



**HAL**  
open science

# Effets d'un probiotique sur la réactivité émotionnelle et les capacités de mémoire de la caille japonaise (*Coturnix japonica*)

Séverine Parois

► **To cite this version:**

Séverine Parois. Effets d'un probiotique sur la réactivité émotionnelle et les capacités de mémoire de la caille japonaise (*Coturnix japonica*). Sciences agricoles. 2013. dumas-00942675

**HAL Id: dumas-00942675**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00942675>**

Submitted on 6 Feb 2014

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**AGROCAMPUS OUEST**  
**CFR Rennes**

65 rue de Saint-Brieuc CS  
84215  
35042 RENNES CEDEX

**Campus scientifique et  
technologique de Beaulieu**

263 avenue du Général Leclerc  
CS 74205 – 35042 Rennes Cedex

UMR 85 PRC

INRA, Centre Val de Loire  
37380 Nouzilly

Mémoire de Fin d'Etudes

**Master BIOLOGIE, AGRONOMIE, SANTE**  
**Spécialité Sciences de l'animal pour l'élevage de demain (SAED)**

Année universitaire\* : 2012 – 2013

Effets d'un probiotique sur la réactivité émotionnelle et les capacités de mémoire  
de la caille japonaise (*Coturnix japonica*)

Par : Séverine PAROIS



Volet à renseigner par l'enseignant responsable de l'option/spécialisation\*  
Ou son représentant  
Date ; .... / ... / ... Signature

Bon pour dépôt (version définitive)   
Autorisation de diffusion : Oui  Non

Soutenu à Rennes le : 21 Juin 2013

Maître de stage : Christine LETERRIER

"Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent  
que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST".



## Remerciements

Je souhaite remercier l'unité « Physiologie des Comportements et de la Reproduction », et plus particulièrement l'équipe « Comportement, Neurologie et Adaptation » de m'avoir accueillie au sein de l'INRA de Nouzilly. Je suis également reconnaissante envers le personnel de l'unité expérimentale PEAT, responsable de l'élevage, qui a contribué à la réalisation de ce projet. Mes remerciements s'adressent en particulier à Bernard Gaultier qui a veillé sur les cailles au cours des expérimentations.

J'ai sincèrement apprécié travailler auprès des cailles. A chaque expérimentation, j'ai été impressionnée par la vitesse de croissance, la rapidité et l'espièglerie de ces petits monstres. Elles m'ont beaucoup appris sur le comportement des oiseaux et surtout sur leur réactivité émotionnelle. Fidèles à leur réputation, les LTI n'ont pas manqué de mettre ma patience à rude épreuve.

Je remercie également Ludovic Calandreau pour ses connaissances dans le domaine de l'apprentissage, ainsi que Paul Constantin pour son aide précieuse lors des déménagements et sa bonne humeur perpétuelle. Au cours des six mois, j'ai également partagé de très bons moments en compagnie de tous les autres stagiaires de l'unité.

Enfin, je suis très reconnaissante envers Christine Leterrier pour toutes les connaissances qu'elle m'a faites partager et par-dessus tout pour ses qualités humaines. Ce stage fut très agréable en sa compagnie.



## Table des matières

Lexique.....	i
Liste des illustrations.....	ii
Introduction .....	1
Matériels et Méthodes .....	4
1. Modèle d'étude.....	4
2. Lignées utilisées .....	4
3. Conditions d'élevage.....	4
4. Répartition des cailleteaux .....	5
5. Induction des modifications du microbiote intestinal.....	5
6. Induction d'un état de stress chronique .....	5
7. Mesures et tests comportementaux.....	6
7.1. Pesées .....	6
7.2. Tests de réactivité émotionnelle .....	6
7.2.1. Test d'immobilité tonique .....	6
7.2.2. Test de réactivité émotionnelle en open field.....	6
7.3. Tests des capacités cognitives .....	7
7.3.1. Test de conditionnement de place-préférence .....	7
7.3.2. Test de la mémoire de travail .....	8
7.4. Tests de motivations sexuelles et sociales.....	8
8. Analyses statistiques.....	9
Résultats .....	10
1. Croissance .....	10
2. Immobilité tonique .....	10
3. Open field.....	10
4. Tapis roulant.....	11
5. Conditionnement de place-préférence.....	11
6. Mémoire de travail .....	11
Discussion .....	13
Conclusion.....	20
Bibliographie.....	21
Sitographie .....	23

## **Lexique**

CTI : Control Tonic Immobility duration

EM : Energie Métabolisable

GMQ : Gain Moyen Quotidien

LTI : Long Tonic Immobility duration

lx : Lux

MAT : Matières Azotées Totales

STI : Short Tonic Immobility duration

UFC : Unité Formant Colonie

## Liste des illustrations

*Tableau 1* : Répartition des effectifs initiaux de cailles dans la batterie, en fonction de leur lignée et de leur traitement.

*Tableau 2* : Répartition des effectifs en fonction de la lignée, du sexe et du traitement.

*Tableau 3* : Températures et intensités lumineuses lors des tests.

*Figure 1* : Courbe de sélection sur l'immobilité tonique, initiée par Mills et Faure (1991).

*Figure 2* : Succession chronologiques des tests de réactivité émotionnelle et d'apprentissage. Période de stress chronique adapté du modèle EmoFarm (Laurence et al., 2012).

*Figure 3* : Test d'immobilité tonique dans le dispositif en U.

*Figure 4* : Schéma du dispositif d'open-field, avec délimitation de la zone périphérique et du point de dépôt des cailles en début de test.

*Figure 5* : Phase d'apprentissage lors du test de conditionnement de place-préférence à renforcement social. Exemple pour une caille dont le côté à renforcement positif est associé aux bandes verticales. Cette procédure est répétée à l'identique pendant les 3 jours. H : heure.

*Figure 6* : Schéma et photographie du dispositif utilisé pour le test des pots. Les formes orangé correspondent à des repères spatiaux sur les parois du dispositif.

*Figure 7* : Dispositif de tapis roulant pour le test de motivation socio-sexuelle. Le tapis est actionné manuellement lorsque la caille atteint la zone de déclenchement du tapis roulant.

*Figure 8* : Effet du traitement sur la durée d'immobilité tonique des cailles femelles des trois lignées.

*Figure 9* : Effet du traitement sur les distances totales parcourues par les cailles des trois lignées, tous sexes confondus (Test d'open field effectué avant la période de stress).

*Figure 10* : Effet du traitement sur les écarts de temps passé dans la zone périphérique entre les deux sessions d'open field, chez les cailles mâles des trois lignées.

*Figure 11* : Effet du traitement sur les distances totales parcourues sur le tapis roulant par les cailles mâles des trois lignées.

*Figure 12* : Effet du traitement sur le nombre de transitions réalisées par les cailles femelles des lignées LTI et STI, entre les différentes zones du dispositif de conditionnement de place-préférence.

*Figure 13* : Effet du traitement sur la durée de réalisation du test d'évaluation de la mémoire de travail chez les cailles femelles des lignées LTI et STI pour les trois jours de tests.

*Figure 14* : Effet du traitement sur les taux d'erreurs immédiates et différées des cailles femelles des lignées LTI et STI (moyenne des trois jours de test).

*Figure 15* : Performances de cailles STI situées sur la courbe de Yerkes et Dodson.



## Introduction

Le comportement est influencé par deux facteurs principaux : les composantes génétiques et environnementales. Le facteur environnemental peut lui-même être scindé en plusieurs catégories. En effet, l'environnement peut correspondre au cadre de vie dans lequel évolue l'individu, à ses interactions sociales avec des congénères ou bien même à ses composantes internes. Le microbiote intestinal représente un environnement interne à part entière. Il correspond à l'ensemble des micro-organismes peuplant le tube digestif de l'individu. Récemment, il a été mis en évidence que le complexe intestin-microbiote influence l'activité cérébrale, responsable de certains comportements (Cryan & Dinan, 2012). On nomme axe « cerveau-intestin » les communications à double sens entre ces deux organes.

Le microbiote intestinal influe sur les comportements émotionnels des individus. Une émotion se définit comme « toute réponse affective intense et de courte durée face à un événement » (Désiré *et al.*, 2002). Certaines émotions comme la peur sont plus étudiées car elles impactent les individus de façon prolongée et peuvent conduire à des états d'anxiété. Des modifications du microbiote intestinal modulent des comportements tels que l'exploration et l'anxiété (Goehler *et al.*, 2005 ; Bercik *et al.*, 2010 ; Bendtsen *et al.*, 2012). Par exemple, des souris axéniques présentent des comportements d'anxiété moins prononcés que des souris gnotobiotiques, c'est-à-dire dont le microbiote contrôlé (Heijtz *et al.*, 2011). Il a été mis en évidence que l'utilisation de transferts de microbiote intestinal permet d'inverser le phénotype comportemental de certaines souris (Bercik *et al.*, 2011). En effet, un transfert de microbiote entre des souris BALB/c, connues pour être anxieuses, et des souris NIH Swiss, a permis de réduire le comportement d'anxiété des BALB/c et d'augmenter des NIH Swiss. Chez les enfants atteints d'autisme régressif, des modifications du microbiote intestinal permettent d'obtenir des améliorations importantes de leurs performances (Finegold *et al.*, 2002).

Le microbiote intestinal intervient également sur les capacités de mémoire des individus *via* la stimulation de l'expression de transcrits génétiques dans des régions cérébrales comme l'hippocampe (Yin *et al.*, 2010 ; Heijtz *et al.*, 2011). Cette région est impliquée dans les processus d'apprentissage, de mémoire et de repérage spatial (Ramos & Mormede, 1998). Il existe différents types de mémoire. Par exemple, les mémoires à court et long termes stockent les informations de façon passive pour des durées plus ou moins longues (Valance *et al.*, 2007). La mémoire de travail, quant à elle, est une mémoire à court terme particulière puisqu'elle stocke et manipule les informations de manière active et temporaire (Baddeley, 1992). Cette dernière est très souvent évaluée dans les tests comportementaux pour rendre compte des capacités cognitives d'un individu. Des études chez la souris ont montré que l'enrichissement de la composition du microbiote intestinal, par l'intermédiaire de l'alimentation, permet une modification des capacités de mémoire. Un microbiote intestinal dont la composition bactérienne est plus diversifiée conduit à une amélioration des performances de mémoire à long terme et de travail, mais aussi à une diminution de l'anxiété (Li *et al.*, 2009). Enfin, l'infection de souris par la bactérie pathogène *Citrobacter rodentium*



provoque des dégradations de la mémoire de travail des individus après l'induction d'un état de stress aigu (Gareau *et al.*, 2011).

Pour modifier le microbiote intestinal et ainsi étudier « l'axe cerveau-intestin », les chercheurs ont utilisé des souris axéniques ou gnotobiotiques, l'infection par des bactéries pathogènes, les transferts de microbiote intestinal, mais aussi des antibiotiques ou des probiotiques qui sont des moyens simples et moins invasifs pour des premières approches. Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés dans des quantités convenables confèrent un avantage pour la santé de l'hôte (Sherman *et al.*, 2009). Il a été montré que ces micro-organismes modifient le microbiote digestif des mammifères (Cryan & Dinan, 2012), tout comme celui des poulets de chair (Temim *et al.*, 2009). Ces modifications du microbiote intestinal peuvent être effectuées en routine chez les animaux d'élevage (Gerard *et al.*, 2008). L'ingestion de probiotiques est susceptible d'améliorer certaines performances zootechniques et l'efficacité métabolique de ces animaux (diminution de l'indice de consommation) (Kim *et al.*, 2012). Chez l'homme, les probiotiques sont utilisés pour leur valeur « anti-stress » ainsi que pour leurs implications dans les troubles gastro-intestinaux (Rolfe, 2000 ; Messaoudi *et al.*, 2011). Chez le rat, les probiotiques montrent aussi des effets anxiolytiques et permettent de réduire l'état d'anxiété des animaux (Bravo *et al.*, 2011).

A ce jour, aucune étude sur l'influence du microbiote intestinal sur la réactivité émotionnelle et sur les capacités cognitives n'a été réalisée chez l'oiseau. On entend par réactivité émotionnelle la « prédisposition d'un individu à percevoir et à réagir de manière similaire à une grande variété de situations génératrices d'émotions » (Boissy & Bouissou, 1995). Compte tenu des modifications comportementales observées chez les rongeurs et chez l'homme, on peut supposer que des modifications similaires seraient observées chez les oiseaux. Une étude préliminaire a montré que l'ingestion de probiotiques modifie les comportements de réactivité émotionnelle des cailles japonaises ainsi que leur motivation socio-sexuelle à trois semaines d'âge (Leterrier, 2012 – *Données personnelles*). De plus, la comparaison de poulets génétiquement sélectionnés sur leur capacité à digérer plus ou moins efficacement un blé peu digestible, met en évidence des différences de microbiote intestinal et de réactivité émotionnelle (Pelhaitre *et al.*, 2012). Par conséquent, il semble nécessaire d'entreprendre l'étude de l'influence de modifications du microbiote intestinal sur le comportement émotionnel et sur les capacités cognitives des oiseaux. Des avancées sur ce thème pourraient avoir des conséquences majeures en termes de bien-être animal et de production (Torok *et al.*, 2008).

Dans la suite de ce mémoire, nous avons évalué les comportements émotionnels et les capacités cognitives des cailles suite à des modifications de microbiote intestinal *via* l'utilisation d'un aliment supplémenté en probiotique. Cette procédure est simple à mettre en œuvre et non invasive. C'est donc la première étape d'investigation pour une étude chez l'oiseau.



Pour évaluer les réponses de réactivité émotionnelle, nous avons travaillé sur des lignées génétiquement sélectionnées pour leur réactivité émotionnelle. Ces lignées permettent d'avoir des populations d'animaux dont la réactivité émotionnelle est très différente. L'évaluation des capacités cognitives se limite à une mesure de la mémoire à long terme ainsi qu'un test de mémoire de travail. La première hypothèse testée est que le microbiote digestif aviaire modifie les comportements émotionnels et les capacités de mémoire des individus. La seconde hypothèse suggère que les effets de ces modifications divergent selon le génome de l'animal. Ce mémoire suit l'enchaînement suivant : tout d'abord, la description du matériel et de la méthodologie employée, puis les résultats obtenus, enfin une discussion pour comparer les résultats aux travaux déjà réalisés et permettre une prise de recul vis-à-vis de la méthodologie.

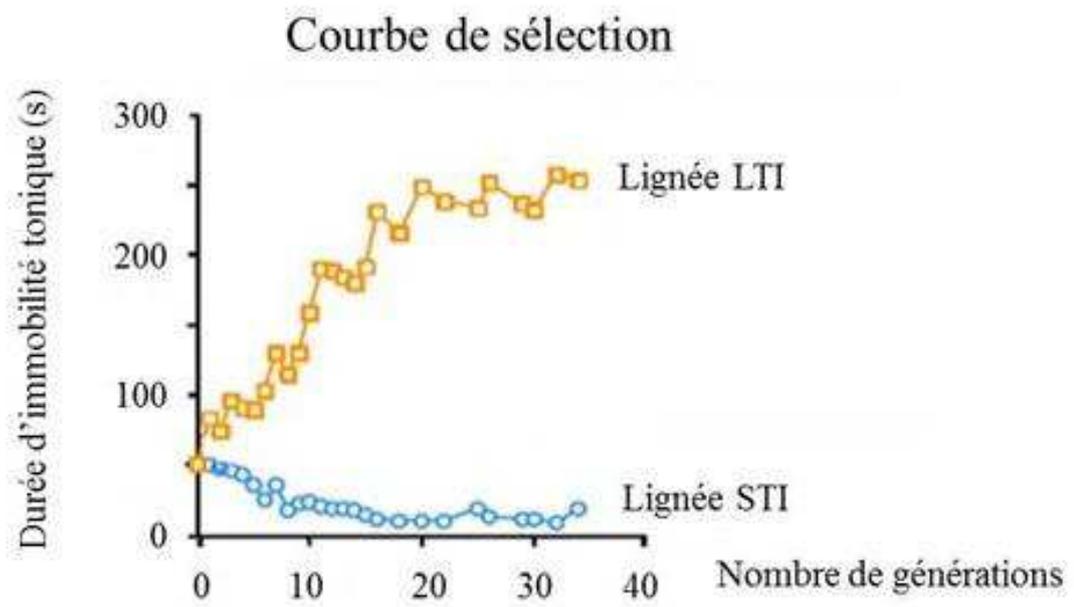


Figure 1 : Courbe de sélection sur l'immobilité tonique, initiée par Mills et Faure (1991).

## Matériels et Méthodes

Le protocole expérimental décrit ci-dessous a fait l'objet d'une validation auprès du Comité d'Ethique en Expérimentation Animale du Val de Loire.

### 1. *Modèle d'étude*

Le modèle d'étude est la caille japonaise (*Coturnix japonica*). L'INRA de Nouzilly dispose de lignées génétiquement sélectionnées sur leur réactivité émotionnelle (Mills & Faure, 1991) (Figure 1). Cette espèce permet donc d'étudier l'interaction entre le microbiote intestinal et les facteurs génétiques de l'hôte. De nombreux tests comportementaux ont été élaborés chez la caille japonaise et permettent d'analyser les comportements de peur, de motivation socio-sexuelle et d'apprentissage. Les animaux proviennent de l'unité d'élevage du pôle expérimental avicole de Tours (UE PEAT).

### 2. *Lignées utilisées*

Trois lignées distinctes de cailles ont été utilisées : les lignées STI (Short Tonic Immobility duration), LTI (Long Tonic Immobility duration) et CTI (Control Tonic Immobility duration). Les lignées sont sélectionnées sur une durée courte ou longue d'immobilité tonique, à un âge compris entre 6 et 8 jours. L'immobilité tonique est un état inné d'inhibition motrice passagère, induite chez l'oiseau par une contention physique brève (Gallup, 1974). Les cailles présentent des comportements émotionnels différents en réponse à des stimuli effrayants. Les STI sont considérées comme des individus peu émotifs, tandis que les LTI comme des individus très émotifs. Les CTI sont issus de la même population génétique mais n'ont pas fait l'objet d'une sélection.

### 3. *Conditions d'élevage*

Après ramassage, les œufs sont identifiés par femelle afin de permettre un suivi du pedigree. Le jour de l'éclosion, l'identification des animaux est réalisée par baguage à l'aile gauche. Les cailleteaux sont ensuite placés en batterie chaude à une température de 40°C. Cette température est progressivement diminuée pour atteindre les 25°C à 20 jours. Les 16 batteries sont localisées dans une pièce unique. L'éclairage dans chaque batterie est compris entre 1 et 40 Lux selon la partie de la cage. Le jour de l'éclosion, la photopériode est de 24 heures et passe progressivement au jour 10 à 16 heures de lumière par jour. L'eau et l'aliment granulé sont proposés ad libitum. L'aliment est un granulé pour cailleteaux de composition classique (EM = 2 900 kcal/kg ; MAT = 260 g/kg). Les dimensions des batteries sont de 85\*95\*25cm. Un enrichissement sonore de 8 heures, *via* une radio, est mis en place du lundi au vendredi, à l'exception de la période de stress (cf. 5.).

**Tableau 1 : Répartition des effectifs initiaux de cailles dans la batterie, en fonction de leur lignée et de leur traitement.**

Niveau 1	16 CTI – Témoins	16 CTI – Traités	16 CTI – Témoins	16 CTI – Traités
Niveau 2	16 LTI – Témoins	16 LTI – Traités	16 LTI – Témoins	16 LTI – Traités
Niveau 3	16 STI – Témoins	16 STI – Traités	16 STI – Témoins	16 STI – Traités
Niveau 4	12 CTI pour les tests	Surplus – Traités	Surplus – Témoins	Ø

**Tableau 2 : Répartition des effectifs en fonction de la lignée, du sexe et du traitement.**

Lignées	Sexes	Traitements	Effectifs
<b>LTI</b>	Femelle	Témoin	19
		Traité	18
	Mâle	Témoin	14
		Traité	14
<b>CTI</b>	Femelle	Témoin	12
		Traité	20
	Mâle	Témoin	20
		Traité	12
<b>STI</b>	Femelle	Témoin	16
		Traité	16
	Mâle	Témoin	15
		Traité	18

#### 4. Répartition des cailleaux

La répartition des cailleaux dans les 16 batteries est effectuée par niveau pour lutter contre le phénomène de gradient de température. Nous avons conservé 64 cailleaux par lignée. Ils sont répartis comme illustré dans le Tableau 1. Les individus de chaque famille sont répartis entre le groupe témoin et le groupe traité pour permettre un appariement des individus lors des analyses. Quelques animaux sont gardés en surplus en cas de mortalité. Le jour de l'éclosion, une pesée est réalisée pour s'assurer de l'homogénéité des poids des individus au sein de chacun des groupes. Les mâles et les femelles sont élevés dans des cages communes jusqu'au jour 30. Passé ce jour, les femelles et les mâles d'une même lignée et d'un même traitement sont séparés afin de réduire l'état de stress des femelles. Le sex-ratio est bien respecté dans son ensemble. Le Tableau 2 récapitule les effectifs des cailles selon la lignée, le sexe et le traitement.

#### 5. Induction des modifications du microbiote intestinal

Le microbiote intestinal des cailles est modulé par l'utilisation d'un probiotique. Le traitement est administré dès le jour de l'éclosion et ce jusqu'à la fin des tests. Les animaux traités reçoivent de l'aliment supplémenté avec un probiotique. Le probiotique utilisé est la bactérie *Pediococcus Acidilactici*, du produit Bactocell® (Lallemand). Lors des deux premières semaines, un supplément de Bactocell Drink® est incorporé à l'eau de boisson, à la concentration de 2 grammes par litre d'eau, pour favoriser l'implantation de la flore intestinale souhaitée. Le probiotique utilisé est une bactérie lactique gram positive connue pour améliorer les performances zootechniques des poulets de chair (Temim *et al.*, 2009) ainsi que certaines caractéristiques de l'œuf chez la poule pondeuse (Mikulski *et al.*, 2012). Le probiotique est incorporé dans l'aliment granulé sous sa forme micro-encapsulée (Bactocell ME®) et a une concentration de  $2,54 \times 10^6$  UFC par gramme d'aliment, soit 2,5 fois la dose utilisée commercialement. Cette concentration est la concentration déterminée par mise en culture après granulation.

Afin de minimiser toute contamination croisée, les matériels de soin et de test utilisés pour les animaux traités sont différents de ceux des témoins.

#### 6. Induction d'un état de stress chronique

L'effet attendu des deux traitements est subtil et a été très peu mis en évidence au cours des premiers tests. Or, un état de stress permet de bouleverser le microbiote intestinal (Torok *et al.*, 2008). L'application d'un protocole de stressseurs pourrait ainsi révéler plus facilement l'effet bénéfique de certaines modifications. Le processus d'induction de stress utilisé repose sur le modèle Emofarm de stimulations négatives répétées. Il est mis en place des jours 17 à 26. Les cinq stimulations journalières sont appliquées de façon imprévisible entre les jours 17 à 21. Il a été montré que ce processus permet d'induire un état de stress chronique chez la

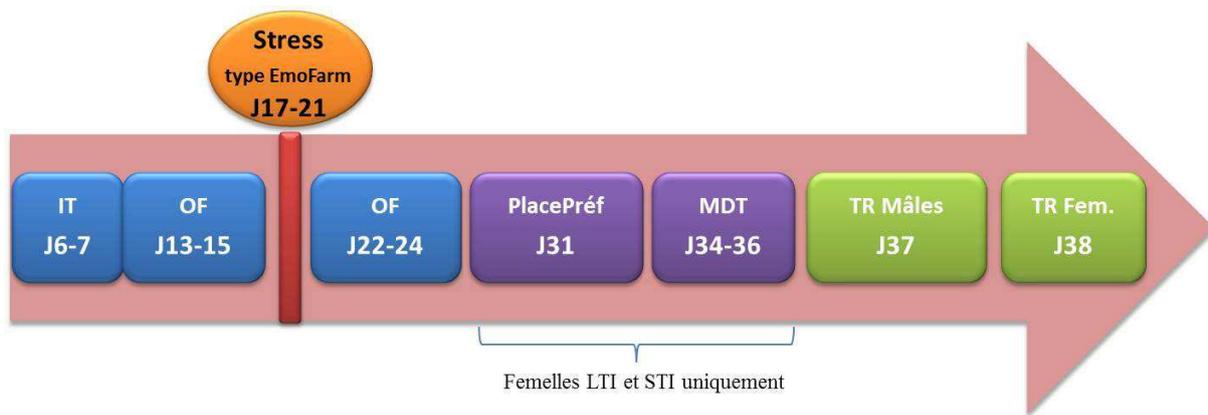


Figure 2 : Succession chronologiques des tests de réactivité émotionnelle et d'apprentissage. Période de stress chronique adapté du modèle EmoFarm (Laurence *et al.*, 2012).

Tableau 3 : Températures et intensités lumineuses lors des tests.

Test ou mesure	Age (jour)	Température – salle de test (°C)	Intensité lumineuse – salle de test (lx)
<b>IT</b>	6 et 7	23	190
<b>Néophobie</b>	9	28	[200 – 220]
<b>Open Field</b>	[13 – 15] [22 – 24]	23	[185 – 220]
<b>Mémoire long terme</b>	31	23	[130 – 160]
<b>Mémoire de travail</b>	[34 – 36]	23	[150 – 180]
<b>Tapis roulant</b>	♂ : 37 / ♀ : 38	20	[5 – 10]

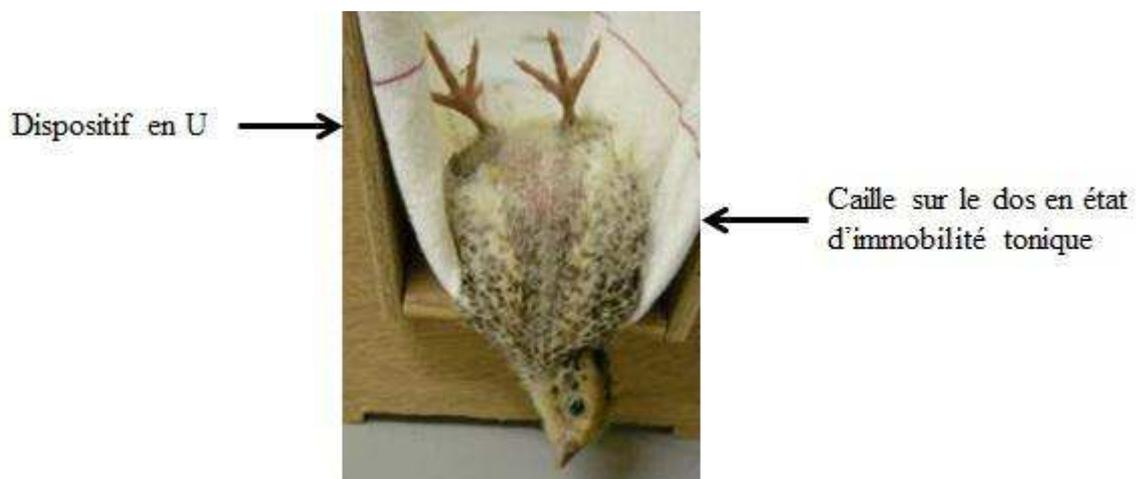


Figure 3 : Test d'immobilité tonique dans le dispositif en U. Photographie – INRA de Nouzilly, Caille en Immobilité tonique, Séverine Parois.

caille japonaise (Favreau-Peigne *et al.*, 2011 ; Laurence *et al.*, 2012). Les stimulations négatives employées sont : la mise en épinière des groupes d'individus, la mise en épinière et transport sur un chariot, des perturbations de cages (bruits, introduction d'objets, jet d'air, manipulation avec des gants) et un isolement social dans des seaux.

## 7. Mesures et tests comportementaux

Le jour de l'éclosion correspond au jour 0. Avant chaque test, les animaux sont placés, en groupe, au minimum 15 minutes dans une cage de dimensions 65cm\*40cm. Cette cage dispose de copeaux, d'eau et de nourriture ad libitum, ainsi que d'un enrichissement sonore. Cette précaution permet de limiter les réactions de peur lors de l'attrapage dans les grandes batteries. La succession des tests et des mesures est répertoriée sur la Figure 2. Les températures des tests ainsi que les intensités lumineuses apparaissent dans le Tableau 3.

### 7.1. Pesées

Toutes les cailles sont pesées à intervalle régulier de 7 jours entre les jours 0 à 35 inclus.

### 7.2. Tests de réactivité émotionnelle

Plusieurs tests de réactivité émotionnelle ont été effectués. Le test d'immobilité tonique qui correspond au test de sélection des animaux, et le test d'open field. Ces deux tests sont les plus communément réalisés chez la caille japonaise pour évaluer la réactivité émotionnelle (Forkman *et al.*, 2007).

#### 7.2.1. Test d'immobilité tonique

Ce test est utilisé pour évaluer les comportements de peur suite à une contention. Le dispositif correspond à un U surélevé en bois (Figure 3). L'expérimentateur maintient la caille sur le dos pendant 10 secondes dans le dispositif. Le temps d'immobilité de l'individu est décompté au-delà des 10 secondes suivant l'induction. La durée maximale enregistrée est de 5 minutes. Si le cailleteau se relève dans les 10 secondes suivant l'induction, l'expérimentateur recommence le processus d'induction. Le nombre maximal d'induction s'élève à cinq. Dépassé ces cinq inductions, le temps d'immobilité tonique est considéré nul pour l'animal.

#### 7.2.2. Test de réactivité émotionnelle en open field

Ce test est utilisé pour évaluer les comportements de peur vis-à-vis d'un environnement nouveau et d'un isolement social. On considère que le cailleteau est d'autant plus effrayé qu'il reste au centre et explore moins la zone périphérique du dispositif (Ramos & Mormede, 1998)

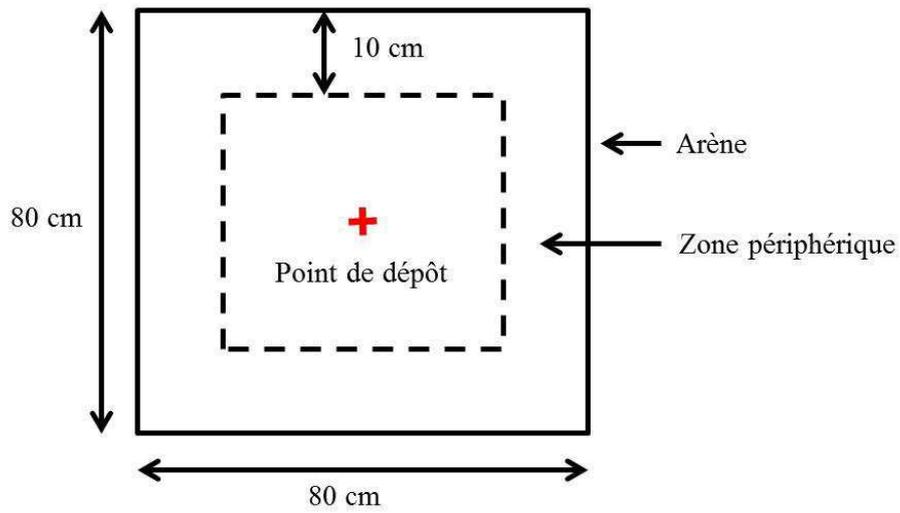


Figure 4 : Schéma du dispositif d'open field, avec délimitation de la zone périphérique et du point de dépôt des caillles en début de test.

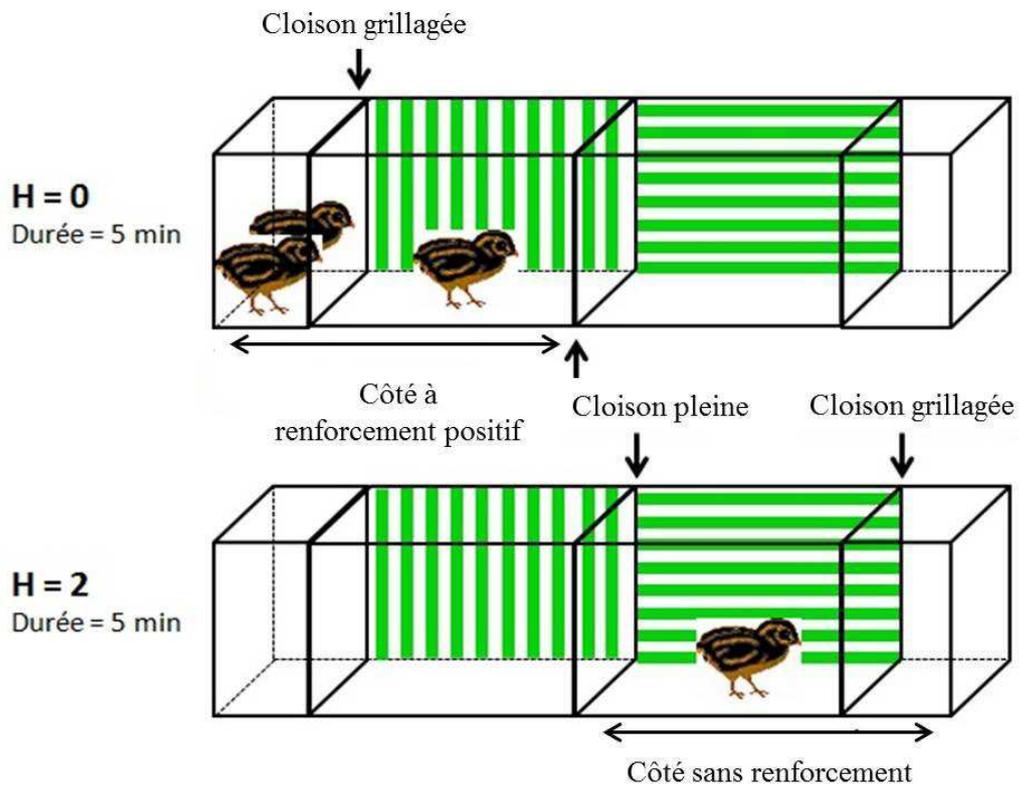


Figure 5 : Phase d'apprentissage lors du test de conditionnement de place-préférence à renforcement social. Exemple pour une caillle dont le côté à renforcement positif est associé aux bandes verticales. Cette procédure est répétée à l'identique pendant les 3 jours. H : heure.

; Lalonde & Strazielle, 2009). Chaque cailleteau est isolé de ses congénères et placé dans l'environnement nouveau pendant une durée de 5 minutes.

La trajectoire du cailleteau est suivie grâce au logiciel de trajectométrie Ethovision XT (Noldus Information Technology B.V., Wageningen, The Netherlands) par l'intermédiaire d'une caméra. Les différentes mesures effectuées sont le temps de présence dans la zone périphérique (largeur de 10cm) (Figure 4) et la distance totale parcourue. Le dispositif correspond à une boîte en bois de dimensions 80cm\*80cm\*52cm de hauteur, munie d'un sol en linoléum. Compte tenu de la faible durée du test, il est admis que l'environnement reste anxiogène lors de la deuxième session de test.

### 7.3. Tests des capacités cognitives

Le test de conditionnement de place-préférence permet d'évaluer la mémoire à long terme des individus. Ce test a été adapté du test de Mace (Mace *et al.*, 1996) pour la caille japonaise (Fauvel, 2011). Le test des pots a pour objectif d'évaluer la mémoire de travail des individus. Il correspond à la phase d'apprentissage du test de planche à trous utilisé chez les rongeurs et adapté chez la caille. Pour des raisons de temps, seules les femelles des lignées LTI et STI ont pu être testées pour l'évaluation des capacités cognitives.

#### 7.3.1. Test de conditionnement de place-préférence

Au cours de ce test de mémoire, l'animal doit apprendre à associer un emplacement à la présence de congénères, qui représente un renforcement positif. Le test se déroule en deux phases successives avant le test : une phase d'habituation au dispositif, puis une phase d'apprentissage sur trois jours (conditionnement).

Le dispositif correspond à un rectangle de dimensions 100\*43\*25cm, séparé en 4 compartiments distincts de taille équivalente. Les deux compartiments situés aux extrémités permettent de contenir une paire de cailles femelles CTI séparée par une partie grillagée pour permettre à la caille testée de les voir. Les deux compartiments centraux sont séparés par une paroi amovible. Ils ont des parois différentes : l'un comporte des rayures verticales vertes, le second des rayures horizontales vertes.

Lors de la phase d'habituation, les cailles sont placées par paire pendant 5 minutes dans le dispositif. La paroi entre les deux compartiments centraux est retirée. Une seule session est proposée à chacune des cailles.

Au cours des trois jours suivant l'habituation, la caille entre en phase d'apprentissage (Figure 5). La paire de cailles permettant le renforcement social positif est renouvelée tous les 8 cailleteaux afin de rester attractive. Au sein de chacune des deux lignées, les cailles témoins et traitées sont divisées en deux sous-groupes. Le sous-groupe 1 effectue ses passages à renforcement positif dans le compartiment à rayures verticales vertes, et ses passages à renforcement négatif dans le compartiment à rayures horizontales vertes. Le sous-groupe 2 se voit attribuer les compartiments inverses.

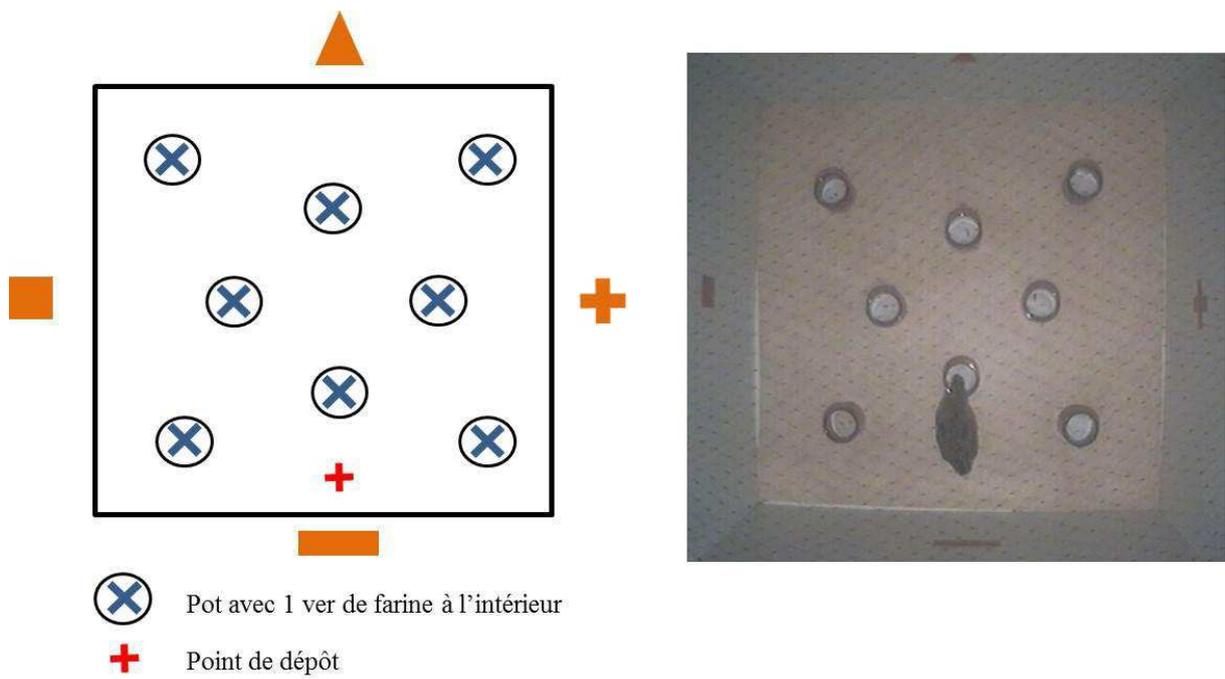


Figure 6 : Schéma et photographie du dispositif utilisé pour le test des pots. Les formes orangé correspondent à des repères spatiaux sur les parois du dispositif.  
 Photographie - INRA de Nouzilly, Caille lors du test des pots, Séverine Parois

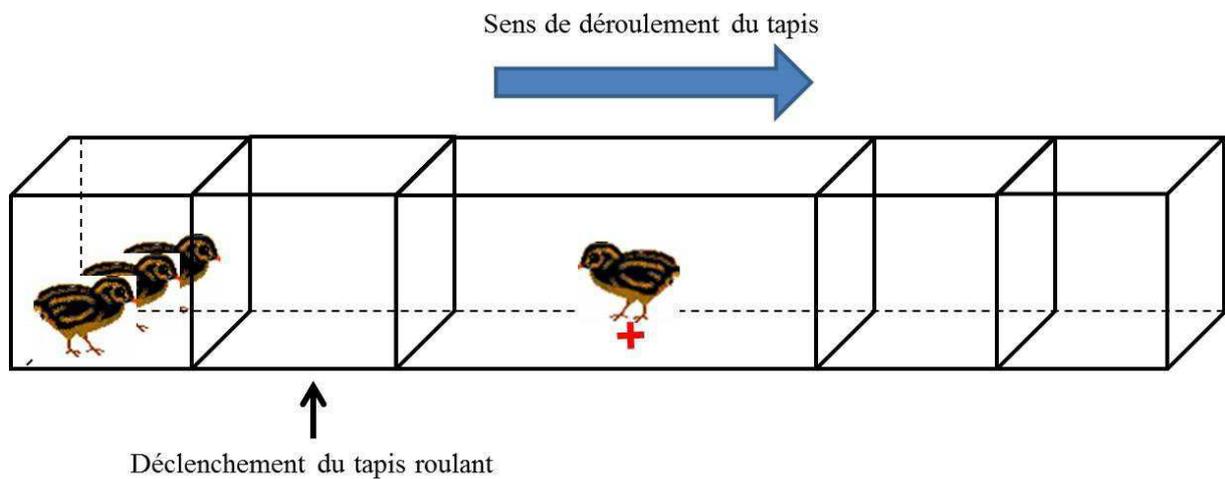


Figure 7 : Dispositif de tapis roulant pour le test de motivation socio-sexuelle. Le tapis est actionné manuellement lorsque la caille atteint la zone de déclenchement du tapis roulant.

Le jour du test, la caille testée est placée au centre du dispositif. Aucune autre caille ne figure dans le dispositif. La paroi amovible entre les deux compartiments centraux est retirée. La trajectoire de la caille est suivie pendant deux minutes grâce au logiciel de trajectométrie Ethovision XT via une caméra. Le paramètre mesuré est le pourcentage de temps passé la zone renforcée.

### *7.3.2. Test de la mémoire de travail*

Au cours de ce test de mémoire, l'objectif est de déterminer si la caille utilise sa mémoire de travail pour récupérer les 8 vers de farine contenu dans les 8 pots. On évalue la capacité de la caille à ne pas retourner à un pot déjà visité et par conséquent vide.

Le test se déroule sur 3 jours consécutifs. A chaque début de test, l'animal est placé à un même endroit du dispositif. Le dispositif utilisé est identique à celui de l'Open field (voir 7.2.3.). La caille est mise à jeun au minimum 3 heures avant le test. Elle a 10 minutes maximum pour manger les 8 vers de farine. Si elle parvient à cette tâche dans un temps plus court, le test est stoppé. Les parois du dispositif sont identifiées par quatre formes : une croix, un trait, un triangle et un carré afin d'apporter des repères spatiaux aux cailles. Les 8 pots sont disposés en quinconce et de façon à se situer à égale distance les uns des autres (Figure 6). Les mesures réalisées correspondent au nombre total de pots visités, la succession des pots visités pendant le test et le nombre d'erreurs effectuées. Si la caille retourne visiter un pot déjà vide, une erreur est comptabilisée. Lors de la semaine précédant le test, les cailles apprennent à manger des vers de farine dans des pots. Trois jours avant le test, les animaux sont placés par quatre dans le dispositif de test avec un ver dans chacun des 8 pots afin de limiter les biais dus à un environnement nouveau. Dans notre test, un individu doit se souvenir des pots qu'il a visités et se servir de cette information pour parvenir à manger tous les vers de farine sans réaliser de revisites inutiles des pots. Deux principales catégories d'erreur sont rencontrées : des erreurs immédiates et des erreurs différées dans le temps. Une erreur immédiate correspond à la situation suivante : un individu visite un pot et mange le ver qu'il contient, puis retourne tout de suite à ce même pot ou après avoir visité un seul autre pot. Les erreurs différées dans le temps impliquent que l'individu visite au moins deux autres pots avant de revenir au pot initial.

### *7.4. Tests de motivations sexuelles et sociales*

Ce test est utilisé pour évaluer les motivations sexuelles pour les mâles et sociales pour les femelles. Compte tenu de la date de ce test (jours 37 et 38), les individus ont atteint la puberté. Les attributs de maturité sexuelle sont déjà présents : chant, glande à mousse, premiers œufs. Le test dure 5 minutes. Le dispositif correspond à un tapis roulant de 2 mètres de long, surmonté d'une structure grillagée de 30\*30cm, à l'extrémité duquel sont placées trois cailles femelles séparées par une surface grillagée (Figure 7). Les cailles à l'extrémité constituent une source d'attraction pour l'individu testé. Elles sont renouvelées en moyenne tous les 10



cailles testées afin de maintenir leurs capacités d'attraction. L'individu testé est placé à un point de départ invariant, au centre du dispositif. Lorsqu'il se situe dans la zone à proximité des cailles, l'expérimentateur déclenche le tapis roulant. Le sens de rotation du tapis provoque un éloignement entre la caille et ses trois congénères. Au cours de ce test, la variable de mesure est la distance parcourue par l'individu sur le tapis roulant.

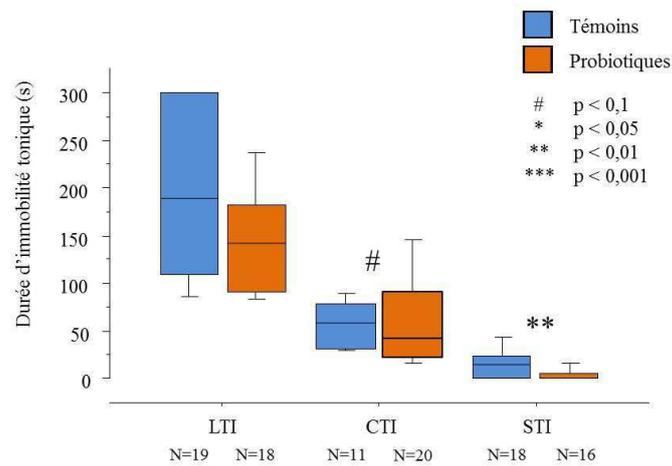
## 8. *Analyses statistiques*

A l'exception des données relatives à la croissance qui ont fait l'objet de tests statistiques paramétriques, toutes les autres mesures étaient de distribution non normale et ont donc été analysées via des tests statistiques non paramétriques. Les données de croissance sont analysées par ANOVA. Les données comportementales sont analysées par des tests non paramétriques : Kruskal-Wallis pour l'effet « lignée », Mann Withney pour l'effet traitement et l'effet sexe, Wicolxon pour les données appariées (effet de l'âge ou de la répétition des tests). Enfin, un test de Friedman a permis de regarder la progression des animaux lors des trois jours du test de mémoire de travail.

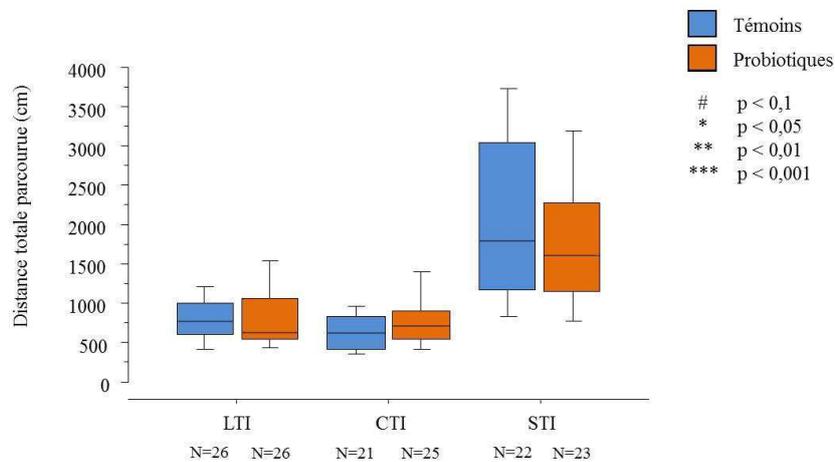
L'analyse non paramétrique ne permet pas de tester correctement les interactions entre facteurs. En conséquence, comme l'observation des données par groupe suggère une interaction entre un effet de la lignée, un effet du sexe et un effet du traitement, les effets du traitement sont présentés au sein de chaque lignée et pour chacun des sexes.

Le dispositif permet de comparer les paires de frères ou sœurs placées dans le groupe témoin et dans le groupe traité (test t apparié ou Wilcoxon). Cependant, cet appariement ne permet pas d'obtenir des informations supplémentaires et compte tenu l'inégale répartition des sexes entre les deux groupes, il nous prive de beaucoup de comparaisons, ce qui entraîne une perte de puissance statistique du dispositif. En conséquence, les résultats des tests appariés ne sont présentés dans ce mémoire.

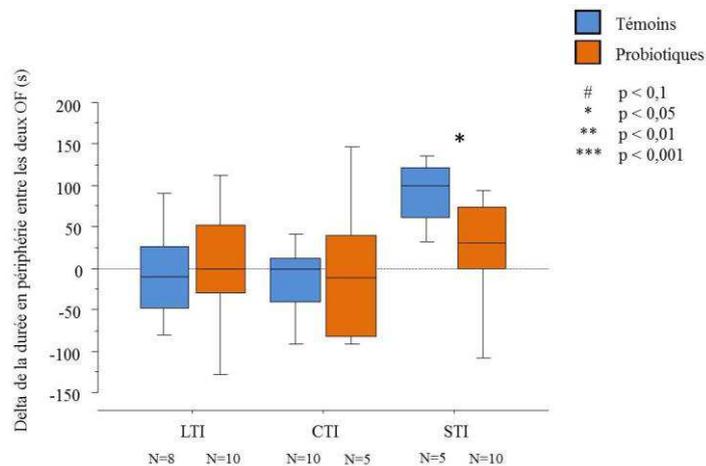
L'intervalle de confiance est fixé à 95%. Les analyses statistiques ont été effectuées grâce au logiciel StatView version 4.05.



**Figure 8 : Effet du traitement sur la durée d'immobilité tonique des cailles femelles des trois lignées.**  
 Statistique : test U de Mann Whitney. Témoins : animaux avec l'aliment standard ; Probiotiques : animaux supplémentés avec le probiotique. N=effectif, p=probabilité. Les médianes figurent sur les boîtes à moustache. Seuls les effets dus au traitement sont représentés sur le graphique.



**Figure 9 : Effet du traitement sur les distances totales parcourues par les cailles des trois lignées, tous sexes confondus (Test d'open field effectué avant la période de stress).**  
 Statistique : test U de Mann Whitney. Témoins : animaux avec l'aliment standard ; Probiotiques : animaux supplémentés avec le probiotique. N=effectif, p=probabilité. Les médianes figurent sur les boîtes à moustache. Seuls les effets dus au traitement sont représentés sur le graphique.



**Figure 10 : Effet du traitement sur les écarts de temps passé dans la zone périphérique entre les deux sessions d'open field, chez les cailles mâles des trois lignées.**  
 Delta = (Temps passé en 1<sup>ère</sup> session d'open field – Temps passé en 2<sup>ème</sup> session d'open field). Statistique : test U de Mann Whitney. Témoins : animaux avec l'aliment standard ; Probiotiques : animaux supplémentés avec le probiotique. N=effectif, p=probabilité. Les médianes figurent sur les boîtes à moustache. Seuls les effets dus au traitement sont représentés sur le graphique.

## Résultats

### 1. Croissance

L'effet lignée est significatif sur le poids des individus. Aux jours 0, 7 et 14, les individus des lignées LTI et CTI sont plus gros que ceux de la lignée STI ( $p < 0,0001$ ). Aux jours 7 et 14, les CTI ont des poids supérieurs à ceux des LTI ( $p = 0,021$  et  $p = 0,044$  respectivement). Au jour 21, l'écart entre les groupes diminue et seuls les CTI restent supérieurs aux STI ( $p < 0,001$ ). Enfin, au jour 35, tous les effets ont disparu. A partir du jour 14, les femelles deviennent plus grosses que les mâles ( $p = 0,056$ ). Cet effet se renforce avec le temps pour atteindre  $p < 0,0001$  au jour 35.

L'effet traitement a seulement été montré chez les femelles CTI au jour 35, en faveur d'une augmentation du poids des femelles supplémentées ( $p = 0,0501$ ). Le probiotique a peu d'effet sur la croissance pondérale des individus.

### 2. Immobilité tonique

Certaines données ont dû être exclues. En effet, il arrive que des bruits soit perceptibles dans la salle de test. Si le réveil de l'animal est provoqué par l'un deux, la mesure n'est pas gardée. L'effet lignée est significatif sur la durée en état d'immobilité tonique ( $p < 0,0001$ ). Les LTI ont une durée d'immobilité supérieure à celles des STI ( $p < 0,0001$ ) et des CTI ( $p < 0,0001$ ), elles même supérieures à celle des STI ( $p < 0,0001$ ).

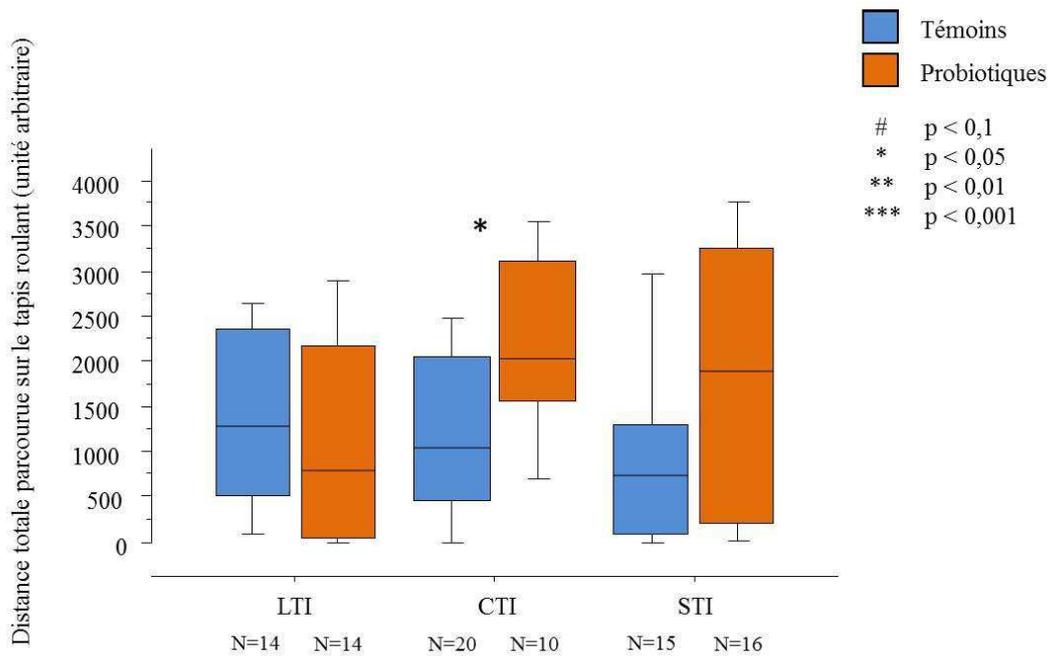
Les femelles STI alimentées avec le probiotique ont des durées d'immobilité significativement inférieures à celles des témoins ( $p = 0,0083$ ) (Figure 8). Les femelles CTI suivent la même tendance. La durée d'immobilité tonique étant révélatrice de l'état de stress des individus, les probiotiques ont un effet apaisant chez certaines catégories d'animaux.

### 3. Open field

Les données analysées ne concernent pas la totalité des individus. Les animaux qui n'ont pas pu être déposés au centre du dispositif sont exclus. Les résultats sont similaires pour les deux répétitions, avant et après la période d'induction de stress chronique.

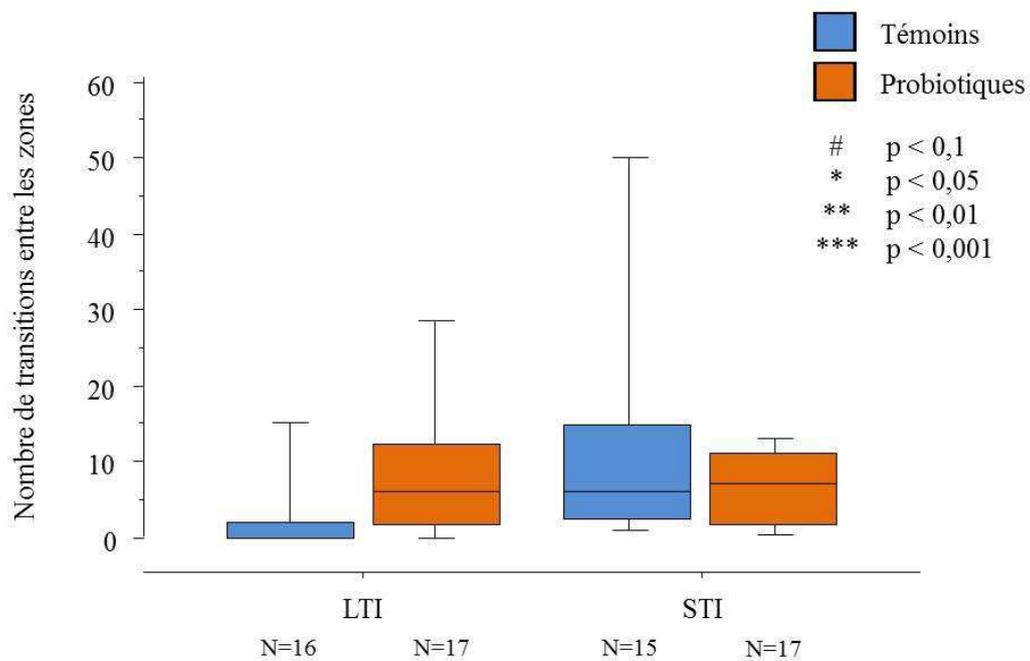
L'effet lignée est significatif pour l'ensemble des paramètres mesurés ( $p < 0,0001$ ). Les STI ont des valeurs de distance totale et de durée dans la zone périphérique supérieures à celles des CTI et des LTI ( $p < 0,0001$ ).

Aucun effet traitement intra-lignée n'est visible pour l'ensemble des paramètres ( $p > 0,1$ ) (Figure 9). On observe une diminution de la durée passée en périphérie de l'open field lors du second passage pour les STI mâles. La diminution de ce paramètre est plus importante pour les animaux témoins que pour les animaux supplémentés ( $p = 0,050$ ), ce qui suggère que ces derniers ont été moins affectés par les stimulations négatives répétées (Figure 10). Le probiotique aurait alors un effet protecteur chez cette catégorie d'individus.



**Figure 11 : Effet du traitement sur les distances totales parcourues sur le tapis roulant par les caillles mâles des trois lignées.**

Statistique : test U de Mann Whitney. Témoins : animaux avec l'aliment standard ; Probiotiques : animaux supplémentés avec le probiotique. N=effectif, p=probabilité. Les médianes figurent sur les boîtes à moustache. Seuls les effets dus au traitement sont représentés sur le graphique.



**Figure 12 : Effet du traitement sur le nombre de transitions réalisées par les caillles femelles des lignées LTI et STI, entre les différentes zones du dispositif de conditionnement de place-préférence.**

Statistique : test U de Mann Whitney. Témoins : animaux avec l'aliment standard ; Probiotiques : animaux supplémentés avec le probiotique. N=effectif, p=probabilité. Les médianes figurent sur les boîtes à moustache. Seuls les effets dus au traitement sont représentés sur le graphique.

#### 4. *Tapis roulant*

Deux mâles de la lignée CTI et deux mâles de la lignée STI sont morts avant ce test. Les distances sont mesurées en unité arbitraire. Compte tenu de la maturité des animaux au moment du test (jours 37 et 38), nous supposons que les motivations des mâles et des femelles divergent. Les mâles seraient attirés par les trois femelles du dispositif pour des raisons sexuelles, alors que les femelles seraient attirées pour des raisons sociales.

L'effet lignée est significatif sur la distance parcourue sur le tapis roulant chez les femelles ( $p=0,0014$ ) et n'est pas significative chez les mâles. Les cailles femelles de la lignée STI parcourent des distances supérieures à celle des cailles de la lignée LTI ( $p=0,0003$ ) et des cailles de la lignée CTI ( $p=0,0197$ ).

Les mâles CTI alimentés avec du probiotique se déplacent plus sur le tapis roulant pour rejoindre les femelles ( $p=0,0293$ ) (Figure 11). Cette observation traduit une motivation plus importante des mâles traités. Elle peut également rendre compte d'un état de stress moins important de ces animaux, ce qui suggérerait un effet apaisant du probiotique.

#### 5. *Conditionnement de place-préférence*

Le test de conditionnement de place-préférence n'a été réalisé que chez les femelles des lignées LTI et STI. A l'exception d'un individu qui est parti violemment dans un coin du dispositif au début du test, aucun autre animal n'a été exclu pour l'analyse des données.

Un ratio est réalisé entre le temps passé dans la zone renforcée et le temps total passé dans les zones extérieures. Ce ratio n'est pas significativement différent de 0,5 ( $p>0,1$ ). Par conséquent, les animaux n'effectuent pas un choix de la zone dans laquelle ils passent le plus de temps. Nous sommes donc dans l'impossibilité de mettre en évidence des effets du traitement sur la mémoire à long terme.

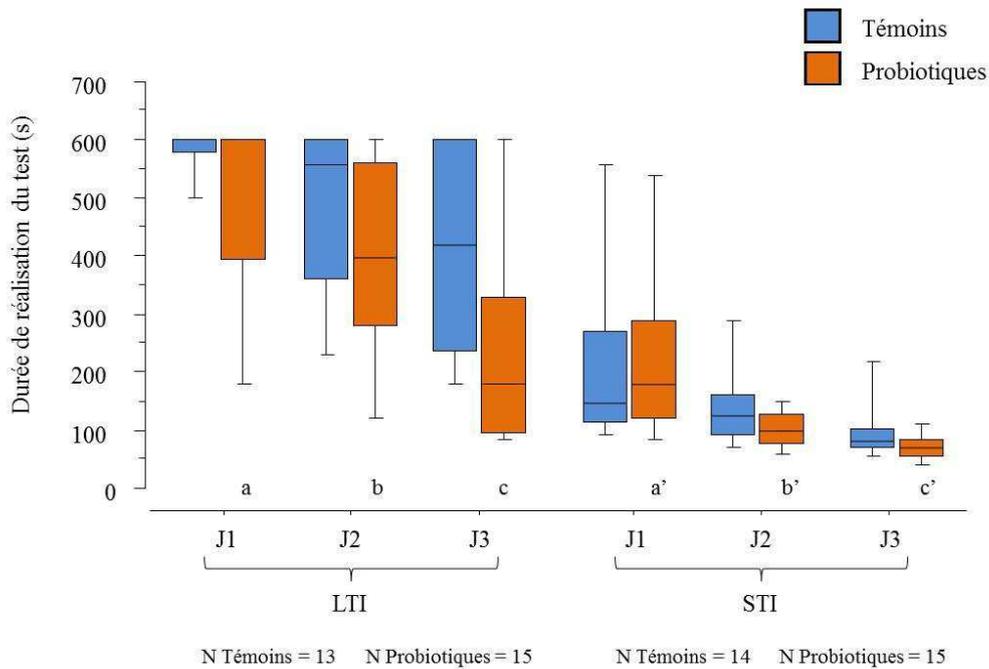
Concernant l'activité locomotrice dans le dispositif, il existe un effet lignée relatif au nombre de transitions ( $p<0,0001$ ). Les femelles STI, plus actives, réalisent un nombre plus importants de transitions ( $p=0,0302$ ).

L'effet traitement est présent chez les femelles LTI ( $p=0,0210$ ). Les individus traités ont un nombre de transitions plus important (Figure 12). Ces animaux se déplacent alors plus dans le dispositif, ce qui rend compte d'un état de stress moins important. Ce résultat va aussi dans le sens d'un effet apaisant du probiotique.

#### 6. *Mémoire de travail*

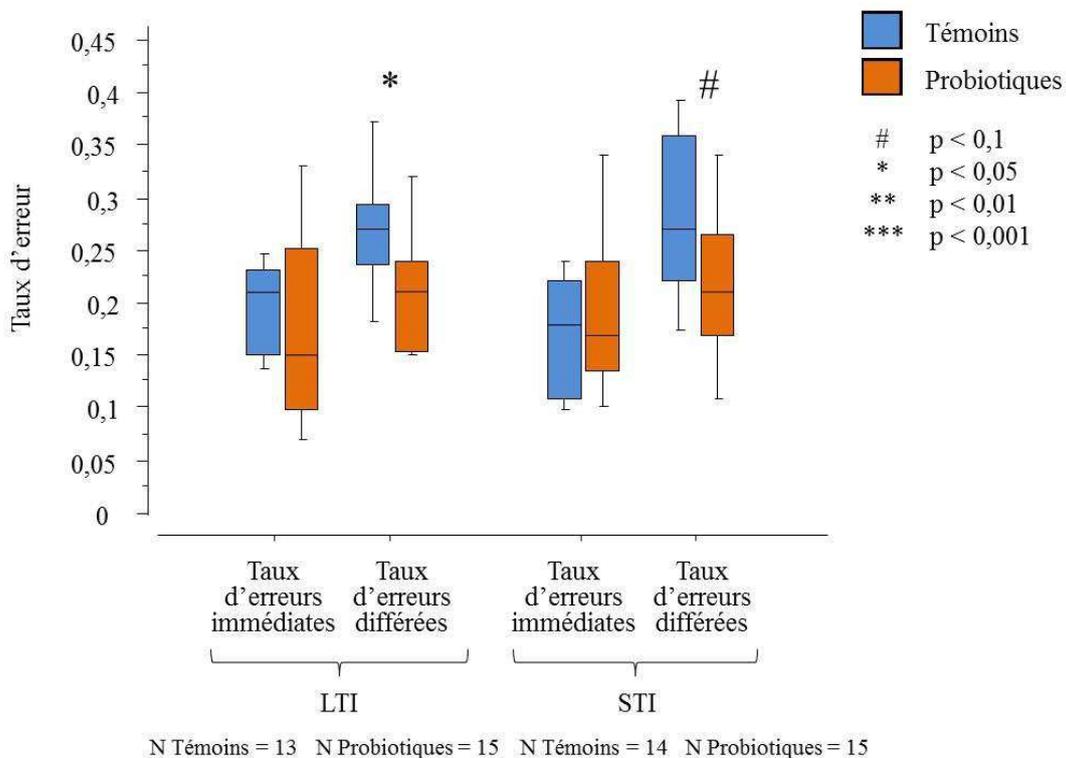
A chaque session, l'individu est éliminé s'il ne visite pas au moins 6 pots. Cette élimination n'est effective que pour le jour concerné.

L'effet lignée est significatif sur la durée d'exécution du test sur l'ensemble des trois jours ( $p<0,0001$ ). Les animaux de la lignée STI achèvent le test avant ceux de la lignée LTI. On



**Figure 13 : Effet du traitement sur la durée de réalisation du test d'évaluation de la mémoire de travail chez les cailles femelles des lignées LTI et STI pour les trois jours de tests.**

Statistique : test U de Mann Whitney. Témoins : animaux avec l'aliment standard ; Probiotiques : animaux supplémentés avec le probiotique. N=effectif, p=probabilité, J=jour. Les médianes figurent sur les boîtes à moustache. Seuls les effets dus au traitement sont représentés sur le graphique. Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre les répétitions à l'intérieur des groupes.



**Figure 14 : Effet du traitement sur les taux d'erreurs immédiates et différées des cailles femelles des lignées LTI et STI (moyenne des trois jours de test).**

$$\text{Taux d'erreur immédiate} = \frac{\text{Nombre d'erreurs immédiates}}{\text{Nombre de visites totales}} ; \text{Taux d'erreur différée} = \frac{\text{Nombre d'erreurs différées}}{\text{Nombre de visites totales}}$$

Statistique : test U de Mann Whitney. Témoins : animaux avec l'aliment standard ; Probiotiques : animaux supplémentés avec le probiotique. N=effectif, p=probabilité. Les médianes figurent sur les boîtes à moustache. Seuls les effets dus au traitement sont représentés sur le graphique.

note une diminution significative de la durée nécessaire à l'exécution de la tâche. Les STI présentent une probabilité  $p < 0,0001$ , les LTI une probabilité de  $p = 0,0004$  (Figure 13).

Cette évolution positive est portée par les animaux traités  $p = 0,0030$  et  $p < 0,0001$ , respectivement pour les lignées LTI et STI. En effet, les animaux témoins ont des probabilités supérieures à 0,1. Par contre, le traitement n'a pas d'effet sur la durée moyenne entre deux visites. L'amélioration de la durée serait alors due à de meilleures performances des individus traités et non à une activité locomotrice supérieure.

Les nombres de visites et les taux d'erreurs globaux (Nombre d'erreurs / Nombre de visites totales) ne diffèrent pas entre les trois jours pour chaque lignée ( $p > 0,1$ ). Ce constat suggère que ce test permet de tester une mémoire de travail (indépendante entre les jours) et non une mémoire de référence (dépendante des jours précédents). Ainsi, pour la suite des analyses, les performances des individus seront moyennées sur les trois jours de test, qui représentent alors des répétitions dans le temps.

Lorsqu'une caille visite un pot, puis d'autres et revient au premier, on calcule la longueur de l'intervalle entre la visite d'un même pot. Si l'intervalle est très court (0 à 1 pot), on estime que l'individu est dans une stratégie de revisite systématique, qui ne fait pas intervenir des capacités de mémoire de travail. En revanche, si cet intervalle est long (3 pots ou plus), ses capacités de mémoire sont sollicitées. Plusieurs catégories d'erreur sont répertoriées : les erreurs immédiates (0-1) pot et les erreurs longues (3 et plus) pots.

Le taux d'erreurs immédiates ou différées correspond au nombre de fois où l'individu a commis ce type d'erreurs pondéré par le nombre de visites totales réalisées par l'individu. Le taux d'erreurs immédiates est plus faible que le taux d'erreurs différées. En effet, l'individu se souvient du pot visité à l'instant, alors qu'il est plus difficile de se souvenir d'une succession de pots.

Il n'existe aucun effet lignée sur le taux d'erreur à 3 pots ou plus ( $p > 0,1$ ). Les capacités de mémoire des individus des deux lignées seraient alors équivalentes. Par contre, il existe un effet du traitement sur ce taux d'erreur à la fois chez les LTI ( $p = 0,0209$ ) et chez les STI ( $p = 0,0573$ ) (Figure 14). Pour les deux lignées, les individus traités ont un taux d'erreurs plus faible que leurs homologues témoins. Les probiotiques permettraient donc d'améliorer les capacités de mémoire de travail des individus.



## Discussion

Dans cette discussion, nous reviendrons successivement sur les différents effets qui ont été mis en évidence dans l'expérimentation. Tout d'abord, l'utilisation d'un probiotique chez les cailles japonaises a induit des effets bénéfiques en termes de réduction de la réactivité émotionnelle. Toutefois, ces effets ne sont pas majeurs, il sera donc intéressant de revenir sur les différentes explications possibles. Ensuite, nous verrons que les effets du probiotique sur le développement corporel des animaux sont contrastés. Aucune amélioration sur la croissance n'a été observée mais on observe une augmentation de la maturité sexuelle des individus. Enfin, nous reviendrons sur l'effet positif du probiotique sur les performances de mémoire.

### *Effets bénéfiques du probiotique sur la réactivité émotionnelle*

Le probiotique a eu des effets positifs sur les cailles de certaines lignées. En effet, l'utilisation du probiotique a permis une réduction de la réactivité émotionnelle des animaux. Cette amélioration est révélée à la fois par les deux tests de réactivité réalisés mais également par les différences d'activité locomotrice entre les animaux traités et témoins au cours du test de conditionnement de place-préférence.

Les probiotiques ont permis de réduire de façon significative la durée d'immobilité tonique des animaux de la lignée STI. Cette durée est corrélée à la réactivité émotionnelle. Plus un individu reste en immobilité tonique, plus sa réactivité émotionnelle est importante (Mills & Faure, 1991). Ce paramètre paraissait pourtant difficile à modifier puisque c'est le critère de sélection des lignées utilisées.

On attend habituellement une concordance entre les durées d'immobilité tonique et l'activité motrice en open-field, où la peur de l'environnement nouveau inhibe le comportement d'exploration (Jones, 1986). Pourtant, aucun effet du traitement n'est directement visible sur les distances parcourues et les durées passées en périphérie de l'open field. Compte tenu de l'effet anxiolytique supposé des probiotiques, nous pensions obtenir des divergences entre les traitements, en faveur d'une augmentation de la distance parcourue et d'une augmentation de la durée en périphérie pour les animaux traités. En effet, un individu dont le niveau de réactivité émotionnelle est faible n'est pas effrayé par le dispositif expérimental et se déplace plus pour chercher une échappatoire.

Si le probiotique n'a pas eu d'effet sur les déplacements en open field, il en a cependant eu dans le dispositif de conditionnement de place-préférence. En effet, les cailles LTI traitées ont eu un nombre de transitions entre les zones plus importantes que les cailles LTI témoins. Le nombre de transitions rend compte du déplacement des animaux dans le dispositif et donc de leur activité locomotrice. Ces cailles sont particulièrement peureuses et l'augmentation de leur activité dans un dispositif de test est par conséquent un signe d'une réduction de leur réactivité émotionnelle comme cela est observé lors du test d'immobilité chez les cailles STI.



Le test en open field a été réalisé avant et après une période stressante. Cette période de stimulations négatives répétées avait pour objectif d'induire un état de stress chronique chez les animaux et par conséquent de réduire les distances parcourues et les durées en périphérie. Pour les individus des lignées CTI et LTI, aucune différence n'a été montrée entre les deux sessions d'open field. En revanche, pour les STI mâles on a observé une diminution de la durée passée en périphérie de l'open field lors du second passage. On peut alors supposer que la période stressante a eu des répercussions sur ces animaux. La diminution de ce paramètre est plus importante pour les animaux témoins, ce qui suggère qu'ils ont été plus affectés par les stimulations négatives répétées que les animaux supplémentés. Ces résultats sont cohérents avec les résultats d'immobilité tonique et rendent compte d'une réactivité émotionnelle moins prononcée pour les individus supplémentés.

Ces effets bénéfiques des probiotiques sur la réactivité émotionnelle sont en adéquation avec ceux démontrés chez le rongeur et chez l'homme. Les souris dont le microbiote a été modifié par l'ingestion d'un probiotique contenant des *Lactobacillus rhamnosus* ont des comportements d'anxiété moins prononcés, et passent plus de temps au centre du dispositif (Bravo *et al*, 2011). Chez la souris, ce comportement suggère un état d'anxiété moins important. En effet, compte tenu de leurs faibles facultés visuelles, les souris explorent un environnement nouveau à l'aide de leurs vibrisses en longeant les parois du dispositif. S'aventurer au centre d'un dispositif est la preuve d'une faible anxiété. D'autres probiotiques composés de bactéries de la famille des *Bifidobacterium* ont des effets similaires. Leur ingestion permet de réduire les comportements liés à l'anxiété (Bercik *et al*, 2010 ; Desbonnet *et al.*, 2010 ; Messaoudi *et al*, 2011). Il a été montré que les probiotiques agissent sur les deux principales voies impliquées dans les comportements de dépression et d'anxiété, à savoir la production de cytokines et de tryptophane (Rook *et al.*, 2012). Chez l'homme, l'utilisation de probiotiques permet de réduire les concentrations en cortisol. Ces diminutions ont un effet sur les comportements émotionnels comme l'anxiété et la dépression, mais également sur des maladies impliquant des troubles du développement neurologique, comme certaines formes d'autisme et la schizophrénie (Finegold *et al*, 2002 ; Neufeld & Foster, 2009 ; Cryan & Dinan, 2012).

La mise en évidence d'un effet bénéfique des probiotiques sur la réactivité émotionnelle des cailles japonaises constitue une avancée très intéressante en termes de bien-être animal et de production. En effet, l'anxiété est un paramètre important qui provoque de profonds bouleversements chez l'individu et contribue à la détérioration de son état général (Torok *et al*, 2008).



### ***Pourquoi ces effets sont-ils faibles ?***

Nos résultats montrent qu'il existe des effets positifs du probiotique sur la réactivité émotionnelle de la caille japonaise, mais ces effets sont faibles et n'apparaissent que dans certaines lignées. Plusieurs explications peuvent être envisagées. Tout d'abord, il a été mis en évidence l'existence d'un impact du génotype et du sexe de l'individu sur la composition de son microbiote. Ensuite, le choix des tests de réactivité émotionnelle est primordial, il est donc important de se questionner sur la pertinence des tests retenus. Enfin, nous faisons l'hypothèse que les probiotiques apportent des effets bénéfiques à l'animal seulement lorsqu'il est placé dans des conditions sous-optimales. Nos conditions en station expérimentales n'auraient pas été assez adverses pour permettre de révéler les effets des probiotiques.

Un premier élément d'explication peut-être l'impact des variations individuelles, puisque nous avons mis en évidence un effet du probiotique sur la réactivité émotionnelle qui est fonction de la lignée et du sexe étudié. Ce constat soulève la question de l'importance du génotype de l'hôte et sa sensibilité à des modifications du microbiote. Il a d'ailleurs été montré qu'il existe des liens entre le génotype de l'hôte et la composition de son microbiote digestif (Hufeldt *et al.*, 2010). La composition du microbiote intestinal de deux individus apparentés élevés dans des conditions différentes, est supérieure à celle de deux individus non apparentés élevés dans des conditions similaires (Pissavin *et al.*, 2012).

L'importance du génotype de l'hôte pourrait expliquer les différences que nous obtenons entre nos lignées, et par conséquent notre incapacité à conclure sur des effets globaux des probiotiques chez la caille japonaise. En effet, dans notre expérimentation, les bénéfiques du probiotique sont visibles plus particulièrement sur les cailles de la lignée STI. Compte tenu de leur réactivité émotionnelle initiale plus importante, on aurait pu penser que le probiotique aurait des effets plus massifs sur la lignée LTI qui est plus émotive. Or, pour cette lignée, seule l'activité dans le dispositif de place-préférence est améliorée par le probiotique. Il semble donc que la réactivité émotionnelle de ces cailles soit trop élevée pour pouvoir être modulée par le probiotique. Les cailles STI, quant à elles, sont moins réactives mais ont une activité parasympathique importante et par conséquent une activité du nerf vague plus grande (Valance *et al.*, 2007). Une étude montre que le nerf vague est sensible à l'action des lactobacilles, lui-même responsable de répercussions sur les comportements émotionnels (Bravo *et al.*, 2011). Ces éléments expliqueraient pourquoi les effets diffèrent entre les lignées.

Des facteurs comme le sexe des individus peuvent aussi intervenir dans la modulation des réactions obtenues chez la caille. Chez l'homme, il a été montré qu'il existe des différences de composition entre les microbiotes des femmes et des hommes. Les hommes ont des quantités de bactéries de la famille des *Bacteroidetes*, *Clostridia* et *Proteobacteria* plus importantes que les femmes (Mueller *et al.*, 2006 ; Li *et al.*, 2008). Il est donc possible que les probiotiques soient plus efficaces sur certains profils plus sensibles aux variations. Le sexe de l'hôte constituerait un facteur de variabilité de l'action de ces suppléments alimentaires.



La faible amplitude des effets observés ne semble pas pouvoir être attribuée à la nature des tests de réactivité émotionnelle utilisés. En effet, ceux-ci ont été validés pour leurs facultés à évaluer la réactivité émotionnelle (Forkman *et al.*, 2007). La distribution de nos tests au cours de la vie de nos individus a été élaborée en fonction de contraintes techniques et dans le but d'optimiser le temps imparti. L'âge est connu pour influencer de façon très prononcée sur la réactivité des individus en situation de test (Forkman *et al.*, 2007). On peut imaginer qu'un test qui ne montre pas de différence significative à un certain âge aurait pu en révéler à un autre moment de la vie de l'animal. Une alternative aux tests comportementaux pour évaluer le statut émotionnel des individus consiste en la mesure du taux de corticostérone plasmatique. Cet indicateur endocrinien de stress est le plus utilisé chez les oiseaux (Hill, 1983). Toutefois, les prises de sang induisent un stress aigu important pour les oiseaux. Une autre alternative est le dosage de corticostérone dans les fientes. Cette technique est maîtrisée chez le poulet de chair, mais n'est pas encore au point chez la caille japonaise (Hirschenhauser *et al.*, 2012).

La troisième raison susceptible d'expliquer le faible écart de réactivité et la variabilité de ces écarts est liée aux bonnes conditions d'élevage des animaux expérimentaux. La majorité des études qui montrent un effet du microbiote digestif sur la réactivité émotionnelle s'effectue en présence de bactéries pathogènes. En effet, ce type de bactéries déclenche un déséquilibre sur le microbiote initial et provoque des inflammations gastro-intestinales qui s'accompagnent de changements dans les comportements émotionnels. Il a été montré que l'injection d'une bactérie pathogène de type *Campylobacter* chez la souris provoque une augmentation de l'anxiété et une diminution du comportement d'exploration quelques heures après l'infection (Goehler *et al.*, 2005 ; Bercik *et al.*, 2010). Chez l'homme, les probiotiques ont des effets sur les maladies impliquant des troubles du développement neurologique. Or, ces maladies seraient une conséquence de l'infection par des bactéries pathogènes au cours de la période périnatale (Mittal *et al.*, 2008). Dans nos conditions d'élevage, les animaux n'ont pas été soumis à de tels pathogènes, ce qui n'a sans doute pas permis la pleine expression du pouvoir protecteur du probiotique.

Lorsqu'un oiseau d'élevage se trouve en conditions stressantes, son écosystème intestinal est bouleversé (Knarreborg *et al.*, 2002 ; Scupham *et al.*, 2008 ; Torok *et al.*, 2008). En appliquant une série de stimulations répétées négatives, nous espérons dégrader les conditions d'élevage des animaux et ainsi engendrer des modifications du microbiote. Ces stimulations négatives ont des effets néfastes en termes de croissance et d'augmentation de la réactivité émotionnelle chez les cailles japonaises (Favreau-Peigne *et al.*, 2011 ; Laurence *et al.*, 2012). Par contre, pour des raisons de temps, cette procédure n'a été réalisée que sur cinq jours au lieu des trois semaines comme décrit dans les publications (Calandreau *et al.*, 2011 ; Laurence *et al.*, 2012). Cette période stressante n'a pas permis de faire diverger les comportements des lignées de façon ostensible. On peut alors penser que cette période n'a pas été suffisante pour induire un état de stress chez les animaux.

Plusieurs facteurs sont à prendre en compte dans l'étude des effets du microbiote intestinal sur le comportement émotionnel. Le génotype, le sexe et les conditions d'élevage sont trois



facteurs importants qui interviennent dans la variabilité des effets des probiotiques. Ils pourraient ultérieurement faire l'objet d'études à part entière compte tenu de leurs implications sur la composition du microbiote.

### ***Effets contrasté du probiotique sur le développement corporel***

Contrairement à la réactivité émotionnelle, la croissance pondérale n'a pas été affectée par le probiotique. Pourtant, ce probiotique est connu pour améliorer les performances zootechniques des poulets de chair (Temim *et al.*, 2009 ; Alkhalaf *et al.*, 2010), ainsi que certaines caractéristiques qualitatives de l'œuf chez la poule pondeuse (Mikulski *et al.*, 2012). Notre expérimentation avait pour objectif principal d'évaluer l'effet des probiotiques sur la réactivité émotionnelle des individus. Il est évident qu'il faudrait recueillir des informations complémentaires, par exemple, l'indice de consommation des animaux pour mieux évaluer l'effet du probiotique dans nos conditions d'élevage.

Il existe sans doute un effet du probiotique sur la maturation sexuelle. Cet avancement de la maturité est suggéré par les différences de motivations sexuelles mesurées sur le tapis roulant. En effet, les mâles traités de la lignée CTI semblent plus motivés sexuellement car ils ont parcouru des distances plus importantes pour tenter de rejoindre les femelles. Ces différences de motivations sexuelles, selon le traitement, avaient déjà été trouvées sur les animaux de la lignée STI lors de l'expérimentation préliminaire réalisée sur les cailles avec ce même probiotique (Leterrier, 2012, *Données personnelles.*). Dans l'avenir, il serait nécessaire de réaliser des quantifications de la maturité sexuelle *via* une mesure des gonades.

### ***Effets bénéfiques des probiotiques sur la mémoire de travail***

La diminution de la réactivité émotionnelle des cailles s'accompagne d'une amélioration de certaines capacités de mémorisation. L'amélioration que nous avons mise en évidence concerne la mémoire de travail. Nous l'avons évaluée grâce au test des pots.

L'effet du microbiote intestinal sur les performances de mémoire des individus a déjà été mis en évidence chez les rongeurs. Comme nous l'avons mentionné, une augmentation de la diversité microbienne induite par l'alimentation peut améliorer les performances de mémoire à long terme et de travail (Li *et al.*, 2009). Par ailleurs, l'utilisation d'un probiotique permet de restituer la mémoire de travail de souris dont les performances ont été dégradées lors d'infection par une bactérie pathogène (Gareau *et al.*, 2011).

La difficulté majeure des tests de capacités cognitives est de s'assurer que les individus ont bien compris la tâche qui leur est demandée. Dans notre test, peu d'individus ont été éliminés des analyses, car peu ne se déplaçaient pas dans le dispositif ou ne mangeaient pas les vers de



farine dans les pots. On peut donc considérer que ce test est adapté à notre modèle d'étude car les animaux ont répondu à la question posée.

Lors de la recherche des vers de farine, un individu doit se souvenir des pots qu'il a visités et se servir de cette information pour parvenir à les manger tous sans réaliser de revisites inutiles des pots. Au cours de ce test, deux principales catégories d'erreurs sont rencontrées : des erreurs immédiates et des erreurs différées dans le temps. Le premier type d'erreur ne fait pas intervenir la mémoire de travail, mais relève plutôt d'une stratégie d'exploration différente qui consiste à vérifier immédiatement la disparition définitive du ver de farine sans réfléchir aux pots visités. Le deuxième type d'erreur sollicite réellement la mémoire des animaux puisqu'il nécessite la visite d'au moins deux autres pots avant de revenir au pot initial. Nous avons montré une diminution du taux d'erreurs différées chez les cailles traitées des lignées LTI et STI.

La limite de la catégorie « erreurs différées » a été fixée à 3 pots sur 8. Compte tenu de l'agencement des pots, cette limite rend compte d'un vrai déplacement de l'individu. Les effets révélés à 3 pots persistent lorsque l'on place cette barre à 5 pots. Il n'existait pas de différence significative en termes de nombre de visites totales ou de nombre d'erreurs selon le jour du test. Cette stabilité nous indique que nous travaillons sur la mémoire de travail. En effet, une autre possibilité aurait été d'observer une amélioration des performances des individus sur les trois jours. Cette progression aurait alors plutôt fait penser à une mémoire de référence qui implique une utilisation de données postérieures pour réaliser une tâche.

L'utilisation du probiotique aurait pu influencer le taux d'erreur global. Néanmoins, la taille du dispositif n'est pas grande et donc l'espacement entre les pots est restreint. Dans ces conditions, il est probable qu'au cours du test les animaux aient alterné entre mémorisation et re-vérification systématique des pots. En effet, les pots n'étant pas très éloignés les uns des autres, l'énergie à fournir pour vérifier qu'un pot est vide est faible. Un dispositif plus grand aurait peut-être forcé les animaux à utiliser uniquement leurs capacités de mémoire de travail afin de ne pas effectuer de longues distances. Toutefois, les cailles sont des animaux très peureux et le choix du dispositif est primordial. En prenant un dispositif de test plus grand, le risque était que les individus ne se déplacent plus du tout compte tenu de l'environnement à explorer. La répartition des pots dans le dispositif a aussi son importance. Ils ont été placés en quinconce afin que l'individu soit obligé de faire des choix de déplacements et non de suivre simplement un alignement de pot linéaire.

Ces résultats sur la mémoire sont cohérents avec les modifications de la réactivité émotionnelle. Yerkes et Dodson (1908) ont mis en évidence une courbe qui montre l'importance de l'état de stress sur les performances cognitives (Yerkes & Dodson, 1908). Cette courbe en forme de « U inversé » traduit l'existence d'une zone centrale dans laquelle les performances des individus sont optimales. Aux extrémités, si les animaux sont très peu stressés, ou bien très stressés, leurs performances sont faibles. Une étude récente chez le cheval a confirmé que, dans le cas de la mémoire de travail également, les performances sont très dépendantes de l'état de stress de l'animal (Valenchon *et al.*, en révision) et suivent la

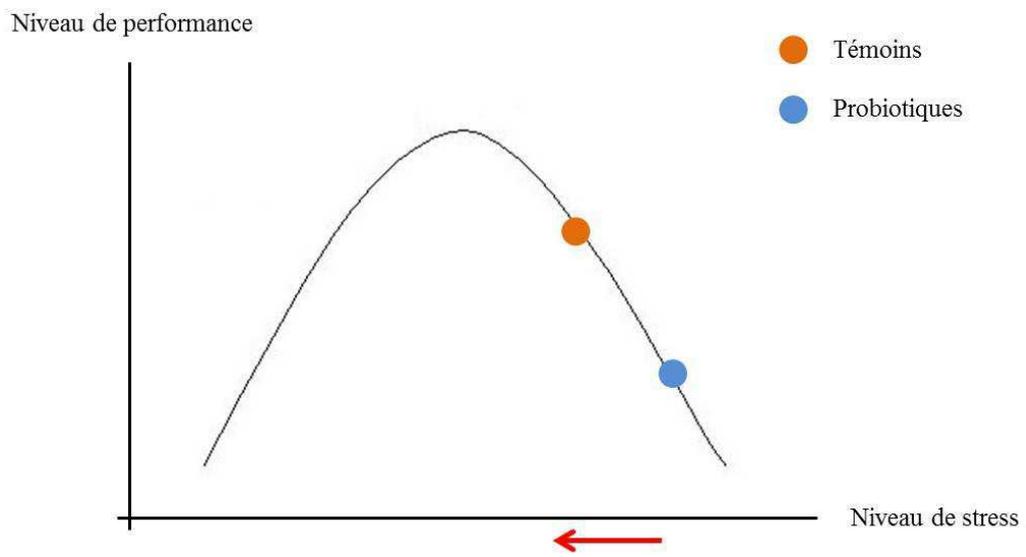


Figure 15 : Performances de cailles STI situées sur la courbe de Yerkes et Dodson.

règle de Yerkes et Dodson. Or, notre test de mémoire de travail constitue un événement très stressant pour l'animal. Par conséquent, dans le cas des cailles STI, les effets du probiotique, sur la réactivité de l'animal et sur la mémoire de travail sont conformes aux prédictions qui lient ces deux caractères lors de fortes sollicitations (Figure 15).

Le second test de mémoire réalisé avait pour objectif d'évaluer les capacités de mémoire à long terme des individus. Ce test est un conditionnement de place-préférence. Le renforcement positif choisi est un renforcement social. Il permet d'obtenir des effets plus marqués qu'en conditions alimentaire, la motivation pour la recherche d'un partenaire social étant très important chez cet animal grégaire. La durée du test de deux minutes a permis de révéler le choix des individus pour l'une des zones (Fauvel, 2011). Lors de notre expérimentation, nous n'avons pas pu évaluer la mémoire à long terme des animaux. En effet, les individus des deux lignées n'ont pas effectué de choix entre les deux compartiments. Une phase de conditionnement plus longue semble donc nécessaire pour améliorer le protocole de Fauvel (2001).

Les premiers résultats obtenus sur la mémoire de travail sont encourageants. Il est indispensable de poursuivre les recherches sur les éventuels bénéfices des probiotiques sur les capacités de mémoire des individus en réalisant des tests sur chacune des mémoires.



## Conclusion

L'objectif de ce mémoire était d'évaluer l'effet d'une modification du microbiote digestif sur le comportement émotionnel et sur les capacités de mémoire des cailles japonaises. La modification du microbiote a été provoquée par l'utilisation d'un probiotique. Grâce aux différents tests réalisés, nous avons validé l'hypothèse d'un rôle du microbiote sur la réactivité et la mémoire, et celle d'une interaction avec le génotype de l'hôte. En effet, le probiotique a permis de réduire la réactivité émotionnelle de certaines cailles. Grâce au test de mémoire de travail, nous avons montré que le probiotique utilisé permet d'améliorer les capacités cognitives des animaux. Cependant, ces modifications ne sont pas présentes de façon constante parmi les différentes lignées confirmant l'existence d'interactions entre le microbiote intestinal et le profil génétique de l'hôte.

La mise en place de stimulations négatives répétées a permis de mettre en évidence des effets plus fins du probiotique sur la réactivité émotionnelle. Ces résultats suggèrent la nécessité de conditions de vie sub-optimales pour révéler l'effet bénéfique des probiotiques. Par conséquent, le probiotique n'améliorerait pas les paramètres d'un individu élevé dans des conditions idéales. Ses effets ne seraient utiles qu'en conditions dégradées. On peut envisager la présence des effets bénéfiques mineurs en élevage standard qui sont difficilement perceptibles dans nos conditions de station expérimentale. Les probiotiques préféreraient des avantages en terme d'adaptabilité des animaux face à des situations stressantes. En élevage avicole, on peut par exemple penser aux changements d'environnement social et aux interventions humaines. La diminution de la réactivité émotionnelle *via* l'utilisation de probiotiques permettrait de réduire les effets de ses perturbations sur l'état général des animaux et sur ces performances zootechniques.

De façon plus générale, nous avons montré que les effets du microbiote sur le comportement des individus est également présent chez les oiseaux. Bien que le probiotique n'ait pu engendrer que des modifications mineures du comportement, il est probable que l'utilisation de bactéries pathogènes ou bien d'oiseaux axéniques permettent de révéler des modifications bien plus importantes en termes de réactivité émotionnelle et de capacités de mémoire. Enfin, il est envisageable de travailler sur la réversibilité des modifications comportementales et cognitives après arrêt du traitement. En effet, des études sur le transfert de flore chez la vache ont montré qu'au bout de quelques jours, le microbiote ruminal reprend sa composition initiale (Weimer *et al.*, 2010).

La méthodologie employée a permis de valider les hypothèses testées. L'un des points faibles de notre protocole expérimental est l'absence d'une quantification des modifications engendrées sur le microbiote intestinal. Il n'a pas permis d'établir d'effet causal entre les données comportementales et les caractéristiques du microbiote intestinal. Les fientes prélevées au cours de la manipulation pourront apporter des éléments de réponse après quantification du microbiote digestif. Pour des expérimentations futures, on veillera tout de même à exposer les animaux à des conditions d'expérimentations plus drastiques. Il faudra également compléter les études préliminaires réalisées sur la mémoire, en favorisant l'étude de plusieurs types de mémoire.



## Bibliographie

- Alkhalaf A., Alhaj M., Al-homidan I. (2010). Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 17, pp. 219-25.
- Baddeley A. (1992). Working Memory. *Science*, 255, pp. 556-59.
- Bendtsen K.M., Krych L., Sorensen D.B., Pang W., Nielsen D.S., et al (2012). Gut microbiota composition is correlated to grid floor induced stress and behavior in the BALB/c mouse. *Plos One*, 7, pp. e46231.
- Bercik P., Denou E., Collins J., Jackson W., Lu J., et al (2011). The Intestinal Microbiota Affect Central Levels of Brain-Derived Neurotropic Factor and Behavior in Mice. *Gastroenterology*, 141, pp. 599-U701.
- Bercik P., Verdu E.F., Foster J.A., Macri J., Potter M., et al (2010). Chronic Gastrointestinal Inflammation Induces Anxiety-Like Behavior and Alters Central Nervous System Biochemistry in Mice. *Gastroenterology*, 139, pp. 2102-U409.
- Boissy A., Bouissou M.F. (1995). Assessment of individual differences in behavioural reactions of heifers exposed to various fear-eliciting situations. *Applied Animal Behaviour Science*, 46, pp. 17-31.
- Bravo J.A., Forsythe P., Chew M.V., Escaravage E., Savignac H.M., et al (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, pp. 16050-55.
- Calandreau L., Favreau-Peigne A., Bertin A., Constantin P., Arnould C., et al (2011). Higher inherent fearfulness potentiates the effects of chronic stress in the Japanese quail. *Behavioural Brain Research*, 225, pp. 505-10.
- Cryan J.F., Dinan T.G. (2012). Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 13, pp. 701-12.
- Desbonnet L., Garrett L., Clarke G., Kiely B., Cryan J.F., Dinan T.G. (2010). Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression. *Neuroscience*, 170, pp. 1179-88.
- Désiré L., Boissy A., Veissier I. (2002). Emotions in farm animals: a new approach to animal welfare in applied ethology. *Behavioural Processes*, 20, pp. 165-80.
- Fauvel A. Effet d'une manipulation *in ovo* du taux de testostérone sur les capacités d'apprentissage chez des cailles Japonaises (*Coturnix japonica*) sélectionnées sur leur niveau de motivation sociale. Nouzilly: INRA, 2011. pp 1-16.
- Favreau-Peigne A., Boissy A., Calandreau L., Gaultier B., Constantin P., et al (2011). Unpredictable and repeated negative stimuli induce negative consequences on feeding behaviour in quail. In 18th European Symposium on Poultry Nutrition, Cesme. Turkey, October 31 - November 04, 2011, pp 199-201.
- Finegold S.M., Molitoris D., Song Y.L., Liu C.X., Vaisanen M.L., et al (2002). Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clinical Infectious Diseases*, 35, pp. S6-S16.
- 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, pp. 340-74.
- Gallup G.G. (1974). Genetic influence on tonic immobility in chickens. *Animal Learning and Behaviour*, 2, pp. 145-47.
- Gareau M.G., Wine E., Rodrigues D.M., Cho J.H., Whary M.T., et al (2011). Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut*, 60, pp. 307-17.
- Gerard P., Brezillon C., Quere F., Salmon A., Rabot S. (2008). Characterization of Cecal microbiota and response to an orally administered Lactobacillus Probiotic strain in the broiler chicken. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 14, pp. 115-22.
- Goehler L.E., Gaykema R.P., Opitz N., Reddaway R., Badr N., Lyte M. (2005). Activation in vagal afferents and central autonomic pathways: early responses to intestinal infection with *Campylobacter jejuni*. *Brain Behavior and Immunity*, 19, pp. 334-44.
- Heijtz R., Wang S., Anuar F., Qian Y., Bjorkholm B., et al (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, pp. 3047-52.
- Hill J.A. (1983). Indicators of Stress in Poultry. *Worlds Poultry Science Journal*, 39, pp. 24-32.

- Hirschenhauser K., Spreitzer K., Lepschy M., Kotschal K., Möstl E. (2012). Excreted corticosterone metabolites differ between two galliform species, Japanese Quail and Chicken, between sexes and between urine and faecal parts of droppings. *Journal of Ornithology*, 153, pp. 1179-88.
- Hufeldt M.R., Nielsen D.S., Vogensen F.K., Midtvedt T., Hansen A.K. (2010). Variation in the Gut Microbiota of Laboratory Mice Is Related to Both Genetic and Environmental Factors. *Comparative Medicine*, 60, pp. 336-42.
- Jones R.B. (1986). The Tonic Immobility Reaction of the Domestic Fowl - a Review. *Worlds Poultry Science Journal*, 42, pp. 82-96.
- Kim J.S., Ingale S.L., Kim Y.W., Kim K.H., Sen S., et al (2012). Effect of supplementation of multi-microbe probiotic product on growth performance, apparent digestibility, cecal microbiota and small intestinal morphology of broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96, pp. 618-26.
- Knarreborg A., Simon M.A., Engberg R.M., Jensen B.B., Tannock G.W. (2002). Effects of Dietary Fat Source and Subtherapeutic Levels of Antibiotic on the Bacterial Community in the Ileum of Broiler Chickens at Various Ages. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, pp. 5918-24.
- Lalonde R., Strazielle C. (2009). The relation between open-field and emergence tests in a hyperactive mouse model. *Neuropharmacology*, 57, pp. 722-4.
- Laurence A., Houdelier C., Petton C., Calandreau L., Arnould C., et al (2012). Japanese Quail's Genetic Background Modulates Effects of Chronic Stress on Emotional Reactivity but Not Spatial Learning. *Plos One*, 7, pp.
- Li M., Wang B., Zhang M., Rantalainen M., Wang S., et al (2008). Symbiotic gut microbes modulate human metabolic phenotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, pp. 2117-22.
- Li W., Dowd S.E., Scurlock B., Acosta-Martinez V., Lyte M. (2009). Memory and learning behavior in mice is temporally associated with diet-induced alterations in gut bacteria. *Physiology & Behavior*, 96, pp. 557-67.
- Mace D.D., Kraemer P.J., Akins C.K. (1996). Conditioned Place Preference in 12-Day-Old Japanese Quail. *Developmental Psychobiology*, 4, pp. 245-54.
- Messaoudi M., Violle N., Bisson J.-F., Desor D., Javelot H., Rougeot C. (2011). Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in healthy human volunteers. *Gut microbes*, 2, pp. 256-61.
- Mikulski D., Jankowski J., Naczmski J., Mikulska M., Demey V. (2012). Effects of dietary probiotic (*Pediococcus acidilactici*) supplementation on performance, nutrient digestibility, egg traits, egg yolk cholesterol, and fatty acid profile in laying hens. *Poultry Science*, 91, pp. 2691-700.
- 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, pp. 25-38.
- Mittal V.A., Ellman L.M., Cannon T.D. (2008). Gene-environment interaction and covariation in schizophrenia: the role of obstetric complications. *Schizophrenia Bulletin*, 34, pp. 1083-94.
- Mueller S., Saunier K., Hanisch C., Norin E., Alm L., et al (2006). Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, pp. 1027-33.
- Neufeld K.A., Foster J.A. (2009). Effects of gut microbiota on the brain: implications for psychiatry. *J Psychiatry & Neuroscience*, 34, pp. 230-31.
- Pelhaitre A., Mignon-Grasteau S., Bertin A. (2012). Selection for wheat digestibility affects emotionality and feeding behaviours in broiler chicks. *Applied Animal Behaviour Science*, 139, pp. 114-22.
- Pissavin C., Burel C., Gabriel I., Beven V., Mallet S., et al (2012). Capillary electrophoresis single-strand conformation polymorphism for the monitoring of gastrointestinal microbiota of chicken flocks. *Poultry Science*, 91, pp. 2294-304.
- Ramos A., Mormede P. (1998). Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 22, pp. 33-57.
- Rolfe R.D. (2000). The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *Journal of Nutrition*, 130, pp. 396s-402s.
- Rook G.A., Raison C.L., Lowry C.A. (2012). Can we vaccinate against depression? *Drug Discovery Today*, 17, pp. 451-8.
- Scupham A.J., Patton T.G., Bent E., Bayles D.O. (2008). Comparison of the cecal microbiota of domestic and wild turkeys. *Microbial Ecology*, 56, pp. 322-31.

- Sherman P.M., Ossa J.C., Johnson-Henry K. (2009). Unraveling mechanisms of action of probiotics. *Nutrition in Clinical Practice*, 24, pp. 10-14.
- Temim S., Hammami N., Bedrani L., Sahraoui L., Kaddour R., et al (2009). Evaluation De l'Efficacité Du Probiotique *Pediococcus Acidilactici* sur Les Performances De Croissance la Morphométrie et la Flore Lactobacillaire de l'Intestin du Poulet de Chair. *European Journal of Scientific Research*, 38, pp. 119-28.
- Torok V.A., Ophel-Keller K., Loo M., Hughes R.J. (2008). Application of methods for identifying broiler chicken gut bacterial species linked with increased energy metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, pp. 783-91.
- Valance D., Despres G., Boissy A., Mignon-Grasteau S., Constantin P., Leterrier C. (2007). Genetic selection on a behavioural fear trait is associated with changes in heart rate variability in quail. *Genes, Brain and Behavior*, 6, pp. 339-46.
- Weimer P.J., Stevenson D.M., Mantovani H.C., Man S.L. (2010). Host specificity of the ruminal bacterial community in the dairy cow following near-total exchange of ruminal contents. *Journal of Dairy Science*, 93, pp. 5902-12.
- Yerkes R.M., Dodson J.D. (1908). The relation of strength of stimulus to rapidity of habit-formation. *Journal of Comparative Neurology and Psychology*, 18, pp. 459-82.
- Yin Y., Lei F., Zhu L., Li S., Wu Z., et al (2010). Exposure of different bacterial inocula to newborn chicken affects gut microbiota development and ileum gene expression. *The Isme Journal*, 4, pp. 367-76.

## Sitographie

- Inserm (2012). Mémoire. <http://www.inserm.fr/thematiques/neurosciences-sciences-cognitives-neurologie-psychiatrie/dossiers-d-information/memoire>. (3 Mai 2013).



Diplôme : Ingénieur en Agronomie  
Spécialité : SAED  
Spécialisation / option : Recherche  
Enseignant référent : Catherine Disenhaus

Auteur(s) : Séverine PAROIS

Date de naissance\* : 13 Février 1990

Nb pages : 23 Annexe(s) : /

Année de soutenance : 2013

Organisme d'accueil : INRA de Nouzilly

Adresse : UMR 85 PRC – INRA Centre Val de Loire,  
37380 Nouzilly

Maître de stage : Christine LETERRIER

Titre français :

Effets d'un probiotique sur la réactivité émotionnelle et les capacités de mémoire de la caille japonaise (*Coturnix japonica*)

Titre anglais :

Effects of probiotics on emotional reactivity and memory abilities in Japanese quail (*Coturnix japonica*)

Résumé (1600 caractères maximum) :

Le microbiote intestinal influence les comportements émotionnels et les capacités cognitives des mammifères. Ces effets n'ayant pas été mis en évidence chez l'oiseau, nous avons entrepris cette étude chez la caille japonaise. Trois lignées avec des niveaux de réactivités émotionnelles très différents ont été testées : les LTI, et STI qui sont respectivement des lignées très émotive, et peu émotive, et la lignée CTI non sélectionnée. Pour modifier le microbiote, la moitié des animaux de chaque lignée a reçu un aliment supplémenté en probiotique, l'autre moitié n'a pas été traitée (témoin). Nous avons évalué la réactivité émotionnelle (test d'immobilité tonique et open field), la motivation socio-sexuelle (test du tapis roulant) et les capacités de mémoire de travail et de mémoire à long terme. Chez les cailles STI supplémentées, les durées d'immobilité tonique étaient plus faibles que celles des témoins (femelles,  $p=0,0083$ ) et on a montré un effet positif sur l'évolution de la réactivité entre les deux tests en open field (mâles,  $p=0,05$ ). Les LTI supplémentées ont eu une activité locomotrice plus importante dans le dispositif de mémoire à long terme (femelles,  $p=0,0210$ ). Les performances de mémoire de travail ont été améliorées par le probiotique chez les cailles LTI ( $p=0,0209$ ) et STI ( $p=0,0573$ ). Le probiotique n'a pas eu d'effet sur la croissance. En conclusion, le probiotique a des effets positifs sur la réactivité émotionnelle et sur la mémoire. Il faudra approfondir le lien entre ces caractéristiques importantes pour l'adaptabilité des animaux d'élevage et le microbiote.

Abstract (1600 caractères maximum) :

The intestinal microbiota influences the emotional behaviour and the cognitive abilities in mammals. We decide to study these effects in birds, through the Japanese quail model. Three lines of quails were tested. They have very different levels of emotional reactivity. The LTI line is very reactive whereas the STI is not. The CTI line is not selected on emotional behavior. In order to modify microbiota, half of the animal of each line received a feed supplemented with a probiotic, the other half received a standard feed (control). We measured the emotional reactivity (tonic immobility test, open field), the socio-sexual motivation (treadmill test) and the working memory and long-term memory abilities. In the STI supplemented quails tonic immobility durations was shorter than in controls and there was a positive effect on the progression of emotional reactivity between the two sessions of the open field test (males,  $p=0,05$ ). The LTI supplemented quail had a higher locomotive activity in the long term memory device (females,  $p=0,0210$ ). Working memory performances were improved by the probiotic in the LTI quails ( $p=0,0209$ ) and in the STI quails ( $p=0,0573$ ). Probiotic had no effect on growth. To summarize, the probiotic had beneficial effects on the emotional reactivity and memory. It is necessary to investigate the link between these characteristics and the microbiota, since they are pivotal to the coping abilities in farm animals.

Mots-clés : microbiote intestinal, probiotique, réactivité émotionnelle, apprentissage, caille japonaise