,1 ± 0,6 % | 32,4 ± 1,2 % | 32,9 ± 0,9 % | 0,68 |
| Proportion albumen | 58,7 ± 1,3 % | 58,2 ± 1,1 % | 57 ± 0,8 % | 0,43 |

## C. Développement des jeunes

### 1. *Croissance*

Le rang hiérarchique maternel a une influence sur le développement somatique des jeunes, et ce dès l'incubation puisque les poussins du lot $D^+$ sont plus lourds à l'éclosion (figure 31), suggérant une croissance supérieure de l'embryon. Étonnamment, les animaux les moins lourds ne sont pas les poussins issus d'une mère dominée, mais les poussins du lot INT.

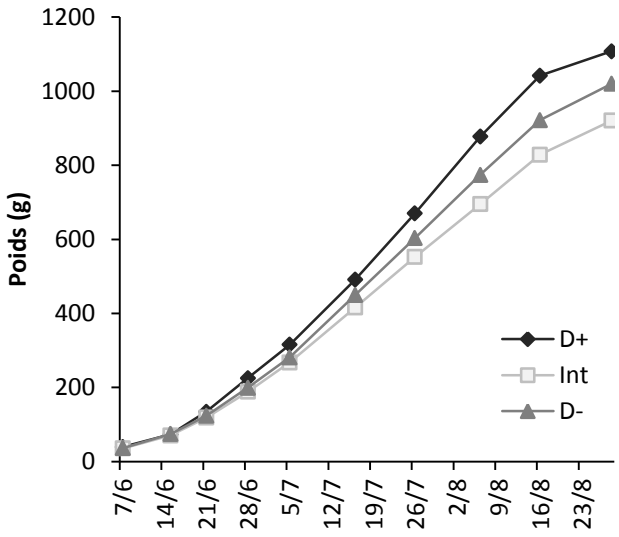



***Fig. 31.*** *Courbe de croissance des poussins des lots $D^+$ (en noir), INT (en gris) et $D^-$ (en blanc).*

## 2. Caractéristiques comportementales

**Réactivité émotionnelle.** Nos résultats révèlent une influence du rang hiérarchique maternel sur la réactivité émotionnelle intrinsèque des jeunes, les poussins $D^+$ semblant les moins émotifs, et les $D^-$ les plus émotifs (figure 32A). En revanche, les résultats concernant la réactivité émotionnelle face à la nouveauté semblent différents, aucun des poussins $D^+$ n'ayant émergé de la boîte de départ dans le délai imparti lors du test d'émergence (figure 32B).

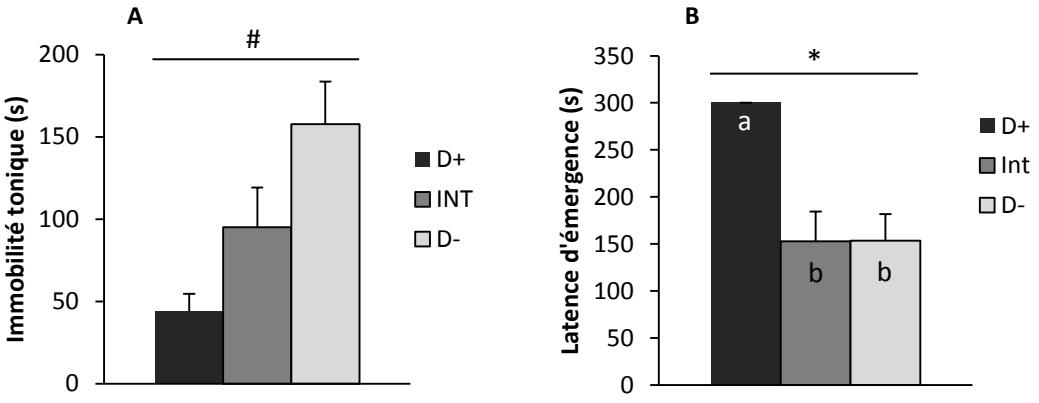



*Fig. 32. Durée d'immobilité tonique (**A**) et latence d'émergence (**B**) pour les poussins issus d'une mère dominante (en noir), intermédiaire (en gris) ou dominée (en blanc). Les moyennes sont données ± E.S. Les symboles correspondent au test de Kruskal-Wallis : # p < 0,1, * p < 0,05. Les lettres correspondent au test de Mann-Whitney, des lettres différentes indiquant une différence significative au seuil de 0,017 après correction de Bonferroni.*

Face à la **séparation sociale**, les poussins issus de mères dominées émettent la plus forte réponse (figure 33). De plus, après une courte période d'isolement, ces poussins ne sont pas apaisés par la présence d'un congénère non familier (figure 33).

Le test de barrière d'eau semble révéler un lien entre rang hiérarchique maternel et **prise de risque** des descendants. En effet, si aucune différence ne ressort lors du premier test, il semble que les poussins du lot $D^-$ mettent plus de temps à traverser lors du second test (i.e. après augmentation de la hauteur d'eau) que les poussins des autres lots (figure 34A). Il est intéressant de noter que les poussins du lot INT mettent significativement moins de temps à traverser la dépression remplie d'eau lors du second test, en comparaison avec le premier test (i.e. presque trois fois moins).

Enfin, il semble que plus les poussins sont issus d'une mère située en bas de la hiérarchie, plus ils vont être **enclin à se faire dominer** par un congénère non familier dans un contexte de compétition alimentaire (figure 34B).

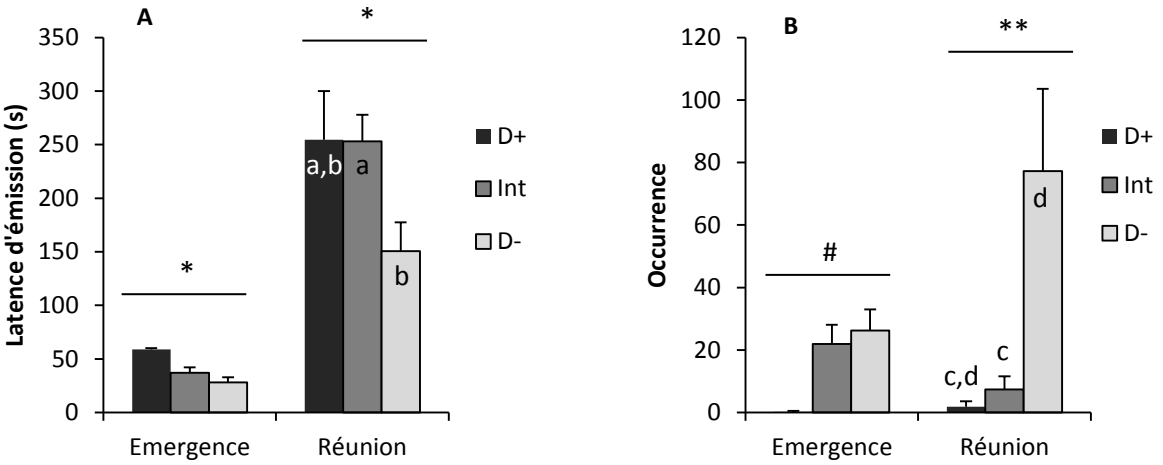



*Fig. 33. Production vocale, i.e. latence d'émission du premier cri d'appel (**A**) et nombre de cris d'appels (**B**) effectués par les poussins issus d'une mère dominante (en noir), intermédiaire (en gris) ou dominée (en blanc). Les moyennes sont données ± E.S. Les symboles correspondent au test de Kruskal-Wallis : # p < 0,1, * p < 0,05, ** p < 0,01. Les lettres correspondent au test de Mann-Whitney, des lettres différentes indiquant une différence significative aux seuils de 0,017 (pour les lettres a et b) ou de 0,003 (pour les lettres c et d) après corrections de Bonferroni.*

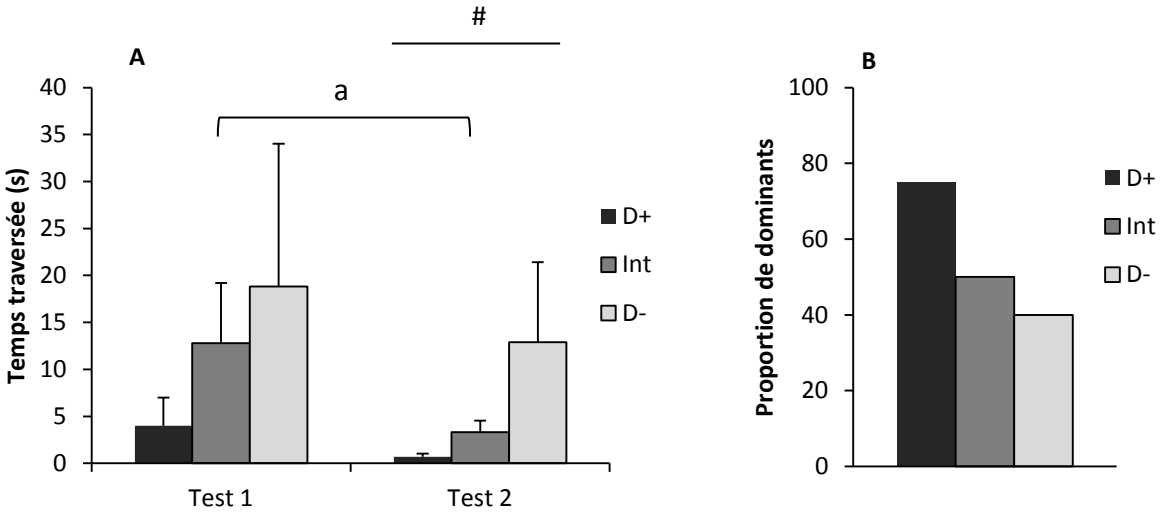



*Fig. 34. Temps de traversée de la barrière d'eau (**A**), le niveau de l'eau correspondant à un tiers (test 1) ou deux tiers (test deux) de la hauteur moyenne des pattes des individus par lot ; et proportion d'animaux ayant dominé un congénère non familier lors d'une rencontre en situation de compétition alimentaire (**B**) ; pour les poussins issus d'une mère dominante (en noir), intermédiaire (en gris) ou dominée (en blanc). Les moyennes sont données ± E.S. Les symboles correspondent au test de Kruskal-Wallis : # p < 0,1. Les lettres correspondent au test de Wilcoxon, a p < 0,05.*

## D. Conclusion

Lors de cette expérimentation nous nous sommes heurtés à plusieurs difficultés entraînant des effectifs faibles dans le lot $D^+$ : sur les six femelles pondeuses dominantes, seules trois ont pondu des œufs, nous avons donc placé en incubation 28 œufs pour ce lot. Sur ces 28 œufs, seuls 15 étaient fécondés, et cinq poussins sont nés.

Nos résultats sont néanmoins prometteurs puisque le rang hiérarchique des femelles pondeuses engendre chez des jeunes non maternés des différences comportementales. De plus, les données des rencontres entre congénères non familiers semblent montrer une transmission prénatale du rang hiérarchique. Toutefois, cette expérience se doit d'être renouvelée afin de valider les résultats.

# Annexe 2

# Participations à d'autres expérimentations

Cette annexe présente les résumés de publications qui correspondent à des travaux auxquels j'ai participé lors de mon master, puis de mon doctorat, en lien avec la problématique de la thèse.

**Maternal styles in a precocial bird**

Pittet, F., Houdelier, C., de Margerie, E., Le Bot, O., Richard-Yris, M.A. & Lumineau, S.

*Animal Behaviour* 87 (2014) 31 – 37

Care provided by females of many mammal species varies naturally between individuals; these differences in turn influence the phenotypic development of their offspring. When individual maternal behavioural traits are consistent over a number of breeding periods, maternal styles can be defined. These styles have been studied in a large range of mammalian species. Nevertheless, mammals rarely offer the possibility to dissociate mothers' behavioural influence from their genetic influence or their physiological influence via lactation. Here, we provide, for the first time, evidence of the existence of a precocial bird species' maternal styles. By using an adoption procedure we evaluated how maternal style affected the behaviour of Japanese quail, Coturnix coturnix japonica, chicks, via exclusively nongenomic mechanisms. As well as evidence for the existence of maternal styles in this species, we also found correlations between females' temperaments, maternal styles and their fostered chicks' development. Our findings indicate that maternal styles are key features that help understand nongenomic transmission of behavioural characteristics whose vectors have remained poorly understood.

**Motherless quail mothers display impaired maternal behavior and produce more fearful and less socially motivated offspring**

Pittet, F., Le Bot, O., Houdelier, C., Richard-Yris, M.A. & Lumineau, S.

*Developmental Psychobiology* 56 (2014) 622 – 634

Early maternal deprivation impairs the behavioral development of young individuals. Recently, strong differences between mothered and maternally deprived chicks have been reported

concerning their emotionality, sociality, and spatial skills. Here we investigated long-term and cross-generational impacts of maternal deprivation by comparing the characteristics of the non-reproductive and the maternal behavior of 22 mothered and 22 non-mothered adult female Japanese quail (Coturnix c. japonica) and by comparing the behavior of their respective fostered chicks. We reveal that non-brooded mothers were more fearful and less competent in spatial tasks and expressed impaired maternal care, characterized by more aggression towards chicks, higher activity rates, and more abnormal pacing during the first days of the care period. Chicks' behavior was clearly affected by maternal care inducing strong differences in their fearfulness and social motivation. Our results show both long-term and cross-generational impacts of early maternal deprivation in precocial birds.

**Fearfulness Affects Quail Maternal Care and Subsequent Offspring Development**

Pittet, F., Houdelier, C., Le Bot, O., Leterrier, C. & Lumineau, S.
*PLoS ONE* 9 (2014) e102800.

Our study investigated relationships between a precocial bird's fearfulness and maternal care, and the implication of maternal care as a vector for non-genomic transmission of fearfulness to chicks. We compared care given to chicks between two sets of female Japanese quail selected to present either high (LTI) or low fearfulness (STI). Chicks, from a broiler line, were adopted by these females following a sensitization procedure. Chicks' fearfulness after separation from their mother was assessed by well-established procedures. LTIs took longer to present maternal responses, pecked chicks more during the first days post-hatch, presented impaired maternal vocal behaviour and were globally less active than STI females. Chicks mothered by LTIs presented more fearful reactions than did chicks mothered by STIs, supporting the hypothesis of a non-genetic maternal transmission of fearfulness. We suggest that the longer latencies required by LTIs to become maternal are a consequence of their greater fear of chicks, and that their lower general and vocal activity could be components of a heightened antipredatory strategy. We discuss the transmission of maternal fearfulness to fostered chicks, taking into account the possible implication of several well-known mechanisms underlying maternal effects.

**Le comportement maternel est modulé par le stress prénatal des jeunes chez l'oiseau**

Aigueperse, N., Le Bot, O., Pittet, F., de Margerie, E., Houdelier , C. & Lumineau, S.

*Article en préparation*

Le comportement maternel présente une variabilité individuelle non négligeable, puisque les mères s'occupent différemment de leur(s) jeune(s) selon leur propre expérience de reproduction ou encore leur âge. Dans ce système mère-jeunes, nous avons cherché à savoir si le(s) jeune(s) jouai(en)t un rôle de modulateur du comportement maternel. Pour cela, nous avons évalué comment des cailles adoptives (non stressées) élevaient des jeunes issus de femelles subissant (S) ou non (NS) une procédure de stress social pendant la ponte, procédure connue pour modifier le comportement des jeunes. Lors du maternage, les mères n'ont pas montré de différence dans le temps passé à réchauffer. Toutefois, les mères de S ont favorisé des postures couvrantes plus longtemps et sont restées plus proches de leurs jeunes que les mères de NS. Ces dernières se sont montrées plus agressives envers les jeunes tout au long du maternage. D'autre part, les jeunes S ont eu un comportement différent pendant le maternage avec notamment plus de sollicitations auprès de leur mère en fin de maternage. Enfin, à l'issue du maternage, les cailleteaux S et NS ont montré des profils d'émotivité et de socialité différents. Nos résultats montrent que les mères répondent aux changements comportementaux engendrés par le stress prénatal des jeunes en adaptant leur propre comportement maternel. Le développement comportemental de ces jeunes est à son tour influencé par la conduite maternelle. La relation mère-jeunes est donc un système dynamique interactif où le jeune joue un rôle non négligeable sur son propre développement.

# Annexe 3 | Communications dans des congrès

Au cours de mes années de master et de doctorat, j'ai eu l'occasion de participer à des colloques nationaux et internationaux pour y présenter mes recherches par des communications orales ou affichées. Ces communications sont récapitulées ici, par ordre chronologique.

**Une privation maternelle précoce influence l'expression du comportement maternel ultérieur chez la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*).**

Pittet, F., Le Bot, O., Houdelier, C., Richard-Yris, M.-A. & Lumineau, S.

Communication orale au *colloque annuel de la Société Française pour l'Étude du Comportement Animal* 2012 (SFECA) (Saint-Etienne, France)

**Effet transgénérationnel d'une privation de soin maternel chez la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*).**

Le Bot, O., Pittet, F., Lumineau, S., De Margerie, E., Richard-Yris, M.-A. & Houdelier, C.

Communication affichée au *Colloque annuel de la Société Française pour l'Étude du Comportement Animal* 2012 (SFECA) (Saint-Etienne, France)

**Transgenerational effects of maternal deprivation in Japanese quail (*Coturnix c. japonica*).**

Le Bot, O., Pittet, F., Lumineau, S., De Margerie, E., Richard-Yris, M.-A. & Houdelier, C.

Communication affichée au *colloque annuel de l'International Society for Applied Ethology* (ISAE) 2013 (Vienne, Autriche)

**Pair bond quality influences offspring's behavioural development in Japanese quail**

Le Bot, O., Lumineau, S., De Margerie, E., Pittet, F., Trabalon, M. & Houdelier, C.

Communication orale au *Workshop of the World's Poultry Science Association* 2013 (WPSA) (Goettingen, Allemagne)

**La qualité du lien mâle-femelle influence le comportement de la descendance chez la caille japonaise**

Le Bot, O., Lumineau, S., De Margerie, E., Pittet, F., Trabalon, M. & Houdelier, C.

Communication affichée au *Colloque annuel de la Société Française pour l'Étude du Comportement Animal* 2014 (SFECA) (Saint-Etienne, France).

## RÉSUMÉ

Ce travail de thèse explore les influences maternelles non génétiques chez un oiseau nidifuge, la caille japonaise *Coturnix c. japonica*. Un premier axe s'intéresse à l'influence d'un facteur intrinsèque sur le comportement de la femelle pondeuse, les caractéristiques de ses œufs et le développement de ses descendants. Nos travaux montrent que les caractéristiques intrinsèques du comportement de ponte modulent l'émotivité des femelles. Les œufs pondus par des femelles présentant un profil de ponte stable (i.e. ovipositions à la même heure chaque jour) diffèrent des œufs pondus par des femelles présentant un profil de ponte décalé (i.e. ovipositions un peu plus tard chaque jour). Les descendants de ces femelles montrent une plus grande émotivité face à la nouveauté et à la séparation sociale. De plus, il existe des variations des caractéristiques des œufs spécifiques à chaque profil de ponte. Le second axe s'intéresse à une influence environnementale. Au sein de l'environnement biotique, le partenaire sexuel est un congénère particulier pour la femelle. Lorsque les deux partenaires ont la possibilité de développer un lien (par un appariement permanent), leurs descendants sont moins émotifs et plus sociaux comparés à des jeunes dont les parents ont été appariés de façon ponctuelle et n'ont pas développé de lien. Enfin, le dernier axe explore pour la première fois chez l'oiseau nidifuge l'interaction entre des influences maternelles prénatales et postnatales. Ainsi, des jeunes stressés prénatalement ont une émotivité moindre face à la nouveauté et à la séparation sociale si ils sont maternés après l'éclosion, comparés à des jeunes non maternés. L'ensemble de ce travail améliore nos connaissances des facteurs de variations des influences maternelles, leurs mécanismes et leurs conséquences, permettant de mieux comprendre la variabilité phénotypique des individus et l'évolution des populations.



Mots-clés : caractéristiques des œufs, influence maternelle, interaction pré- et postnatale, oiseau nidifuge, traits comportementaux, stéroïdes.



## ABSTRACT

This thesis explored non-genetic maternal influences in a precocial bird, the Japanese quail *Coturnix c. japonica*. A first approach investigated the influence of an intrinsic factor on the behaviour of a laying female, its eggs' characteristics and its offspring's development. Our results demonstrate that intrinsic characteristics of egg laying behaviour influence females' emotivity. Eggs laid by females that present a stable laying profile (i.e. ovoposition at the same time each day) differed from eggs laid by females that present a delayed laying profile (i.e. oviposition later each day). Offspring of females delayed laying profile showed higher emotivity in novel situations and social isolation. Moreover, eggs presented specific characteristics within each of both egg laying profiles. A second approach focused on the biotic environment. For a female, the mating partner is a particular congener. When mates could develop a pair bond (by continuous pairing), their offspring were more emotive and less social compared to chicks whose parents were not continuously paired and thus did not develop a pair bond. In a final approach and for the first time in a precocial bird, interactions between prenatal and postnatal maternal influences were explored. Chicks that were prenatally stressed showed lower emotivity in novel situations and social isolation when they are mothered after hatching compared to non-mothered, prenatally stressed chicks. Overall, our work improves the knowledge about maternal influence factors of variation, their mechanisms and consequences, allowing a better understanding of individuals' phenotypic variability and populations' evolution.



Key-words: behavioural traits, eggs characteristics, maternal influence, pre- and postnatal interaction, precocial bird, steroids.