



# UNIVERSITÉ FRANÇOIS – RABELAIS DE TOURS

**ÉCOLE DOCTORALE « Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant »**

**UR83 Recherches Avicoles, Equipe SAQSE, F-37380 Nouzilly, France**

**THÈSE** présentée par :

**Julien RECOQUILLAY**

soutenue le : **12 Décembre 2014**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université François – Rabelais de Tours**

Discipline/ Spécialité : **Génétique Quantitative**

**Architecture génétique du comportement  
chez la Caille Japonaise et relations avec des  
caractères de production.**

**THÈSE dirigée par :**

**Mme LE BIHAN-DUVAL Elisabeth** Directrice de Recherches, INRA Val de Loire (Tours)

**Mme LETERRIER Christine** Directrice de Recherches, INRA Val de Loire (Tours)

**RAPPORTEURS :**

**Mme LE ROY Pascale**

Directrice de Recherches, INRA Rennes

**Mme MOISAN Marie-Pierre**

Directrice de Recherches, INRA Bordeaux

---

**JURY :**

**Mme LE ROY Pascale**

Directrice de Recherches, INRA Rennes

**Mme MOISAN Marie-Pierre**

Directrice de Recherches, INRA Bordeaux

**Mme HOUDELIER Cécilia**

Maître de conférences, Université de Rennes 1

**Mme LE BIHAN-DUVAL Elisabeth**

Directrice de Recherches, INRA Val de Loire (Tours)

**Mr ANDRES Christian**

Professeur des Universités, Université de Tours

*À ma famille et à tous ceux que j'ai pu rencontrer durant ces trois années tourangelles.*

## Remerciements

Le comble d'une thèse sur les comportements sociaux serait de ne pas commencer par rendre compte de toutes les interactions sociales et scientifiques qui lui ont permis de voir le jour. Car oui, les comportements sociaux interviennent dans l'écriture et la réalisation d'une thèse.

Cette thèse a été réalisée à l'**Unité de Recherche Avicole** du centre INRA Val de Loire, dans l'équipe **Sélection Avicole Qualité Sécurité Alimentaire Environnement (SAQSE)** grâce à une bourse de thèse financée par l'INRA et la Région Centre.

Je tiens à remercier **Denis Milan**, chef du département de Génétique Animale de l'INRA pour m'avoir accueilli dans son département et m'avoir accordé un mois supplémentaire de financement pour ma thèse.

Je remercie aussi **Catherine Beaumont**, présidente du Centre INRA Val de Loire, pour avoir soutenu ce projet de thèse.

Un grand merci à **Michel Duclos**, directeur de l'URA qui m'a permis d'effectuer cette thèse au sein de l'unité.

Je remercie particulièrement **Pascale Le Roy** et **Marie-Pierre Moisan** qui ont accepté la responsabilité d'être rapporteur de ces travaux et de me faire partager leur expérience et leur avis.

Je veux adresser mes remerciements aux autres membres du jury, **Cécilia Houdelier** et **Christian Andres** qui ont accepté de participer à ma soutenance.

Je remercie aussi les membres de mon comité de thèse, **Carole Moreno** et **Wim Crusio** pour leurs remarques et leurs suggestions durant le déroulement de la thèse.

Mes remerciements les plus profonds vont à **Elisabeth le Bihan-Duval** et **Christine Leterrier** qui ont toutes deux co-dirigé cette thèse, pris sur leur temps pour encadrer ce travail et sans qui cette thèse n'aurait pas eu lieu.

Je tiens aussi à remercier **Frédérique Pitel** qui en plus de faire partie de mon comité de thèse a eu la gentillesse de m'accueillir une semaine pour m'apprendre à construire une

carte génétique au sein de son équipe et de toujours répondre présente lorsque j'étais dans le besoin.

Je remercie aussi **Cécile Arnould** pour ses clarifications sur l'éthologie complexe et inattendue de si petites bêtes que sont les cailles japonaises et pour ses relectures et suggestions aussi bien dans le cadre des articles que du présent manuscrit.

Je remercie toute l'équipe de génétique avicole pour leur accueil chaleureux et plus précisément Christelle Hennequet-Antier pour sa patience lors de mes interrogations statistiques, Sandrine Mignon-Grasteau pour nos échanges osmotiques de stress d'avant-présentation, Thanh-Son Tran pour son aide lors de la détection de QTLs, sans oublier Marie Chabault, Emilie Raynaud, Séverine Urvoix et Fanny Calenge sans qui l'équipe ne serait pas au complet.

Un remerciement spécial à Nabeel Alnahhas, condisciple qui m'a supporté et patiemment écouté invectiver mon ordinateur durant les derniers mois de la thèse et à qui je souhaite une excellente dernière année.

Je tiens à remercier ceux sans qui je n'aurais pu ne serait-ce qu'arriver jusqu'à la thèse : ma famille et plus particulièrement mes parents dont le soutien m'a permis d'être ici. Un remerciement à Karine Cheng qui m'a supporté au quotidien durant ces trois années.

Il y a sans doute encore un grand nombre de personnes à remercier, et si votre nom n'est pas inscrit dans la liste, je m'en excuse et vous assure que vous avez toute ma gratitude pour la patience que vous avez pu avoir à mon égard et dieu sait qu'il en faut.

## Résumé

En complément de l'amélioration des conditions d'élevage, la prise en compte en sélection des capacités d'adaptation des animaux est une voie possible d'amélioration du bien-être des oiseaux en élevage. Notre étude a porté sur le contrôle génétique des comportements sociaux ou de peur et leur relation avec les caractères de production au sein d'un croisement de seconde génération entre deux lignées de cailles sélectionnées de façon divergente sur la motivation sociale. La démarche expérimentale a consisté en une analyse multivariée, phénotypique et génétique, des caractères en préalable à la détection des QTLs.

A l'exception du comportement sexuel et de l'agressivité, les corrélations phénotypiques entre les mesures comportementales étudiées sont faibles, soulignant l'intérêt d'une approche multicritère pour appréhender le comportement des animaux en élevage. A l'inverse, il existe des corrélations génétiques parfois marquées entre comportements et production. Ainsi, nos résultats alertent sur un lien génétique défavorable entre un poids élevé et une durée d'immobilité tonique longue, ou un nombre d'œuf élevé et des comportements agressifs. Dans le même temps, ils mettent en évidence des liens génétiques favorables entre une plus forte motivation sociale et la précocité de la ponte, ou entre une plus faible réactivité émotionnelle face à un objet nouveau et une production d'œufs plus importante.

L'étude a permis la construction de la première carte génétique de moyenne densité à l'aide de marqueurs SNP chez la caille. Avec 1479 marqueurs répartis sur 28 groupes de liaison, elle couvre un total de 3057 cM avec un intervalle moyen entre marqueurs de 2,1 cM. Sa comparaison avec le génome de la poule confirme une bonne conservation de la synténie entre les deux espèces, facilitant le transfert des résultats entre caille et poule. Les analyses de liaison à l'aide du logiciel QTLMAP ont révélé un total de 45 QTL dont 23 pour les caractères comportementaux et 22 pour ceux de production. Ce sont pour les critères de motivation sociale que les QTL sont les plus nombreux (15), les réponses au test du tapis roulant et de l'isolement social étant contrôlées par des loci différents. Par ailleurs, les analyses révèlent de possibles régions pléiotropes contrôlant à la fois la réactivité émotionnelle et le poids (sur les chromosomes 5 et 8) ou la sociabilité et l'âge au premier œuf (sur le chromosome 19). A ce stade, plusieurs gènes candidats en lien avec la sociabilité ont été suggérés.

Mots clés : Caille - Motivation sociale - Réactivité émotionnelle - QTL - Carte génétique

## Résumé en anglais

In addition of the improvement of the farming conditions', taking into account of the animal's adaptability during the selection is a possible path to the betterment of the bird's welfare in breeding's conditions. Our study focused on the genetic control of social behavior and fear and their relationships with production traits in a second generation crossing between two lines of quail divergently selected on their social motivation. The experimental procedure consisted of a phenotypic and genetic multivariate analysis of the traits prior to the detection of QTLs.

With the exception of sexual behavior and aggression, phenotypic correlations between the behavioral measures studied are small, emphasizing the importance of a multi-criteria approach to understand the behavior of farmed animals. Conversely, we observed sometimes marked genetic correlations between behaviors and production. Thus, our results warn of an unfavorable genetic link between high weight and high tonic immobility duration, or between a high number of eggs and aggressive behaviors. At the same time, they highlight favorable genetic links between stronger social motivation and earlier egg laying onset, or between a lower emotional reactivity to a novel object and a higher egg production.

The study allowed the construction of the first genetic map of medium density using SNP markers in quail. With 1,479 markers in 28 linkage groups, it covers a total of 3,057 cM with an average marker interval of 2.1 cM. Its comparison with the chicken genome confirms a good conservation of synteny between the two species, facilitating the transfer of results between quail and chicken. Linkage analyses using the software QTLMAP revealed a total of 45 QTLs with 23 QTLs for behavioral traits and 22 production traits. The QTLs for social motivation are the most numerous (15) and show that the responses to treadmill test and the social isolation are controlled by independent loci. Moreover, the analyses revealed several putative pleiotropic regions controlling both the emotional reactivity and the weight (on chromosomes 5 and 8) or the sociability and the age at first egg (on chromosome 19). At this stage, several candidate genes related to sociability were suggested.

Keyword: Quail - Social reinstatement - Emotionnal reactivity - QTL - Genetic map

# Table des matières

Remerciements .....	3
Résumé .....	5
Résumé en anglais .....	6
Table des matières .....	7
Liste des tableaux .....	10
Liste des figures .....	11
Introduction .....	12
Première partie : Revue bibliographique.....	15
A/ Importance de la domestication pour le comportement et l'élevage.....	16
1) Domestication et comportement animal. ....	16
a) La domestication. ....	16
b) Evolution des comportements due à la domestication : cas de la caille japonaise ( <i>Coturnix japonica</i> ) et de la poule domestique ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ). ....	20
2) Comportement, bien-être animal et production en élevage. ....	25
a) Bien-être animal : définition. ....	25
b) Stress, émotions et capacités d'adaptation : relations avec le bien-être animal.....	25
c) Bien-être animal en condition d'élevage.....	29
d) Conséquences sur la production liées au bien-être animal. ....	32
e) Comportement et bien-être animal.....	33
B/ Comment aborde-t-on l'étude génétique du comportement.....	35
1) Expériences de sélection. ....	35
a) Sélection pour la docilité chez le renard ( <i>Vulpes vulpes</i> ). ....	37
b) Sélection divergente pour le picage chez la poule domestique.....	40
2) Paramètres génétiques.....	43
a) L'héritabilité.....	43
b) Les corrélations génétiques.....	44
3) Détection de QTL. ....	45
a) Détection de QTLs liés à la docilité chez le renard argenté.....	45
b) Détection de QTLs liés au picage chez la poule pondeuse.....	46
4) Approches de génomique fonctionnelle.....	48
a) Résultats liés à la docilité chez le renard argenté.....	49
b) Résultats associés au picage chez la poule. ....	50

C/ Génomique des espèces avicoles.....	52
1) Phylogénie des espèces avicoles.....	52
2) Conservation de l'architecture génétique.....	55
a) Particularités des génomes aviaires.....	55
b) Stabilité des génomes aviaires.....	56
c) Le cas des Galliformes.....	57
d) Conservation des marqueurs génétiques.....	59
Deuxième partie : Objectifs et démarches expérimentales.....	61
A/ Objectifs généraux.....	62
B/ Démarches expérimentales.....	63
1) Modèle animal.....	63
2) Mesures comportementales.....	64
a) Motivation sociale.....	67
b) Réactivité émotionnelle.....	68
c) Comportements sexuels et agressifs.....	71
d) Activité générale en cage.....	73
3) Analyses génétiques.....	74
a) Choix du dispositif F2.....	74
b) Estimation des paramètres génétiques.....	76
c) Construction de la carte génétique.....	76
d) Détection de QTLs.....	77
Troisième partie : Résultats.....	80
A/ Mise en évidence de corrélations phénotypiques et génétiques entre caractères du comportement et de production.....	81
1) Objectifs et rappel des méthodes utilisées.....	81
2) Résultats et discussion.....	81
B/ Investigation de l'architecture génétique du comportement.....	88
1) Objectifs et rappel des méthodes utilisées.....	88
2) Résultats et discussion.....	88
Abstract.....	92
Background.....	93
Methods.....	94
Results.....	98



1- Sequencing and SNP detection .....	98
2- Linkage Map .....	99
3- Comparison with chicken .....	99
4- QTL Detection .....	100
Discussion .....	101
Conclusions .....	106
Competing interests .....	106
Authors' contributions .....	106
Acknowledgements .....	107
References .....	108
Tables .....	116
Table 1 - Length and average genetic distance between markers for each linkage group. ....	116
Table 2 - Descriptive statistics of traits studied in QTL detection.....	117
Table 3 - QTL for social, emotional and production traits in the F2 population. ....	118
Additional Figures 2 <sup>nd</sup> Article .....	120
Quatrième partie : Discussion générale.....	161
1) Comparaison avec les QTLs détectés chez la caille japonaise. ....	162
2) Architecture génétique du comportement.....	163
a) Caractères de motivation sociale.....	163
b) Caractères d'agressivité, de motivation sexuelle et de néophobie.....	164
3) Gènes candidats. ....	166
4) La sociabilité comme caractère de sélection.....	175
Conclusions et perspectives .....	177
Bibliographie.....	179
Résumé .....	200
Résumé en anglais.....	200

## Liste des tableaux

Tableau 1 : <b>Exemples d'expériences de sélection menées sur différents comportements (construit à partir de Jensen, <i>et al.</i>, 2008J et D'Eath, <i>et al.</i>, 2010.)</b> .....	36
Tableau 2 : <b>Gènes candidats identifiés dans les QTLs associés à la motivation sociale.</b>	173
Tableau 3 (Suite) : <b>Gènes candidats identifiés dans les QTLs associés à la motivation sociale.</b> .....	174

## Liste des figures

Figure 1 : Exemples de phénotypes domestiques chez le renard ( <i>Vulpes vulpes</i> ) et la caille japonaise ( <i>Coturnix japonica</i> ).....	19
Figure 2 : Approximations des périodes de domestication de différentes espèces (extrait de Mignon-Grasteau, <i>et al.</i> , 2005). .....	24
Figure 3 : Photographies d'exemples de réactions à l'homme de renards argentés ( <i>Vulpes vulpes</i> ) non-sélectionnés (A-C) et de renards sélectionnés pour la docilité (D-E). ...	39
Figure 4 : Arbre phylogénétique dessiné à partir des arbres présentés par Hackett, <i>et al.</i> , 2008 ; Wang, <i>et al.</i> , 2013. ....	54
Figure 5 : Chronologie des mesures comportementales et de production. ....	66
Figure 6 : Schéma du dispositif expérimental F2. ....	75
Figure 7 : Illustration des principes sous-jacents à la détection de QTLs. ....	79
Figure 8 : Schéma de la voie métabolique de la sérotonine (5-HT) (réalisé sous Ingenuity Pathway Analysis). ....	169
Figure 9 : Schéma de la voie métabolique de la dopamine (réalisé sous Ingenuity Pathway Analysis). ....	170

# Introduction

Les conditions d'élevage présentent un certain nombre de contraintes pouvant empêcher un individu d'exprimer son plein potentiel comportemental. Cela peut induire l'apparition de comportements délétères tels que les comportements agressifs, nuisant au bien-être des animaux. Le comportement d'un animal est en effet sa principale capacité de réponse face à des modifications de son environnement. L'adaptation des animaux aux conditions d'élevage est principalement contrôlée par deux axes comportementaux, la sociabilité et la peur (InMills and Faure, 1991). Cette adaptation, induite par le processus de domestication, est issue d'une modification du comportement des animaux afin qu'ils soient plus sociables et que leur réponse à la présence humaine soit plus faible (Price, 1998 ; Price, 1999). Cependant, les conditions d'élevage modernes présentent un environnement social particulier avec des effectifs souvent très importants, pouvant aller jusqu'à plusieurs milliers d'individus dans le cas des productions avicoles. Ces effectifs, du fait d'une instabilité sociale induite par la mise en contact avec un grand nombre d'individus inconnus, peuvent entraîner la mise en place d'un état de stress social nuisant au bien-être des animaux (Veissier and Boissy, 2007) et favorisant l'expression de comportements délétères tels que le picage ou dans le pire des cas, le cannibalisme chez les oiseaux (Mignon-Grasteau and Faure, 2002). De même, les comportements de peur, à cause, par exemple des mouvements de panique qu'ils peuvent entraîner, peuvent être associés à des problèmes de bien-être animal. Par conséquent, comprendre les facteurs intervenant dans l'expression des comportements sociaux et de peur est nécessaire à l'amélioration de l'adaptabilité des animaux aux conditions d'élevage et de leur bien-être.

La compréhension des capacités d'adaptation des animaux passe en partie par la mise en évidence des facteurs génétiques intervenant dans l'expression des caractères du comportement. Plusieurs études, réalisées chez différentes espèces dont l'Homme (Cesarini, *et al.*, 2008 ; Fowler, *et al.*, 2009) et la souris (Choleris, *et al.*, 2004 ; Choleris, *et al.*, 2006 ; Choleris, *et al.*, 2008) ont montré qu'un contrôle génétique partiel des comportements sociaux existait. Chez les espèces avicoles, la majorité des études génétiques sont axées sur les comportements de picages et de peur (Jensen, *et al.*, 2008) du fait de leur importance d'un point de vue agronomique. Pourtant, la possibilité d'un contrôle génétique de caractères sociaux a aussi été montrée chez la poule domestique et la caille japonaise par plusieurs expériences de sélection de lignées sur leur comportement sexuel (Siegel, 1965 ; Sefton and Siegel, 1975) et par la sélection de lignées divergentes de cailles japonaises sélectionnées sur leur motivation sociale (Mills and Faure, 1991). Il serait donc possible d'améliorer

l'adaptabilité des animaux à la forte pression sociale observée en conditions d'élevage par sélection. En préalable, il est nécessaire de comprendre les relations partagées entre la sociabilité et les autres composantes du comportement ainsi que dans le cadre de la production avicole, les caractères de production. En effet, plusieurs études ont présenté des éléments indiquant la possibilité de relation entre caractères du comportement et de production à un niveau phénotypique (Minvielle, *et al.*, 2002 ; Wright, *et al.*, 2010) et génétique (Schütz, *et al.*, 2002 ; Jensen, *et al.*, 2005 ; Wiren and Jensen, 2011)

L'utilisation de méthodes telles que les analyses de détection de QTLs (Quantitative Trait Loci) apportent de nouveaux éléments dans l'étude des facteurs génétiques intervenant dans l'expression des caractères comportementaux en permettant d'identifier les régions contrôlant le comportement. Chez les espèces avicoles, plusieurs études de détection de QTLs ont mis en évidence des régions chromosomiques contrôlant la peur (Poule : Buitenhuis, *et al.*, 2004 ; Schütz, *et al.*, 2004 ; Caille : Beaumont, *et al.*, 2005 ; Minvielle, *et al.*, 2005) et l'agressivité chez la poule domestique (Buitenhuis, *et al.*, 2003a ; Buitenhuis, *et al.*, 2003b ; Biscarini, *et al.*, 2010), alors que seuls quelques travaux indiquent des régions qui semblent affecter la sociabilité chez la poule (Schütz, *et al.*, 2002 ; Wiren and Jensen, 2011). Actuellement, aucune étude n'a encore cherché à identifier de façon exhaustive à l'échelle du génome les régions chromosomiques contrôlant les comportements sociaux chez les espèces avicoles.

L'objectif de cette thèse était donc de contribuer à une meilleure compréhension des capacités d'adaptation des oiseaux en étudiant les facteurs génétiques sous-jacents à leur capacité comportementale au sein d'un dispositif expérimental multi-caractères. Elle a tiré profit de l'existence d'un modèle génétique particulièrement original de deux lignées de cailles sélectionnées de façon divergente sur leur niveau de motivation sociale (Mills and Faure, 1991). L'analyse expérimentale mise en œuvre a consisté en une analyse multivariée, phénotypique et génétique, de critères comportementaux et de production mesurés au sein d'un croisement de seconde génération entre les deux lignées, en préalable à la détection des QTLs.

Première partie :  
Revue bibliographique

# A/ Importance de la domestication pour le comportement et l'élevage.

## 1) Domestication et comportement animal.

Au cours de mes travaux, je me suis intéressé aux relations pouvant lier des caractères d'intérêt tels que le poids des individus ou le nombre d'œufs pondus, avec des caractères comportementaux tels que la motivation sociale ou la réactivité émotionnelle chez une espèce aviaire d'intérêt agronomique, la caille japonaise (*Coturnix japonica*). Comprendre les relations entre caractères comportementaux et caractères de production passe en partie par la compréhension du processus de domestication et des modifications physiologiques et comportementales qu'il a pu induire. En effet, une part de ce que nous observons aujourd'hui chez les espèces d'élevage a pour base les lentes modifications consécutives à la domestication.

### a) La domestication.

Ce processus complexe, du fait des nombreux facteurs environnementaux et biologiques y intervenant, est le fondement de ce qui a permis l'élevage tel qu'on le connaît aujourd'hui. Nous en retiendrons ici deux définitions. La première, par Edward O. Price (Price, 1984), décrit la domestication comme « un processus par lequel une population animale s'adapte à l'homme et à l'environnement de captivité par des changements génétiques ayant lieu sur plusieurs générations et par des événements de développement induits par l'environnement affectant chaque génération ». La seconde définition, formulée par Hale (Hale, 1969), énonce que la domestication est la première étape de la sélection et doit donc être différenciée de l'appivoisement, du fait que le choix des reproducteurs (en passant par l'isolement des populations sauvages), les soins (abri, nourriture, protection contre les prédateurs...) et l'apport de nourriture sont plus ou moins contrôlés par l'homme. Ainsi des espèces d'élevage comme la vache, le mouton ou la chèvre sont des espèces domestiquées tandis que par exemple, les éléphants prélevés dans la faune sauvage et dressés dès le plus jeune âge restent des animaux sauvages, au mieux apprivoisés.



Ce qui ressort de ces deux définitions est que la domestication est un processus impliquant l'adaptation des animaux à un milieu de vie contrôlé par l'homme. Cette adaptation à un environnement contrôlé ainsi que la sélection effectuée sont sans doute à l'origine de ce qui a été décrit comme le « phénotype domestique », consistant en un ensemble de caractéristiques physiques et comportementales retrouvé dans pratiquement toutes les espèces animales domestiquées. On trouve parmi ces caractéristiques une diminution de la taille du cerveau (Diamond, 1999), une augmentation de la taille pour les petites espèces et inversement, une réduction de la taille chez les grandes espèces (Clutton-Brock, 1992), et une plus grande variabilité dans les colorations des individus avec notamment l'apparition de robes blanches ou hétérochromes. D'un point de vue comportemental, on observe que les espèces domestiquées présentent des réactions face aux changements d'environnement plus faibles que des espèces dites sauvages (Price, 1999) mais aussi des interactions envers l'homme plus calmes (Price, 1998). De plus, la domestication semble avoir provoqué des modifications de la physiologie des animaux, ceux-ci présentant une sexualité précoce comme observée chez des cailles élevées en captivité par Kawahara (Kawahara, 1972) ou chez le chien qui présente une maturité sexuelle plus précoce par rapport aux espèces de canidés sauvages (Fox, 1978). D'une façon assez surprenante, ces modifications complexes touchant plusieurs caractéristiques de l'organisme apparaissent assez rapidement au cours de la domestication. Ainsi, des renards uniquement sélectionnés sur leur réaction à l'Homme, afin de reproduire le processus de domestication, présentent une forte augmentation du nombre d'individus présentant un « phénotype domestique » dès la dixième génération de sélection (Trut, *et al.*, 2004, Figure 1 pour exemple).

L'apparition de ces changements morphologiques, comportementaux et physiologiques plus ou moins radicaux implique au-delà du simple facteur de sélection, l'intervention de plusieurs forces évolutives. Tout d'abord et même si cela peut sembler curieux, le principe de « sélection naturelle » continue de s'appliquer aux espèces domestiquées ou en cours de domestication, éliminant les individus ne pouvant se reproduire en captivité tout en favorisant au contraire ceux qui en sont aptes. Au contraire du phénomène de sélection naturelle, on observe un relâchement de la sélection sur toute une gamme de caractères tels que les réponses anti-prédation ou la coloration des individus. Ces caractères n'ayant plus un rôle décisif dans la survie de l'animal gagnent alors en variabilité au sein des populations domestiques (Price and King, 1968). Enfin, la dérive génétique et la

consanguinité résultant de la taille limitée des populations domestiques entraînent des variations aléatoires des fréquences alléliques (Beaumont, *et al.*, 2002).

Ces forces évolutives ont donc marqué, durant des générations, les génomes des espèces en cours de domestication. L'évolution des technologies de séquençage et d'études des génomes a permis de rechercher ces traces génétiques laissées par le processus de domestication. Par exemple, chez la poule domestique, l'analyse du génome a permis de mettre en évidence que le gène responsable du phénotype *Yellow Skin*, à savoir une peau de couleur jaune, ne pouvait pas provenir de l'espèce ancestrale de la poule domestique, la Red Junglefowl (*Gallus gallus*) (Eriksson, *et al.*, 2008). A partir de ces résultats, Eriksson et ses collaborateurs (2008), proposent que l'origine ancestrale de la poule domestique ne soit pas unique mais multiple du fait d'hybridation avec une autre espèce, la Grey Junglefowl (*Gallus sonneratii*). Cependant, d'après Flink et ses collaborateurs (Flink, *et al.*, 2014), l'introgession de ce gène au sein des lignées de poules domestiques serait plutôt récente, remontant à la période de modernisation des lignées commerciales et non aux origines de la domestication. D'autres travaux, utilisant des comparaisons d'ADN mitochondriaux et du chromosome Y, ont permis de montrer que des espèces comme le porc et la vache domestique avaient été domestiquées de façons indépendantes dans plusieurs régions du monde (Bruford, *et al.*, 2003 ; Larson and Burger, 2013). Au-delà du fait de comprendre l'Histoire d'une espèce, l'étude des mécanismes moléculaires sous-jacents à la domestication contribue à la compréhension de la relation entre phénotype et génotype et donc à l'étude des caractères sélectionnés au sein des lignées modernes. Les méthodes de détection de QTLs (Quantitative Trait Loci) ainsi que de traces de sélection sont notamment utilisées dans ce but (Gouveia, *et al.*, 2014 ; Pour revue d'autres méthodes :Wiener and Wilkinson, 2011).



Figure 1: **Exemples de phénotypes domestiques chez le renard (*Vulpes vulpes*) et la caille japonaise (*Coturnix japonica*).**

A : Renard roux sauvage. B : Renardeau présentant des oreilles tombantes. C : Pelage en pie. D : Queue recourbée. E : Photographie de trois cailles japonaises mâles avec à gauche la caille sauvage, au milieu la caille domestique et à droite un individu de la première génération de croisement entre caille domestique femelle et caille sauvage mâle. Les photographies sont extraites des articles de Trut, *et al.*, 2009 et Chang, *et al.*, 2009.

b) Evolution des comportements due à la domestication : cas de la caille japonaise (*Coturnix japonica*) et de la poule domestique (*Gallus gallus domesticus*).

La caille japonaise (*Coturnix japonica*) et la poule domestique (*Gallus gallus domesticus*) sont deux espèces dont la domestication présente plusieurs différences. En effet, la poule a été domestiquée il y a environ 8000 ans avant notre ère en Asie du Sud et du Sud-Est (Liu, *et al.*, 2006), le Red Junglefowl étant considéré comme l'espèce ancestrale de la poule domestique (Fumihito, *et al.*, 1994) bien qu'une controverse existe quant à la possibilité d'une origine multiple (Eltanany and Distl, 2010). Ceci en fait la première espèce aviaire domestiquée. Pour référence, le chien aurait été domestiqué il y a environ 14000 ans avant notre ère, tandis que la vache, le porc, le mouton et la chèvre auraient été domestiqués entre 10000 et 8000 ans avant notre ère (Mignon-Grasteau, *et al.*, 2005 et Figure 2 pour revue). La caille japonaise (*Coturnix japonica*), en revanche, est une espèce dont la domestication semble récente par rapport à ces échelles de temps. En effet, il est actuellement couramment admis que la domestication de la caille a commencé au Japon, les premières traces écrites à ce sujet remontant au XII<sup>ème</sup> siècle, principalement dans un but de divertissement, les cailles étant alors sélectionnées pour leur chant (Howes, 1964). Il existe cependant une autre hypothèse indiquant une domestication plus ancienne mais toujours relativement récente ayant eu lieu en Chine aux environs de 770 ans avant J.C., dans le cadre de divertissement comme le chant ou le combat (Chang, *et al.*, 2005). Ce n'est qu'après les années quarante et la fin de la Seconde Guerre Mondiale qu'une sélection de cailles japonaises basée sur la production de viande et d'œufs a été lancée au Japon. Chez ces deux espèces aviaires ayant une histoire de domestication ancienne ou au contraire récente, l'étude de leurs modifications physiques et comportementales permet de mieux comprendre les impacts de la domestication et de la sélection. Les changements physiques constatés chez la caille sont moins importants que ceux qui peuvent être observés chez la poule et ses nombreuses races aux plumages et aux attributs physiques différents. En effet, bien que les cailles japonaises domestiques soient plus grosses et aient une ponte plus abondante et précoce que les cailles japonaises sauvages (Kawahara, 1972), le plumage sauvage reste conservé malgré la présence de nombreux mutants aux colorations variées chez les individus sauvages (Cheng and Siegel, 1990). Bien

évidemment, les comportements de ces deux espèces ont été modifiés au cours du processus de domestication, notamment au niveau des interactions entre individus.

#### -Structure sociale.

Bien que la caille japonaise et la poule domestique présentent des schémas comportementaux proches, les deux espèces présentent à l'état sauvage des structures sociales bien différentes. En effet, on a pu observer chez le coq doré (ou coq bankiva ou Red Junglefowl en anglais), l'espèce ancestrale de la poule domestique (Fumihito, *et al.*, 1994), que les individus vivant en semi-liberté constituent des groupes, allant de 4 à 30 individus adultes des deux sexes, basés sur un modèle de harem avec un mâle dominant défendant le territoire. Au sein de ces groupes, les jeunes mâles subordonnés sont tolérés, au contraire des mâles plus âgés que le mâle dominant chasse de son territoire. Enfin, au sein de ces groupes, les femelles établissent leur propre hiérarchie (Guhl, 1953 ; Collias and Collias, 1996) tout en étant passivement subordonnées au mâle dominant. La structure sociale de la caille japonaise sauvage est contrôlée par les cycles de reproduction de l'espèce. Ainsi, durant les périodes reproductrices, les cailles migrent ou établissent des territoires de reproduction. Ces territoires toujours établis par les mâles contiennent alors un nombre variable d'individus, les relations entre les femelles et les mâles ont aussi bien été décrites comme monogames que polygames, laissant supposer une forme de monogamie avec des copulations opportunistes hors de la paire monogame (Mills, *et al.*, 1997). En revanche, hors des saisons de reproduction notamment la migration hivernale, les cailles forment de larges troupes brisant les paires reproductrices.

#### -Interactions entre individus.

Les interactions entre individus dépendent de plusieurs facteurs environnementaux tels que l'espace et l'utilisation des ressources. Ainsi chez le coq doré, les interactions entre mâles sont essentiellement compétitives, notamment durant les périodes de reproduction (Collias and Collias, 1996) où les mâles s'affrontent pour la dominance au sein d'un groupe. En général, les mâles subordonnés sont tolérés hors des périodes de reproduction. La structure sociale parallèle observée chez les femelles semble plus stable et non régulièrement remise en cause bien qu'il y ait toujours une femelle dominante les autres au sein du groupe (Hale, 1969). Les interactions entre mâles et femelles semblent se limiter aux périodes de comportements

nuptiaux, les cas de conflits entre les individus des deux sexes étant rares du fait de l'établissement rapide d'une hiérarchie bâtie autour du mâle dominant (Rushen, 1982). Chez la poule domestique et notamment, la poule pondeuse, un comportement social équivalent à celui du coq doré a pu être observé lorsque les animaux étaient élevés en petits groupes (Rushen, 1982 ; Vaisanen, *et al.*, 2005). De plus, des travaux sur les comportements synchrones, c'est-à-dire « un comportement durant lequel les animaux effectuent la même action à cause d'une stimulation mutuelle et par conséquent une certaine coordination » (Scott, 1956), ont montré que leur fréquence d'apparition n'avait pas été significativement altérée par la domestication (Eklund and Jensen, 2011). En revanche, en condition d'élevage classique, les animaux sont mis en présence d'importants groupes pouvant atteindre plusieurs milliers d'individus. Ce décalage entre les conditions de vie « naturelles » et les conditions actuelles d'élevage semble amener des adaptations du comportement des animaux à ces environnements particuliers. En effet, des études menées chez la poule pondeuse (Hughes, *et al.*, 1997 ; Nicol, *et al.*, 1999 ; Estevez, *et al.*, 2002 ; D'Eath and Keeling, 2003 ; Estevez, *et al.*, 2003) et le poulet de chair (Estevez 1997) ont montré qu'au sein de groupes suffisamment importants (plus de 60 individus), les agressions entre individus diminuaient. Cette diminution de l'expression de comportements antagonistes entre individus semble provenir de la mise en place d'un système social plus souple, au contraire du système basé sur une compétition et une hiérarchie stricte entre individus. Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer ce phénomène. Pagel et Dawkins (Pagel and Dawkins, 1997) proposent qu'en présence de forts effectifs, le nombre de compétiteurs rend les confrontations pour établir les relations de dominance trop coûteuses (perte d'énergie, risque de blessure et difficulté à se nourrir...) par rapport aux éventuels gains, d'où l'utilisation d'autres signaux comme la taille de l'animal et de sa crête (D'Eath and Keeling, 2003) indiquant le statut de l'animal. Estevez et al. (1997) proposent la mise en place d'un système « tolérant », supposant qu'avec l'augmentation du nombre de compétiteurs, tolérer ceux-ci serait plus rentable que les affronter. Andersen et ses collaborateurs (Andersen, *et al.*, 2004) proposent plutôt un schéma « le vainqueur prend tout » où les individus les plus petits/faibles éviteraient la confrontation au sein de larges groupes, laissant les individus les plus combattifs se battre pour les ressources. Une autre hypothèse ayant été avancée est celle de la formation de sous-unités au sein de vastes groupes. Ainsi même si le nombre d'individus est élevé, seulement une fraction forme des relations de hiérarchie entre individus. Ce modèle social a pu être observé chez le cochon d'Inde (Sachser, *et al.*, 1998) et des éléments indiquent une possible existence de ce

modèle chez la poule domestique (Grigor, 1995 ; Oden, *et al.*, 2000). Cependant, ces indices ne semblent pas suffisants pour affirmer de façon certaine l'établissement de sous-unités sociales chez la poule (D'Eath and Keeling, 2003 ; Rodenburg and Koene, 2007).

Un autre facteur différenciant les conditions de vie à l'état sauvage et celles en élevage est la présence d'individus des deux sexes et d'âges différents. En effet, aussi bien dans les phases d'élevage que celles de production, les poules pondeuses sont élevées en groupes homogènes d'un même sexe et d'un même âge contrastant avec les groupes hétérogènes observés dans le milieu sauvage. Cette séparation des sexes semble avoir des conséquences sur l'établissement des relations entre individus d'un même sexe car il a pu être observé chez la poule pondeuse que la présence de coqs juvéniles même à faibles effectifs réduisait l'expression de comportements agonistiques entre poules pondeuses (Oden, *et al.*, 1999, 2000 ; Oden, *et al.*, 2004). De même, il a été observé que des poules pondeuses élevées au sein de groupes mixtes semblaient être moins peureuses et plus sociables (Ghareeb, 2010). Il se peut aussi que les conditions d'élevage ou de sélection aient influencé les capacités des animaux à communiquer avec les individus du sexe opposé étant donné qu'il a été décrit chez les poulets de chair reproducteurs une incapacité à exprimer tout l'éventail des comportements de parades sexuelles (Millman, *et al.*, 2000) et une forte propension à l'agression des femelles.

Chez la caille japonaise, Schmid et Wechsler (Schmid and Wechsler, 1997) ont montré que des cailles japonaises domestiques élevées au sein de volières semi-naturelles présentaient un comportement proche de celui observé à l'état sauvage, avec des relations apparemment monogames entre mâles et femelles durant les périodes de reproduction et séparation des couples à la fin de la saison de reproduction. Les mâles présentent des comportements agonistiques envers les autres mâles pouvant aller jusqu'à provoquer des lésions, comme observé par Wechsler et Schmid (Wechsler and Schmid, 1998) lorsque plusieurs mâles sont placés dans une même cage. De même, d'après une étude comparative entre le comportement de cailles japonaises sauvages et de cailles domestiques par Chang et ses collaborateurs (Chang, *et al.*, 2009), les mâles domestiques présenteraient une agressivité plus importante. Enfin, les animaux reproducteurs sont le plus souvent placés dans une cage contenant un mâle et deux à trois femelles (Shanawany, 1994). Les conditions d'élevage pour la production d'œufs ou de viande sont équivalentes à celles observées chez la poule pondeuse ou le poulet de chair.

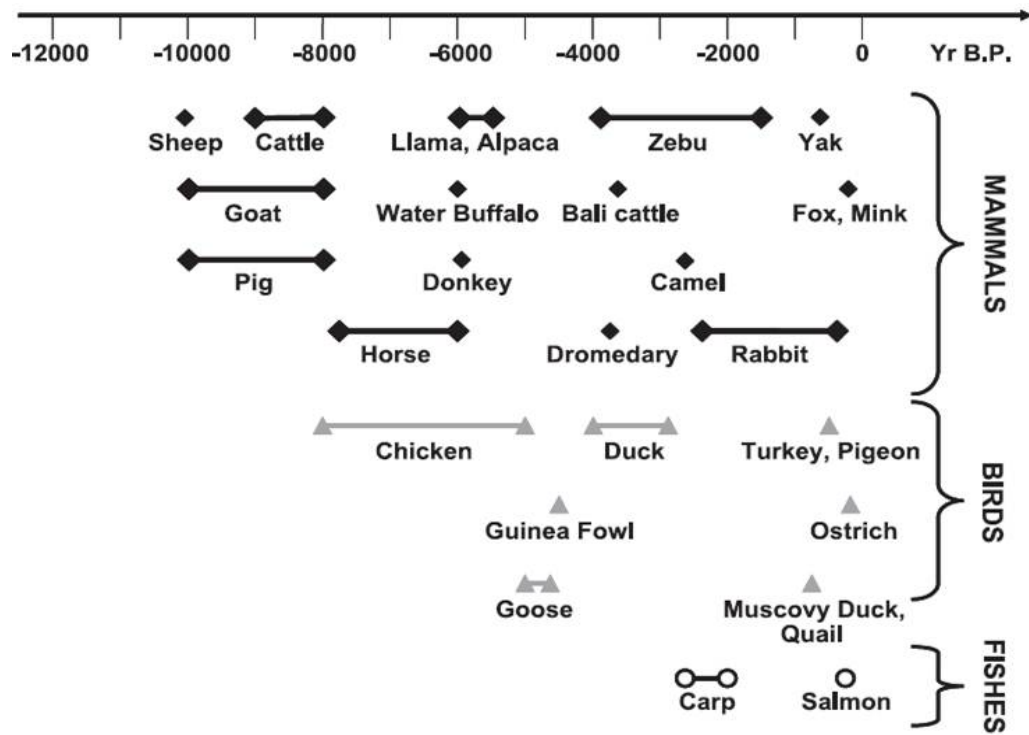


Figure 2 : Approximations des périodes de domestication de différentes espèces (extrait de Mignon-Grasteau, *et al.*, 2005).



## 2) Comportement, bien-être animal et production en élevage.

### a) Bien-être animal : définition.

Le bien-être animal est une notion dont la définition a connu plusieurs évolutions successives avec l'acquisition de connaissances scientifiques touchant aussi bien à la physiologie qu'au comportement animal. Une des premières définitions du bien-être animal a été donnée par Hughes (Hughes, 1976), décrivant le bien-être comme étant un état d'harmonie entre l'animal et son environnement, lui permettant d'être en bonne santé, aussi bien physique que mentale. Cette notion d'harmonie et donc d'état d'équilibre entre un individu et son environnement est retrouvée dans les définitions du bien-être de Carpenter (Carpenter, 1980) et de Broom (Broom, 1991). En effet, ils décrivent qu'un état de bien-être est atteint lorsque l'adaptation à une condition environnementale s'effectue à un faible coût énergétique (notion de « coping » de Broom (1991)) ou par l'absence de « souffrance » (Carpenter, 1980), un état de mal-être provenant alors d'une incapacité à s'adapter aux conditions environnementales. Parallèlement, Dawkins (Dawkins, 1983) apporte la notion que le bien-être d'un individu provient de l'absence d'émotions dites négatives (peur, frustration, etc.) et au contraire la présence d'émotions positives. Cette prise en considération de l'état émotionnel d'un individu est importante puisqu'elle va de pair avec la reconnaissance des animaux en tant qu'êtres sensibles et donc pourvus de capacités émotives (Duncan and Fraser, 1997). Cependant, cet aspect émotionnel du bien-être animal implique que toute situation vécue par un individu est perçue de façon subjective (Dawkins, 1983 ; Duncan, 2005). Les émotions ne sont alors plus une simple résultante d'un état de bien-être ou de mal-être à cause de fonctions biologiques altérées mais l'origine même de cet état (Duncan, 2002). Le bien-être peut donc être défini comme un état mental où l'animal se trouve dans un état émotionnel positif tout en palliant si besoin aux contraintes environnementales grâce à ses capacités d'adaptation, qu'elles soient physiologiques ou comportementales.

### b) Stress, émotions et capacités d'adaptation : relations avec le bien-être animal.

La notion de bien-être animal est fondée sur trois concepts clefs : le stress, les émotions et les capacités d'adaptation. Comme celle du bien-être animal, la définition du

« stress » a évolué, passant d'une simple réponse physiologique non-spécifique à un stimulus délétère (Selye, 1936, 1950) à, par exemple, une réponse activée uniquement face à des stimuli, dépassant les capacités de contrôle et/ou de prédiction d'un individu (Koolhaas et al., 2011 Koolhaas, *et al.*, 2011). Ces notions d'« attentes », de « contrôle » ou de « prédiction » se retrouvent dans la définition du bien-être animal que nous avons décrite car elles représentent l'aspect subjectif de la perception d'un agent stressant et de l'environnement qui lui est associé et montre donc la part émotionnelle du stress. Ceci nous amène à la définition d'une émotion décrite par Dantzer (Dantzer, 1988) comme une réponse affective intense, mais de courte durée, à un événement et une réponse physique spécifique (i.e un ensemble de mouvements identifiables). Une émotion est alors décrite comme ayant une composante comportementale (une action ou une posture), autonome (endocrinienne ou viscérale) et subjective (expérience émotionnelle antérieure ou ressentie à l'instant présent). Cependant, dans le cas d'accumulation de stimulations négatives, un état de stress peut s'instaurer. En effet, une émotion et les capacités d'adaptation répondant au stress étant spécifiques et de courtes durées (fuite, augmentation du rythme cardiaque...), l'inefficacité de ces réponses et/ou une stimulation chronique peut amener à la mise en place d'un état émotionnel prolongé altérant voire inhibant la réponse à un nouveau stimulus qu'il soit négatif ou positif (Harding, *et al.*, 2004 ; Doyle, *et al.*, 2011 ; Papciak, *et al.*, 2013). De plus, cet état émotionnel chronique, similaire à un état dépressif, semble aussi affecter les comportements hors des phases de stress où l'on observe alors une diminution de la locomotion et de la prise alimentaire chez plusieurs espèces telles que le porc (Boissy, *et al.*, 2001), les rats (Veenema, *et al.*, 2003) et les oiseaux (Carere, *et al.*, 2001). La mise en place de cet état émotionnel négatif peut provenir de plusieurs facteurs. Ainsi, Ursin et Eriksen (Ursin and Eriksen, 2004) décrivent l'« impuissance » ou « helplessness » (i.e l'impossibilité d'agir pour contrer le stimulus aversif) et l'« impossibilité » ou « hopelessness » (i.e l'individu peut agir contre le stimulus mais cela n'a aucun effet, voire un effet négatif) comme facteurs facilitant l'entrée dans un état similaire à la dépression lorsque l'individu est incapable de s'adapter. Ces deux facteurs environnementaux rappellent la notion de « contrôle » de l'environnement par l'individu décrite comme étant un des éléments majeurs du stress par Koolhaas et ses collaborateurs (Koolhaas, *et al.*, 2011). Cette importance du contrôle qu'un individu peut avoir ou non a été montrée par exemple chez l'Homme (Salvador, 2005 ; Salvador and Costa, 2009 ; Bogdan, *et al.*, 2012), le rat (Sapolsky, 1994 ; Fokkema, *et al.*, 1995), l'agneau (Greiveldinger, *et al.*, 2009) et le porc (Broom, 1987 Broom, 1987). Ainsi, privé de toute ou

une partie de sa capacité de contrôle sur l'environnement, l'individu serait moins à même de juger de l'aspect positif ou négatif d'un stimulus et perdrait sa capacité à répondre voire apprendre à répondre aux changements de l'environnement, d'où l'expression d'une forme d'apathie (Danchev and Stanevastoytcheva, 1995) ou d'anhédonisme (Willner, 2005). De plus, au sein d'un groupe, l'état émotionnel d'un individu affecte celui des autres membres. Ce phénomène qualifié de transfert émotionnel ou contagion émotionnelle a été mis en évidence chez l'Homme et les primates, mais aussi chez d'autres espèces telles que le rat ou le mouton (Spinka, 2012). Le principe est que le comportement, par exemple l'émission de vocalisations spécifiques chez le rat (Burman, *et al.*, 2007), ou la présence de marqueurs physiologiques comme des indices olfactifs dans les urines chez la vache (Boissy, *et al.*, 1998), entraînent l'apparition d'une réponse émotionnelle correspondante chez les autres individus. De même, les réponses au stress par l'axe Hypothalamo-Pituitaire-Surrénale (HPS) (i.e la sécrétion de glucocorticoïdes) sont modulées par l'environnement social d'un individu. Des relations de dominances/subordinations stables ainsi que des liens « affectifs » semblent réprimer l'axe HPS (DeVries, *et al.*, 2003). Cet impact des interactions sociales sur le stress semblent aussi se retrouver dans le cadre du développement de pathologies au sein des élevages (Proudfoot, *et al.*, 2012).

Il est cependant intéressant de préciser que si les émotions influencent les réactions de l'individu face à des modifications de son environnement, des variations interindividuelles dans les réponses physiologiques et comportementales ont pu être observées par plusieurs auteurs (Carere, *et al.*, 2001 ; Ruis, *et al.*, 2001) lors de l'exposition à des événements stressants successifs où une part des individus testés ne présentait pas les effets du stress chronique. Ceci indique que l'état émotionnel, en plus d'être le produit de l'environnement, a aussi une composante spécifique d'un individu. Certains auteurs décrivent cette composante personnelle en termes de stratégie d'adaptation ou « coping style » de l'individu. Un « coping style » est défini par Koolhaas et ses collaborateurs (1999) comme étant un ensemble de réponses comportementales et physiologiques face à un stress qui est caractéristique d'un groupe d'individus et cohérent dans le temps. L'existence de ces modes de réponses face à un élément stressant a pu être observée chez plusieurs espèces dont l'Homme (Ursin, 1980), le rat (Bohus, *et al.*, 1987), le porc (Ruis, *et al.*, 2000), la poule (Blokhuys and Metz, 1992 ; Korte, *et al.*, 1997) et la pieuvre (Mather and Anderson, 1993)(voir Koolhaas, *et al.*, 1999 pour revue). Le « coping style » d'un individu peut être décrit soit comme proactif ou réactif

(Koolhaas, *et al.*, 1999), soit être symbolisé par le couple « Faucon-Colombe » (Korte, *et al.*, 2005). Schématiquement, un individu proactif/faucon présentera un ensemble rigide de comportements et se montrera plus actif et agressif que les individus réactifs/colombes. Les modalités de réponse d'un individu proactif sont typiquement de type « Fuir ou Combattre ». Au contraire, les individus réactifs auront le plus souvent des réponses basées sur l'immobilité ou la dissimulation et montreront une exploration plus limitée mais plus rigoureuse de l'environnement. En résumé, des individus proactifs seront plus adaptés à un environnement stable et prévisible au contraire des individus réactifs qui s'adapteront mieux à un environnement plus instable et imprévisible (Bolhuis, *et al.*, 2004 ; Sih, *et al.*, 2004 ; Korte, *et al.*, 2005). Ainsi l'existence de ces différents styles d'adaptation implique qu'un événement perçu comme stressant par un individu ne le sera pas par un autre et ne nécessitera pas l'activation de ses capacités d'adaptation.

D'après ce que nous avons décrit précédemment, la relation entre émotions, capacités d'adaptation et bien-être animal ne semble tenir qu'à la capacité à résister aux effets du stress qu'il soit temporaire ou chronique. Un animal ne souffrant pas du stress est par conséquent dans un état de bien-être. Cependant cette relation n'est pas aussi simple. Une des explications possible de l'origine de cette impression réside dans un biais présent dans les travaux sur le bien-être animal. En effet, la plupart de ces travaux se font en situation de stress car les réponses comportementales et physiologiques à des émotions telles que la peur et la frustration sont plus aisément identifiables que celles issues d'émotions positives (Boissy, *et al.*, 2007). De plus, les émotions négatives surviennent dans des situations liées à un besoin et peuvent donc être aisément provoquées. Au contraire, les émotions positives s'exprimeraient lorsque la situation est opportune, correspondant à une recherche de confort ou de gratification motivant l'animal à exécuter le comportement ou l'action idoine (Fraser and Duncan, 1998). Des exemples de tels comportements ont pu être observés chez la vache où des individus passent une part de leur temps à se gratter contre des objets et apprécient la présence de brosses mécaniques (DeVries, *et al.*, 2007), chez le porc avec l'utilisation d'un mélange de sciure et de paille pour favoriser un comportement de fouille (De Leeuw and Ekkel, 2004), chez la poule avec l'expression de comportements de confort tels que le lissage des plumes (Zimmerman, *et al.*, 2011) et les comportements de jeu en général (Held and Spinka, 2011). Ainsi, même si l'absence de stress est un des facteurs fondamentaux d'une entrée dans un état de bien-être par l'animal, il ne s'agit pas de la seule condition. Enfin, le

stress n'est pas uniquement un vecteur de mal-être chez les êtres vivants. En effet, il ne faut pas oublier l'importance adaptative du stress. En effet, les différents mécanismes physiologiques du stress passent notamment par les axes Hypothalamo-pituitaire-surrénal (HPS) et Hypothalamo-pituitaire-gonadal (HPG), entraînant la libération de glucocorticoïdes ou d'hormones stéroïdiennes dans le sang (Handa and Weiser, 2014). La libération de ces hormones provoque des modifications du métabolisme afin de permettre la mobilisation des ressources énergétiques de l'organisme (Sapolsky, *et al.*, 2000 ; Myers, *et al.*, 2014). Les systèmes mis en jeu durant cette mobilisation ont des effets positifs et protecteurs sur une courte durée, cependant des activations successives ou sur une longue durée provoqueront des dommages sur l'organisme (McEwen, 1998 ; McEwen and Wingfield, 2003). Par exemple, durant une phase de stress, les glucocorticoïdes favorisent l'élévation du taux de glucose dans le sang en stimulant la glycogénolyse, la néoglucogenèse, la protéolyse ainsi que la lipolyse. Cependant, sur le long terme, une forte concentration sanguine en glucocorticoïdes favorise la dégradation musculaire, l'accumulation de graisse et l'apparition de symptômes diabétiques (Sapolsky, *et al.*, 2000). Ainsi, bien-être animal et stress ne sont pas uniquement deux concepts opposés mais deux états émotionnels interconnectés.

### c) Bien-être animal en condition d'élevage.

La prise en compte du bien-être animal est devenue un facteur fondamental dans le cadre de la production animale. En effet, le public se sent concerné tout autant par la qualité des produits qu'il consomme que par les conditions dans lesquelles les animaux ont été élevés, transportés et abattus (Miele, *et al.*, 2011). Ce besoin d'une production respectueuse du bien-être animal est relativement récent, remontant aux environs des années 50 avec l'émergence de mouvements sociaux et politiques au sein de l'Union Européenne et d'autres pays de l'Europe, soucieux de la question du bien-être animal. L'influence et l'importance de ces groupes ont considérablement augmenté vers la fin du XXème siècle et le début du XXIème. Avec cette préoccupation croissante du public envers le bien-être des animaux de rente, la législation européenne a mis en place des recommandations et des directives devant assurer un bon traitement des animaux (Miele and Lever, 2013).

Ces textes (voir Caporale, *et al.*, 2005 pour revue) ont en partie été basés sur les cinq libertés définies par le Farm Animal Welfare Council en 1992. Ces cinq libertés consistent en

une absence de faim et de soif par l'accès facile à l'alimentation et la boisson, une absence d'inconfort en fournissant un environnement adéquat, une absence de douleur, blessure ou maladie via des méthodes prophylactiques et le cas échéant, des soins rapides, une capacité à exprimer les comportements dits « normaux » de l'espèce grâce à un environnement adéquat et suffisamment spacieux, ainsi que la présence de congénères, et enfin une absence de peur ou de détresse en assurant des conditions de vie et/ou des traitements permettant d'éviter l'apparition de souffrances mentales. Ces cinq libertés sont assez intuitives et reflètent ce que la notion de bien-être signifie chez la plupart des personnes de la société occidentale (Duncan, 2002). Cependant la définition du bien-être animal donne lieu à de nombreuses interprétations. En effet, nous avons, dans la section précédente, donné une définition du bien-être animal dont nous estimons qu'elle décrit les différentes facettes de ce concept et cela sans a priori sur les facteurs à prendre en compte pour évaluer le bien-être animal. Néanmoins, cette définition est elle-même sujette à discussion au sein de la communauté scientifique et il en va de même avec d'autres acteurs de la société. Ainsi, des chercheurs, des éleveurs, des consommateurs ou des militants pour la cause animale ne mettront pas l'accent sur les mêmes éléments pour définir ce qu'est un état de bien-être chez l'animal et de fait ne se baseront pas sur les mêmes observations pour l'évaluer (Botreau, *et al.*, 2007 ; Fraser, 2008 ; Tuytens, *et al.*, 2014).

C'est pourquoi pour certains chercheurs, ces cinq points ne sont pas suffisants pour évaluer de façon sûre et objective le bien-être des animaux. Pour eux, ces libertés définies de cette façon, auraient un effet inverse sur le bien-être animal du fait de l'oubli de l'importance du stress en tant que moteur adaptatif. Des animaux à l'abri de tout agent stressant présenteraient alors d'autres problèmes à cause d'une sous-stimulation de leurs capacités d'adaptation telles que des réactions allergiques (Korte, *et al.*, 2007). D'autres auteurs proposent des méthodes différentes, prenant notamment en compte les aspects émotionnels du bien-être animal et leur appréciation tel que décrit par Désiré et ses collaborateurs (Desire, *et al.*, 2002), avec le protocole Welfare Quality® (Botreau, *et al.*, 2007).

Plus récemment, l'Organisation Internationale des Epizooties -OIE- a adopté « 10 Principes Généraux pour le Bien-être Animal » devant servir de guide pour améliorer le bien-être animal en conditions d'élevage et ce pour de multiples espèces (World Organisation for

Animal, 2012). Parmi ces dix principes, nous en retiendrons deux qui nous intéressent plus particulièrement :

-La sélection génétique devrait toujours prendre en compte la santé et le bien-être de l'animal.

-Les groupes sociaux des animaux devraient être gérés de façon à permettre les comportements sociaux positifs et limiter les blessures, la détresse et la peur chronique chez les animaux.

De façon globale, ces dix principes sont inspirés et déclinés de façon plus précise des cinq libertés énoncées par le Farm Animal Welfare Council, mettant simplement l'accent sur les pratiques en sélection génétique et les interactions entre les éleveurs et les animaux. Cela dit le comportement des animaux, et plus particulièrement les interactions sociales de ceux-ci est aussi mis en avant, ne les englobant pas simplement dans la notion de « comportement naturel ».

Enfin, les critères choisis et le poids qui leur est donné pour évaluer le bien-être animal sont aussi extrêmement importants, car une pondération différente de mêmes critères peut aboutir à des conclusions opposées (pour des exemples de comparaisons entre différents systèmes d'exploitations chez plusieurs espèces, voir Sutherland, *et al.*, 2013 pour revue). Une discussion sur les avantages et inconvénients de différentes méthodes utilisées pour traiter les données issues de l'évaluation du bien-être animal ainsi que le type de données utilisé peut être trouvée dans les articles rédigés par Botreau et ses collaborateurs (Botreau *et al.*, 2007 Part 1 et 2).

Si le bien-être animal dans sa globalité est difficile à définir et estimer, il existe cependant des problèmes récurrents affectant le bien-être des animaux chez plusieurs espèces domestiques. Certains sont liés à des pratiques d'élevage telles que le gavage des canards, les restrictions alimentaires chez les reproducteurs des lignées de poulet de chair et le transport des animaux pour toutes les espèces. D'autres ont pour origine la sélection des animaux de ferme sur des critères de production provoquant au sein des lignées d'élevage l'apparition de troubles aussi bien comportementaux que physiologiques. Parmi les troubles physiques, on peut citer les problèmes locomoteurs chez le porc sélectionné pour produire de la chair maigre ou les problèmes locomoteurs chez les poulets de chair (Rauw, *et al.*, 1998). En termes de

troubles du comportement, il existe des problèmes de picage voire de cannibalisme au sein des lignées de poules pondeuses (Mench and Keeling, 2001) ou de morsures à la queue chez le porcelet. Enfin les méthodes pour palier à certains de ces troubles comportementaux sont elles-mêmes parfois à l'origine d'une dégradation du bien-être des animaux. L'épointage du bec chez la poule et le canard et l'écornage des vaches sont des exemples de ces méthodes palliatives entraînant des douleurs chez les animaux lors de l'application mais aussi de façon chronique (Gentle, 2011 ; Kupczynski, *et al.*, 2014).

#### d) Conséquences sur la production liées au bien-être animal.

Les atteintes au bien-être des animaux quelles qu'en soient les origines n'affectent pas uniquement les animaux, elles touchent aussi parfois la productivité de l'élevage. Si cet aspect de la relation partagée entre le bien-être animal et les conditions d'élevage peut paraître cynique au premier abord, il est pourtant tout aussi essentiel que les pressions éthiques et sociétales envers les acteurs du milieu agronomique dans la mise en place de conditions favorisant le bien-être animal. Des travaux ont montré que plusieurs facteurs nuisant au bien-être des animaux diminuaient leur productivité tels que les mammites chez la vache laitière qui abaissent la production de lait, entraînant un taux élevé d'animaux réformés (Lescourret and Coulon, 1994) ou l'épointage chez la poule pondeuse qui affecte négativement la prise alimentaire et le poids des œufs (Aerni, *et al.*, 2005). D'autres travaux ont au contraire montré l'intérêt de procédures améliorant le bien-être animal et leur effet favorable sur la productivité. Par exemple, l'utilisation d'un matelas à logette plutôt que de la paille hachée comme couchage pour les vaches laitières augmente la production de lait (Bony, 2000) ou encore la diminution de la densité des élevages de poulets de chair qui accélérerait la prise de poids de ceux-ci (Bessei, 2006).

Améliorer le bien-être animal au sein d'une exploitation peut passer par plusieurs voies : limiter les facteurs environnementaux de stress, notamment les interactions négatives avec l'Homme (Zulkifli, 2013) ou modifier les conditions d'élevage via l'enrichissement du milieu afin de favoriser l'expression de toute la gamme comportementale de l'espèce (Ninomiya, 2014). Une autre possibilité pourrait-être de sélectionner des animaux non plus uniquement sur des caractères de production mais sur des caractères d'adaptation aux conditions d'élevage (Rodenburg and Turner, 2012). Parmi ces caractères d'adaptation se



trouvent des caractères comportementaux tels que les comportements sociaux ou la réactivité émotionnelle.

### e) Comportement et bien-être animal.

Comme nous l'avons montré dans les sections précédentes, le comportement des animaux intervient dans la mise en place de l'état de bien-être en étant à la fois un élément de réponse à un changement environnemental et une expression de l'état émotionnel de l'individu. L'importance du comportement animal est donc double et elle est reflétée par les deux principes établis par l'OIE appelant à favoriser l'expression des comportements dits « normaux » et à permettre la mise en place de comportements sociaux positifs. Or l'expression d'un comportement dit naturel n'est pas nécessairement synonyme de bien-être chez l'animal. Ceux-ci peuvent, dans le cadre de réponses à certains stimuli, au contraire provoquer des réponses disproportionnées entraînant des blessures et éventuellement la mort d'individus. Typiquement, les réponses anti-prédation peuvent provoquer ce type de réactions comme cela a pu être observé chez la poule lors de la mise en présence avec des êtres humains (Mills and Faure, 1990), les mouvements de panique amenant les animaux à se blesser de façon involontaire. Il existe en revanche des comportements naturels provoquant de façon volontaire des dommages aux autres animaux. Typiquement, ces comportements ont pour origine la lutte des membres d'une espèce pour l'accès aux ressources du milieu. A l'état sauvage, ce type de comportement permettait à un individu d'améliorer ses chances de survie aux dépens d'un autre. Au sein d'un élevage où les ressources, au moins alimentaires, ne sont pas aussi limitées que dans la nature, ces comportements impactent négativement le bien-être des individus. On trouve par exemple parmi ces comportements, l'agressivité des porcs envers les individus boitant ou blessés (Andersen, *et al.*, 2004) ou les phénomènes de picage chez la poule. Ces derniers seraient d'ailleurs socialement transmissibles (Cloutier, *et al.*, 2002 ; McAdie and Keeling, 2002). Comportements naturels et bien-être animal s'opposent parfois du fait que les comportements ont été sélectionnés pour permettre la survie de l'individu parfois au détriment du groupe. Ainsi, en énonçant clairement la notion de comportements sociaux positifs, les principes décrits par l'OIE préconisent la mise en place de procédures limitant les comportements pouvant être à l'origine de souffrances chez l'animal, favorisant au contraire ceux liés à des effets positifs sur l'état émotionnel de l'animal.

Exprimer certains comportements est une nécessité pour les animaux et l'impossibilité de le faire peut causer une certaine frustration chez l'animal qui va s'exprimer par des comportements stéréotypés (appelés stéréotypies) voire de l'agressivité envers les congénères. De tels comportements ont pu être notés chez la poule pondeuse dans un environnement l'empêchant de nicher (Duncan, 1970) ou chez la truie n'ayant pas assez d'espace pour présenter des comportements de nidification (Jarvis, *et al.*, 2004). Au contraire, d'autres comportements, comme le bain de poussière chez la poule, ne sont pas nécessaires à l'animal mais sont directement associés à un état émotionnel positif (Widowski and Duncan, 2000). L'expression de ce type de comportement est tout aussi importante pour le bien-être de l'animal. Enfin, chez les espèces sociales, notamment, il existe toute une gamme de comportements sociaux. Tenir compte de ces comportements dans la gestion des groupes d'individus est essentiel car comme nous l'avons décrit plus tôt, les conditions d'élevages n'ont rien à voir au niveau des possibilités d'interactions sociales avec la vie à l'état sauvage. Il a ainsi pu être montré chez le porc que la présence d'individus familiers diminuait les conséquences d'une défaite (Ruis, *et al.*, 2001) ainsi que le stress dû à des situations stressantes comme la rencontre avec des congénères inconnus (Rault, 2012). D'autres travaux chez le porc ont aussi montré que des équipements donnant un espace et une compagnie suffisante, autorisant plusieurs portées différentes à se mélanger, favorisaient les comportements de jeu (Chaloupkova, *et al.*, 2007 ; Oostindjer, *et al.*, 2011). Ces comportements de jeu entre porcelets semblent être corrélés à une diminution de l'agressivité et des blessures après sevrage (Donaldson and Grant-Vallone, 2002 ; Dudink, *et al.*, 2006). Au contraire, l'introduction d'animaux non-familiers tend à perturber les relations sociales établies et à provoquer l'apparition de comportements agressifs chez plusieurs espèces telles que la vache (von Keyserlingk, *et al.*, 2008), le porc (Turner, *et al.*, 2010), la poule () et la caille (Francois, *et al.*, 2000 ; Vaisanen, *et al.*, 2005).

En résumé, la compréhension et l'évaluation du bien-être animal passe par l'étude du comportement animal. Les travaux sur le comportement peuvent se réaliser par exemple d'un point de vue éthologique, cherchant à identifier les facteurs environnementaux à l'origine de l'expression des comportements. Au cours de notre étude, nous nous sommes penchés sur les facteurs génétiques intervenant dans le contrôle de caractères comportementaux et en particulier sur la sociabilité et la réactivité émotionnelle, deux aspects comportementaux impliqués dans la mise en place du bien-être animal.

## B/ Comment aborde-t-on l'étude génétique du comportement.

La notion d'un contrôle génétique du comportement peut amener à controverse lorsque celle-ci est mal expliquée ou présentée de façon excessivement simplifiée. D'un point de vue culturel, l'existence d'un contrôle génétique pourrait implicitement remettre en cause les notions de libre arbitre et de responsabilité. D'un point de vue biologique, cette part héréditaire peut sembler s'opposer aux capacités d'apprentissage même s'il n'en n'est rien (Baker, *et al.*, 2001). Aujourd'hui, il est admis qu'une part de la variabilité phénotypique d'un comportement est liée à la variabilité génétique. Cependant, une grande part de cette affirmation tient aux définitions que l'on donne aux termes « comportement » et « contrôle génétique ». Le mot « comportement » peut tout aussi bien désigner l'ensemble des activités d'un individu qu'un set d'activités reconnaissables, répétables et spécifiques d'une espèce tandis que le « contrôle génétique » peut aussi bien être le fait qu'un gène contrôle la manifestation d'un comportement ou bien soit sous-jacent au développement des organes et mécanismes nécessaires à l'expression d'un comportement (Baker, *et al.*, 2001). Dans le cadre de la discussion ci-dessous et dans les études portant sur l'analyse génétique de traits comportementaux, le comportement sera observé comme étant une action spécifique, répétable et identifiée, dotée d'un niveau d'intensité.

### 1) Expériences de sélection.

La sélection des lignées pour un comportement spécifique a été réalisée chez de nombreuses espèces, aussi bien chez des animaux de laboratoire que d'intérêt agronomique. Le but de ces sélections est de comprendre les mécanismes génétiques qui sous-tendent le comportement sélectionné et d'étudier l'impact de la sélection sur d'autres comportements ou critères physiologiques. Au cours de cette section, nous allons détailler deux expériences de sélection pour un caractère comportemental, à savoir la sélection pour la docilité chez le renard argenté (*Vulpes vulpes*) et la sélection divergente chez la poule domestique pour le picage. D'autres exemples sont présentés pour indication dans le Tableau 2.

Tableau 1 : Exemples d'expériences de sélection menées sur différents comportements (construit à partir de Jensen, *et al.*, 2008J et D'Eath, *et al.*, 2010.)

Espèce	Comportement	Référence
<b>Caille</b>		
Comportements sociaux	Motivation sociale Comportements sexuels	Mills and Faure, 1991 Cunningham and Siegel, 1978
Réactivité émotionnelle	Immobilité tonique	Mills and Faure, 1991
Autres	Bain de poussière Activité locomotrice	Gerken and Petersen, 1985 Bessei, 1979
<b>Poule domestique</b>		
Comportements sociaux	Comportements sexuels	Siegel, 1965
Réactivité émotionnelle	Immobilité tonique Open-field	Campo and Carnicer, 1993 Faure, <i>et al.</i> , 1975
Comportements anormaux	Picage Picage Picage et cannibalisme Stéréotypie	Kjaer, <i>et al.</i> , 2001 Bessei, 1996 Craig and Muir, 1993 Mills, <i>et al.</i> , 1985
<b>Mouton</b>		
	Tempérament des femelles	Murphy, 1998
<b>Renard argenté</b>		
Réaction à l'homme	Docilité Agressivité	Belyaev, 1979 Belyaev, 1979
<b>Renard polaire</b>		
Réaction à l'homme	Docilité	Kenttamies, <i>et al.</i> , 2002
<b>Vache</b>		
	Protection du veau	Lasater, 1972, cité par Grandin, 1998
<b>Vison</b>		
Réactivité émotionnelle	Peur	Hansen, 1996 ; Berg, <i>et al.</i> , 2002
Comportements anormaux	Stéréotypie	Hansen, 1993 ; Jeppesen, <i>et al.</i> , 2004

### a) Sélection pour la docilité chez le renard (*Vulpes vulpes*).

Débutée par Belyaev en 1959 (Trut, 1999), la sélection de renards argentés -une forme mélanique du renard commun ou renard roux (*Vulpes vulpes*)- pour la docilité envers l'Homme est une expérience emblématique de la sélection sur un caractère comportemental. Ces travaux avaient pour objectif de comprendre la relation partagée entre les modifications comportementales et physiques subies par les animaux durant la domestication. Le renard a été choisi comme modèle pour deux raisons. La première est sa proximité taxonomique avec le chien et la seconde, est l'existence de renards élevés pour leur fourrure et ayant donc déjà subi une sélection pour l'adaptation aux conditions d'élevage (Trut, *et al.*, 2009).

La sélection des individus s'effectuait sur le comportement de renardeaux face à un expérimentateur, un mois après la naissance (Voir Figure 3 pour exemples de réactions). Dans un premier temps, les renardeaux ont été testés sur leurs réponses à des tentatives d'alimentation à la main, de contacts et de caresses. De façon à être certain que l'attitude envers l'expérimentateur et les individus testés provenait de facteurs génétiques et non d'un apprentissage, le temps passé avec les animaux a été limité.

Après quatre générations de sélection, des renardeaux remuaient la queue en présence d'un être humain, un comportement similaire à celui du chien. Au cours des générations suivantes, d'autres comportements ont émergé avec des animaux recherchant le contact humain et émettant des couinements et léchant à la façon d'un chien (Trut, *et al.*, 2009). Ces animaux présentaient aussi une période de socialisation plus longue que les individus non sélectionnés (60 jours au lieu de 45 jours), ainsi qu'un maintien de l'activité de jeu qui disparaît normalement à l'âge adulte (Trut, 2001). De plus, la sélection sur la docilité semble avoir co-sélectionné la capacité des animaux à réagir à des indications gestuelles humaines, ce qui invaliderait l'hypothèse que cette aptitude a été directement sélectionnée chez le chien (Hare, *et al.*, 2005). Des modifications physiques sont aussi apparues telles que des oreilles tombantes, une queue recourbée et la persistance de caractéristiques morphologiques néoténiques (i.e conservation de caractéristiques juvéniles chez l'individu adulte). De plus, en comparant le comportement d'individus dociles par rapport à ceux sélectionnés pour une réponse agressive à la présence humaine, des différences au niveau des vocalisations ont pu être observées. Les animaux dociles présentaient des vocalisations de type « caquètement » et « halètement » tandis que les individus agressifs ou non-sélectionnés montraient des vocalisations de types « toussotement » et « grognement » (Gogoleva, *et al.*, 2009 ;

Gogoleva, *et al.*, 2010 ; Gogoleva, *et al.*, 2011) lorsque mis en présence d'un être humain. De plus, ces vocalisations semblent être affectées par le sexe de l'individu, les mâles vocalisant plus rapidement et moins longtemps que les femelles (Gogoleva, *et al.*, 2013). La sélection pour la docilité n'a pas affecté que la morphologie et le comportement, elle a aussi modifié des caractères physiologiques. En effet, les animaux dociles présentent des niveaux d'ACTH et de cortisol plasmatique plus faibles que ceux observés chez des individus témoins non sélectionnés. De même, chez les animaux dociles, les niveaux de sérotonine dans l'hypothalamus et dans le mésencéphale sont plus élevés que chez les témoins et la densité de récepteurs sérotoninergiques 5-HT1A plus faibles (Oskina and Tinnikov, 1992 ; Popova, *et al.*, 1997 ; Gulevich, *et al.*, 2004).



Figure 3 : Photographies d'exemples de réactions à l'homme de renards argentés (*Vulpes vulpes*) non-sélectionnés (A-C) et de renards sélectionnés pour la docilité (D-E).

A : Expression de la réponse agressive. B : Expression d'une forte réaction de peur. C : Réaction de peur de faible intensité. D-E : Exemples de comportements dociles. Photographies extraites de Trut, *et al.*, 2009.

## b) Sélection divergente pour le picage chez la poule domestique.

Le picage est un phénomène observé régulièrement dans les exploitations avicoles, notamment dans les élevages de poules pondeuses. Le picage se définit comme l'action de tirer ou d'arracher les plumes d'un autre oiseau ou beaucoup plus rarement de soi. La sévérité du picage est variable, allant d'un picage « doux » à un picage sévère. Le picage se différencie des coups de bec dits « agressifs » en cela qu'il cible les plumes de l'individu et ne fait pas parti des comportements d'interaction entre dominant et subordonné. Au contraire, les coups de bec « agressifs » sont le plus souvent portés à la crête et/ou au cou et ne tirent pas sur les plumes (Savory, 1995). Dans le cadre des exploitations, le picage, sous sa forme sévère, affecte négativement le bien-être des animaux, du fait des lésions qu'il occasionne, mais aussi à cause des douleurs provoquées par les tractions sur les plumes, la base de celles-ci étant innervée. De plus, lorsque l'arrachage de plumes est répété, des zones complètement dénudées apparaissent. Si le picage perdure dans ces zones dépourvues de plumes, cela devient du cannibalisme qui entraîne des blessures puis la mort de l'animal. Les mécanismes qui prévalent à la mise en place du picage ne sont pas complètement connus mais plusieurs hypothèses existent, notamment des comportements redirigés de bain de poussière et de picage du sol, impossible à exprimer en élevage sans les substrats adéquats (Discuté dans Newberry, *et al.*, 2007 ; Dixon, 2008 ; Rodenburg, *et al.*, 2008 ; Rodenburg, *et al.*, 2013) ou bien une compulsion résultant de besoins nutritionnels (Kjaer and Bessei, 2013). Le picage est au final un phénomène d'origine multifactorielle impliquant des composantes génétiques, environnementales ou acquises par apprentissage (Vijay, *et al.*, 1999).

Afin d'établir l'existence d'une base génétique au phénomène de picage, deux lignées de poules pondeuses (White Leghorn) ont été sélectionnées de façon divergente pour le picage. Le protocole de sélection consistait à mesurer durant 3 heures le nombre de périodes de picage par individu au sein d'un groupe de 20 poules (Kjaer, *et al.*, 2001). Des différences significatives dans les comportements de picage et l'état du plumage sont apparues après trois (Kjaer, *et al.*, 2001) et quatre générations de sélection (Su, *et al.*, 2005). Ainsi les individus de la lignée HFP (High Feather Pecking) montraient une plus grande propension au picage, une masse supérieure, mais aussi un plumage plus abimé par rapport aux animaux de la lignée LFP (Low Feather Pecking). En plus d'une modification du comportement de picage par rapport à des individus témoins, d'autres modifications comportementales ont pu être



observées. L'activité générale des animaux semble avoir été affectée, les individus HFP se déplaçant plus au sein d'un enclos (Kjaer, 2009). Cette différence d'activité dans un enclos ne semble pas être liée à une différence dans la motivation à rechercher de la nourriture, puisque mis en présence de différents aliments en accès libre ou placés dans un trou recouvert ou non d'un clapet transparent, les individus des deux lignées n'ont pas cherché à atteindre les aliments cachés ou montré la volonté de fouiller les trous non recouverts (Harlander-Matauschek and Haeusler, 2009). En revanche, les animaux HFP ont mangé davantage les plumes présentes dans l'environnement que les individus LFP au cours de cette étude (Harlander-Matauschek and Haeusler, 2009). D'autres études ont aussi montré cette différence de consommation de plumes, les individus de la lignée HFP en mangeant plus que ceux de la lignée LFP (de Haas, *et al.*, 2010 ; Kalmendal and Bessei, 2012). De plus, de Haas et ses collaborateurs (2010) relèvent une différence dans les comportements de recherche de nourriture entre les deux lignées, les individus de la lignée HFP effectuant plus de picage sur l'environnement et les aliments que les animaux LFP. Un autre point intéressant développé dans cette étude est la comparaison des réactions face à une situation stressante, ici un labyrinthe inconnu, entre les deux lignées. Les individus de la lignée HFP présentent des déplacements et des vocalisations plus précocement et de façon plus importante que les animaux LFP qui eux, présentent des battements d'ailes et des défécations (de Haas, *et al.*, 2010). Ces observations sont très intéressantes d'un point de vue comportemental car d'autres expériences réalisées avec d'autres tests tels que la réaction à l'homme, évaluant les comportements de peur, ne montrent pas de différences significatives entre les deux lignées (Rodenburg, *et al.*, 2010), indiquant que la sélection sur les comportements de picage n'a affecté que certaines composantes de la réactivité émotionnelle. Chez la poule pondeuse (Haskell, *et al.*, 2000) ainsi que d'autres espèces comme le porc (Arnone and Dantzer, 1980), la frustration peut favoriser l'apparition de comportements agressifs. Rodenburg et ses collaborateurs (Rodenburg, *et al.*, 2004) n'ont pas pu observer de relation entre le picage et la frustration malgré des différences de réponses à la frustration entre les deux lignées. Par ailleurs, ces résultats semblent confirmer l'absence de relation entre le picage et les coups de bec agressifs observés dans plusieurs études (Kjaer, *et al.*, 2001 ; Bessei, *et al.*, 2013). L'absence de relation entre les comportements agressifs et le picage semble indiquer que ces comportements ne présentent pas de mécanismes génétiques communs.

En plus des observations comportementales, des facteurs physiologiques ont été étudiés afin de mieux comprendre les origines du phénomène de picage. Ainsi, les individus de la lignée HFP présentent un taux de corticostérone dans le sang après un stress par contention physique plus élevé que les individus de la lignée LFP (Kjaer and Guemene, 2009). De même, la régulation du système nerveux sympathique et parasympathique en cas de stress semble aussi avoir été affectée par la sélection. En effet, lors de contraintes physiques et de périodes d'interactions sociales, les individus HFP présentent des réactions cardiaques supérieures aux individus contrôles et LFP. Ces derniers présentent des réactions plus faibles que les individus contrôles et HFP lors d'interactions sociales, indiquant que les interactions entre individus sont moins stressantes pour ces animaux (Kjaer and Jorgensen, 2011). Il a aussi été montré que le taux de sérotonine dans le sang était réduit chez les individus LFP par rapport aux HFP (Buitenhuis, *et al.*, 2006 ; Buitenhuis and Kjaer, 2008). Plus récemment, des études réalisées directement dans le cerveau des oiseaux montrent que le picage est associé à une plus grande sécrétion de sérotonine en situation normale chez les individus HFP (Kops, *et al.*, 2013 ; Kops, *et al.*, 2014).

Enfin, il est intéressant de noter que l'expérience de sélection de Kjaer et ses collaborateurs (2001) n'est pas unique, d'autres chercheurs ayant sélectionné des lignées afin d'étudier le comportement de picage (Buitenhuis and Kjaer, 2008 pour revue). Par exemple, les travaux de Y. M van Hierden et ses collaborateurs (van Hierden, *et al.*, 2002 ; van Hierden, *et al.*, 2004a ; van Hierden, *et al.*, 2004b ; van Hierden, *et al.*, 2005) ont été réalisés au sein de lignées sélectionnées pour la production d'oeufs (Korte, *et al.*, 1997) et ceux de Dennis et ses collaborateurs (Cheng, *et al.*, 2001 ; Dennis, *et al.*, 2008 ; Dennis and Cheng, 2011, 2012) ont été effectués chez des animaux sélectionnés via un modèle de sélection de groupe sur des critères de ponte (Muir, 1996). Ces travaux ont permis de mettre en évidence l'influence du système sérotoninergique mais aussi dopaminergique dans les comportements de picage (Cheng, *et al.*, 2001 ; van Hierden, *et al.*, 2002 ; van Hierden, *et al.*, 2004a ; van Hierden, *et al.*, 2004b ; van Hierden, *et al.*, 2005 ; Dennis, *et al.*, 2008 ; Dennis and Cheng, 2011, 2012).

## 2) Paramètres génétiques.

Découlant directement de la sélection de lignées, l'estimation des paramètres génétiques a permis de quantifier, en dépassant le cadre simplement descriptif, les relations entre différents caractères comportementaux ou physiologiques et la part des facteurs génétiques intervenant dans l'expression des caractères comportementaux. Les paramètres génétiques sont représentés par l'héritabilité et les corrélations génétiques.

### a) L'héritabilité.

L'héritabilité se définit comme étant la part de variabilité génétique ( $V_G$ ) intervenant dans la variabilité phénotypique ( $V_P$ ) observée au sein d'une population donnée (Falconer and Mackay, 1996). Deux définitions de l'héritabilité existent : l'héritabilité au sens large (notée  $H^2$ ) et l'héritabilité au sens strict (notée  $h^2$ ). L'héritabilité au sens large est une estimation de la proportion de variabilité due aux effets génétiques additifs ( $V_A$ ) et non-additifs (i.e la variabilité de dominance  $-V_D-$  et les interactions entre loci  $-V_I-$ ). En revanche, l'héritabilité au sens strict ne prend en compte que la variabilité génétique due aux effets génétiques additifs transmissibles entre générations. Il existe de plus un cas particulier d'héritabilité au sens strict, l'héritabilité réalisée qui correspond aux changements moyens du phénotype en réponse à la sélection (Lynch, 1998).

L'héritabilité présente une valeur allant de 0 à 1 représentant respectivement une absence d'effets génétiques et un contrôle total du caractère par des mécanismes génétiques. On considère que des valeurs d'héritabilité comprise entre 0 et 0,2 sont faibles, moyennes de 0,2 à 0,4 et fortes au-delà de 0,4. Ainsi, plus un caractère aura une héritabilité élevée, plus il sera aisé d'améliorer le caractère par sélection. Des valeurs d'héritabilité ont été estimées chez plusieurs espèces pour de nombreux caractères comportementaux, notamment dans le cadre de l'adaptation aux conditions d'élevage (Pour revue :Canario, *et al.*, 2013). Dans le cadre des exemples cités précédemment, l'héritabilité de la docilité chez le renard argenté n'a pas été, à notre connaissance, estimée au sein des lignées sélectionnées par Belyaev (1979). En revanche, une autre expérience de sélection sur la docilité chez le renard argenté, menée en Norvège par Kenttämies et ses collaborateurs, a estimé une héritabilité modérée de 0,22 (Kenttämies, *et al.*, 2006). Quant à l'héritabilité du comportement de picage, elle a été estimée au cours de plusieurs études, montrant des valeurs faibles à modérées allant de 0,11 à 0,33

(Kjaer and Sorensen, 1997 ; Kjaer, *et al.*, 2001 ; Rodenburg, *et al.*, 2003 ; Bennewitz, *et al.*, 2014).

### b) Les corrélations génétiques.

Les corrélations génétiques représentent la proportion de variabilité que deux caractères partagent par des facteurs génétiques. Les corrélations génétiques entre deux caractères sont indépendantes des valeurs de leurs héritabilités respectives. L'existence de corrélations génétiques est due aux effets pléiotropes de certains gènes et/ou un déséquilibre de liaison (Falconer and Mackay, 1996). La pléiotropie implique qu'un gène ait un effet sur plusieurs caractères. Les effets de ces gènes pléiotropes peuvent aussi bien être indépendants (i.e il affecte deux caractères par des voies différentes) que liés (i.e l'effet d'un allèle sur un caractère est lié à l'effet sur un autre caractère) (De Jong, 1990). Le déséquilibre de liaison apparaît lorsque des caractères sont affectés par un ensemble de gènes différents mais qu'une force sélective maintient une combinaison d'allèles à un locus donné. Cependant le déséquilibre de liaison diminue lors de la sélection faisant qu'au final la pléiotropie est la cause principale de l'existence d'une corrélation génétique (Falconer and Mackay, 1996).

Les valeurs de corrélations varient entre -1 (relation antagoniste) et 1 (relation positive) entre les caractères étudiés. L'estimation des corrélations génétiques permet alors de prédire l'évolution d'un caractère par rapport à l'autre durant un processus de sélection. Par exemple, chez les lignées de poules pondeuses sélectionnées de façon divergente pour le picage, plusieurs études ont estimé les corrélations génétiques entre le picage et des caractères comportementaux et de production. Buitenhuis et ses collaborateurs (Buitenhuis, *et al.*, 2004) ont pu montrer une forte corrélation génétique de 0,62 entre les comportements de picage et l'activité en open-field, ce qui semble corroborer les différences d'activités en environnement inconnu observées par Kjaer (Kjaer, 2009). De plus, dans une étude récente chez les lignées HFP et LFP, Bennewitz et ses collaborateurs (2014) révèlent une forte corrélation génétique entre le picage et les coups de bec agressifs (0.84), corrélation génétique allant à l'encontre des observations d'une indépendance génétique entre les deux caractères (Kjaer, *et al.*, 2001 ; Bessei, *et al.*, 2013). D'autres corrélations ont été observées entre le nombre d'œufs pondus et le comportement de picage ou les coups de bec agressifs (respectivement 0,50 et 0,29). Ces corrélations positives sont opposées aux résultats observés par Su et ses collaborateurs (Su, *et*

*al.*, 2006) durant les premières générations de sélection où les individus de la lignée LFP présentaient une production d'œuf plus importante que ceux de la lignée HFP.

Dans le cadre de cette revue bibliographique, nous n'avons pas trouvé d'études présentant des corrélations génétiques significatives entre la docilité et d'autres caractères comportementaux ou physiologiques chez le renard argenté.

### 3) Détection de QTL.

Les méthodes de détections de QTL -Quantitative Trait Loci- sont des outils puissants pour la compréhension des mécanismes génétiques liés à un caractère du comportement. En effet, là où les comparaisons de lignées ou les estimations d'héritabilités et de corrélations génétiques ne permettent que de décrire et de supposer les interactions génétiques entre différents QTLs, les analyses de détection de QTLs permettent d'identifier des régions chromosomiques ayant un effet sur l'expression du caractère testé. L'identification de régions chromosomiques communes pour deux caractères différents permet d'étayer les hypothèses de mécanismes génétiques identiques entre les deux caractères. De plus, la détection d'un QTL peut amener à l'identification d'un ou plusieurs gènes candidats autorisant une investigation plus profonde des facteurs génétiques et par conséquent physiologiques affectant le caractère. A ce jour peu de travaux cherchant à identifier des QTLs contrôlant des caractères comportementaux ont été réalisés chez les animaux de rente. Par exemple pour la vache, le cochon, le mouton et la poule, seule une proportion inférieure à 3% des QTLs identifiés au sein de la banque de données QTLDatabase est associée à des caractères du comportement (Canario, *et al.*, 2013). Enfin parmi ces QTLs, une fraction est liée à des caractères de comportements sociaux ou d'agressivité (Poule :Schütz, *et al.*, 2002 ; Buitenhuis, *et al.*, 2003a ; Buitenhuis, *et al.*, 2003b ; Biscarini, *et al.*, 2010 ; Cochon :Reiner, *et al.*, 2009 ; Vache : Gutierrez-Gil, *et al.*, 2008). Pour approfondir l'analyse des comportements de picage chez la poule pondeuse et de docilité chez le renard argenté, voici quelques un des résultats acquis sur ces caractères.

#### a) Détection de QTLs liés à la docilité chez le renard argenté.

Chez le renard argenté, des analyses de détections de QTLs, orientées sur des phénotypes « docile contre agressif » et « actif contre passif » ont été réalisées en utilisant des

marqueurs microsatellites identifiés par homologie de séquence avec le chien domestique (Kukekova, *et al.*, 2004 ; Kukekova, *et al.*, 2007 ; Kukekova, *et al.*, 2011a). Les caractères « docile contre agressif » et « actif contre passif » ont été catégorisés en utilisant la méthode d'Analyse en Composante Principale, les dénommant respectivement PC1 et PC2. Les analyses de type GWAS (Genome Wide Association Study) ont été réalisées au sein de plusieurs populations expérimentales issues de back-cross avec soit la lignée docile, soit la lignée agressive ainsi que des croisements de seconde génération. Au sein de ces différentes populations, des QTLs significatifs pour le caractère PC1 ont été observés sur le chromosome 12 (VVU12) quoiqu'à des positions relativement différentes. Le caractère PC2 présente des QTLs significatifs, aussi sur VVU12, principalement dans les populations de type backcross. De façon intéressante, les QTLs pour PC1 et PC2 semblent co-localisés indiquant que les deux caractères supposément indépendants présenteraient en fait des mécanismes génétiques communs. L'autre possibilité serait que PC2 pourrait avoir un effet activateur de PC1, à savoir par exemple qu'un animal « actif » et « agressif » paraîtra plus « docile » qu'un individu « agressif » et « passif » (Kukekova, *et al.*, 2011a ; Kukekova, *et al.*, 2012). Cependant, l'intérêt de ces QTLs réside dans le fait que la région de VVU12 identifiée par ces analyses est homologue à une région identifiée par von Holdt et ses collaborateurs (von Holdt, *et al.*, 2010) comme étant impliquée dans la domestication du loup vers le chien (Kukekova, *et al.*, 2011a ; Kukekova, *et al.*, 2012).

#### b) Détection de QTLs liés au picage chez la poule pondeuse.

Tout d'abord, Buitenhuis et ses collaborateurs (2003a, 2003b) ont réalisé une expérience de détection de QTLs au sein d'un croisement de seconde génération ou F2 (pour plus d'informations, voir section Méthodologie) entre les deux lignées de poules divergentes pour le comportement de picage, utilisant des marqueurs de type microsatellites. Durant cette expérience, les comportements de picage ainsi que différents types de coups de bec ont été mesurés à différents âges, 6 et 30 semaines. Des QTLs statistiquement significatifs, affectant le nombre d'événements de picage ou de coups de bec donnés ou reçus, ont pu être identifiés. Deux faits importants sur la relation entre les différents comportements ressortent de ces analyses. Le premier est qu'aucun QTL n'a été détecté au sein d'une même région pour des caractères différents, apportant des éléments indiquant l'indépendance entre les comportements de picage et les coups de bec agressifs. Le second est le fait que les QTLs

détectés aussi bien pour le picage que pour les coups de bec doux n'étaient pas les mêmes suivant l'âge des animaux testés, impliquant que le contrôle génétique de ces caractères changeait avec l'âge des animaux. En parallèle, une détection de QTLs associés à la réponse corticostérone n'a pas montré de co-localisation entre les QTLs de caractères comportementaux et ceux de ce caractère physiologique. Ces résultats ne permettent donc pas de confirmer un mécanisme génétique commun entre les deux caractères. Pourtant, d'autres études indiquent des niveaux de corticostérone différents entre les deux lignées (van Hierden, *et al.*, 2002 ; Kjaer and Guemene, 2009) et la possibilité d'une association entre le picage et le taux de corticostérone dans le sang (El-lethey, *et al.*, 2001). Une autre expérience réalisée par Biscarini et ses collaborateurs (2010) utilisant cette fois un croisement entre des individus des races White Leghorn et Rhode Island Red et des marqueurs de type SNP (single-nucleotide polymorphism) a révélé deux marqueurs impliqués dans les dommages dus au picage. Ces marqueurs étaient positionnés au sein des gènes *MAOA* et *HTR2C*. L'intérêt de ces deux gènes provient du fait qu'ils appartiennent tous deux à la voie de régulation de la sérotonine, un neurotransmetteur impliqué dans la mise en place de nombreux processus comportementaux tels que la coopération entre individus, la mise en place d'une hiérarchie et l'agressivité (Kiser, *et al.*, 2012). *MAOA* code pour la Mono-Amine Oxydase A, une enzyme catalysant la dégradation de la sérotonine (Shih, *et al.*, 1999) et dont l'absence par knock-out chez des souris provoque une augmentation des comportements agressifs (Cases, *et al.*, 1995 ; Scott, *et al.*, 2008). *HTR2C*, quant-à-lui, code pour un récepteur sérotoninergique impliqué dans l'inhibition de la sécrétion de sérotonine et de dopamine, ainsi que dans l'apparition de troubles du comportement chez l'Homme (Drago and Serretti, 2009 ; Iwamoto, *et al.*, 2009 ; Yildirim and Derksen, 2013). Ces résultats, retrouvés dans une autre expérience utilisant un croisement entre White Leghorn et Rhode Island (van der Poel, *et al.*, 2011), confirment l'implication du système sérotoninergique dans le picage (van Hierden, *et al.*, 2002 ; van Hierden, *et al.*, 2004a ; van Hierden, *et al.*, 2004b ; van Hierden, *et al.*, 2005 ; Buitenhuis, *et al.*, 2006 ; Buitenhuis and Kjaer, 2008).

D'autres résultats intéressants pour la compréhension des phénomènes de picage ont été obtenus au sein d'un croisement entre des Red Junglefowl et des White Leghorn. Keeling et ses collaborateurs (Keeling, *et al.*, 2004) ont détecté un QTL associé aux dommages sur le plumage. Ce QTL placé sur le chromosome E22C19W28 contient le gène *PMEL17*. La protéine codée par ce gène intervient dans la mélanisation du plumage en permettant la

maturation du mélanosome par la formation de fibres amyloïdes où se dépose la mélanine (Raposo, *et al.*, 2001 ; Huff, *et al.*, 2003 ; Yasumoto, *et al.*, 2004). Au sein du croisement, la forme mutante dominante inhibe la fonction de *PMEL17* d'où un plumage blanc tandis que les individus présentant une homozygotie pour l'allèle sauvage présentent un plumage aux couleurs variées. Lors d'interactions, les individus homozygotes sauvages subissent plus de dégâts au niveau des plumes que les individus homozygotes ou hétérozygotes pour l'allèle mutant. Cet exemple est intéressant dans la compréhension du comportement de picage car la propension au picage d'un individu n'est pas modifiée par les allèles au gène *PMEL17* qui modifie la propension d'un individu à subir le picage. De plus, des travaux ultérieurs ont montré que le génotype aux allèles du gène *PMEL17* affectait les comportements sociaux et exploratoires (Natt, *et al.*, 2007 ; Karlsson, *et al.*, 2010). Ainsi, Nätt et ses collaborateurs (2007) ont pu montrer que des individus homozygotes pour l'allèle sauvage vocalisaient plus tôt et plus abondamment durant un test en open-field que les animaux homozygotes pour l'allèle mutant. Ces derniers, quant-à-eux, montraient une plus forte réaction au test de réaction à l'Homme, assénant plus de coups de bec et plus tôt à la main de l'expérimentateur que les individus homozygotes pour l'allèle sauvage. Karlsson et ses collaborateurs (2010) ont montré que les animaux homozygotes pour l'allèle sauvage exploraient plus souvent et plus facilement des environnements inconnus que les individus homozygotes pour l'allèle mutant.

#### 4) Approches de génomique fonctionnelle.

La génomique fonctionnelle est une approche multidisciplinaire permettant d'identifier et de démontrer le rôle des gènes ou d'autres molécules régulatrices telles que les microARN dans différentes voies biologiques. De ce fait, de nombreuses techniques ont été développées avec, par exemple, les analyses de transcriptome par micro-array (pour revue de différentes techniques :Edwards, *et al.*, 2013 ; Sims, *et al.*, 2014). L'accès à cette information peut s'effectuer de deux façons, soit en ayant recours à des approches globales, soit en utilisant des approches ciblées sur des gènes candidats préalablement identifiés au cours d'analyses de génétique quantitative ou suggérées par des données de la littérature.



### a) Résultats liés à la docilité chez le renard argenté.

Une étude menée au sein des lignées de renards argentés sélectionnés pour leur docilité ou leur agressivité a été réalisée en utilisant une méthode de Northern blot afin d'estimer les différences d'expression des gènes *POMC* et *CRF* chez des individus des deux lignées ainsi que des individus issus d'une lignée contrôle. Cette étude visait à savoir si la sélection avait affecté les fonctions de l'axe corticotrope. En effet, les gènes *POMC* et *CRF* sont primordiaux dans l'activation des réponses de l'axe HPS. En effet, *POMC* code pour la pro-opiomelanocortine un précurseur de plusieurs hormones dont l'ACTH ou hormone adrénocorticotrope (Eipper and Mains, 1980 ; Loh, *et al.*, 1982) qui active la sécrétion de glucocorticoïdes par les glandes surrénales (Axelrod and Reisine, 1984 ; De Kloet, 1984). *CRF*, quant-à-lui, code pour le « corticotropin releasing factors » (CRF) qui active la production d'ACTH dans l'hypothalamus (Dunn and Berridge, 1990). Les résultats de cette étude ne montrent pas de différences significatives dans l'expression du gène *CRF* entre les lignées testées mais révèlent une diminution significative de l'expression du gène *POMC* chez les animaux sélectionnés des deux lignées par rapport aux individus contrôles, ce qui est en accord avec la comparaison du taux de cortisol dans le sang décrit précédemment. Malgré tout, les différences d'expression de *POMC* entre les individus dociles et agressifs ne sont pas significatives. Cela pousse à envisager que les différences d'expression de *POMC* constatées entre les individus dociles et agressifs n'ont pas la même origine (Gulevich, *et al.*, 2004). Plus récemment, Kukekova et ses collaborateurs (Kukekova, *et al.*, 2011b) ont effectué une analyse du transcriptome du cortex pré-frontal d'un individu docile et d'un individu de la lignée agressive. Cette analyse a permis de montrer, après confirmation par RT-qPCR, que 9 gènes présentaient des profils d'expression différents entre les deux individus. Parmi ces gènes se trouve *HTR2C*, un gène dont nous avons déjà présenté l'implication dans la mise en place de troubles du comportement (cf. Section Détection de QTLs), et qui présente une expression plus forte chez l'individu docile par rapport à l'individu agressif. Ces résultats sont cohérents avec ceux observés chez deux lignées de rats, elles aussi sélectionnées pour leur docilité ou leur agressivité, où le gène *HTR2C* présentait une expression plus importante chez les individus de la lignée docile (Popova, *et al.*, 2010).

## b) Résultats associés au picage chez la poule.

Des travaux similaires ont aussi été menés chez la poule pondeuse dans le but d'identifier des gènes candidats associés aux comportements de picage. Par exemple, Flisikowski et ses collaborateurs (Flisikowski, *et al.*, 2009) ont pu identifier après le ré-séquençage ciblé des gènes *DRD4* et *DEAF1* des haplotypes associés à la propension au picage. Ces deux gènes codent respectivement pour un récepteur à la dopamine et un potentiel régulateur de l'expression du récepteur sérotoninergique HTR1A. Le gène *DRD4* avait été choisi comme candidat pour son rôle en tant que récepteur dopaminergique, la dopamine intervenant dans l'expression des comportements de picage (van Hierden, *et al.*, 2002 ; van Hierden, *et al.*, 2005 ; Dennis and Cheng, 2011). Curieusement, seul *DEAF1* a été à nouveau observé au sein d'une étude du transcriptome du cerveau de poule et son expression ne semble que faiblement corrélée au picage (Hughes and Buitenhuis, 2010) indiquant un rôle peut être moins important que supposé par Flisikowski et ses collaborateurs (2009). Les autres études ont mis en évidence des gènes affectant différents aspects fonctionnels. Ainsi Labouriau et ses collaborateurs (Labouriau, *et al.*, 2009) ont identifié 456 gènes exprimés à des niveaux différents dans le cerveau entre des individus qualifiés de « super-piqueur » et les individus présentant un comportement de picage normal chez des animaux de la lignée à fort picage, sur 14 077 transcrits. Deux gènes codant pour des récepteurs aux opiacés sont ressortis de cette analyse : *OPRD1* et *OPRK1*. Les relations entre ces deux gènes et le picage ne sont pas bien connues, même s'il a pu être montré que des antagonistes aux opiacés inhibaient les coups de bec dirigés contre objet chez la poule, un comportement différent du picage (Kostal and Savory, 1994). De même, lors d'une autre étude (Buitenhuis, *et al.*, 2009), des individus de la même lignée ont été testés pour leurs comportements agressifs en tant que « donneurs », « receveurs » de coups de bec ou mixtes. Quarante gènes différemment exprimés dans le cerveau entre les receveurs et les donneurs de coups de bec ont été identifiés, appartenant majoritairement à des fonctions du synaptosome, de régulation du potentiel membranaire, de régulation du potentiel de membrane d'excitation postsynaptique et de fixation à des récepteurs glutaminergiques. Ces fonctions, notamment les récepteurs glutaminergiques jouent un rôle dans la mise en place de la mémoire (Salinska, *et al.*, 1999), ce qui pourrait être lié à l'apprentissage des comportements agressifs ou à la mémorisation de la hiérarchie sociale. Récemment, Wysocki et ses collaborateurs (Wysocki, *et al.*, 2013), ont effectué une

analyse du transcriptome du cerveau complet d'individus provenant des lignées HFP et LFP. Ces analyses ont révélé 337 gènes différemment exprimés entre les individus des deux lignées. Six de ces gènes ont été conservés pour une confirmation par qPCR. Parmi ces gènes se trouvent *HTR1B* et *MAOA*, deux gènes impliqués dans la régulation du système sérotoninergique. *HTR1B* code pour un récepteur à la sérotonine contrôlant la libération de plusieurs neurotransmetteurs dont la dopamine et la sérotonine (Hoyer, *et al.*, 2002). Des souris knock-out pour ce gène présentent notamment une diminution de l'anxiété et une augmentation de l'agressivité (Saudou, *et al.*, 1994 ; Hen, *et al.*, 1995 ; Crabbe, *et al.*, 1996). Ce gène serait apparemment plus fortement exprimé au sein de la lignée HFP. Dans cette expérience, *MAOA* semble être moins exprimé chez les individus de la lignée HFP mais ces résultats n'ont pas pu être confirmés par qPCR. Trois autres gènes ont pu être confirmés (*GEMIN2*, *PSENI* et *GLUL*) et semblent intervenir dans le développement et la conservation des neurones (Wysocki, *et al.*, 2013).

## C/ Génomique des espèces avicoles.

L'objectif de notre étude était de mieux comprendre l'architecture génétique mettant en relation les caractères du comportement et de production. Cette étude s'est déroulée chez la caille japonaise (*Coturnix japonica*), une espèce avicole relativement mineure aussi bien en terme de production que de publications scientifiques lorsqu'elle est comparée à la poule (Minvielle, 2004). Cependant, dans le domaine de la recherche, la caille japonaise présente plusieurs avantages par rapport à la poule, une taille moins importante, une consommation alimentaire plus basse, un intervalle entre les générations plus court et une forte production d'œufs. Enfin, dans le cadre d'études génétiques telles que la nôtre, les génomes des espèces aviaires montrent des caractéristiques avantageuses que nous présentons dans cette section.

### 1) Phylogénie des espèces avicoles.

D'un point de vue phylogénétique, les espèces aviaires domestiques semblent relativement proches, celles-ci appartenant pour la plupart au groupe des Galloanserae. Les espèces de production que sont la poule (*Gallus gallus*), la dinde (*Meleagris gallopavo*), la pintade (*Numida meleagris*), la caille (*Coturnix japonica*) et le canard (*Anas platyrhynchos* et *Cairina moschata*) se séparent ensuite en deux ordres : les Galliformes comprenant la poule, la dinde, la pintade et la caille et les Ansériformes représentés par le canard. L'ordre des Galliformes est considéré comme monophylétique tout comme le groupe des Galloanserae, à savoir que toutes les espèces y ont un même ancêtre commun (Dyke, *et al.*, 2003). Une des classifications acceptées place sept familles au sein des Galliformes : les Megapodiidae, les Cracidae, les Odontophoridae (cailles du Nouveau Monde), les Numidae (pintades), les Phasianidae (cailles du Vieux Monde, faisans...), les Meleagridae (dindes) et les Tetraonidae (tétrins). Cependant les relations d'apparentement entre ces différentes familles sont encore débattues. Les controverses portent notamment sur les relations d'apparentement entre les espèces appartenant aux familles des Phasianidae, des Meleagridae et des Tetraonidae. Des études montrent la possibilité que les deux derniers groupes ne soient pas des groupes frères des Phasianidae, mais deux sous-familles d'un même groupe (Kan, *et al.*, 2010a). De récentes études semblent confirmer cette hypothèse, séparant les Galliformes en cinq familles au lieu

de sept (Wang, *et al.*, 2013 ; Kimball and Braun, 2014 ; Shen, *et al.*, 2014). Ainsi, la poule, la caille et la dinde appartiennent à la famille des Phasianidae, la pintade étant à part dans la famille des Numidae (Voir Figure 4).

L'une des causes supposées de la difficulté à estimer les liens de parenté entre les différentes familles de Galliformes est la rapidité avec laquelle les événements de divergence semblent avoir eu lieu (Kimball, *et al.*, 1999). Une récente étude par Kan et ses collaborateurs (Kan, *et al.*, 2010b) suggèrent que les événements de divergence ont eu lieu selon la chronologie suivante : Galliformes et Anseriformes se sont séparés entre 77 et 94 millions d'années avant notre ère, puis les Numidae et Phasianidae aux alentours de 52 millions d'années. Au sein des Phasianidae, les Corturnicae ont divergé entre 35 et 40 millions d'années, puis après d'autres événements de divergence, le genre *Gallus* est apparu au sein des Gallininae il y a environ 8 à 9 millions d'années. Comprendre la phylogénie d'un groupe d'espèces, notamment un groupe ayant une grande importance pour l'Homme tel que l'ordre des Galliformes dont un certain nombre d'espèces a été chassé ou domestiqué, apporte non seulement des informations sur l'histoire des espèces, et donc leur éventuelle domestication, mais également sur les possibles transmissions et évolutions des pathogènes qui sont liés à ces espèces (Dimcheff, *et al.*, 2001 ; Crowe, *et al.*, 2006). Un autre intérêt est la possibilité entre espèces proches d'une conservation de l'architecture génétique responsable de certains caractères, permettant ainsi de transférer les résultats d'une espèce à l'autre.

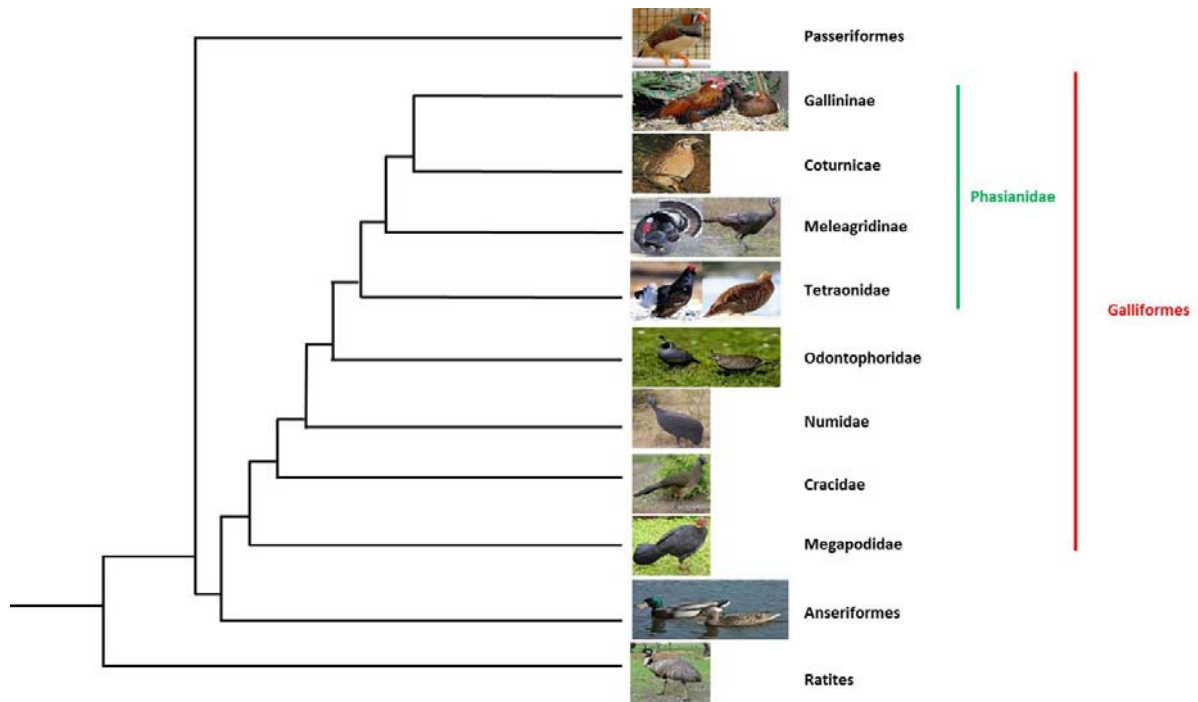


Figure 4 : Arbre phylogénétique dessiné à partir des arbres présentés par Hackett, *et al.*, 2008 ; Wang, *et al.*, 2013.

## 2) Conservation de l'architecture génétique

### a) Particularités des génomes aviaires.

L'architecture du génome des espèces aviaires comprend plusieurs particularités. La première est d'être composée de chromosomes de longueurs variables pouvant aller de moins de 10 Mb à plus de 200 Mb. On parle alors de microchromosomes et de macrochromosomes. Cependant, ces appellations sont assez arbitraires, la taille des chromosomes aviaires se répartissant dans un continuum. Malgré cela, les microchromosomes présentent des caractéristiques spécifiques comme un taux de nucléotides GC élevé et un taux de recombinaison supérieur à celui des macrochromosomes (Hillier, *et al.*, 2004 ; Axelsson, *et al.*, 2005). La taille du génome complet des espèces aviaires est relativement faible par rapport à d'autres espèces. Ainsi, les génomes des espèces aviaires mesurent le plus souvent entre 1,0 et 1,6 Gpb avec une moyenne actuelle de 1,39 Gpb calculée à partir des génomes de 475 espèces. Pour comparaison, les génomes des espèces mammifères oscillent plutôt entre 2,2 et 4,9 Gpb avec une moyenne de 3,36 Gpb calculée à partir des génomes de 657 espèces (Ellegren, 2013). Ces différences de tailles peuvent s'expliquer du fait de la présence moindre d'éléments tels que les séquences répétées (moins de 10% du génome), les pseudogènes ou les éléments de type transposons par rapport aux espèces mammifères (Hillier, *et al.*, 2004). Une des autres caractéristiques notables des génomes aviaires est la présence des chromosomes sexuels Z et W. En effet, chez les oiseaux, contrairement aux mammifères, les femelles sont hétérogamétiques (ZW) tandis que les mâles sont homogamétiques (ZZ). L'apparition de femelles hétérogamétiques n'est pas un événement unique dans l'histoire de l'évolution et est notamment observée chez les batraciens et les reptiles (Ellegren, 2010). Cependant, les chromosomes Z et W aviaires semblent être apparus de façon indépendante ne présentant aucune homologie avec ceux des batraciens et des reptiles (Matsubara, *et al.*, 2006). De la même façon, les chromosomes Z et W ont évolué indépendamment des chromosomes X et Y observés chez les mammifères (Fridolfsson, *et al.*, 1998).

## b) Stabilité des génomes aviaires.

La particularité la plus étonnante des génomes aviaires est la stabilité de leur organisation chromosomique. La stabilité constatée est impressionnante du fait qu'elle s'observe à différents niveaux de l'architecture génétique. Tout d'abord, les caryotypes d'environ deux tiers des espèces aviaires présentent une organisation de  $2n = 76$  à  $86$  chromosomes organisés en macrochromosomes et microchromosomes (Gregory, 2005 ; Griffin, *et al.*, 2007). Il existe une exception dans une des familles de rapaces, celle des Accipitreae, qui présente des caryotypes sans distinction entre macrochromosomes et microchromosomes (de Oliveira, *et al.*, 2005). Ensuite, l'utilisation de techniques d'immunofluorescence (FISH -Fluorescent in-situ hybridation- et ZOO-FISH notamment) a permis de montrer une forte homologie, c'est-à-dire une synténie, entre les macrochromosomes de la poule et ceux d'autres espèces appartenant à d'autres ordres aviaires (Shetty, *et al.*, 1999 ; Guttenbach, *et al.*, 2003 ; Derjusheva, *et al.*, 2004). L'observation d'une telle synténie est impressionnante car parmi les espèces testées se trouve l'émeu (*Dromaius novaehollandiae*), un oiseau appartenant à l'ordre des Ratites et ayant divergé il y a plus de 80 à 120 millions d'années (Sibley C.G., 1990 ; van Tuinen and Hedges, 2001). Ces études ont montré qu'une part de la stabilité des génomes aviaires provenait d'une quasi-absence de remaniements inter-chromosomiques (Derjusheva, *et al.*, 2004). Ainsi, des travaux plus récents effectués chez deux espèces de Passeriformes, le gobe-mouche à collier (*Ficedula albicollis*) et le diamant mandarin (*Taeniopygia guttata*), ont montré que seulement deux remaniements inter-chromosomiques avaient eu lieu depuis la divergence séparant la poule et les Passeriformes et ce, malgré un temps de divergence d'environ 100 millions d'années (Hackett, *et al.*, 2008). Pour comparaison, l'Homme et la souris qui sont séparés depuis environ 80 millions d'années présentent plus de 100 réarrangements inter-chromosomiques (Burt, *et al.*, 1999). Contrairement aux remaniements inter-chromosomiques, les réarrangements intra-chromosomiques semblent fréquents au sein des génomes aviaires et nombre d'entre eux ont été identifiés au cours de plusieurs études (Volker, *et al.*, 2010 ; Skinner and Griffin, 2012). Il a été proposé que cette différence de proportion entre les deux types de remaniements provient du faible nombre d'éléments favorisant les événements de recombinaisons homologues non-alléliques, tels que les séquences répétées ou les pseudogènes, présents dans les génomes aviaires (Burt, 2002). En se basant sur cette



hypothèse, Skinner et Griffin (2012) proposent l'existence de « points de rupture » où s'accumuleraient les éléments favorables à la recombinaison homologue non-allélique, notamment les CNVs ou « Copy Number Variant » (Volker, *et al.*, 2010). Un CNV est un événement de duplication ou de délétion d'un fragment d'ADN de plus d'un 1 Kb (Freeman, *et al.*, 2006). Cette hypothèse semble corroborée par la plus grande densité de CNVs présente dans les microchromosomes par rapport aux macrochromosomes, ceux-ci ayant d'ailleurs un taux de recombinaisons plus faible (Skinner, *et al.*, 2014).

### c) Le cas des Galliformes.

Comme la majorité des espèces aviaires, les Galliformes présentent un caryotype comprenant 76 à 80 chromosomes (Gregory, 2005). Du fait de l'importance économique et scientifique de ces espèces, les caryotypes de plusieurs espèces d'intérêt, à savoir la caille japonaise, la dinde, la pintade et la poule (Shibusawa, *et al.*, 2001 ; Shibusawa, *et al.*, 2002 ; Shibusawa, *et al.*, 2004a ; Shibusawa, *et al.*, 2004b ; Schmid, *et al.*, 2005 ; Galkina, *et al.*, 2006) ont été établis. La comparaison de la pintade ( $2n = 78$ ) avec la poule ( $2n = 78$ ) montre l'existence de deux remaniements inter-chromosomiques équivalents à une fusion entre GG4 et GG9 pour le chromosome NME4 et une seconde entre GG6 et GG7 pour le chromosome NME5. De plus, deux autres remaniements intra-chromosomiques ont pu être observés sur NME7 (homologue de GGA8) ainsi qu'une délétion ou addition de bande sur NMEZ et GGAZ (Shibusawa, *et al.*, 2002). Au contraire de fusions, des observations réalisées chez la dinde ( $2n = 80$ ) utilisant des analyses de caryotypes (Shibusawa *et al.*, 2004), des comparaisons de séquences (Dalloul, *et al.*, 2010) et de cartes génétiques et physiques (Griffin, *et al.*, 2008 ; Aslam, *et al.*, 2010 ; Zhang, *et al.*, 2011), montrent deux événements de fission au sein des chromosomes GGA2 et GGA4. Ces fissions sont respectivement à l'origine des chromosomes MGA3 (GGA2p), MGA6 (GGA2q), MGA4 (GGA4q) et MGA9 (GGa4p). De plus, grâce à la carte génétique construite à partir de SNP, Aslam et ses collaborateurs (2010) ont observé 57 remaniements intra-chromosomiques. Cependant, ces résultats n'ont pu être confirmés par les comparaisons de cartes physiques effectuées par Zhang et ses collaborateurs (2011). Les comparaisons cytogénétiques entre la caille japonaise ( $2n = 78$ ) et la poule ne présentent aucun remaniement inter-chromosomique (Shibusawa, *et al.*, 2001 ; Schmid, *et al.*, 2005 ; Galkina, *et al.*, 2006), résultats confirmés grâce à des cartes basées sur des marqueurs AFLP ou des gènes orthologues (Kayang *et al.*, 2006 ; Sasazaki *et*

al., 2006). Comme pour les autres espèces aviaires, ces travaux révèlent plusieurs remaniements intra-chromosomiques. Les comparaisons de caryotypes faites par Shibusawa et ses collaborateurs (2001) montrent des réarrangements chromosomiques sur les chromosomes CJA1, CJA2, CJA4 et CJA8 sous la forme de blocs inversés. Des analyses de FISH réalisées par Kayang et ses collaborateurs (Kayang, *et al.*, 2006) confirment la présence des inversions sur CJA1 et CJA4. De même, Galkina et ses collaborateurs (2006) mettent en évidence les inversions des chromosomes CJA1 et CJA2 bien que n'observant pas de remaniement sur CJA4. Une étude de comparaison de la position de gènes orthologues par Sasazaki et ses collaborateurs (Sasazaki, *et al.*, 2006) confirme la présence d'une inversion sur CJA2, mais révèle aussi l'existence d'autres inversions sur les chromosomes CJA3, CJA5 et CJA7. Enfin, une étude récente confirme la présence d'une inversion sur CJA3 et révèle une nouvelle inversion sur CJA11 (Zlotina, *et al.*, 2012).

Un autre exemple, à plus faible échelle, de la stabilité des génomes aviaires est l'étude du CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité). Cette région du génome est considérée comme étant une des plus polymorphes et code pour des protéines intervenant dans les réponses immunitaires acquises et innées (Klein, 1986 ; Hughes and Yeager, 1998). Généralement, le CMH varie en taille, en nombre de gènes et dans sa répartition dans le génome (Trowsdale, 1995 ; Kulski, *et al.*, 2002 ; Kelley, *et al.*, 2005). Chez la poule, le CMH est formé de deux clusters de gènes génétiquement indépendants sur le chromosome 16 (GGA16), MHC-B et MHC-Y (Delany, *et al.*, 2009 ; Solinhac, *et al.*, 2010). Cette structure semble être conservée chez les autres Galliformes. En effet, chez la dinde, le cluster MHC-B présente une bonne conservation de la synténie avec celui observé chez la poule, les différences se trouvant dans le nombre de copies des gènes BG et BLB (trois copies chacun au lieu d'une seule copie pour BG et de deux pour BLB chez la poule) et une inversion du gène TAPBP (Chaves, *et al.*, 2009). De même, chez le faisan doré (*Chrysolophus pictus*), le locus MHC-B s'est révélé très conservé comparé à celui de la poule, ne montrant qu'une inversion des gènes TABP, TAP1 et TAP2 et une duplication de BLB et NK (Ye, *et al.*, 2012). Le tétras lyre (*Tetrao tetrix*), quant-à-lui, présente une structure de MHC toujours très conservée dont les modifications sont équivalentes à celles observées chez le faisan doré, mais dépourvues des duplications de BLB et NK (Wang, *et al.*, 2012). En fait, parmi les Galliformes étudiés, la caille japonaise semble présenter le MHC-B ayant subi le plus de modifications. En effet, si l'on observe que l'ordre et le sens des gènes est le même que celui

observé chez la poule, on constate une augmentation conséquente du nombre de copies de plusieurs gènes due à au moins cinq événements de duplication et/ou délétion dans la région du MHC-B. Ces événements sont d'ailleurs à l'origine de dix copies de BLB, sept de BF et huit de BG (Shiina, *et al.*, 2004). De plus, Hosomichi et ses collaborateurs (Hosomichi, *et al.*, 2006), révèlent l'existence d'au moins cinq haplotypes différents dans ces régions, présentant une architecture génétique et un profil d'expression différents. Cette flexibilité structurelle et la diversité du MHC-B observées chez la caille japonaise pourraient avoir pour origine, d'après Shiina et ses collaborateurs (2004), le mode de vie migratoire de la caille. Celui-ci met la caille japonaise en contact avec une plus grande variété d'agents pathogènes par rapport aux autres Galliformes testés, qui ont un mode de vie plus sédentaire.

#### d) Conservation des marqueurs génétiques.

Dans les sections précédentes, nous avons pu montrer la stabilité des génomes aviaires, aussi bien en termes de taille et d'organisation. Cette stabilité du génome aviaire présente de nombreux avantages dans l'étude des facteurs génétiques, notamment dans la possibilité de transférer des observations d'une espèce à l'autre. Alors que plus de mille microsatellites ont pu être identifiés chez la poule domestique (Gholizadeh and Mianji, 2007), la possibilité d'utiliser ces marqueurs chez d'autres espèces aviaires, notamment celles d'intérêt économique telles que la caille japonaise, la dinde et la pintade, serait intéressante.

Plusieurs études ont testé cette possibilité de transfert de marqueurs déterminés chez la poule vers d'autres espèces comme la dinde (Levin, *et al.*, 1995 ; Liu, *et al.*, 1996 ; Reed, *et al.*, 1999, 2000), la caille (Pang, *et al.*, 1999 ; Inoue-Murayama, *et al.*, 2001 ; Gruszczynska and Michalska, 2013) et la pintade (Nahashon, *et al.*, 2008). Deux études ont testé la possibilité de transférer des marqueurs microsatellites identifiés chez la caille japonaise vers la poule (Kayang, *et al.*, 2002) et la pintade (Kayang, *et al.*, 2002 ; Nahashon, *et al.*, 2008). Les résultats de ces analyses ont pour la plupart montré que seule une minorité des microsatellites identifiés chez la poule pouvaient être exploitée chez d'autres espèces (seulement 20% d'entre eux par exemple, chez la dinde (Reed, *et al.*, 2000). De plus, le succès de ces expériences semble être très variable. Par exemple l'utilisation de marqueurs identifiés chez la caille japonaise a été testée sur la pintade : 30 sur 36 marqueurs testés ont fonctionné dans l'étude de Nahashon et ses collaborateurs (2008) quand seulement 20 sur 98

ont été validés par Kayang et ses collaborateurs (2002). Cependant, même si le transfert des microsatellites ne semble pas optimal pour étudier le génome des espèces Galliformes, cette méthode pourrait fournir une aide précieuse pour la construction de cartes génétiques chez les espèces moins étudiées que la poule. Enfin, l'observation d'une conservation, même partielle, des marqueurs microsatellites entre ces espèces avicoles est un bel exemple de la stabilité des génomes aviaires.

Deuxième partie :  
Objectifs et démarches expérimentales.

## A/ Objectifs généraux

Comme nous avons pu le montrer dans le chapitre de revue bibliographique, la sélection sur des critères du comportement peut influencer des caractéristiques quantitatives de production. Un des exemples est la sélection divergente pour le comportement de picage chez la poule qui a montré des effets sur la production d'œufs (Su, *et al.*, 2006). L'inverse est également vrai, à savoir que la sélection sur des critères de production peut amener des modifications comportementales avec par exemple, le cas des lignées de poules pondeuses qui présentent une propension au picage plus importante que les lignées non sélectionnées (Kjaer, 2003). Dès lors, et dans un objectif de durabilité des pratiques de sélection avicole, la compréhension des relations partagées à un niveau génétique entre caractères du comportement et de production devient nécessaire.

La thèse avait donc pour objectif de contribuer à une meilleure compréhension des capacités d'adaptation comportementale chez l'oiseau et leur contrôle par des facteurs génétiques. Pour cela, nous avons mis en œuvre une analyse multivariée des comportements sociaux-sexuels et de la réactivité émotionnelle en lien avec le niveau de production au sein d'un croisement de seconde génération entre des lignées de cailles sélectionnées de façon divergente sur la motivation sociale.

Les résultats attendus devaient nous permettre de contribuer à une meilleure compréhension des tests comportementaux mis en œuvre. De plus, grâce à l'estimation des paramètres génétiques (héritabilité et corrélations génétiques), nous devions pouvoir estimer l'impact des facteurs génétiques sur la variabilité des comportements et les niveaux d'indépendance ou, au contraire, de relations entre comportements et caractères de production. Enfin, la détection de QTL (Quantitative Trait Loci) devait nous permettre de commencer à explorer l'architecture génétique des comportements par l'identification des régions génomiques impliquées.

## B/ Démarches expérimentales.

### 1) Modèle animal.

L'ensemble des travaux a porté sur la caille japonaise (*Coturnix japonica*), largement utilisée comme animal modèle dans les domaines de la biologie et de la médecine (Minvielle, 2004). Pour les études sur la génétique du comportement, la caille japonaise présente plusieurs avantages lorsqu'elle est comparée à la poule, à savoir un coût d'entretien relativement faible, une forte production d'œufs et un court intervalle entre générations (maturité sexuelle atteinte aux environs de six à sept semaines chez la caille japonaise contre six à sept mois pour la poule). De plus, la caille japonaise présente une gamme de comportements sociaux similaires à ceux observés chez la poule. Toutes ces caractéristiques font de la caille un bon modèle d'étude pour la poule, d'autant qu'il existe une forte homologie des génomes entre les deux espèces.

Tirant profit des caractéristiques biologiques de la caille japonaise, des lignées divergentes ont été sélectionnées pour des caractères d'intérêt incluant la motivation sociale. Notre étude a porté sur un croisement de seconde génération entre deux lignées divergentes sur ce comportement, sélectionnées par Andrew Mills et Jean-Michel Faure (1991) selon un protocole assez simple. Durant cinq minutes, un cailleteau de 6 à 8 jours était placé au milieu d'un tapis face à une cage contenant cinq congénères. Dès que l'individu testé commençait à se mouvoir vers ses congénères, le tapis était activé, empêchant sa progression. La distance parcourue était mesurée en unité arbitraire et devait estimer la motivation de l'individu à rejoindre des congénères. Les mouvements du tapis étaient arrêtés dès que le cailleteau testé cessait de se déplacer. Le cailleteau avait aussi la possibilité de rejoindre une zone opposée à la cage contenant les congénères, le temps passé dans cette zone étant supposé représenter la tendance de l'animal à ne pas vouloir rejoindre des congénères. Afin d'intégrer cette donnée, le temps passé dans cette zone était soustrait de la distance parcourue sur le tapis roulant pour donner l'index de sélection des lignées. De plus, durant cette sélection, la réactivité émotionnelle des individus estimée par la durée d'immobilité tonique (voir Section Mesures comportementales) a été contre-sélectionnée pour s'assurer que la réponse au test du tapis roulant ne soit pas affectée par un autre caractère comportemental, la peur.

Les deux lignées issues de cette sélection, HSR (Forte motivation sociale) et LSR (Faible motivation sociale), présentent des différences pour la motivation sociale dans plusieurs conditions expérimentales telles que l'isolement social (Mills, *et al.*, 1993), les interactions inter-individus (Launay, *et al.*, 1991) ou les comportements sexuels (Burns, *et al.*, 1998). La motivation sociale au sein de ces lignées est « espèce spécifique », les cailles des deux lignées ne cherchant pas à aller à la rencontre de jeunes pintades ou de jeunes poules (Mills, *et al.*, 1995). De plus, les individus de la lignée HSR présentent une motivation sociale plus forte à l'encontre de membres de leur lignée au contraire des individus LSR, dont la réponse ne varie pas en fonction des types de congénères (HSR ou LSR) (Carmichael, *et al.*, 1998). Ces lignées diffèrent aussi dans leur capacité à montrer des comportements de discrimination entre individus familiers et inconnus. En effet, la caille japonaise aussi bien juvénile qu'adulte est capable après une mise en contact de 24 heures, de différencier un individu familier d'un étranger (Arnould, *et al.*, 2008 ; Schweitzer, *et al.*, 2009). Cependant, les individus de la lignée HSR ne montrent des comportements discriminants qu'à l'âge de six semaines contre une semaine pour les individus LSR (Schweitzer, *et al.*, 2009). Ces réactions face à des individus familiers ou inconnus semblent se répercuter dans les interactions sociales en groupe avec des distances inter-individus plus faibles chez les HSR juvéniles avant une égalisation à l'âge adulte (Francois, *et al.*, 1999). De plus, ces deux lignées présentent des réactions différentes à l'instabilité sociale. Les individus de la lignée HSR ont des réponses de détresse plus fortes lorsque séparés d'individus familiers et montrent une plus forte tendance à donner des coups de becs doux ou non-agressifs à l'encontre d'individus non-familiers (Francois, *et al.*, 2000 ; Schweitzer, *et al.*, 2010a ; Schweitzer and Arnould, 2010b).

## 2) Mesures comportementales.

L'analyse comportementale a porté à la fois sur les comportements sociaux-sexuels et la réactivité émotionnelle. Ces analyses ont été effectuées selon une chronologie précise développée à partir du protocole de sélection des lignées HSR et LSR, du développement physique, physiologique et psychique des animaux et en intégrant également les contraintes matérielles (Figure 5). Ainsi les tests de motivation sociale et de l'induction de l'immobilité tonique sont réalisés lorsque les cailles sont encore juvéniles pour limiter des effets liés à l'apprentissage ou au vécu des animaux. De la même façon, les tests d'objet nouveau et d'activité générale sont réalisés à un âge où les individus tolèrent d'être seuls. Enfin, les tests



d'agressivité et de motivation sexuelle nécessitent que les individus soient sexuellement matures. En parallèle de ces caractères comportementaux, le poids à 17 et à 65 jours a été mesuré pour tous les individus. Pour les femelles, l'âge au premier œuf, le nombre d'œufs pondus jusqu'à 24 semaines ainsi que le poids moyen des œufs (calculé à partir d'un échantillonnage de trois œufs collectés entre la douzième et la treizième) ont également été mesurés.

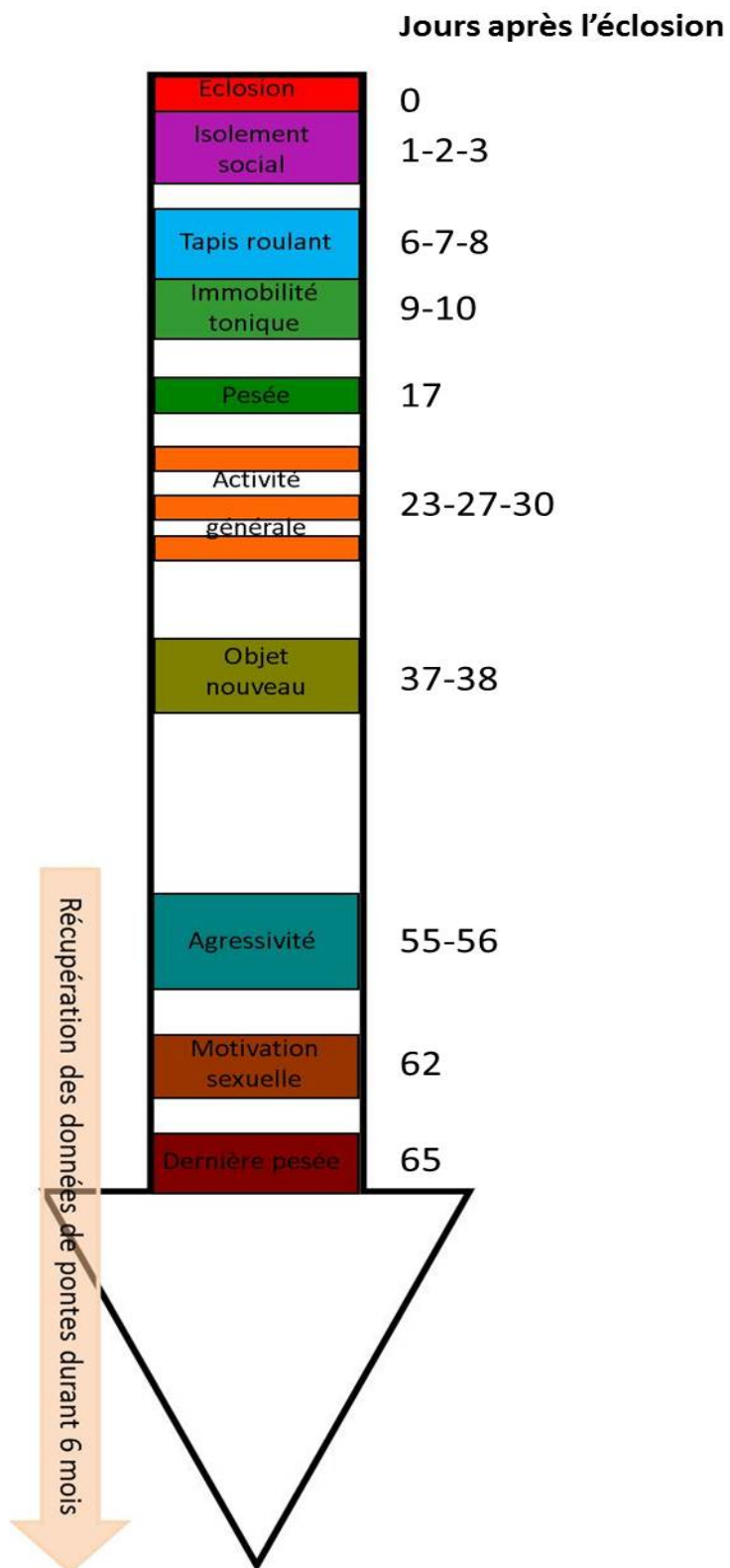


Figure 5 : Chronologie des mesures comportementales et de production.

### a) Motivation sociale.

La caille japonaise tout comme la poule est un animal social avec une structure et des interactions sociales précises. Les conditions d'élevage modernes perturbent, ne serait-ce que par le nombre d'individus présents en un même endroit, les mécanismes sociaux de ces espèces. Aussi, il a été proposé que des animaux présentant une forte motivation sociale, et qui toléreraient donc mieux d'être en présence d'un nombre important de congénères, seraient plus adaptés à la vie en élevage intensif (Jones, *et al.*, 1996). La motivation sociale se définit comme la tendance d'un animal isolé à établir le contact, à se déplacer et à rester proche d'un groupe de congénères (Masne, 1996). Deux tests comportementaux permettant d'estimer la motivation sociale des cailles ont été réalisés : le test d'isolement social et le test du tapis roulant.

#### -Test d'isolement social.

Les jeunes cailleteaux, âgés d'un à trois jours durant ce test, sont élevés dans de grandes cages communes. Le principe du test consiste tout d'abord à transférer les cailleteaux en groupe dans une cage similaire à celle utilisée pour le test d'isolement social durant une période d'habituation. Une fois cette période terminée, un cailleteau est séparé de ses congénères et placé seul au milieu de l'arène de test, celle-ci étant pourvue en eau et nourriture. Le fait de permettre une période d'habituation sert à limiter les réactions émotionnelles dues à un environnement inconnu. Ainsi les comportements exprimés par l'animal doivent refléter sa motivation sociale, plus particulièrement des comportements de recherche de congénères, et non de peur. Les individus des lignées HSR et LSR présentent des réponses différentes à ce test. Les individus HSR se montrent notamment plus mobiles et actifs, se déplaçant, sautant et vocalisant plus que les individus LSR qui restent plutôt assis ou couchés (Mills, *et al.*, 1993). Plus particulièrement, la distance parcourue en périphérie de l'arène est interprétée comme un comportement de recherche de congénères et est considérée comme étant un bon indicateur de la motivation sociale par Schweitzer et ses collaborateurs (2010a). Durant notre étude et pour ce test, nous avons utilisé cette variable comme estimateur de la motivation sociale de l'animal.

### -Test du tapis roulant.

Ce test a été utilisé pour la sélection des lignées HSR et LSR (Mills and Faure, 1991). La variable retenue dans notre étude est la distance parcourue sur un tapis roulant par un individu âgé de six à huit jours comme estimateur de la motivation sociale. La question qui se pose dans l'utilisation du test du tapis roulant est la possibilité que la distance parcourue pour rejoindre des congénères ne dépende pas uniquement de la motivation sociale. Deux caractéristiques peuvent notamment intervenir dans la réaction de l'animal face à ce test, à savoir la réactivité émotionnelle face à un environnement inconnu et l'activité générale de l'individu. En ce qui concerne les aspects de réactivité émotionnelle, les individus des deux lignées ont subi une contre-sélection sur la durée d'immobilité tonique, un estimateur de la réactivité émotionnelle. Etant donné qu'aucune différence pour ce caractère n'a été constatée entre les individus des deux lignées, on suppose que la réactivité émotionnelle n'intervient pas dans la réponse au test du tapis roulant (Launay, *et al.*, 1993). D'après Mills et ses collaborateurs (1993), les animaux des deux lignées ne présentent pas non plus de différences au niveau de l'activité générale, résultat qui semble être confirmé par Schweitzer et ses collaborateurs (2010a). Les résultats observés durant les tests de motivation sociale ne seraient donc pas dus à des différences d'activité générale des animaux.

### b) Réactivité émotionnelle.

Comme nous l'avons rapidement évoqué dans la section « Comportement et bien-être animal », certains comportements comme ceux de réponses anti-prédation peuvent être délétères en condition d'élevage. Chez les oiseaux, les comportements liés à la réactivité émotionnelle comme ceux de peur, peuvent être à l'origine de mouvements de panique qui eux-mêmes provoquent des lésions voire le décès d'animaux (Mills and Faure, 1990). Inclure dans notre étude des caractères comportementaux liés à la réactivité émotionnelle est important du point de vue du bien-être animal et pour comprendre leurs relations avec d'autres caractères du comportement ou de production. Dans notre étude, deux tests ont été réalisés : le test d'induction de l'immobilité tonique et le test de l'objet nouveau.

#### -Test d'induction de l'immobilité tonique.

L'immobilité tonique est une réponse physiologique innée induite par l'exercice d'une contrainte physique sur l'animal. Cette réaction est considérée comme une réponse anti-prédation exprimée lors de la capture de la proie par le prédateur, l'immobilité devant minimiser les risques que l'attaque continue et permettre à la proie de profiter d'une baisse de concentration du prédateur pour fuir. Cette stratégie de « faire le mort » a par exemple été observée chez le canard (Sargent, 1975) et la caille japonaise (Thompson, *et al.*, 1981).

Valance et ses collaborateurs (Valance, *et al.*, 2008) ont montré que l'induction de l'immobilité tonique chez des cailles japonaises entraînait une élévation du rythme cardiaque, signe d'un ressenti négatif de la situation par l'individu. Il a aussi été montré que, chez des cailles non-sélectionnées pour la durée d'immobilité tonique, l'activité générale des individus était indépendante de la durée d'immobilité tonique. Cette observation est importante car elle limite la possibilité que les réponses à ce test soient dues à des différences dans l'activité générale des animaux (Bizeray, *et al.*, 2002). La durée de l'immobilité tonique est donc considérée comme étant un bon estimateur de la réactivité émotionnelle de l'individu. Le test apparaît être répétable et a été validé par de nombreux travaux (Forkman, *et al.*, 2007). On estime que plus l'animal persiste dans son état d'immobilité tonique, plus il est apeuré.

En condition de test chez la caille japonaise, l'induction de l'immobilité tonique se fait en plaçant l'animal, âgé de neuf à dix jours, sur le dos dans un berceau en forme de U. L'expérimentateur place ensuite un doigt sur la gorge de la caille durant dix secondes. Si l'oiseau ne se redresse pas, on mesure la durée d'immobilité avec une durée maximale de cinq minutes. En revanche, si l'oiseau se redresse immédiatement, l'immobilité n'a pas été induite et on tente à nouveau l'induction cinq fois au maximum.

#### -Test de l'objet nouveau.

Le principe de ce test consiste à observer les réactions des animaux face à l'introduction dans leur environnement d'un élément inconnu, la nouveauté étant perçue comme anxiogène. En effet, les réponses des animaux face à un objet nouveau, sont principalement la fuite et l'évitement, réactions considérées comme étant des manifestations de peur. Par conséquent, un individu s'approchant de l'objet nouveau et entrant éventuellement en contact avec, peut être considéré comme étant moins apeuré qu'un autre gardant le plus possible ses distances avec l'objet (Jones, 1987 ; Jones and Waddington,

1992). Comme pour le test d'induction de l'immobilité tonique, les observations réalisées sur un individu s'avèrent être répétables (Forkman, *et al.*, 2007).

Durant notre expérimentation, les cailles âgées de trente-sept à trente-huit jours, étaient placées en cages individuelles disposant de parois opaques empêchant ainsi les animaux de voir les cages adjacentes. Lors du test, la mangeoire de l'individu testé était remplacée par une autre mangeoire disposant de parois opaques, évitant ainsi la possibilité que les cailles voisines puissent voir le contenu de la mangeoire. L'objet, un cylindre multicolore de dix centimètres de haut, est alors posé dans la mangeoire. Les réactions de l'animal sont observées et notées selon une méthode de scan (un scan toutes les 10 secondes) durant deux minutes. Dans notre étude, nous avons observé le nombre de scans où l'animal testé sortait la tête de sa cage et/ou touchait l'objet avec son bec comme estimateur de la réactivité émotionnelle.

#### -Différences entre les deux tests.

L'intérêt d'utiliser deux tests comportementaux différents est lié au fait que la réactivité émotionnelle présentent de nombreuses composantes et dépend de l'interprétation de l'environnement par l'animal (Desire, *et al.*, 2002 ; Forkman, *et al.*, 2007). En effet, une des différences fondamentales entre les deux tests est la possibilité de réponses de l'animal. Dans le cadre du test d'induction de l'immobilité tonique, l'animal est contraint physiquement et dans l'incapacité de fuir. Au contraire, dans le test de l'objet nouveau, l'animal a plus de possibilités dans ses réactions face au stimulus. Il a été montré que les réponses aux tests d'induction de l'immobilité tonique et de réactions face à un objet nouveau étaient indépendantes, indiquant que ces tests étaient liés à des composantes différentes de la réactivité émotionnelle chez la caille japonaise (Saint-Dizier, *et al.*, 2008 ; Schweitzer and Arnould, 2010b).

### c) Comportements sexuels et agressifs.

Les comportements liés à la sexualité ou l'agressivité des individus sont des composantes particulières des comportements sociaux. Tout d'abord, les comportements agonistes tels que les postures d'intimidation et les coups de bec portés au cou, à la tête ou aux yeux et les réactions qui en découlent -contre-attaque ou au contraire posture de soumission ou fuite- servent à établir les relations de dominance au sein du groupe et participent donc à la structuration sociale du groupe (Mills, *et al.*, 1997). La relation entre la sociabilité d'un individu et son agressivité est complexe et il n'existe pas de consensus pour la définir. En effet, s'il a pu être montré que des cailles élevées en situation d'isolement social se montraient plus agressives que des cailles élevées dans un environnement social, indiquant que les comportements agressifs ne nécessitaient pas d'apprentissage social (Middlebush, *et al.*, 1968), aucune relation directe n'a été clairement établie. En effet, des travaux réalisées sur les lignées HSR et LSR tendent à montrer que les cailles HSR effectueraient plus de coups de bec et de postures de menace en cas d'interaction avec des animaux inconnus que les cailles LSR (Schweitzer and Arnould, 2010b). Cependant, d'après François et ses collaborateurs (2000), ces coups de bec auraient un objectif d'exploration sociale et non d'établissement de la dominance.

Les comportements liés à la sexualité de l'individu ont eux aussi une composante sociale au travers des comportements de cour. Le comportement nuptial de la caille japonaise mâle consiste à prendre appui sur les griffes avec le corps le plus étiré possible, parallèle au sol et les plumes dressées. Face à cette parade, si la femelle est réceptive, elle s'accroupit et permet au mâle de la monter. En cas de non-réceptivité, la femelle peut montrer des comportements de fuite voire des comportements agressifs envers le mâle. Si la femelle est réceptive, le mâle s'approche de la femelle et la monte sans autres comportements nuptiaux (Mills, *et al.*, 1997). Plusieurs effets sociaux ont pu être observés dans le choix du partenaire par la femelle, comme le fait de voir un des partenaires potentiels copuler (White and Galef, 1999, 1999, 1999). Ces comportements ont été affectés par la sélection sur la motivation sociale. En effet, les individus de la lignée HSR montrent une plus faible latence à effectuer les différentes étapes des comportements nuptiaux que les individus LSR, et se montrent plus efficaces dans leurs copulations (Burns, *et al.*, 1998).

Dans notre étude, deux tests ont été réalisés afin d'étudier ces comportements : un test d'agressivité et un test de motivation sexuelle.

#### -Test d'agressivité.

Classiquement, l'agressivité d'un individu est estimée en effectuant une confrontation directe avec un autre individu. Cette méthode présente cependant plusieurs désavantages. Elle peut entraîner des blessures chez les individus testés et influencer le résultat des confrontations suivantes par l'établissement de relations de dominance ou de subordination si un même adversaire est rencontré plusieurs fois. Même si un adversaire ne peut pas être rencontré plusieurs fois, un effet vainqueur/perdant, se met en place. Cet effet se définit comme le fait que l'issue d'une rencontre entre deux individus soit influencée par le résultat de la rencontre précédente. Ainsi, un vainqueur a plus de chance de remporter sa prochaine rencontre tandis qu'un perdant voit ses chances de victoire diminuer (Chase, *et al.*, 1994 ; Martin, *et al.*, 1997a, 1997b ; Dugatkin and Druen, 2004 ; Dugatkin and Earley, 2004).

Dans notre étude, les confrontations ont été réalisées en plaçant, au sein d'une arène disposant d'un miroir, une caille âgée de cinquante-cinq à cinquante-six jours face à son reflet durant deux minutes pendant lesquelles ses actions sont notées toutes les dix secondes. Deux variables ont été mesurées durant ce test : les coups de bec « doux » et les coups de bec agressifs envers l'image dans le miroir. Les premiers permettent d'estimer la propension à l'exploration sociale de l'individu et les seconds son agressivité (Savory, 1995).

L'utilisation d'un miroir plutôt que d'un congénère présente deux types d'avantages. Le premier est l'absence de lésions découlant de la confrontation. Le second est la standardisation des réponses au test, celles-ci n'étant plus affectées par les réponses de l'adversaire ou l'effet vainqueur/perdant. De plus, le remplacement d'un congénère par un miroir a été montré comme une bonne substitution dans le cadre de l'expression de comportements sociaux (Henry, *et al.*, 2008) et a été utilisé avec succès dans plusieurs études (Hirschenhauser, *et al.*, 2008 ; Wiren, *et al.*, 2009). L'utilisation d'un miroir présente pourtant quelques désavantages comme l'absence de stimuli de réponse et l'absence d'un dénouement à la confrontation, qui peut pousser l'individu à être plus agressif qu'en situation réelle (Hirschenhauser, *et al.*, 2008).



#### -Test de motivation sexuelle.

La motivation sexuelle est mesurée chez la caille japonaise d'une façon équivalente à celle mise en place chez la poule (Siegel, 1965 ; Sefton and Siegel, 1975). Pour cela on utilise le plus souvent le nombre d'accouplements complets. Ce dernier se définit comme le nombre de fois où la caille mâle a effectué la totalité des comportements nécessaires à la procréation comprenant le fait d'attraper des plumes du cou de la femelle, monter la femelle et positionner son cloaque de façon à ce qu'il entre en contact avec celui de la femelle (Sefton and Siegel, 1973). Notre test de motivation sexuelle consistait à placer une caille mâle âgée de soixante-deux jours dans l'arène du test d'agressivité dont le miroir a été retiré. L'arène contenait alors une femelle taxidermée en position accroupie, simulant ainsi une femelle réceptive. Du fait de l'utilisation de ce leurre, nous avons estimé la motivation sexuelle par le nombre de montes accomplies sur le leurre, la mise en contact des cloaques étant par définition assez complexe avec un leurre. Ainsi, plus l'animal effectuait de montes plus il était considéré comme motivé sexuellement. Tout comme dans le test d'agressivité, l'utilisation d'un leurre plutôt qu'une femelle présente l'avantage de standardiser les réponses au test, celles-ci n'étant plus soumises aux réponses de la femelle. De plus, cela permet d'éviter les lésions pouvant résulter d'accouplements successifs ou de comportements agressifs de la part de femelles non-réceptives.

#### d) Activité générale en cage.

Afin d'améliorer notre compréhension des tests comportementaux, il était important d'étudier dans nos conditions expérimentales les relations entre les différents types de test (en particulier les tests du tapis roulant et d'immobilité tonique) et l'activité générale des animaux. De plus, évaluer les liens entre l'activité et les caractères de production peut contribuer à mieux évaluer l'impact de la sélection (le plus souvent menée sur des critères de production) sur le bien-être animal. Le test a été réalisé en observant le comportement des animaux en cage, âgés de vingt-trois à trente jours, à des horaires précis, plusieurs fois par jour à l'aide de la méthode du scan « sampling ». La proportion de scans que l'animal a passée debout sur le nombre total de scans a été retenue comme estimateur de l'activité générale de l'individu.

### 3) Analyses génétiques.

#### a) Choix du dispositif F2.

Le dispositif étudié correspond à un dispositif classique de détection de QTL par analyse de liaison. Il s'agit d'un croisement de seconde génération (F2) entre les deux lignées de cailles HSR et LSR sélectionnées de façon divergente pour la motivation sociale (Figure 6). L'intérêt de réaliser un croisement entre deux lignées divergentes pour le caractère d'intérêt (ici la motivation sociale) est la maximisation de l'hétérozygotie (aux QTLs) lors de la première génération de croisement (F1). La constitution de familles de grandes tailles issues des pères et des mères F1 permet ensuite de suivre la transmission conjointe des allèles au QTL et aux marqueurs entre parents et descendants. De plus, l'utilisation d'un croisement de type F2 plutôt que les lignées divergentes diminue le risque d'observer des relations entre caractères dues à des effets aléatoires comme la dérive génétique.

La population F2 a été obtenue en réalisant une première génération de croisement (F1) entre quatre mâles HSR et quatre femelles LSR et entre quatre mâles LSR et quatre femelles HSR, donnant respectivement les croisements, H/L et L/H. A partir de cette génération F1, trois mâles H/L ont été accouplés avec deux femelles H/L et deux femelles L/H. Trois autres mâles L/H ont été accouplés avec deux femelles H/L ou L/H. De ces accouplements ont résulté 912 individus F2 (comportant 452 mâles et 460 femelles) produits en six lots espacés de quatre semaines. En moyenne, chaque femelle F1 a produit 40 descendants et chaque mâle F1, 160.

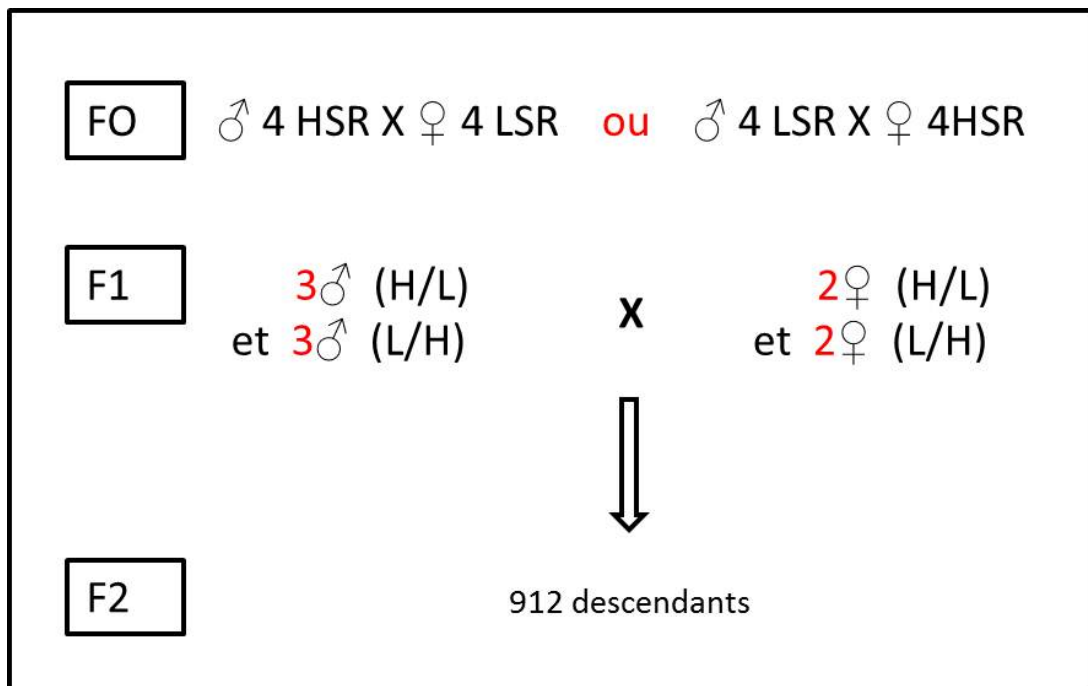


Figure 6 : Schéma du dispositif expérimental F2.

## b) Estimation des paramètres génétiques.

Les méthodes classiques d'estimation des paramètres génétiques font le plus souvent l'hypothèse que les valeurs d'une variable au sein de la population sont distribuées de façon gaussienne. Dans notre cas, plusieurs caractères de comportement présentaient des distributions éloignées de la normalité, en particulier les mesures des réactions face à un objet nouveau, d'agressivité, de motivation sexuelle et d'activité générale des animaux comme illustré par la figure supplémentaire 1 du premier article. Afin de tenir compte de cette déviation dans l'estimation des paramètres génétiques, nous avons transformé ces variables en données discrètes (catégorielles) et d'utilisé la méthodologie du modèle à seuil. Ce modèle fait l'hypothèse que les catégories discrètes observées dépendent de la valeur d'une variable continue sous-jacente par rapport à des seuils. Par exemple, dans le cas de deux catégories, comme « sain » ou « malade », un individu est considéré « sain » tant que la variable sous-jacente de sensibilité est en-dessous d'un certain seuil (à estimer par le modèle), mais est considéré comme « malade » dès que la variable dépasse ce seuil (Sorensen and Gianola, 2002). Cette variable sous-jacente est considérée comme gaussienne et peut donc, comme classiquement dans les modèles de génétique, être modélisée comme la somme d'effets fixés liés à l'environnement, génétiques et d'un résidu au modèle.

Pour réaliser ces analyses, nous avons utilisé le logiciel TM développé par Legarra et ses collaborateurs (Legarra, 2011). Ce logiciel permet d'utiliser un modèle à seuil dans le cadre d'analyses conjointes entre des caractères continus et/ou discrets et utilise notamment la méthodologie du Gibbs Sampling pour l'estimation des composantes de variance-covariance. Dans le cadre du logiciel TM, le Gibbs Sampling permet d'intégrer la valeur sous-jacente du modèle à seuil dans le processus d'échantillonnage (Legarra, 2011). Les analyses ont été réalisées en bi-caractères en considérant un total de 100 000 itérations, puis en éliminant les 20 000 premières itérations (phase de burn-in) et en conservant un échantillon toutes les vingt itérations. Les composantes de variance-covariance (et les héritabilités et corrélations génétiques correspondantes) correspondent donc à la moyenne de 4000 estimations.

## c) Construction de la carte génétique.

En amont de notre étude, un panel de marqueurs SNPs spécifiques aux lignées HSR et LSR a été constitué. Afin de pouvoir utiliser ces marqueurs pour la détection de QTLs, nous avons dû construire une carte génétique avec les marqueurs ordonnés. Le principe de

construction d'une carte génétique est relativement simple puisqu'il s'agit d'estimer la liaison génétique et la distance génétique entre les différents marqueurs. Dans notre cas, nous avons réalisé cela en deux étapes.

La première étape a consisté à déterminer si des marqueurs SNPs étaient génétiquement liés entre eux, deux à deux, en estimant la vraisemblance de deux hypothèses, à savoir  $H_0$ , l'indépendance entre les deux marqueurs, et  $H_1$ , les deux marqueurs sont liés. Le but de cette étape était de placer les marqueurs au sein de plusieurs groupes de liaison. En effet, chaque chromosome doit, à la fin de la construction, être représenté par un groupe de liaison. La seconde étape a permis d'ordonner les marqueurs au sein de ces groupes de liaison. Pour cela, chacun des ordres de marqueurs possibles, effectués par itérations successives, subit un test de vraisemblance résultant en un Lod Score. L'ordre des marqueurs présentant le score de vraisemblance le plus élevé est conservé. Une fois tous les marqueurs ordonnés, la distance génétique séparant les marqueurs a été calculée, en utilisant la méthode de Kosambi. Cette méthode considère le phénomène d'interférence, basé sur l'hypothèse que l'existence d'un crossing-over à un locus rend plus faible la probabilité qu'un autre événement de crossing-over ait lieu dans une région proche. Cette distance est exprimée en centiMorgan (cM). Cet ensemble de calculs a été réalisé en utilisant le logiciel CriMap, conçu pour la construction de cartes génétiques chez les mammifères (Green P., *et al.*, 1990).

#### d) Détection de QTLs.

Le dispositif expérimental utilisé au cours de notre étude a été conçu afin d'optimiser la détection des QTLs par analyse de liaison. L'absence d'une carte génétique suffisamment dense pour exploiter le déséquilibre de liaison populationnel nous a conduits à procéder à une analyse de liaison (intra-famille) plutôt que l'analyse d'association.

Le principe de la détection de QTLs par analyse de liaison consiste à comparer au sein de familles (de pères ou de mères), les performances des descendants homozygotes aux marqueurs. Dans l'exemple de la figure 7, la comparaison des performances des descendants homozygotes M1/M1 et M2/M2 révèlent des différences entre les deux génotypes, laissant supposer que le marqueur M est transmis conjointement à un QTL hypothétique « q » affectant le caractère observé. Ces analyses utilisent en fait l'information de plusieurs marqueurs proches en recherchant ceux encadrant le QTL selon des méthodes de cartographies d'intervalles. Pour que ces analyses soient optimisées, il est nécessaire de

disposer de parents informatifs au QTL (Q/q dans notre exemple) ainsi qu'aux marqueurs (ici, M1 et M2). Comme expliqué précédemment, la première condition a été optimisée en utilisant un croisement entre deux lignées divergentes pour la motivation sociale. Dans notre étude, nous avons utilisé plus de 2000 marqueurs SNPs. Ces marqueurs ont été développés directement à partir des séquences génomiques d'individus HSR et LSR, afin de maximiser leur informativité dans notre dispositif. Les marqueurs sélectionnés ne devaient être présents que sous forme bi-allélique, hors de régions répétées, et ne devaient pas être issus d'un évènement d'insertion/délétion. De même, des marqueurs trop proches (moins de 120 pb) ont été exclus. Enfin, le choix final a été effectué en cherchant à maximiser la couverture du génome en prenant pour référence la poule, chacun des marqueurs ayant été au préalable positionné sur le génome de la poule, faute de génome de référence chez la caille japonaise.

Les analyses de détection de QTLs ont été réalisées en utilisant le logiciel QTLMap, développé pour le cas des populations non-consanguines (Elsen, *et al.*, 1999). Le principe de ce logiciel est de tester, par le biais d'analyses intra-famille, deux hypothèses à chacune des positions testées : la présence d'un QTL contre l'absence d'un QTL. La statistique de test est un rapport de vraisemblance dont la valeur est comparée à une valeur de seuil obtenue par simulation sous l'hypothèse H0. Dans notre cas, deux modèles ont été utilisés, un modèle « Père », testant la ségrégation du QTL chez les six pères F1 et un modèle « Père-Mère » testant la ségrégation chez l'ensemble des parents ayant un minimum de vingt descendants (soit six pères et dix-neuf mères F1). En se limitant aux pères qui présentent de nombreux descendants, le premier modèle améliore la précision de l'estimation des effets des QTLs. Le second modèle permet, en augmentant le nombre de parents potentiellement informatifs, d'améliorer en théorie les chances de détecter les QTLs.

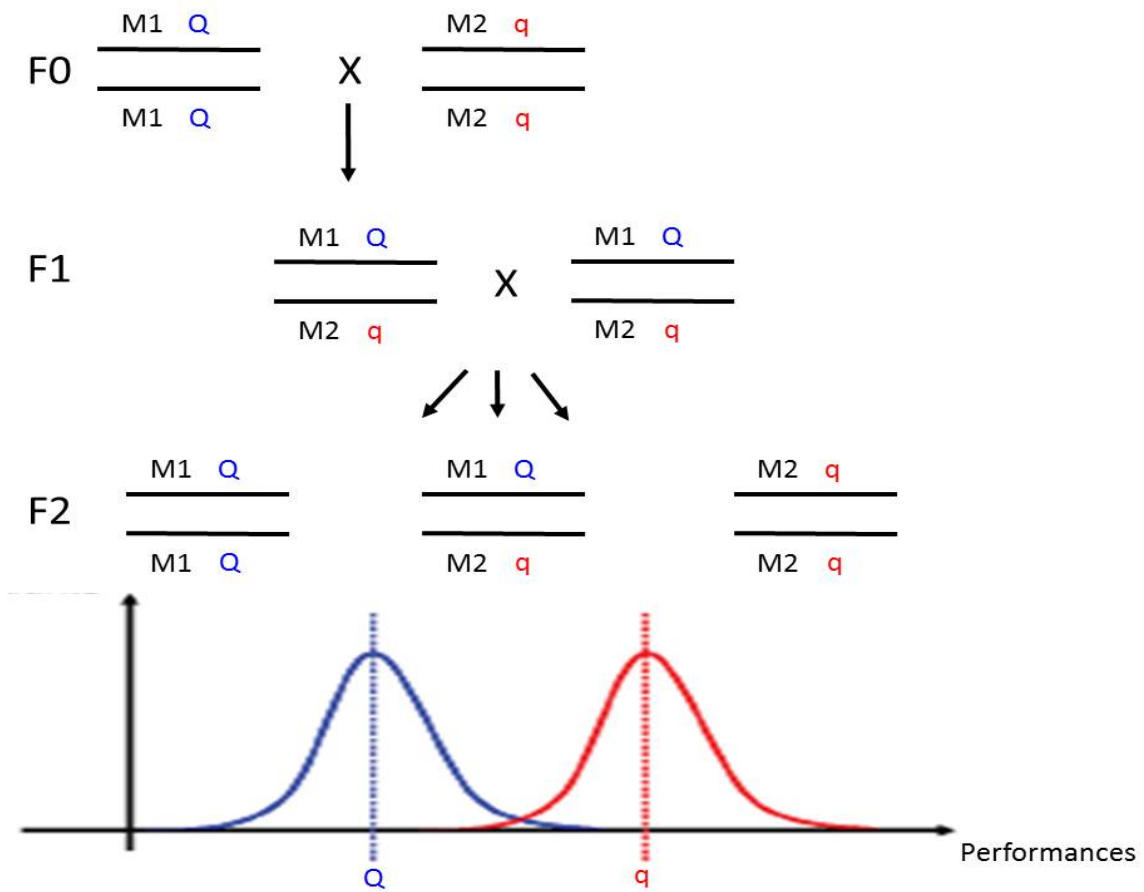


Figure 7 : Illustration des principes sous-jacents à la détection de QTLs.

Troisièmes partie :

Résultats



# A/ Mise en évidence de corrélations phénotypiques et génétiques entre caractères du comportement et de production.

## 1) Objectifs et rappel des méthodes utilisées.

Ce premier article avait comme objectif de mettre à profit le dispositif F2 pour une analyse multivariée, phénotypique et génétique, des caractères comportementaux et de production. Par le large panel des mesures comportementales réalisées, cette étude doit permettre une meilleure compréhension des réponses aux tests mis en œuvre et plus largement de la biologie des comportements sociaux-sexuels et de la réactivité émotionnelle chez l'oiseau. L'estimation des paramètres génétiques donne une première indication de l'impact de la génétique sur la variabilité des caractères et des possibles synergies ou au contraire antagonismes entre comportements et production.

Certaines mesures comportementales (en particulier celles issues des tests d'agressivité, de motivation sexuelle, de réaction face à l'objet nouveau et d'activité générale) présentant des distributions éloignées de la normale, nous avons utilisé la méthode des corrélations de rang de Spearman pour l'estimation des corrélations phénotypiques et le logiciel TM, basé sur un modèle à seuil, pour celle des paramètres génétiques.

## 2) Résultats et discussion.

A l'exception de l'activité générale des animaux, les caractères comportementaux étudiés présentent une héritabilité modérée (pour la sociabilité ou la réactivité émotionnelle) à forte (pour la motivation sexuelle ou l'agressivité). Il en est de même pour les caractères de production. Deux facteurs peuvent avoir contribué à ces fortes valeurs d'héritabilité : les effets de dominance au sein d'une population en croisement (ici de type F2) et le modèle mathématique utilisé pour l'analyse des données catégorielles de comportement. En effet, l'héritabilité estimée sur l'échelle sous-jacente dans le modèle à seuil est supérieure à celle estimée sur l'échelle discrète observée (Dempster and Lerner, 1950). Toutefois, une

héritabilité relativement élevée ( $h^2=0,34$ ) est également observée pour la distance en périphérie dans le test d'isolement social, analysée comme une variable gaussienne. De plus, les héritabilités significatives pour la distance parcourue sur le tapis roulant ou la durée d'immobilité tonique apparaissent cohérentes avec les fortes réponses observées lors d'expériences de sélection divergente sur ces deux types de caractères (Mills and Faure, 1991).

A l'exception du comportement sexuel et de l'agressivité, les corrélations phénotypiques entre les mesures comportementales étudiées sont faibles. Ceci souligne l'intérêt d'une approche multicritère pour appréhender le comportement des animaux en élevage. L'absence de corrélation (phénotypique mais aussi génétique) entre les deux variables de la sociabilité indique qu'elles évaluent deux composantes différentes de la motivation sociale, suivant que l'animal est en contact visuel et auditif avec ses congénères (dans le cas du test du tapis roulant) ou pas (dans le test d'isolement social). De la même façon, l'absence de corrélation entre la durée d'immobilité tonique et la réponse face à un objet nouveau suggère que ces deux variables évaluent deux composantes différentes de la réactivité émotionnelle, liées à des perceptions différentes de la situation de stress vécue par l'animal. Par ailleurs, les coups de bec doux ou agressifs mesurés dans le test d'agressivité semblent également indépendants. Ces résultats indiquent qu'ils ne correspondent pas à des gradients (faible ou élevé) d'un même caractère mais à des comportements avec des motivations différentes, sans doute la recherche de contact et d'interaction positive dans le cas des coups de bec doux et à l'inverse un comportement agonistique dans le cas du coup de bec agressif.

A l'inverse, nos résultats montrent qu'il existe un contrôle génétique en partie commun de certains caractères comportementaux dont l'agressivité, la motivation sexuelle et la réaction face à un objet nouveau. Chez la poule comme chez la caille, les liens entre agressivité et sexualité ont déjà été décrits avec une régulation commune par la testostérone (Sefton and Siegel, 1975 ; Blohowiak, *et al.*, 1985 ; Hirschenhauser, *et al.*, 2008 ; Lynn, 2008). Dans une expérience de sélection déjà ancienne, Siegel (1965) a bien montré qu'il était possible d'augmenter le nombre d'accouplements réalisés par un mâle mais, qu'en conséquence, la fréquence des comportements agressifs et le nombre de menaces étaient augmentés (Sefton and Siegel, 1975 ; Bernon and Siegel, 1983). Dans ces différents types de

test, les réponses de l'animal sont modulées par une balance entre peur et exploration. Les fortes corrélations génétiques mises en évidence entre le nombre de montes ou les coups de bec et la réponse face à un objet nouveau suggèrent que l'utilisation d'un leurre (la femelle taxidermée ou l'image dans le miroir) a pu introduire une composante de réactivité émotionnelle dans notre évaluation de la motivation sexuelle et de l'agressivité.

Notre étude souligne par ailleurs l'existence de corrélations génétiques parfois marquées entre comportements et production. Elles indiquent de possibles effets délétères de la sélection pour une plus forte production sur la sociabilité et la réactivité émotionnelle des animaux. Ainsi, poids vif (à 17 et 65 jours) et durée d'immobilité tonique (un estimateur de la peur) sont fortement et positivement corrélés. De plus, une corrélation génétique positive et donc défavorable est observée entre le nombre d'œufs pondus et les coups de bec agressifs. Dans le même temps, nos résultats suggèrent que nous pourrions tirer profit de certaines relations génétiques favorables entre comportements et production. Si le nombre d'œufs est assez naturellement fortement corrélé à la précocité (évaluée par l'âge au premier œuf) et la motivation sexuelle (évaluée par le nombre de montes), des corrélations génétiques larges et positives sont aussi trouvées avec la réaction face à un objet nouveau et les coups de bec doux. Sélectionner des oiseaux avec un faible niveau de peur et en recherche d'interactions positives pourrait donc contribuer à améliorer l'intensité de la ponte. D'autre part, le critère de sélection des lignées, la distance parcourue sur le tapis roulant, et la durée d'immobilité tonique présentent des corrélations génétiques largement négatives avec l'âge des poules au premier œuf. Des oiseaux moins craintifs et socialement motivés présenteraient donc une puberté plus précoce. De la même façon, Marin et ses collaborateurs (Marin, *et al.*, 2002) ont montré chez la caille japonaise que les individus avec une forte motivation sociale évaluée grâce au test du labyrinthe en T (avec une sortie vide et une sortie présentant des congénères) présentaient une maturité sexuelle plus précoce.

Menée sur une large population F2, cette étude a permis de mieux comprendre les réponses, souvent complexes, aux tests comportementaux étudiés. De façon intéressante, elle souligne aussi, qu'au-delà des attentes en termes de bien-être animal, améliorer la sociabilité et la réactivité émotionnelle d'un animal pourrait favoriser l'expression de son potentiel génétique de production.

# Evidence of Phenotypic and Genetic Relationships between Sociality, Emotional Reactivity and Production Traits in Japanese Quail

Julien Recoquillay<sup>1</sup>, Christine Leterrier<sup>2,3,4,5</sup>, Ludovic Calandreau<sup>2,3,4,5</sup>, Aline Bertin<sup>2,3,4,5</sup>, Frédérique Pitel<sup>6</sup>, David Gourichon<sup>7</sup>, Alain Vignal<sup>6</sup>, Catherine Beaumont<sup>1</sup>, Elisabeth Le Bihan-Duval<sup>1</sup>, Cécile Arnould<sup>2,3,4,5\*</sup>

1 INRA, UR83 Recherches Avicoles, Nouzilly, France, 2 INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, Nouzilly, France, 3 CNRS, UMR7247, Nouzilly, France, 4 Université François Rabelais de Tours, Tours, France, 5 IFCE, Nouzilly, France, 6 INRA-ENVT, UMR444 Génétique Cellulaire, Castanet-Tolosan, France, 7 UE1295 Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours, Nouzilly, France

## Abstract

The social behavior of animals, which is partially controlled by genetics, is one of the factors involved in their adaptation to large breeding groups. To understand better the relationships between different social behaviors, fear behaviors and production traits, we analyzed the phenotypic and genetic correlations of these traits in Japanese quail by a second generation crossing of two lines divergently selected for their social reinstatement behavior. Analyses of results for 900 individuals showed that the phenotypic correlations between behavioral traits were low with the exception of significant correlations between sexual behavior and aggressive pecks both at phenotypic (0.51) and genetic (0.90) levels. Significant positive genetic correlations were observed between emotional reactivity toward a novel object and sexual (0.89) or aggressive (0.63) behaviors. The other genetic correlations were observed mainly between behavioral and production traits. Thus, the level of emotional reactivity, estimated by the duration of tonic immobility, was positively correlated with weight at 17 and 65 days of age (0.76 and 0.79, respectively) and with delayed egg laying onset (0.74). In contrast, a higher level of social reinstatement behavior was associated with an earlier egg laying onset (-0.71). In addition, a strong sexual motivation was correlated with an earlier laying onset (-0.68) and a higher number of eggs laid (0.82). A low level of emotional reactivity toward a novel object and also a higher aggressive behavior were genetically correlated with a higher number of eggs laid (0.61 and 0.58, respectively). These results bring new insights into the complex determinism of social and emotional reactivity behaviors in birds and their relationships with production traits. Furthermore, they highlight the need to combine animal welfare and production traits in selection programs by taking into account traits of sociability and emotional reactivity.

**Citation:** Recoquillay J, Leterrier C, Calandreau L, Bertin A, Pitel F, et al. (2013) Evidence of Phenotypic and Genetic Relationships between Sociality, Emotional Reactivity and Production Traits in Japanese Quail. PLoS ONE 8(12): e82157. doi:10.1371/journal.pone.0082157

**Editor:** Cédric Sueur, Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, France

**Received:** July 22, 2013; **Accepted:** October 22, 2013; **Published:** December 4, 2013

**Copyright:** © 2013 Recoquillay et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Funding:** The study was supported by the French National Research Agency (grant ANR-09-GENM-008). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

\* E-mail: Cecile.Arnould@tours.inra.fr

## Introduction

Behavioral characteristics such as group structure, sexual behavior or response to humans have facilitated the domestication of animals and their adaptation to farming conditions [1]. However, domestication and thereafter evolution of farming practices have led to profound changes in the social environment of these animals. For example, despite being difficult to study in their native habitat, it appears that the Red Junglefowl (*Gallus gallus*), the ancestor of domestic hens, shows social structures with a small number of individuals of different ages and both sexes, with a strict hierarchy around a dominant male [2,3]. A similar social structure appears in feral

fowl [4]. However, in modern farming systems, birds are mostly housed in large groups, sometimes of the same sex, and most often of the same age. These conditions may favor the expression of deleterious behaviors such as aggression, feather pecking and cannibalism in the most serious cases, which can affect both bird welfare and productivity [5,6].

The selection of domestic animals on production traits indirectly induces changes in behavioral traits [7]. Studying the genetic basis of these behavioral traits is an important step in understanding the propensity of each individual to express certain behavioral patterns and can lead to improvements in the animals' housing environment or in the adaptability of animals to husbandry conditions. For this purpose, some

experimental lines have been divergently selected for their propensity to express feather pecking in chickens [8], for their social reinstatement behavior or their duration of tonic immobility after a human physical constraint in Japanese quail [9]. Tonic immobility is considered as a measure of the level of fear [10,11]. Today, the techniques for detecting Quantitative Trait Loci (QTLs) allow progress to be made in understanding the relationship between behavior and genetics through identifying chromosomal regions of interest involved in the expression of behavioral traits. Thus, QTLs have been identified for the duration of tonic immobility in Japanese quail [12-14], or fearful behavior and social motivation exhibited in an unknown environment (open-field test) in chickens [15]. Genes involved in feather pecking behavior have also been identified [16,17]. Furthermore, domestication-related genetic effects on behavior have also been investigated through an intercross between Red Junglefowl and White Leghorn [18,19].

To our knowledge, no genetic studies to date have been conducted on the effect of introducing the criterion of social motivation in the selection process in birds. Nevertheless, this trait could influence other behaviors which need to be controlled under farming conditions such as sexual or aggressive behavior, and also emotional reactivity, which may all affect both bird welfare and production levels. The aim of our study on Japanese quail was to investigate the phenotypic and genetic relationships between several social behaviors (social reinstatement, response to social isolation, sexual motivation, aggression), behaviors measuring the emotional reactivity of the birds (reaction to an unknown object or to a human, tonic immobility reaction), their general level of activity and production traits (body weight and egg production). The interest of this study is that it combines all these measures on the same birds. The analyses took advantage of an F2 cross between two lines of quail divergently selected for their social reinstatement behavior [9] and showing differences in their social motivation under various conditions [20-23] and also in their emotional responses in some testing situations, such as response to a novel object [22]. Such an F2 cross shows a great variability in social behaviors due to the initial differences between lines, which facilitates the study of links between traits. Furthermore, considering an F2 cross rather than divergent lines alleviates the risk of observing links due to random occurrence, as a consequence for example of genetic drift, and allows the consequences of physical vicinity of genes to be investigated.

## Materials and Methods

### Ethics statement

All animal care and experimental procedures reported in this paper were in accordance with French and European regulations concerning animal experimentation, including authorization no. 37-129 from the French Ministry of Agriculture. The Experimental Unit where birds were kept is registered by the ministry of Agriculture with license number B-37-175-1 for animal experimentation. All behavioral tests were approved by the ethics committee in Animal Experimentation of Val de Loire (permit number 2011-07-10).

This ethics committee is registered by the National Committee under the number 19.

### Animals

Two divergent lines bred and reared at the INRA experimental unit 1295 (UE PEAT, F-37380 Nouzilly, France) were used in the experiment. These lines with either high or low social reinstatement behavior (HSR or LSR, respectively) have been divergently selected on their propensity to rejoin a group of conspecifics when 10 days old [9] while maintaining a constant duration of tonic immobility across generations. They differ consistently on their social motivation under various experimental conditions and also on several aspects of their social behavior such as sexual motivation or aggressive behavior (for review see 23-25) and also notably on the characteristics of the social bond they develop [26,27]. A reciprocal cross of these two lines was done from the 49<sup>th</sup> generation, using four HSR males and four LSR females to produce the HSR x LSR (H/L) cross and four LSR males and four HSR females to produce the LSR x HSR (L/H) cross. From this F1 generation, three H/L males were each mated to two H/L females and two L/H females, and three L/H males were mated to two H/L females and two L/H females. A total of 912 F2 quail chicks (452 males and 460 females) were produced across six batches separated by a 4-week interval. On average each female produced 40 chicks and each male produced 160 chicks. During the experiment two females from the F1 generation died and were replaced by individuals with a similar pedigree for the F2 production leading to 26 F1 females. In addition, nineteen HSR (12 males, 7 females) and twenty LSR (12 males, 8 females) quail were tested simultaneously with a batch of F2 quail in order to evaluate the differences between lines in the same context as for the F2 cross.

### Housing conditions

F2 quail chicks were reared in groups of about 40 birds in battery cages until three weeks of age. At this age the birds' sex was determined from plumage color. The quail were then individually housed in battery cages from three weeks old to the end of the experiment. Males and females were in the same room from three to five weeks old and thereafter they were housed in two completely independent rooms. Lighting was continuous for the first three weeks and temperature was progressively reduced from 38 to 20°C. In individual battery cages the birds were exposed to a light cycle of 12L:12D until five weeks of age and 16L:8D thereafter. Temperature was held constant at 20°C. Water and food were provided *ad libitum*. Feed was adapted to the physiological state of the bird (from day 0 to 21: commercial quail starter diet, STARGIB G111 first age, SFNA, 49160 Longué Jumelles, France; from day 21 to 35: growing diet; from day 35 to 65 for males or 210 for females: breeding diet; growing and breeding diets were both produced at the INRA experimental unit 1295, UE PEAT). The 19 HSR and 20 LSR quail were reared under the same conditions as F2 birds, except between 21 and 35 days of age when they were housed in same-sex pairs instead of individually.

## Testing procedure

Eight behavioral tests were performed on each quail from day 1 to day 62 of age. Quail were always tested individually. Tests used for the divergent selection of the HSR and LSR quail were conducted, i.e. the test of social reinstatement behavior, and the tonic immobility test [9]. As HSR seem to be more sensitive or reactive than LSR birds in some reactivity tests such as the novel object test [22], other tests measuring different aspects of sociality or emotional reactivity were also performed: firstly, response to social isolation, aggressive behavior toward conspecifics and sexual motivation, and secondly, response to a novel object and response to a human. In addition, we measured the birds' general activity. Although there is no difference between the two lines for their general activity when observed under non-test conditions [27], the selection criterion used involved a distance run on a treadmill and this might have affected the general activity of the birds in addition to their social reinstatement behavior.

**Reaction to social isolation (day 1 to 3).** Quail were removed from their brooder cages and transferred in groups of 20 individuals to a room (A) adjacent to the testing room (B). In room A, they were housed in wooden cages measuring 63 cm x 38 cm x 28 cm (depth x width x height) with a wire mesh cover and wood shavings on the floor and containing two feed troughs and a drinker. Feed and water were provided ad libitum. Temperature was regulated using incandescent light-bulbs suspended above the cages. Temperature was maintained at approximately 37°C under the bulb. Quail were familiarized with these cages for at least one hour before testing. They were then tested in a wooden arena (51.5 cm x 42.5 cm x 30 cm) similar to the cage described above but without wire mesh cover and heated at the same temperature. A drinker ( $\varnothing$ : 15 cm) and a feed trough ( $\varnothing$ : 7 cm) similar to those used in room A were in the center of the arena with a free space between both (about 12 cm). The quail was gently placed between these two equipments, facing one length of the arena. After testing, quail returns in room A. Before, but also after testing, birds were always housed in group. When all the 20 quail have been tested, they returned to their brooder cage. Quail behavior was recorded using a camera suspended above the arena and connected to a computer equipped with the Ethovision tracking system (v XT7.0, Noldus Technology, Wageningen, The Netherlands). The total distance travelled (locomotor activity), the distance travelled in the periphery of the arena (6 cm along the walls) and the number of jumps along the walls were recorded for three minutes. The distance travelled in the periphery, referred to as DistIso in this study, was used as an indicator of the time spent pacing, which has been shown to be a relevant measure of social motivation by Schweitzer et al.[27].

**Social reinstatement behavior (day 6 to 8) and tonic immobility (day 9 to 10).** The procedures used for these tests were similar to those used for the selection and described in detail in Mills and Faure [9]. Birds were transferred and housed in groups to room A, under the same conditions as for the social isolation tests and were then tested in room B. Social reinstatement behavior was assessed by measuring over a 5-minute period the distance (arbitrary unit) an isolated chick ran

on a treadmill apparatus to rejoin a group of five conspecifics (see 9 for details). This variable is referred to as DistSR in this study. Duration of tonic immobility is a behavioral and physiological response modulated by frightening situations and is considered as a measure of the level of fearfulness [10,11]. Chicks were placed on their back in a U-shaped cradle and restrained for 10 s and the duration of tonic immobility was recorded. If a bird failed to right itself after 5 min a maximum score of 300 s was recorded. If tonic immobility was not induced after five attempts, a score of 0 s was recorded (see 9 for details). This variable is referred to as TI in this study.

**General activity inside rearing cages (day 23 to 30).** From day 23 to the end of the experiment, quail were individually housed. The behavior of each quail in its cage was measured using the scan sampling method between 23 and 30 days of age. Four times a day (9.00-10.00, 11.30-12.30, 14.00-15.00 and 16.30-17.30) two scans per bird were performed at an interval of 15 min. This procedure was repeated at 23, 27 and 30 days of age giving a total of 24 scans per bird. The observer sat 3 meters back from the front of the cages and noted if the quail was standing or lying to assess the level of general activity. The number of scans in which birds of two adjacent cages were interacting (lying in close contact along the wire mesh wall, eating simultaneously, or pecking one of its neighbors) was very low and was thus not analyzed. The variable used in the analyses was the percentage of time birds spent standing in the scans, referred to as STAND in this study.

**Reaction to a novel object (day 37 to 38) and reaction to a human (day 42 to 43).** First, the usual feeder used for a series of eight cages was removed. Then, an individual feeder free of food and containing a novel object was put in front of each of the eight cages successively. The object was a 10 cm multi-coloured cylinder ( $\varnothing$ : 2 cm) fixed vertically in the feeder (see 22 for details on the object). The feeder was designed so that the object could only be seen by one quail at a time, i.e. the two lateral sides have the same height than the cage. Furthermore, from day 35, lateral sides of the cages were opaque. The observer, positioned one meter from the cage inserted the feeder containing the novel object in front of the first cage and then recorded quail behavior for 2 min using the scan sampling method. Every 10 s the observer noted if the quail had touched the object, had passed its head through the wire of the front of the cage, without touching the object, or stayed inside the cage. At the end of the test, the feeder containing the novel object was removed and the same procedure was used for the next cage until the eight quail were tested. Then the usual feeder was put in place again and a new series of eight quail was tested. For phenotypic and genetic analyses, the number of scans in which the quail had its head through the wire of the front of the cage touching the object or not was used. This variable is referred to as HeadNO in this study.

The same procedure and observer as for the reaction to a novel object were used to investigate the reaction to a human, except that in this case the observer put his hand in the individual feeder in the same place as the object had been. The measures recorded were the same as for the novel object test.

**Aggressive behavior (day 55 to 56).** To avoid injury and possible consequences of encounters with a conspecific on the following tests (dominance when winning, subordination if defeat), the measure of aggressive behavior was performed using a mirror. This procedure has already been used in other studies to assess social interactions [12,28]. Quail were tested in a rectangular arena (51.5 x 42 x 26 cm) made of PVC, protected by a curtain around it and lit with a 25 W incandescent light bulb. A mirror (41 x 24.5 cm) was stuck along one of its widths. The quail was gently placed in the center of the half side of the arena opposite to the mirror and facing the mirror. The quail was allowed to interact with its reflection for 2 min. The quail's behavior was recorded using a digital camcorder suspended above the arena. Every 10 s we recorded whether the quail had pecked vigorously at the mirror (aggressive pecks) or had pecked gently (less vigorous pecks, with non-aggressive posture) [29]. Vigorous pecks were successive fast pecks sometimes associated with wing flapping and/or running or fast steps when approaching the mirror. This is intensive agonistic behavior [29]. Threats (stiff body posture with feathers lifted) and retreats were recorded but, due to their low frequency, were not used in the analyses. Male and female quail were tested for aggressive behavior. However, only data from males were used in analyses as expression of aggressive behavior in females was very low. The number of aggressive or gentle pecks is referred to as AgrP or GentleP, respectively, in this study.

**Sexual motivation of the males (day 62).** This test was performed in the same arena and following the same procedure as for the aggressive behavior test, except that the mirror was removed and a stuffed female quail in a receptive posture was placed in the center of one of the half side of the arena. The tested quail was gently placed in the center of the other half side of the arena facing the lateral side of the stuffed female. The number of mounts over the 2-min period of the test was recorded. This variable is referred to as Mount in this study.

**Production traits.** Birds were weighed at 17 days of age (W17), just before being transferred to individual cages. They were also weighed after the last behavioral test, i.e. at 65 days of age (W65). Egg production was recorded daily for all the females until 30 weeks of age. The age when the first egg was laid (AFEgg) and the number of eggs laid (NEgg) until week 24 were recorded and the mean egg weight (WEgg) was calculated from eggs laid during weeks 12 and 13.

### Statistical analyses

Normal distribution of the data was assessed by calculating the kurtosis and skewness parameters and by looking at the normal probability plot. As the distribution of several behavioral traits differed greatly from normality, non-parametric statistics were used. Phenotypic correlations between traits measured in the different tests were estimated by the Spearman Rank correlation using R software. The behavior of the HSR and LSR lines was compared using a Mann-Whitney U test with SYSTAT 8.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.). Body weights of HSR and LSR lines were compared using t-tests as the data distribution was normal.

The methodology to estimate genetic parameters usually implies a normal distribution of traits which was the case for Distlso and the different production traits. The duration of tonic immobility and the distance travelled on the treadmill were close to normality after log transformation and these transformed data were used for the analyses. As no effective transformation was obtained for the other behavioral traits, they were converted into classes before analyses with an appropriate threshold model [30]. The classes were constructed as follows: for the time spent standing, four classes of an equal number of individuals; for the other traits (HeadNO, Mount, AgrP, GentleP), three classes with a specific class corresponding to the "0" value and two classes of an equal number of individuals for values strictly superior to 0.

The heritability ( $h^2$ ) and genetic correlations ( $r_g$ ) for behavioral and production traits were estimated for each combination of two traits using TM software [31] which can process continuous and categorical traits. Variance and covariance components (as well as the corresponding  $h^2$  and  $r_g$  parameters) were estimated using Gibbs sampling which consisted of a chain of 100,000 iterations, discarding the first 20,000 iterations and saving a sample every 20 iterations. The  $h^2$  and  $r_g$  estimates, as well as their standard errors, corresponded to the average and standard deviation of the parameters obtained from the 4,000 remaining iterations. For each iteration, the genetic parameters were estimated using the following linear mixed model:

$$y_{ijkl} = \mu + b_i + s_j + m_k + a_l + e_{ijkl}$$

where  $y_{ijkl}$  is the observation for animal  $l$ ,  $\mu$  the overall mean,  $b_i$  the fixed effect of hatch  $i$  ( $i=1$  to  $6$ ),  $s_j$  the fixed effect of sex  $j$  ( $j=1,2$ ),  $m_k$  the maternal permanent environmental effect ( $k = 1$  to  $26$ ) applied to body weight at 17 and 65 days, age of first egg and egg weight,  $a_l$  the additive genetic effect of the animal  $l$  ( $l = 1$  to  $944$ ), and  $e_{ijkl}$  the residual term for animal  $l$ .

## Results

### Comparison of HSR and LSR lines

As shown in Table 1, HSR and LSR quail responses were highly divergent on most of the variables. The distance travelled on the treadmill was considerably higher in HSR than in LSR quail. This was also the case for the distance travelled in the periphery of the arena during the social isolation test. At the same time, HSR quail jumped significantly more than LSR birds. Regarding the tests on emotional reactivity, the duration of tonic immobility was significantly higher in HSR than in LSR quail. The number of scans in which the head of the quail passed through the wire of the front of the cage during the novel object test and in which quail had physical contact with the object was significantly lower in HSR than in LSR quail. This divergence between lines was not observed for the reaction toward a human test, whatever the variable. This test was not used in F2 analyses due to the low variability of the data (high level of 0 values). The number of aggressive pecks was higher in HSR than in LSR males, although the difference was not statistically significant. This absence of signification might be due to the low statistical power of the test linked to the

**Table 1.** Medians and interquartile ranges (Q1-Q3) for the behavior recorded in HSR and LSR quail.

	HSR			LSR			U	P**
	Q1	Median	Q3	Q1	Median	Q3		
<b>Social reinstatement behavior:</b>								
Distance travelled (arbitrary unit, DistSR)	810.5	1,033.0	1,262.5	18.5	45.5	78.5	362	<0.001
<b>Reaction to social isolation:</b>								
Distance travelled in periphery (cm, DistIso)	2,051.4	2,532.6	3,066.2	95.7	494.9	856.3	131	<0.001
Number of jumps	1.0	1.0	3.0	0.0	0.0	0.0	111	0.003
<b>Tonic immobility:</b>								
Duration (s, TI)	22.5	25.0	38.5	15.0	18.0	22.0	316.5	<0.001
<b>Reaction to a novel object:</b>								
Head passed through the wire of the front of the cage (no. of scans, HeadNO)*	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	8.0	92	0.001
Object touched (no. of scans)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	111	0.004
<b>Reaction to a human:</b>								
Head passed through the wire of the front of the cage (no. of scans)*	0.0	0.0	2.5	0.0	0.0	4.0	164	0.404
Hand touched (no. of scans)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	161.5	0.167
<b>Sexual motivation (in males):</b>								
Number of mounts (Mount)	0.5	8.0	13.0	0.0	3.5	12.0	83.5	0.501
<b>Aggressive behavior (in males):</b>								
Aggressive pecking (no. of scans, AgrP)	0.0	1.0	8.0	0.0	0.0	3.5	89.5	0.280
Gentle pecking (no of scans, GentleP)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	78	0.514

$n_{HSR} = 19$  (12 males, 7 females) and  $n_{LSR} = 20$  (12 males, 8 females) except for the test of social isolation where  $n_{HSR} = 11$  (7 males, 4 females) and  $n_{LSR} = 12$  (7 males, 5 females).

\* Out of 12 scans, \*\*: Mann-Whitney U test

doi: 10.1371/journal.pone.0082157.t001

low number of males tested ( $n=12$  in each group). No significant difference was observed for gentle pecks which were performed only by two males out of 12 HSR birds and one male out of 12 LSR birds. Finally, no significant difference was revealed between the two lines for sexual motivation estimated by the number of mounts. HSR quail were significantly lighter ( $75.2 \text{ g} \pm 9.4 \text{ g}$ , mean  $\pm$  SD) than LSR birds ( $99.3 \text{ g} \pm 8.1 \text{ g}$ ) at 17 days ( $p < 0.001$ ) of age and also at 65 days of age (HSR :  $193.5 \text{ g} \pm 26.6 \text{ g}$ ; LSR:  $238.8 \text{ g} \pm 22.5 \text{ g}$ ;  $p < 0.001$ ).

**Distribution of the traits and phenotypic correlations in the F2 population**

Distributions of behavioral and production traits are presented in Table 2 and Figure S1. The mean value for DistSR (487 arbitrary unit) was intermediate to those observed in the 52<sup>th</sup> generation in the HSR (1459 arbitrary unit) and LSR (53 arbitrary unit) lines. In the case of tonic immobility duration (TI), F2 birds showed a lower mean duration (32 s) than those measured in the HSR and LSR lines from the 52<sup>th</sup> generation (52 s and 55 s, respectively).

Spearman rank correlations ( $\rho$ ) between the different behavioral and production traits in F2 birds are presented in Table 3. A total of 18 correlations were significant ( $p < 0.05$ ) at the phenotypic level. For behavioral traits, low to moderate correlations ( $-0.11$  to  $0.10$ ) were observed between DistSR and DistIso (0.08) or AgrP (0.10), GentleP and AgrP ( $-0.11$ ), HeadNO and Mount (0.10), and between TI and STAND ( $-0.07$ ) or AgrP ( $-0.09$ ). Phenotypic correlations were also observed

between behavioral and production traits for DistSR and W17 ( $-0.10$ ) or W65 ( $-0.09$ ), TI and W17 (0.16) or W65 (0.12), GentleP and W17 (0.09), HeadNO and W65 ( $-0.09$ ), and between W65 and STAND ( $-0.07$ ). More marked phenotypic correlations were found between Mount and AgrP (0.51) and for production traits between W17 and W65 (0.54), W17 and WEgg (0.54), W65 and WEgg (0.43), AFEgg and NEgg ( $-0.56$ ), and at a lesser extent W65 and NEgg ( $-0.10$ ).

**Genetic parameters**

Except for STAND ( $h^2 = 0.13$ ), the estimated heritability of behavioral traits was moderate to high (Table 3). It ranged from 0.19 to 0.36 for DistSR, DistIso, TI and HeadNO and from 0.39 to 0.49 for Mount, AgrP and GentleP. For production traits, the heritability level was moderate for AFEgg (0.30), but high ranging from 0.39 to 0.49 for W17, W65, NEgg, and WEgg.

Some of the most significant correlations observed at the phenotypic level were confirmed at the genetic level at a higher value. For instance, Mount and AgrP had a strong positive genetic correlation (0.90). This was also the case for TI and W17 (0.76) as well as W65 (0.79) and W17 and W65 (0.72). As expected, AFEgg and NEgg had a strong negative genetic correlation ( $-0.88$ ). Additional significant correlations were found at the genetic level while they were not found at the phenotypic level. HeadNO was positively correlated with AgrP (0.63) and GentleP (0.63). Mount was positively correlated with HeadNO (0.89) and GentleP (0.73). On the other hand, AgrP and GentleP were not genetically correlated. In addition, other significant genetic correlations were found between some



**Table 2.** Descriptive statistics.

	DistSR	Distlso	TI	HeadNO	Mount	AgrP	GentleP	STAND	W17	W65	AFEgg	NEgg	WEgg
Number of birds	912	899	912	899	412	437	437	834	910	886	453	434	439
Minimum	0	5.4	0	0	0	0	0	45.8	74.0	157.0	36.0	60.0	9.7
Maximum	2,587	3,961	300	12	25	12	11	100	131.0	341.0	79.0	174.0	16.3
Mean	487	1,196	32.1	1.7	7.3	5.0	1.2	82.7	99.8	224.6	56.0	144.0	12.5
Standard deviation	509	722	23.7	1.9	6.8	5.0	2.1	11.2	8.5	30.1	6.0	18.0	1.1
Quartile 1	90	641	18	0	0	0	0	75	94.0	203.0	52.0	139.0	11.7
Median	310	1,096	26	0	7	4	0	83.3	100.0	221.5	55.0	150.0	12.5
Quartile 3	731	1,665	39	3	13	10	2	91.7	106.0	245.0	58.0	155.0	13.4
Skewness	1.32	0.65	3.81	1.98	0.40	0.29	1.99	-0.68	0.15	0.55	0.86	-2.00	0.10
Kurtosis	1.22	0.18	27.57	3.92	-1.06	-1.62	3.55	0.01	0.3	0.03	2.53	4.72	-0.20

DistSR: Distance travelled on the treadmill in the social reinstatement behavior test; Distlso: Distance travelled in periphery in the social isolation test; TI: Time spent immobile in the tonic immobility test; HeadNO: Number of scans when the quail passed its head through the wire of the front of the cage in the novel object test; Mount: Number of mounts in the sexual motivation test; AgrP: Number of aggressive pecks in the aggressive behavior test; GentleP: Number of gentle pecks in the aggressive behavior test; STAND: Time spent standing in the cage (general activity); W17: weight at 17 days; W65: weight at 65 days; AFEgg: Age of laying onset; NEgg: Number of eggs laid; WEgg: Mean egg weight. See Materials and Methods, Testing procedure for more details.

doi: 10.1371/journal.pone.0082157.t002

production and behavioral traits. In particular, AFEgg was negatively correlated with Mount (-0.68), GentleP (-0.81) and DistSR (-0.71) and positively correlated with TI (0.74), whereas NEgg was positively genetically correlated with Mount (0.82), GentleP (0.72) and also with AgrP (0.58) and HeadNO (0.61).

## Discussion

With the exception of sexual behavior and aggressiveness which were highly correlated at the phenotypic level, phenotypic correlations between behavioral traits were low. This underlines the necessity of a multi-criteria approach in order to analyze and interpret the behavior of animals correctly, using a series of tests to measure different aspects of their responses to a given situation. In addition, our results show a partly common genetic regulation of several behavioral traits including aggression, sexual motivation and response to an unknown object. Several behavioral traits (socio-sexual and emotional reactivity traits) also exhibited significant genetic correlations with production traits (body weight and egg production) showing that selection on production traits may affect behavior and vice versa.

The estimated heritability values obtained in this study show the significant contribution of genetics to the phenotypic variability of all the behavioral traits. Indeed, heritability was moderate ( $0.20 < h^2 < 0.40$ ) to high ( $h^2 > 0.40$ ) with the exception of the time spent standing in the cage which had a low heritability (0.13). These values were also close to those obtained with production traits, ranging from 0.30 to 0.49. Our estimates are in part consistent with previous studies even if it is known that several factors such as age of the bird, environmental conditions (e.g. housing in group or individually) or testing procedure affect the heritability coefficients. When analyzing, the first eight generations of the divergent selection for the distance run on the treadmill to rejoin conspecifics without log-transformation, Mills and Faure [9] showed that the heritability of this trait ranged from 0.16 to 0.38. Furthermore, in

the same study, they showed that after the first eight generations of divergent selection for the duration of tonic immobility, this trait's heritability ranged from 0.09 to 0.23. Our estimates of 0.19 and 0.21 for the distance run on the treadmill and the duration of tonic immobility, respectively, were therefore consistent. Our estimated heritability for the response to social isolation (0.34) was similar to those observed by Faure [32] and Agnvall et al. [33] in chickens tested in an open field (0.39 and 0.32, respectively), and between the values observed by Rodenburg et al. [34] in hens: 0.49 at 5 weeks of age, but 0.15 at 29 weeks of age. The heritability obtained in the present study for sexual behavior, estimated by the number of mounts (0.49), was lower than that obtained by Nol et al. [35] (0.64), but within the upper limit of other previous estimations. Siegel [36] found a heritability value of 0.34 in divergent lines of chickens selected on their mating frequency, while Gerken and Petersen [37] observed realized heritability values ranging from 0.05 to 0.44 in Japanese quail. Regarding pecking behavior, namely gentle and aggressive pecking, heritability values in the present study (0.39 and 0.42, respectively) were much higher than those reported by Rodenburg et al. [34] in laying hens (0.01-0.02 for aggressive pecking and 0.08-0.16 for gentle pecking according the age of the bird). Our estimation is also higher than the heritability found by Nol et al. [35] for fighting in Japanese quail (0.31). The higher heritability values in the present study for sexual and aggressive behaviors may be a consequence of using a lure or a mirror during the tests instead of live individuals, leading to a more homogeneous response between tested individuals and reducing the variability linked to interactions between individuals. It could also be a consequence of the housing in isolation from 23 days of age, reducing the influence of social interactions initiated before testing on the response obtained during the tests. Furthermore, in the case of aggressive behavior, the motivation to peck toward a mirror, i.e., toward the reflection of the tested male, is probably different from the motivation to peck a conspecific in layers. As expected, growth and laying traits had moderate to

**Table 3.** Heritability values (diagonal in bold,  $h^2 \pm SE$ ), genetic (above the diagonal,  $r_g \pm SE$ ) and phenotypic ( $r_p$ ) (below the diagonal) correlations between the various behavioral and production traits.

	DistSR	DistIso	TI	HeadNO	Mount	AgRP	GentleP	STAND	W17	W65	AFEgg	NEgg	WEgg
DistSR	<b>0.19 ± 0.09*</b>	0.16 ± 0.31	-0.35 ± 0.32	0.37 ± 0.20	0.32 ± 0.30	0.05 ± 0.33	0.29 ± 0.35	-0.23 ± 0.40	0.14 ± 0.60	0.03 ± 0.44	-0.71 ± 0.28*	0.32 ± 0.29	0.21 ± 0.57
DistIso	0.08*	<b>0.34 ± 0.12*</b>	-0.33 ± 0.28	-0.08 ± 0.28	-0.00 ± 0.28	0.35 ± 0.28	0.45 ± 0.28	-0.33 ± 0.31	-0.33 ± 0.44	-0.44 ± 0.34	-0.21 ± 0.43	0.04 ± 0.27	-0.22 ± 0.41
TI	-0.002	-0.05	<b>0.21 ± 0.08*</b>	0.24 ± 0.30	-0.22 ± 0.30	0.01 ± 0.32	-0.24 ± 0.34	-0.45 ± 0.31	0.76 ± 0.28*	0.79 ± 0.24*	0.74 ± 0.28*	-0.35 ± 0.28	0.38 ± 0.56
HeadNO	0.002	-0.01	0.06	<b>0.36 ± 0.13*</b>	0.89 ± 0.15*	0.63 ± 0.25*	0.63 ± 0.29*	-0.09 ± 0.33	0.49 ± 0.44	0.44 ± 0.28	-0.55 ± 0.40	0.61 ± 0.25*	0.48 ± 0.34
Mount	0.04	-0.008	-0.07	0.10*	<b>0.49 ± 0.14*</b>	0.90 ± 0.14*	0.73 ± 0.26*	-0.20 ± 0.31	0.18 ± 0.43	0.36 ± 0.28	-0.68 ± 0.32*	0.82 ± 0.14*	0.28 ± 0.33
AgRP	0.10*	0.05	-0.09*	-0.01	0.51*	<b>0.42 ± 0.15</b>	0.20 ± 0.42	-0.35 ± 0.33	-0.29 ± 0.42	0.00 ± 0.33	-0.38 ± 0.41	0.58 ± 0.22*	-0.11 ± 0.38
GentleP	-0.001	0.05	-0.01	0.03	0.05	-0.11*	<b>0.39 ± 0.15*</b>	-0.20 ± 0.31	0.45 ± 0.36	0.28 ± 0.33	-0.81 ± 0.24*	0.72 ± 0.24*	0.33 ± 0.31
STAND	-0.06	-0.05	-0.07*	0.01	-0.02	0.02	-0.03	<b>0.13 ± 0.06*</b>	-0.37 ± 0.37	-0.59 ± 0.33	0.05 ± 0.34	0.19 ± 0.31	-0.56 ± 0.45
W17	-0.10*	-0.04	0.16*	0.01	-0.02	-0.08	0.09*	0.007	<b>0.48 ± 0.23*</b>	0.72 ± 0.24*	0.48 ± 0.48	-0.06 ± 0.38	0.65 ± 0.34
W65	-0.09*	0.003	0.12*	-0.09*	-0.03	-0.03	0.05	-0.07*	0.54*	<b>0.49 ± 0.20*</b>	0.11 ± 0.49	-0.21 ± 0.42	0.48 ± 0.42
AFEgg	0.02	0.01	0.06	0.07	NC	NC	NC	-0.003	0.01	0.09	<b>0.30 ± 0.15*</b>	-0.88 ± 0.15*	0.46 ± 0.46
NEgg	-0.01	-0.02	-0.05	0.02	NC	NC	NC	0.04	-0.06	-0.10*	-0.56*	<b>0.39 ± 0.12*</b>	-0.17 ± 0.50
WEgg	-0.05	-0.02	0.05	0.10	NC	NC	NC	-0.005	0.54*	0.43*	-0.03	0.03	<b>0.45 ± 0.21*</b>

Significant parameters are shown with \* ( $p < 0.05$ ). DistSR: Distance travelled on the treadmill in the social reinstatement behavior test; DistIso: Distance travelled in periphery in the social isolation test; TI: Time spent immobile in the tonic immobility test; HeadNO: Number of scans when the quail passed its head through the wire of the front of the cage in the novel object test; Mount: Number of mounts in the sexual motivation test; AgRP: Number of aggressive pecks in the aggressive behavior test; GentleP: Number of gentle pecks in the aggressive behavior test; STAND: Time spent standing in the cage (general activity); W17: weight at 17 days; W65: weight at 65 days; AFEgg: Age of laying onset; NEgg: Number of eggs laid; WEgg: Mean egg weight. NC: Non-computable

doi: 10.1371/journal.pone.0082157.t003

high levels of heritability (0.30-0.49) as already reported by Nestor et al. [38], Marks [39] and Silva et al. [40] for body weight and Gerken and Petersen [37] for the age of laying onset.

Several phenotypic correlations between behavioral traits were observed. Most of these were weak (between -0.11 and 0.10), highlighting that each test and variable measured a different aspect of quail behavior. Thus, we observed a low phenotypic correlation and no genetic correlation between the distances run to rejoin conspecifics in the test measuring social reinstatement behavior or in the periphery in the social isolation test. This would suggest these two tests measure different components of social motivation, depending on whether the animals are in visual and auditory contact with conspecifics or not. Furthermore, the absence of correlation between the duration of tonic immobility and response to a novel object is in line with previous studies performed in Japanese quail [22,41]. This suggests that these two tests measure different components of emotional reactivity, probably associated with different cognitive evaluation of the situation [10,42]. The responses of birds are likely to be influenced by their ability or inability to control the stressful situation during the test. During the tonic immobility test, individuals are restrained while during the novel object test they can express a larger range of behavioral responses. Our results also show that although the selection criteria (i.e. the distance travelled on the treadmill) involved a high level of locomotor activity, it does not seem to be related to the quail's general activity. Indeed, we observed low phenotypic and genetic correlations between the distance travelled during the tests assessing social motivation and the time spent standing in cages.

High phenotypic and genetic correlations were observed between sexual motivation (Mount) and aggressive pecking (AgrP). These correlations support the relationships already described in Japanese quail and domestic fowl. Indeed, aggressive and sexual behaviors show similar patterns in males [43] and both behaviors are largely regulated by testosterone [28,44]. Moreover, quail lines differing in their mating ability also differ in their ability to be dominant, both behaviors being positively associated [45]. The response to a novel object (HeadON) also had a high positive genetic correlation with aggressiveness (AgrP) and, to a lesser extent, with sexual motivation (Mount). When testing the reaction to a novel object, we measured the balance between avoidance (fear) and attraction (exploration) or even aggressiveness since the unknown object placed in front of the cage could be considered as a threat by quail thus resulting in an aggressive reaction rather than avoidance in fearless animals. Moreover, the use of a mirror and a lure rather than live birds in the aggressive and sexual behavior tests could have enhanced the novelty effect due to the testing situation and could explain why the responses in these two tests were so strongly correlated to the novel object test. Only weak phenotypic correlations and no genetic correlation were found between the number of gentle pecks (GentleP) and aggressive pecks (AgrP). This result suggests that the two traits are not the low and high levels of expression of a same phenotype, but rather behaviors with different motivations: positive interactions (search of contact) in

the first case and agonistic interactions in the second. The positive genetic correlation between the number of gentle pecks and the number of scans in which quail passed their heads through the wire of the front of the cage could be a sign of looking for contact with the unknown object (i.e. attraction) in birds with a low level of fear and aggressive behavior.

Interestingly, several correlations between behavioral and production traits were highlighted in this study. Positive phenotypic and genetic correlations were found between emotional reactivity estimated by the duration of tonic immobility and weight at 17 and 65 days. Previous studies on phenotypic links between tonic immobility duration and growth have shown contradictory results: an absence of correlation between these traits [46,47] or a negative correlation [48] in Japanese quail. However, a study in a F2 cross in laying hens found a positive phenotypic relationship between these two traits [49]. Moreover the high positive genetic correlation we observed between tonic immobility duration and weight strongly suggests that common genes control growth and tonic immobility duration. This common genetic basis has also been suggested by a study in laying hens showing a co-localization of QTLs linked to growth or fear responses [50] and a possible pleiotropic effect of a limited region of chromosome 1 affecting both [12]. Our result implies that birds with higher TI might react to frightening situations by behavioral inhibition making them less active and consequently heavier. If this is the case, the relationship would only be observed in frightening situations since there was no significant genetic correlation between time spent standing (STAND) and tonic immobility duration. Other mechanisms including differences in metabolism or locomotor activity could be involved in this positive correlation we observed between tonic immobility and weight. Emotional reactivity seems to affect another production trait since we observed a strong positive genetic correlation between tonic immobility duration and the age of laying onset which implies that the selection of birds with high emotional reactivity could lead to delayed maturity. A positive genetic correlation was also found between the number of scans when the quail passed its head through the wire of the front of the cage to face the novel object and the number of eggs laid. This result implies that birds selected for a low level of emotional reactivity could show more abundant egg laying. The selection criteria of our divergent lines, i.e. the distance run on a treadmill to rejoin congeners, showed a strong negative correlation with the age of laying onset, which means that birds with high social motivation lay earlier. Such a relationship has already been observed in Japanese quail by Marin et al. [51]. In that study, social motivation was assessed by the time taken by individuals to join conspecifics in a T-shaped maze with two exits, one empty, the other one containing conspecifics. The most socially motivated individuals showed earlier puberty, i.e. a lower age at onset of egg laying, and laid more eggs per day. In our study, the number of mounts and of gentle pecks were positively correlated with the age of onset of laying and the number of eggs, but this latter was also positively correlated with aggressive pecking to a lesser extent. These genetic results suggest that the sexual activity and reproductive capacity of the birds would be related directly or indirectly to

their social motivation. This is in line with previous observations by Burns et al. [21] showing that social motivation is related to an increase in reproductive capacity.

Large differences were observed between the behaviors of the HSR and LSR divergent lines in the social reinstatement test, isolation test, but also in the emotional reactivity test. This last result for tonic immobility differs from most previous results e.g.[52], although a similar result was obtained by Schweitzer and Arnould [22]. Indeed, a constraint on this trait was applied in the selection procedure to reduce the risk of co-selection for social reinstatement behavior and duration of tonic immobility [9]. In the same time, tonic immobility values were quite low, showing a very low level of fear in these birds. Given the significant behavioral differences between the HSR and LSR quail, the very low phenotypic and genetic correlations between the corresponding behaviors in the F2 population were to some extent not expected. Between line differences result both from direct and indirect effects of selection, but also from random effects accumulated during selection such as genetic drift. Crossing animals results in genetic recombination so that random associations are no longer present. Our results underline that the balance between attraction (exploration) and fear (avoidance) and therefore the bird's response when faced with a specific situation may be considerably different between extremely divergent birds and an F2 population sharing a more homogenous genetic background.

## Conclusion

This study brings new insights to the complex determinism of social and fear behaviors in birds and their relationships with production traits. The genetic correlations found thus suggest two groups of traits: one involving socio-sexual behaviors (social reinstatement behaviors, mounts, aggression) that would be linked to high reproductive abilities (early onset of laying and high number of eggs) and a second consisting of tonic immobility duration related to emotional reactivity that is linked to high body weight but delayed onset of laying. Although these results need to be confirmed in other commercial crossbreds and species of interest, they highlight that the joint genetic analyses of behavior and production traits is a key step in establishing breeding programs. Finally, with the exception of the correlation between sexual motivation and aggressiveness or reaction to a novel object and between tonic immobility and weights, the correlations significant at the genetic level were not found at the phenotypic level which suggests a strong impact of environmental factors on the

## References

- Price EO (1984) Behavioral aspects of animal domestication. *Q Rev Biol* 59: 1-32. doi:10.1086/413673.
- Collias NE, Collias EC (1996) Social organization of a red junglefowl, *Gallus gallus*, population related to evolution theory. *Anim Behav* 51: 1337-1354. doi:10.1006/anbe.1996.0137.
- Fumihito A, Miyake T, Sumi SI, Takada M, Ohno S et al. (1994) One subspecies of the Red Junglefowl (*Gallus gallus gallus*) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 12505-12509. doi:10.1073/pnas.91.26.12505. PubMed: 7809067.
- Mench J, Keeling LJ (2001) The social behaviour of domestic birds. In: LJ KeelingHW Gonyou. *Social behaviour in farm animals*. pp. 177-209.
- Mignon-Grasteau S, Faure JM (2002) Genetics and adaptation: situation in poultry. *INRA Productions Animales* 15: 357-364.
- Veissier I, Beaumont C, Levy F (2007) Research into animal welfare: aims, methods and purpose. *INRA Productions Animales* 20: 3-9.
- Price EO (1998) Behavioral genetics and the process of animal domestication. In: T Grandin. *Genetics and the behavior of domestic animals*. pp. 31-66.
- Kjaer JB, Sørensen P, Su G (2001) Divergent selection on feather pecking behaviour in laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Appl Anim Behav Sci* 71: 229-239. doi:10.1016/S0168-1591(00)00184-2. PubMed: 11230903.

behaviors studied. These environmental factors could include epigenetic effects. This highlights that both the genetics of birds and their breeding conditions must be controlled to enhance welfare and animal production, being aware that factors such as the age of the birds or housing conditions (in group of single sex, mixed sex or individually) influence greatly social and emotional behavior, but also production performances.

## Supporting Information

**Figure S1. Histograms of distribution for the behavioral and production traits in F2 population.** Histogram of distribution for (A) DistSR the distance travelled on the treadmill (in arbitrary units) in the social reinstatement behavior test, (B) DistIso the distance travelled in periphery (in cm) in the social isolation test, (C) TI the time spent immobile (in s) in the tonic immobility test, (D) HeadNO the number of scans when the quail passed its head through the wire of the front of the cage in the novel object test, (E) Mount the number of mounts in the sexual motivation test, (F) AgrP the number of aggressive pecks in the aggressive behavior test, (G) GentleP the number of gentle pecks in the aggressive behavior test, (H) STAND the time spent standing in the cage (in %) during the general activity test, (I) W17 the weight (in g) at 17 days, (J) W65 the weight (in g) at 65 days, (K) AFEgg the age of laying onset (in days), (L) NEgg the number of eggs laid, (M) WEgg the mean egg weight (in g). (DOCX)

## Acknowledgements

We thank all the staff from the INRA experimental unit PEAT and particularly Joël Dalaveau, Christophe Rat for the incubation step, Sandrine Rivière, for the care provided to the quail, mating management and recording the laying data, Philippe Servant and Marc Vogel for making the experimental devices. We also thank Michel Couty for managing the genetic lines and Simon Constantin, Mathilde Bobet and Paul Constantin for phenotyping quail behavior.

## Author Contributions

Conceived and designed the experiments: CL FP DG AV CB CA. Performed the experiments: CL LC AB DG CA. Analyzed the data: JR EBD CA. Wrote the manuscript: JR CL EBD CA.

9. Mills AD, Faure JM (1991) Divergent selection for duration of tonic immobility and social reinstatement behavior in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) chicks. *J Comp Psychol* 105: 25-38. doi: 10.1037/0735-7036.105.1.25. PubMed: 2032452.
10. Forkman B, Boissy A, Meunier-Salaün MC, Canali E, Jones RB (2007) A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiol Behav* 92: 340-374. doi:10.1016/j.physbeh.2007.03.016. PubMed: 18046784.
11. Jones RB, Mills AD, Faure JM (1991) Genetic and experimental manipulation of fear related behavior in Japanese Quail chicks (*Coturnix coturnix japonica*). *J Comp Psychol* 105: 15-24. doi: 10.1037/0735-7036.105.1.15. PubMed: 2032451.
12. Wirén A, Jensen P (2011) A Growth QTL on Chicken Chromosome 1 Affects Emotionality and Sociality. *Behav Genet* 41: 303-311. doi: 10.1007/s10519-010-9377-6. PubMed: 20596888.
13. Beaumont C, Roussot O, Feve K, Vignoles F, Leroux S et al. (2005) A genome scan with AFLP(TM) markers to detect fearfulness-related QTLs in Japanese quail. *Anim Genet* 36: 401-407. doi:10.1111/j.1365-2052.2005.01336.x. PubMed: 16167983.
14. Minvielle F, Kayang BB, Inoue-Murayama M, Miwa M, Vignal A et al. (2005) Microsatellite mapping of QTL affecting growth, feed consumption, egg production, tonic immobility and body temperature of Japanese quail. *BMC Genomics* 6: 87-. PubMed: 15941487.
15. Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, Siwek M, Cornelissen SJB, Nieuwland MGB et al. (2004) Identification of QTLs involved in open-field behavior in young and adult laying hens. *Behav Genet* 34: 325-333. doi:10.1023/B:BEGE.0000017876.82142.73. PubMed: 14990871.
16. Keeling L, Andersson L, Schütz KE, Kerje S, Fredriksson R et al. (2004) Chicken genomics: Feather-pecking and victim pigmentation. *Nature* 431: 645-646. doi:10.1038/431645a. PubMed: 15470416.
17. Karlsson AC, Kerje S, Andersson L, Jensen P (2010) Genotype at the PMEL17 locus affects social and explorative behaviour in chickens. *Br Poult Sci* 51: 170-177. PubMed: 20461577.
18. Wirén A, Gunnarsson U, Andersson L, Jensen P (2009) Domestication-related genetic effects on social behavior in chickens - Effects of genotype at a major growth quantitative trait locus. *Poult Sci* 88: 1162-1166. doi:10.3382/ps.2008-00492. PubMed: 19439625.
19. Schütz K, Kerje S, Carlborg O, Jacobsson L, Andersson L et al. (2002) QTL analysis of a red junglefowl x white leghorn intercross reveals trade-off in resource allocation between behavior and production traits. *Behav Genet* 32: 423-433. doi:10.1023/A:1020880211144. PubMed: 12467340.
20. Mills AD, Jones RB, Faure JM, Williams JB (1993) Responses to isolation in Japanese Quail genetically selected for high and low sociality. *Physiol Behav* 53: 183-189. doi: 10.1016/0031-9384(93)90029-F. PubMed: 8434061.
21. Burns M, Domjan M, Mills AD (1998) Effects of genetic selection for fearfulness or social reinstatement behavior on adult social and sexual behavior in domestic quail (*Coturnix japonica*). *Psychobiology* 26: 249-257.
22. Schweitzer C, Arnould C (2010) Emotional reactivity of Japanese quail chicks with high or low social motivation reared under unstable social conditions. *Appl Anim Behav Sci* 125: 143-150. doi:10.1016/j.applanim.2010.04.005.
23. Jones RB, Mills AD (1999) Divergent selection for social reinstatement behaviour in Japanese quail: Effects on sociality and social discrimination. *Avian Biol Res* 10: 213-223.
24. Richard S, Arnould C, Guemene D, Leterrier C, Mignon-Grasteau S, et al. (2008) Emotional reactivity in the quail: an integrated approach to animal welfare. *INRA Productions Animales* 21: 71-77.
25. Schweitzer C, Poindron P, Arnould C (2009) Social Motivation Affects the Display of Individual Discrimination in Young and Adult Japanese Quail (*Coturnix japonica*). *Dev Psychobiol* 51: 311-321. doi:10.1002/dev.20370. PubMed: 19277976.
26. Schweitzer C, Levy F, Arnould C (2011) Increasing group size decreases social bonding in young Japanese quail, *Coturnix japonica*. *Anim Behav* 81: 535-542. doi:10.1016/j.anbehav.2010.11.017.
27. Schweitzer C, Houdelier C, Lumineau S, Levy F, Arnould C (2010) Social motivation does not go hand in hand with social bonding between two familiar Japanese quail chicks, *Coturnix japonica*. *Anim Behav* 79: 571-578. doi:10.1016/j.anbehav.2009.11.023.
28. Hirschenhauser K, Wittek M, Johnston P, Möstl E (2008) Social context rather than behavioral output or winning modulates post-conflict testosterone responses in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Physiol Behav* 95: 457-463. doi:10.1016/j.physbeh.2008.07.013. PubMed: 18675837.
29. Väisänen J, Håkansson J, Jensen P (2005) Social interactions in Red Junglefowl (*Gallus gallus*) and White Leghorn layers in stable groups and after re-grouping. *Br Poult Sci* 46: 156-168. doi: 10.1080/00071660500062638. PubMed: 15957435.
30. Sorensen D, Gianola D (2002) Likelihood, Bayesian, and MCMC methods in quantitative genetics; D SorensenD Gianola. Springer.
31. Legarra A, Varona L, Maturana ELd (2011) TM (Threshold Model). Available: <http://genoweb.toulouse.inra.fr/~alegarra>.
32. Faure JM (1982) Genetic analysis of Open-field behavior of the young chick (*Gallus gallus domesticus*). *Ann Genet Sel Anim* 14: 187-212. doi: 10.1186/1297-9686-14-2-187. PubMed: 22896231.
33. Agnvall B, Jongren M, Strandberg E, Jensen P (2012) Heritability and Genetic Correlations of Fear-Related Behaviour in Red Junglefowl-Possible Implications for Early Domestication. *PLOS ONE* 7.
34. Rodenburg TB, Buitenhuis AJ, Ask B, Uitdehaag KA, Koene P et al. (2003) Heritability of feather pecking and open-field response of laying hens at two different ages. *Poult Sci* 82: 861-867. PubMed: 12817438.
35. Nol E, Cheng K, Nichols C (1996) Heritability and phenotypic correlations of behaviour and dominance rank of Japanese quail. *Anim Behav* 52: 813-820. doi:10.1006/anbe.1996.0226.
36. Siegel PB (1972) Genetic analysis of male mating behaviour in chickens (*Gallus domesticus*). I. Artificial selection. *Anim Behav* 20: 564-570. doi:10.1016/S0003-3472(72)80021-6. PubMed: 4676786.
37. Gerken M, Petersen J (1992) Heritabilities for behavioral and production traits in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) bidirectionally selected for dustbathing activity. *Poult Sci* 71: 779-788. doi:10.3382/ps.0710779.
38. Nestor KE, Bacon WL, Anthony NB, Noble DO (1996) Divergent selection for body weight and yolk precursor in *Coturnix coturnix japonica* .10. Response to selection over thirty generations. *Poult Sci* 75: 303-310. doi:10.3382/ps.0750303. PubMed: 8778720.
39. Marks HL (1996) Long-term selection for body weight in Japanese quail under different environments. *Poult Sci* 75: 1198-1203. doi:10.3382/ps.0751198. PubMed: 8893294.
40. Silva LP, Ribeiro JC, Crispim AC, Silva FG, Bonafe CM et al. (2013) Genetic parameters of body weight and egg traits in meat-type quail. *Livestock Science* 153: 27-32. doi:10.1016/j.livsci.2013.01.014.
41. Saint-Dizier H, Leterrier C, Levy F, Richard S (2008) Selection for tonic immobility duration does not affect the response to novelty in quail. *Appl Anim Behav Sci* 112: 297-306. doi:10.1016/j.applanim.2007.09.005.
42. Désiré L, Boissy A, Veissier I (2002) Emotions in farm animals: a new approach to animal welfare in applied ethology. *Behav Processes* 60: 165-180. doi:10.1016/S0376-6357(02)00081-5. PubMed: 12426068.
43. Blohowiak CC, Zelenka DJ, Siegel PB (1985) Ontogeny of aggressive sexual behavior between males in lines of Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) selected for male mating frequency. *J Comp Psychol* 99: 30-34. doi:10.1037/0735-7036.99.1.30. PubMed: 4038930.
44. Lynn SE (2008) Behavioral insensitivity to testosterone: Why and how does testosterone alter paternal and aggressive behavior in some avian species but not others? *Gen Comp Endocrinol* 157: 233-240.
45. Sefton AE, Siegel PB (1975) Selecting for mating ability in Japanese Quail. *Poult Sci* 54: 788-794. doi:10.3382/ps.0540788. PubMed: 1171460.
46. Mignon-Grasteau S, Minvielle F (2003) Relation between tonic immobility and production estimated by factorial correspondence analysis in Japanese quail. *Poult Sci* 82: 1839-1844. PubMed: 14717540.
47. Minvielle F, Mills AD, Faure JM, Monvoisin JL, Gourichon D (2002) Fearfulness and performance related traits in selected lines of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Poult Sci* 81: 321-326. PubMed: 11902406.
48. Jones RB, Satterlee DG, Marks HL (1997) Fear-related behaviour in Japanese quail divergently selected for body weight. *Appl Anim Behav Sci* 52: 87-98. doi:10.1016/S0168-1591(96)01146-X.
49. Wright D, Rubin CJ, Barrio AM, Schütz K, Kerje S et al. (2010) The genetic architecture of domestication in the chicken: effects of pleiotropy and linkage. *Mol Ecol* 19: 5140-5156. doi:10.1111/j.1365-294X.2010.04882.x. PubMed: 21040053.
50. Schütz KE, Kerje S, Jacobsson L, Forkman B, Carlborg O et al. (2004) Major growth QTLs in fowl are related to fearful behavior: possible genetic links between fear responses and production traits in a red junglefowl x White Leghorn intercross. *Behav Genet* 34: 121-130. doi: 10.1023/B:BEGE.0000009481.98336.fc.
51. Marin RH, Satterlee DG, Cadd GG, Jones RB (2002) T-maze behavior and early egg production in Japanese quail selected for contrasting adrenocortical responsiveness. *Poult Sci* 81: 981-986. PubMed: 12162359.
52. Formanek L, Houdelier C, Lumineau S, Bertin A, Cabanes G et al. (2008) Selection of social traits in juvenile Japanese quail affects

adults'. Behaviour - Appl Anim Behav Sci 112: 174-186. doi:10.1016/j.applanim.2007.07.004.

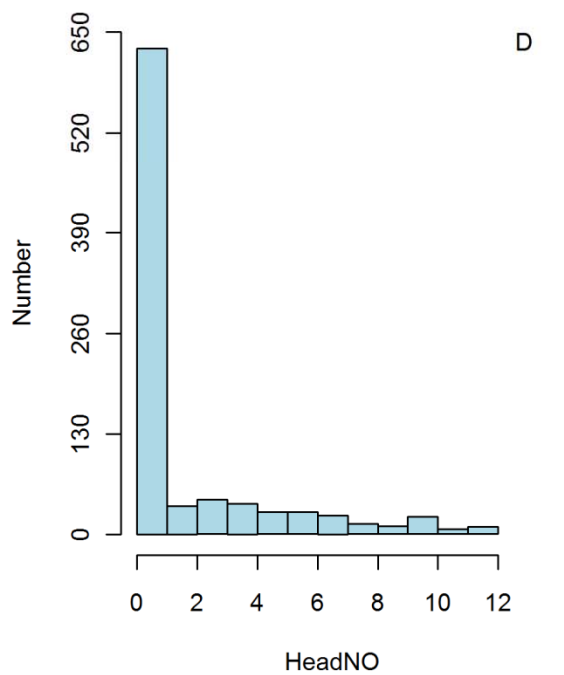
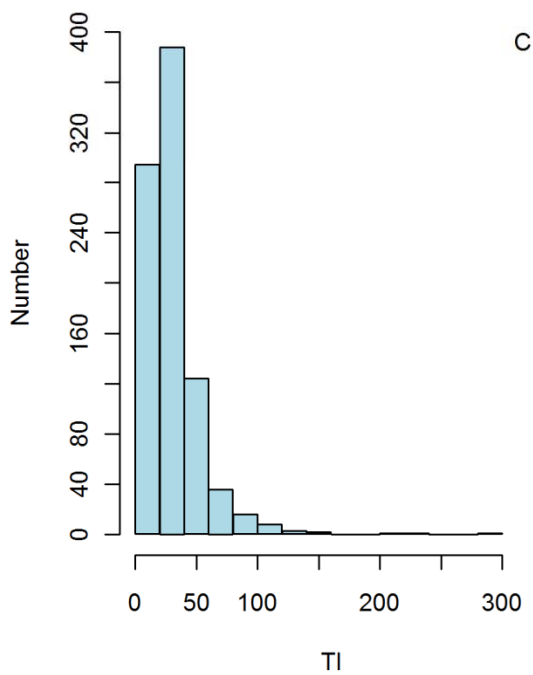
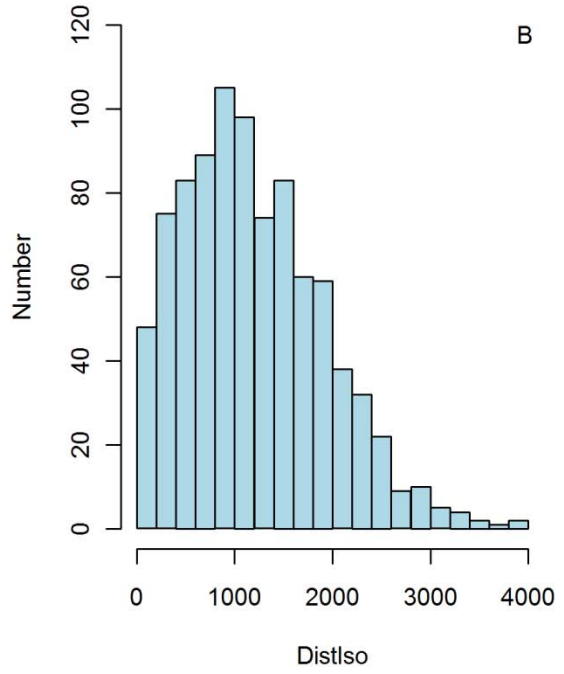
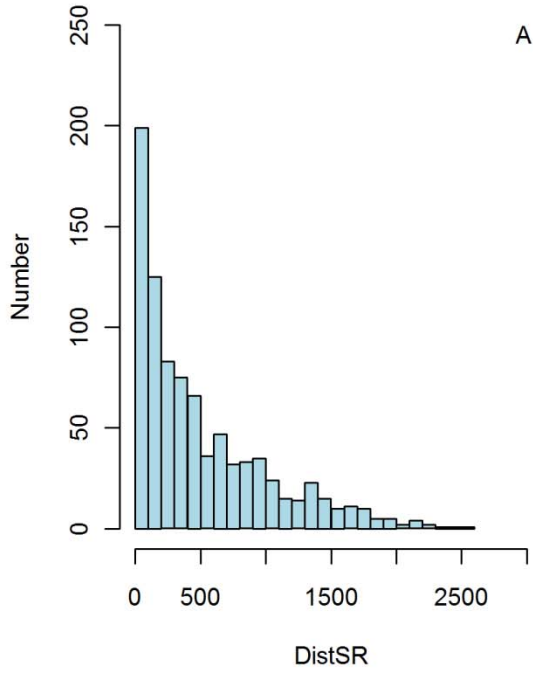
## Supporting Information

### Figure S1

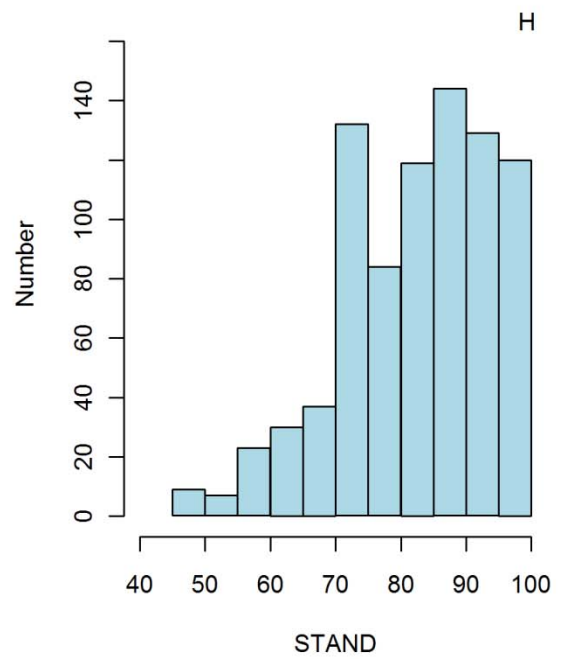
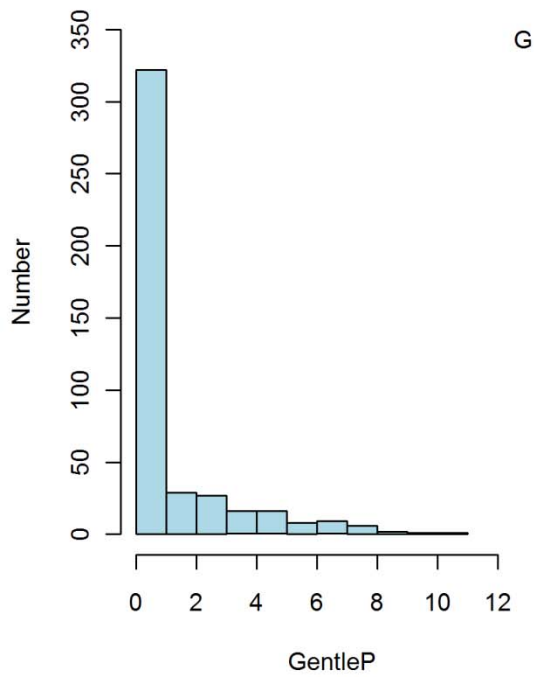
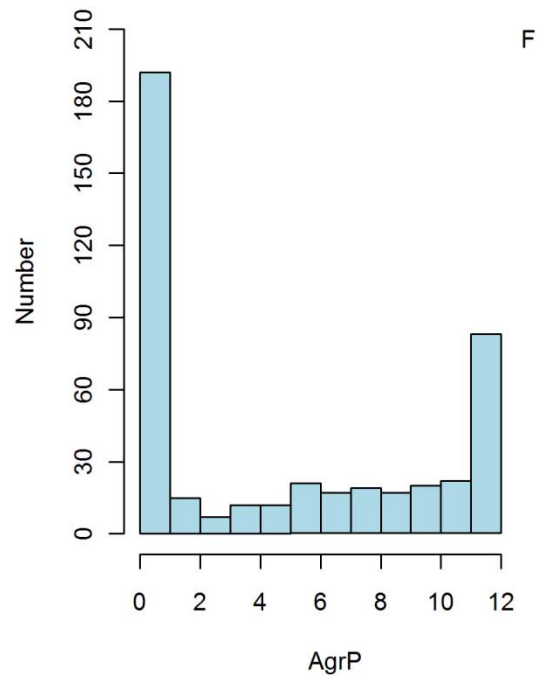
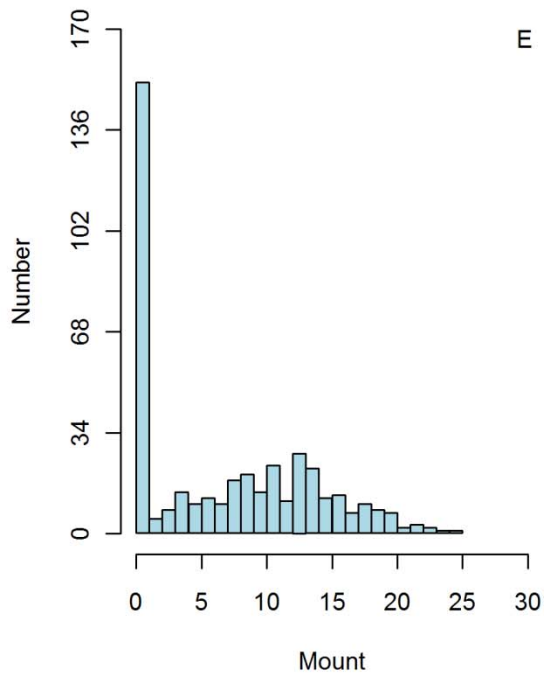
#### **Histograms of distribution for the behavioral and production traits in F2 population.**

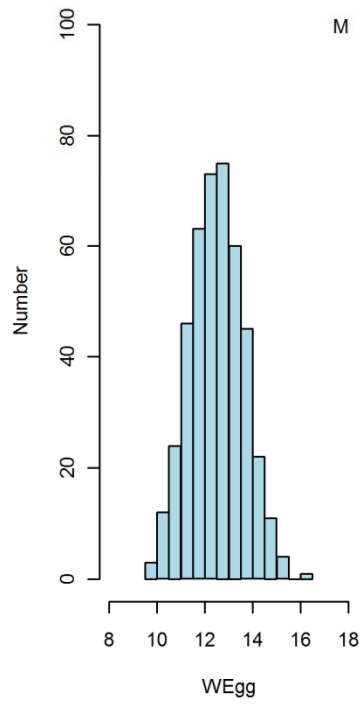
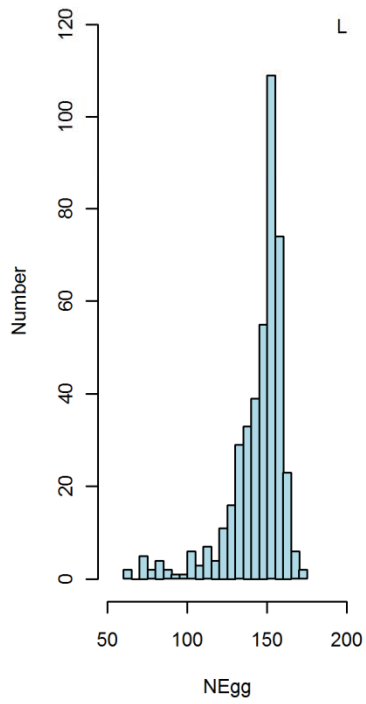
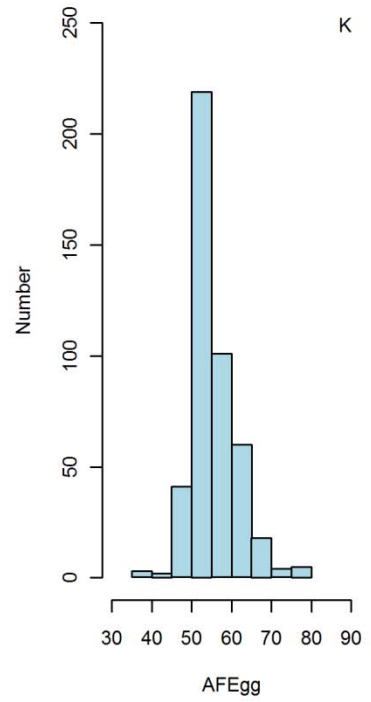
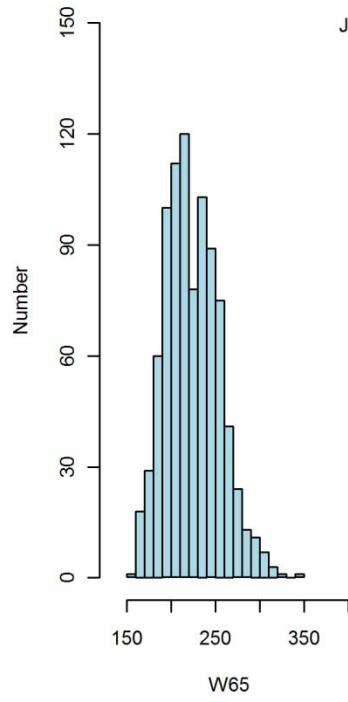
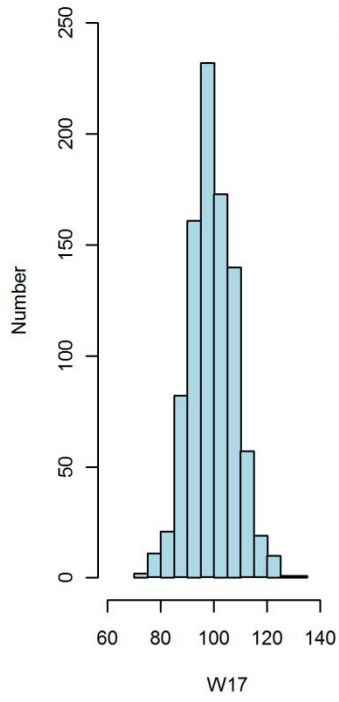
(A) Histogram of distribution for DistSR, the distance travelled on the treadmill (in arbitrary units) in the social reinstatement behavior test; (B) Histogram of distribution for DistIso, the distance travelled in periphery (in *cm*) in the social isolation test; (C) Histogram of distribution for TI, the time spent immobile (in *s*) in the tonic immobility test; (D) Histogram of distribution for HeadNO, the number of scans when the quail passed its head through the wire of the front of the cage in the novel object test; (E) Histogram of distribution for Mount, the number of mounts in the sexual motivation test; (F) Histogram of distribution for AgrP, the number of aggressive pecks in the aggressive behavior test;

(G) Histogram of distribution for GentleP, the number of gentle pecks in the aggressive behavior test; (H) Histogram of distribution for STAND, the time spent standing in the cage (in %) during the general activity test; (I) Histogram of distribution for W17, the weight (in *g*) at 17 days; (J) Histogram of distribution for W65, the weight (in *g*) at 65 days; (K) Histogram of distribution for AFEgg, the age of laying onset (in days); (L) Histogram of distribution for NEgg, the number of eggs laid; (M) Histogram of distribution for WEgg, the mean egg weight (in *g*).









## B/ Investigation de l'architecture génétique du comportement.

### 1) Objectifs et rappel des méthodes utilisées.

Après avoir démontré un impact de la génétique dans le déterminisme des caractères comportementaux, l'objectif du second article (resoumis après révision mineure à BMC Genomics) était d'aller plus loin dans l'étude de l'architecture génétique de ces caractères grâce à la détection des QTLs. Au moment de notre étude, les cartes génétiques disponibles chez la caille japonaise présentaient une faible densité de marqueurs AFLP et/ou microsatellites (Roussot et al., 2003 ; Kayang et al., 2004 ; Kikuchi et al., 2005) et aucun set de marqueurs présentant une couverture du génome suffisante n'était disponible publiquement. En amont à la détection des QTLs, nous avons donc construit la première carte de moyenne densité pour des marqueurs SNP choisis à partir du séquençage d'individus des deux lignées et couvrant l'ensemble du génome.

Les analyses de détection de QTLs ont été réalisées par analyse de liaison grâce au logiciel QTLMap (Elsen et al., 1999) en considérant les deux modèles « Père » et « Père-Mère » décrits précédemment. La méthodologie utilisée ne fait pas d'hypothèse sur la fixation des QTLs dans les lignées d'origine qui peuvent théoriquement apporter des allèles positifs ou négatifs quel que soit le caractère étudié.

### 2) Résultats et discussion.

L'étude a permis la construction de la première carte génétique de moyenne densité à l'aide de marqueurs SNP chez la caille : avec 1479 marqueurs répartis sur 28 groupes de liaison, elle couvre un total de 3057 cM avec un intervalle moyen entre marqueurs de 2,1 cM. Sa comparaison avec le génome de la poule confirme une relative bonne conservation de la synténie entre les deux espèces. En effet, nos résultats n'ont mis en évidence aucun remaniement inter-chromosomique mais indiquent dix-neuf remaniements intra-chromosomiques. Parmi ceux-ci, quinze représentent des blocs de marqueurs inversés et quatre semblent être des translocations intra-chromosomiques (Figure Supplémentaire 3 de

l'article). Certains de ces remaniements ont déjà été identifiés, notamment dans les macrochromosomes CJA1, CJA2, CJA3, CJA5 et CJA8 (Shibusawa et al., 2001 ; Sasazaki et al., 2006 ; Galkina et al., 2006 ; Kayang et al., 2006). Dans le cas de CJA4, les conclusions quant à la présence d'un remaniement intra-chromosomique sont variables suivant les études. Certains travaux (Shibusawa et al., 2001 ; Kayang et al., 2006) observent un réarrangement tandis que d'autres ne parviennent pas à confirmer son existence (Sasazaki et al., 2006 ; Galkina et al., 2006). Tel est également le cas de notre étude.

Les analyses de liaison à l'aide du logiciel QTLMAP ont révélé un total de 45 QTLs dont 23 pour les caractères comportementaux et 22 pour ceux de production. Ce sont pour les critères de motivation sociale que les QTLs sont les plus nombreux (15), montrant l'intérêt des lignées divergentes pour ce type de recherche. Les réponses au test du tapis roulant et de l'isolement social sont contrôlées par des loci différents renforçant l'hypothèse que ces deux tests évalueraient deux composantes différentes de la sociabilité des animaux. Six régions pléiotropes putatives ont pu être mises en évidence. Une première, identifiée sur CJA2, affecterait à la fois la sociabilité et l'agressivité. Deux autres, identifiées sur CJA3 et CJA18, auraient un effet conjoint sur la croissance et le poids ou le nombre d'œufs. Enfin les trois dernières, observées sur CJA5, CJA8 et CJA19, affecteraient à la fois des caractères de production et du comportement. La région observée sur CJA19 porte des QTLs pour la motivation sociale évaluée par la distance en périphérie et l'âge au premier œuf. Sur CJA5 et CJA8, on observe la co-localisation de QTLs affectant la réactivité émotionnelle mesurée par la durée d'immobilité tonique (CJA5) ou la réponse à l'objet nouveau (CJA8) et la croissance mesurée par le poids à 17 jours. De façon intéressante, des régions pléiotropes affectant la réactivité émotionnelle et le poids ont également été observées chez la poule (Schütz et al., 2004 ; Wren et al., 2011) suggérant un lien génétique possible entre ces différentes fonctions.

En conclusion, ces travaux ont conduit à la mise au point de la première carte génétique de moyenne densité établie à partir de marqueurs SNP chez la Caille. Celle-ci pourra être utile aux futures études de génétique dans cette espèce. Une première détection à l'échelle du génome des QTLs de la motivation sociale chez l'oiseau a été réalisée avec succès. Comme nous le verrons dans la discussion générale, les régions nouvellement identifiées contiennent plusieurs gènes d'intérêt.

1 **A medium density genetic map and QTL for behavioral and production traits in**  
2 **Japanese quail.**

3

4 **Julien Recoquillay<sup>1</sup>, Frédérique Pitel<sup>2,3,4</sup>, Cécile Arnould<sup>5,6,7,8</sup>, Sophie Leroux<sup>2,3,4</sup>,**  
5 **Patrice Dehais<sup>2,3,4,9</sup>, Carole Moréno<sup>2,3,4</sup>, Ludovic Calandreau<sup>5,6,7,8</sup>, Aline**  
6 **Bertin<sup>5,6,7,8</sup>, David Gourichon<sup>10</sup>, Olivier Bouchez<sup>2,3,4,11</sup>, Alain Vignal<sup>2,3,4</sup>, Maria**  
7 **Ines Fariello<sup>2,3,4,12</sup>, Francis Minvielle<sup>13</sup>, Catherine Beaumont<sup>1</sup>, Christine**  
8 **Leterrier<sup>5,6,7,8</sup>, Elisabeth Le Bihan-Duval<sup>1§</sup>**

9

10 <sup>1</sup> INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380 Nouzilly, France

11 <sup>2</sup> UMR INRA / <sup>3</sup>INPT ENSAT / <sup>4</sup>INPT ENVT Génétique Physiologie et Systèmes  
12 d'Elevage, INRA, F-31326 Castanet-Tolosan, France

13 <sup>5</sup> INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements, F-37380  
14 Nouzilly, France

15 <sup>6</sup> CNRS, UMR7247, F-37380 Nouzilly, France

16 <sup>7</sup> Université François Rabelais de Tours, F-37000 Tours, France

17 <sup>8</sup> IFCE, F-37380 Nouzilly, France

18 <sup>9</sup> INRA, Sigenae UR875 Biométrie et Intelligence Artificielle, F-31326 Castanet-  
19 Tolosan, France

20 <sup>10</sup> UE1295 Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours, F-37380 Nouzilly, France

21 <sup>11</sup> INRA, GeT-PlaGe Genotoul, F-31326 Castanet-Tolosan, France

22 <sup>12</sup> Institut Pasteur, Montevideo, Uruguay

23 <sup>13</sup> INRA, UMR1313 GABI Génétique Animale et Biologie Intégrative, F-78530 Jouy-  
24 en-Josas, France

25 <sup>§</sup>Corresponding author

26

27 Email addresses:

28 JR: Julien.Recoquillay@tours.inra.fr

29 FP: frederique.pitel@toulouse.inra.fr

30 CA: [cecile.arnould@tours.inra.fr](mailto:cecile.arnould@tours.inra.fr)

31 SL: [Sophie.Leroux@toulouse.inra.fr](mailto:Sophie.Leroux@toulouse.inra.fr)

32 PD: Patrice.Dehais@toulouse.inra.fr

33 CM: Carole.Moreno@toulouse.inra.fr

34 LC: Ludovic.Calandreau@tours.inra.fr  
35 AB: Aline.Bertin@tours.inra.fr  
36 DG: [David.Gourichon@tours.inra.fr](mailto:David.Gourichon@tours.inra.fr)  
37 OB: [Olivier.Bouchez@toulouse.inra.fr](mailto:Olivier.Bouchez@toulouse.inra.fr)  
38 AV: [alain.vignal@toulouse.inra.fr](mailto:alain.vignal@toulouse.inra.fr)  
39 MIF: [maine.fariello@gmail.com](mailto:maine.fariello@gmail.com)  
40 FM: francis\_minvielle@hotmail.com  
41 CB: Catherine.Beaumont@tours.inra.fr  
42 CL: Christine.Leterrier@tours.inra.fr  
43 ELBD: [lebihan@tours.inra.fr](mailto:lebihan@tours.inra.fr)

## 44 Abstract

45           **Background:** Behavioral traits such as sociability, emotional reactivity and  
46 aggressiveness are major factors in animal adaptation to breeding conditions. In order  
47 to investigate the genetic control of these traits as well as their relationships with  
48 production traits, a study was undertaken on a large second generation cross (F2)  
49 between two lines of Japanese Quail divergently selected on their social reinstatement  
50 behavior. All the birds were measured for several social behaviors (social  
51 reinstatement, response to social isolation, sexual motivation, aggression), behaviors  
52 measuring the emotional reactivity of the birds (reaction to an unknown object, tonic  
53 immobility reaction), and production traits (body weight and egg production).

54           **Results:** We report the results of the first genome-wide QTL detection based  
55 on a medium density SNP panel obtained from whole genome sequencing of a pool of  
56 individuals from each divergent line. A genetic map was constructed using 2145  
57 markers among which 1479 could be positioned on 28 different linkage groups. The  
58 sex-averaged linkage map spanned a total of 3057 cM with an average marker spacing  
59 of 2.1 cM. With the exception of a few regions, the marker order was the same in  
60 Japanese Quail and the chicken, which confirmed a well conserved synteny between  
61 the two species. The linkage analyses performed using QTLMAP software revealed a  
62 total of 45 QTL related either to behavioral (23) or production (22) traits. The most  
63 numerous QTL (15) concerned social motivation traits. Interestingly, our results  
64 pinpointed putative pleiotropic regions which controlled emotional reactivity and  
65 body-weight of birds (on CJA5 and CJA8) or their social motivation and the onset of  
66 egg laying (on CJA19).

67           **Conclusion:** This study identified several QTL regions for social and  
68 emotional behaviors in the Quail. Further research will be needed to refine the QTL  
69 and confirm or refute the role of candidate genes, which were suggested by  
70 bioinformatics analysis. It can be hoped that the identification of genes and  
71 polymorphisms related to behavioral traits in the quail will have further applications  
72 for other poultry species (especially the chicken) and will contribute to solving animal  
73 welfare issues in poultry production.

74

## 75 Background

76 Groups of animals are often large in modern poultry breeding conditions,  
77 resulting in repeated group disruption and encouraging the expression of aggressive  
78 behaviors [1]. Studies on the social dynamics induced by breeding in large groups  
79 have shown that the size of the group is not the only factor behind the appearance of  
80 aggressive behaviors. The space available per individual and therefore the distance  
81 between individuals also have a role [2-5]. Bird sociability is another aspect to  
82 consider in adaptation to the group. Studies on two lines of Japanese Quail  
83 divergently selected for their social reinstatement behavior [6], showed that quail with  
84 a higher level of social reinstatement (HSR) were quicker to rejoin conspecifics and  
85 formed shorter distances between individuals than those with a lower level of social  
86 reinstatement behavior (LSR) at a young age, before becoming similar at adult age  
87 [7]. Moreover, the HSR line seemed to be more tolerant of group disruption (social  
88 isolation followed by reintroduction of familiar or unfamiliar conspecifics in groups)  
89 than the LSR line [8]. These results highlight the importance of social motivation as a  
90 factor contributing to the ability of a bird to adapt to modern breeding conditions.

91 In a previous study [9], we used a second generation (F2) cross between two  
92 lines of quail divergently selected for their social reinstatement [6] to estimate the  
93 genetic parameters of social motivation and its relationships with other important  
94 behaviors (such as aggression, sexual motivation, emotional reactivity) and  
95 production traits. Our results showed a significant genetic contribution to the  
96 phenotypic variability of behavioral traits. This has also been demonstrated at the  
97 molecular level, as QTLs were detected for the duration of tonic immobility in the  
98 chicken [10] and in Japanese Quail [11, 12], for emotional reactivity in open-field  
99 [13] and for the propensity to receive or perform feather pecking [14, 15] in the  
100 chicken. Possible genetic links between emotional reactivity and production traits  
101 were also evidenced in an F2 cross between the Red Junglefowl and the White  
102 Leghorn, where the two most significant growth QTL (*Growth1* and *Growth2* loci)  
103 were co-located with tonic immobility or response to a novel object QTL [10, 16]. It  
104 was later shown that chickens with alternative homozygous genotypes at the *Growth1*  
105 locus differed in several emotional and social reactions [17].



106           The aim of the present study was to investigate further the genetic control of  
107 social and emotional behaviors, and their relationships with production traits, by  
108 genome-wide QTL detection in the F2 cross between two lines of quail divergently  
109 selected for social reinstatement, i.e the distance run on a treadmill to rejoin  
110 conspecifics [6]. As no whole-genome marker panel is publicly available in Japanese  
111 Quail, and as only a few low density genetic maps have been constructed with AFLP  
112 markers [18], microsatellites [19] or both types of marker [20], informative markers  
113 were also developed through high-throughput sequencing of the divergent lines to  
114 construct the first genetic map of the whole genome based on SNP markers.

## 115   **Methods**

### 116       1- Animals

117           Two divergent lines bred and reared at INRA experimental unit 1295 (UE PEAT,  
118 F-37380 Nouzilly, France) were used in the experiment. These lines with either high  
119 or low social reinstatement behavior (HSR or LSR, respectively) have been  
120 divergently selected on their propensity to rejoin a group of conspecifics when 10  
121 days old while maintaining a constant duration of tonic immobility across generations  
122 [6]. They differ consistently in their social motivation under various experimental  
123 conditions and in several other aspects of social behavior such as sexual motivation  
124 and aggressive behavior [21-24]. A reciprocal cross of these two lines was undertaken  
125 from the 49<sup>th</sup> generation, using four HSR males and four LSR females to produce the  
126 HSR x LSR (H/L) cross and four LSR males and four HSR females to produce the  
127 LSR x HSR (L/H) cross. From this F1 generation, three H/L males were each mated  
128 with two H/L females and two L/H females, and three L/H males were mated with  
129 two H/L females and two L/H females. Two females from the F1 generation died  
130 during the experiment and were replaced by individuals with a similar genetic  
131 background, resulting in 26 F1 females. A total of 731 F2 quail chick (360 males and  
132 371 females) were used for QTL detection analyses, with an average of 32 chicks  
133 produced by F1 females and 120 by F1 males in 6 successive batches.

134

### 135       2- Testing procedures

136 *Behavioral traits*

137 The detailed procedure for the behavioral tests used in this study can be found in the  
138 previous study by Recoquillay *et al.* [9].

139 -Social motivation (DistIso and DistSR)

140 Social motivation was measured by two behavioral tests. The first, undertaken  
141 in a familiar arena with water and food when the chicks were 1 to 3 days old,  
142 estimated social motivation by the distance the chick walked at the periphery of the  
143 arena. This variable was referred as DistIso: the higher its value, the more sociable the  
144 chick was considered to be, as the distance walked was evaluated as a reinstatement  
145 behavior because the chick was looking for its conspecifics [25]. The second test, the  
146 treadmill test, was performed when the quail were 6 to 8 days old. The procedure was  
147 similar to that used for the selection of the two divergent lines by Mills and Faure [6].  
148 Each quail was placed on the center of the treadmill with the possibility of reaching  
149 two extremities, either a cage with conspecifics or a dead end. Social motivation was  
150 estimated by the distance run on the treadmill in order to rejoin the conspecifics. This  
151 variable, recorded as DistSR, is higher in more socially motivated birds.

152 -Emotional reactivity (TI and HeadNO)

153 Emotional reactivity was measured by two tests. The first, the tonic  
154 immobility test, was performed when the quail were 9 to 10 days old. During this test,  
155 tonic immobility was induced by restraining the animal on its back: the longer the  
156 time needed for the bird to redress itself (referred to as TI), the more fearful the bird.  
157 The second test measured birds' emotional reactivity to a novel object. This test was  
158 performed when the chicks were 37 to 38 days old. During this test, an unknown  
159 object was presented to an individual in front of its cage in such a manner that the  
160 animals in other cages could not see it. The number of scans during which the quail  
161 had its head through the wire in the front of the cage (touching the object or not) was  
162 recorded and referred to as HeadNO. The more often the bird passed its head through  
163 the wire, trying to reach the novel object, the less fearful it was considered to be [26,  
164 27].

165 -Sexual motivation and aggressiveness (GentleP, AgrP and Mount)

166 Aggressiveness and sexual motivation were evaluated in the same arena at 55  
167 to 56 days and 62 days respectively, in all male quail. In each test, the bird was

168 confronted with either a mirror (aggressiveness test) or a stuffed female (sexual  
169 motivation). For the aggressiveness test, two behavioral variables were noted: the  
170 number of aggressive pecks at the mirror, referred as AgrP, and the number of gentle  
171 pecks, referred as GentleP. The first variable measured the aggressiveness and the  
172 second the exploratory social tendency of the bird [28]. Sexual motivation was  
173 measured by the number of mounts the male performed on the stuffed female and was  
174 referred to as Mount: the higher this variable, the more sexually active the bird.

### 175 *Production traits*

176 Birds were weighed at 17 days of age (W17) and after the last behavioral test, i.e.  
177 at 65 days of age (W65). The age when the first egg was laid (AFEgg) and the number  
178 of eggs laid (NEgg) until week 24 were recorded as well as the mean egg weight  
179 (WEgg) calculated from eggs laid during weeks 12 and 13.

180

### 181 3- Choice of markers and genotyping

182 To maximize the informativity of our SNP panel, markers were developed directly  
183 from the genomic sequences of the HRS and LSR lines. Samples from ten F0  
184 individuals from each line were pooled and sequenced (paired-ends, 100 bp) on two  
185 lanes of a HiSeq 2000 sequencer (Illumina) according to the manufacturer's  
186 instructions (TruSeq kits). In the absence of an available genome sequence for the  
187 Japanese Quail, the readings of the two divergent lines were mapped to the chicken  
188 genome assembly (galGal3, GallusWU2.58), and the bwasw option of the bwa  
189 software was used to improve the heterologous alignment [29]. Readings were filtered  
190 for single mapping, absence of N, and identity level over 70% before SNP detection.  
191 The SNP markers selected had to be biallelic, and positioned outside repeated regions  
192 and could not originate from an insertion/deletion event. A quality filter was applied  
193 (mapping quality > 30), and SNPs resulting from transversion or found close to  
194 another SNP (in the 120 flanking base pairs) were excluded. Only SNPs with an allele  
195 frequency of 0 in one pool and 1 in the other pool were then selected, corresponding  
196 to line-specific SNPs in the 20 individuals sequenced. After Illumina scoring, final  
197 selection was made in order to optimize the SNP distribution on the genome with the  
198 chicken genetic map as the basis. Genotyping was performed with the iSelect method  
199 from Illumina. Genotype calling was carried out with the GenomeStudio software  
200 (GenomeStudio V2010.1, Illumina). Genotypes were filtered for call rate (> 0.85),

201 call frequency ( $> 0.50$ ) and cluster dispersion. Markers with an unexpected deviation  
202 from Hardy-Weinberg equilibrium ( $p < 10^{-6}$ ) were removed with PLINK [30].

203

#### 204 4- Map construction

205 The genetic map was constructed using CriMap version 2.504 software [31]. First  
206 the PREPARE function was used to verify the genotyping data for incompatibilities  
207 with Mendelian inheritance, and errors were rechecked and data were excluded when  
208 necessary. The TWOPOINT function was used with a LOD score threshold of 50.0 in  
209 order to create the linkage groups. Markers belonging to the same linkage groups  
210 were then analyzed with two iterations using the BUILD and FLIPS functions. In the  
211 first step, the BUILD option was used with a LOD score threshold model of 6.0, and  
212 the order of loci generated was examined with the FLIPS and CHROMPIC option. In  
213 the second step, the BUILD option was used taking a LOD score of 3.0 on the  
214 previously generated order as a basis in order to add the loci excluded during the first  
215 analysis. The new order was again examined with the FLIPS and CHROMPIC  
216 functions. Map distances, expressed in cM, were calculated from the Kosambi  
217 distance.

218

#### 219 5- QTL detection

220 QTLs were detected by linkage analysis with QTLMAP software (version 0.9.6)  
221 developed for outbred populations [32]. No assumptions were made about the fixation  
222 of the QTL alleles in the founder populations and different QTL effects were  
223 estimated separately for each family analyzed. In the present study, we performed two  
224 complementary analyses. The first, modeling only sire QTLs, allowed precise  
225 estimation of the QTL effect (because of the high number of offspring per sire) but on  
226 a limited number of parents. The second, including also dam QTLs estimated from at  
227 least 20 offspring, was expected to detect more QTLs by increasing the potential  
228 number of heterozygous parents. The fixed effects of the batch and sex were  
229 estimated jointly with the QTL effect for each trait analyzed. The likelihood ratio test  
230 between the hypothesis of the existence of a QTL ( $H_1$ ) and the hypothesis of the  
231 absence of a QTL ( $H_0$ ) was calculated on a given chromosome at each position every  
232 0.5 cM. The rejection threshold of  $H_0$  and the chromosome-wide level of significance  
233 of  $H_1$  were estimated by 10,000 simulations under the  $H_0$  hypothesis with a polygenic

234 model using heritability coefficients estimated by Recoquillay *et al.* [9]. Genome-  
235 wide level of significance ( $P_{genome-wide}$ ) was derived from the chromosome-wide  
236 probability ( $P_{chromosome-wide}$ ) by the following Bonferroni correction [33], where  $r$  is the  
237 ratio between the length of the chromosome tested and the total length of the genome  
238 analyzed:

$$239 \quad P_{genome-wide} = 1 - (1 - P_{chromosome-wide})^{1/r}$$

240 QTL were declared to be genome-wide significant when  $P_{genome-wide} < 0.05$ , and  
241 chromosome-wide significant when  $P_{chromosome-wide} \leq 0.05$ . The QTL confidence  
242 interval (95%) was estimated by the LOD drop-off method (1 LOD was used).  
243 Substitution effects of the QTLs were calculated for each sire or dam and their  
244 significance tested with a  $t$ -test. The effect of the QTL was estimated as the average of  
245 the significant parent's effects ( $P < 0.05$ ) and expressed in phenotypic standard  
246 deviation.

247

#### 248 6- QTL comparisons between chicken and quail

249 Each of our SNPs was attributed to a specific coordinate in the chicken genome  
250 through the first bwa alignment against the previous version of the genome (galGal3)  
251 and updated by blast analysis [34] of the 1000 bp flanking sequence of the SNP  
252 against galGal4 [35]. The Chicken QTL Database [36, 37] was used in order to assess  
253 the genetic environment in the chicken genome at the coordinates of the markers  
254 flanking the likeliest position of the QTL and at the coordinates of the markers  
255 flanking the confidence interval of the QTL. The results of these comparisons are  
256 shown in Additional Table 1.

## 257 Results

### 258 1- Sequencing and SNP detection

259 A total of 19.2 and 23.3 billion bases were obtained for the HSR and LSR lines,  
260 respectively. Forty-two percent of the readings mapped to the chicken genome,  
261 leading to an average coverage of 50.7% (Additional Figure 1). The SNP selection  
262 pipeline gave a set of 4774 putative SNPs, to which we added 1226 quail SNPs from

263 other programs ([38]; Bed'hom, personal communication). The final set comprised  
264 6000 markers, equally distributed along the chicken genetic map (Additional Figure  
265 2) with the notable exception of GGA16, W and of linkage group E64, for which the  
266 assembly is still incomplete. Due mostly to an inaccurate definition of flanking  
267 sequences in a subset of markers for the Illumina BeadChip ordering, we obtained  
268 reliable genotypes only for 2145 SNPs.

## 269 2- Linkage Map

270 Of 2145 SNPs, 1479 were positioned on a total of 28 linkage groups. No map could  
271 be constructed for chromosomes 16, E64, W and Z. The sex-averaged linkage map  
272 spanned a total of 3057 cM and the average marker spacing was 2.1 cM. The span and  
273 the average marker spacing for each linkage group are shown in Table 1.

## 274 3- Comparison with chicken

275 As the markers used in the construction of the quail genetic map were also  
276 physically positioned on the chicken genomic map (NCBI, Annotation Release 102),  
277 comparisons could be made between the two maps. The marker order was mostly  
278 conserved between the two species, although chromosomal rearrangements were  
279 observed (as illustrated in Additional Figure 3). Sets of markers were in an inverted  
280 order on CJA1 ( from 25 cM to 42 cM and from 133 cM to 147 cM), CJA2 (from 141  
281 cM to 235 cM), CJA3 (from 13 cM to 26 cM), CJA6 (from 5 cM to 17 cM), CJA7  
282 (from 58 cM to 79 cM and from 96 to 109 cM), CJA8 (From 14 cM to 20 cM), CJA9  
283 (from 0 cM to 1 cM), CJA11(From 0 cM to 1 cM), CJA13 (from 23 to 56 cM),  
284 CJA18 (from 30 cM to 97 cM), CJA20 (from 0 to 0.5 cM and from 31 cM to 38 cM)  
285 and CJA25 (from 28 to 30 cM). Displaced markers were occasionally observed,  
286 positioning them to very different loci than those found on the chicken map. Such  
287 events were noted on CJA3 (0 to 2 cM), CJA5 (29 cM to 38 cM), CJA7 (0 cM to 19  
288 cM) and CJA22 (0 to 2 cM).

289

## 290 4- QTL Detection

291 Descriptive statistics of the traits analyzed are provided in Table 2. QTLs detected  
292 either by the “Sire” model or the “Sire plus Dam” model are shown in Table 3 and in  
293 Additional Figure 4. Eleven genome-wide significant QTLs, and 34 chromosome-  
294 wide significant QTLs were identified for behavioral traits (23 QTLs) or production  
295 traits (22 QTLs). The average substitution effects (expressed as a percentage of  
296 standard deviation) were moderate to high, and ranged between 0.19 (HeadNO on  
297 CJA8) and 0.49 (HeadNO CJA1) for behavioral traits and between 0.21 (W17 on  
298 CJA1) and 0.53 (WEgg on CJA3) for production traits.

299 Fourteen QTLs appeared to be common between the Sire and the Sire-Dam  
300 models, i.e related to the same trait, with close likeliest positions and overlapping  
301 confidence intervals. This was the case for W17 on CJA1 with genome-wide  
302 significant QTL detected at 319 cM (Sire) and 325 cM (Sire-Dam) and for W65 on  
303 CJA5 with genome-wide significant QTL at 97 cM (Sire) and 88 cM (Sire-Dam).  
304 Other significant chromosome-wide QTLs were detected by the two models for  
305 DistSR on CJA2 (at 155 and 149 cM, for the Sire and Sire-Dam models, respectively)  
306 and on CJA9 (at 55 and 42 cM, respectively), for DistIso on CJA19 (at 14 and 8 cM,  
307 respectively), for TI on CJA11 (at 5 and 1 cM, respectively) and for WEgg on CJA18  
308 (at 61 and 62 cM, respectively).

309 Other QTLs were specifically detected by only one of the two models. The Sire  
310 model led to one genome-wide significant QTL for W17 on CJA5. Several additional  
311 chromosome-wide significant QTLs were detected by this model for behavioral traits  
312 such as DistSR on CJA11 (47 cM), CJA13 (4 cM) and CJA26 (21 cM), DistIso on  
313 CJA2 (319 cM) and CJA15 (63 cM), TI on CJA5 (59 cM), HeadNO on CJA23 (57  
314 cM), and AgrP on CJA1 (236 cM) and CJA2 (141 cM). Chromosome-wide significant  
315 QTLs were specifically detected by the Sire model for production traits such as W17  
316 on CJA8 (56 cM), W65 on CJA18 (42 cM), AFEgg on CJA3 (302 cM), NEgg on  
317 CJA3 (225 cM), and WEgg on CJA1 (193 cM). The Sire-Dam model identified five  
318 supplementary genome-wide significant QTLs for HeadNO (132 cM) and W65 (317  
319 cM) on CJA1, WEgg (156 cM) on CJA3, DistIso (105 cM) on CJA4, and W17 (90  
320 cM) on CJA5. Chromosome-wide significant QTLs were identified for behavioral  
321 traits such as DistSR on CJA1 (281 cM), and DistIso on CJA7 (96 cM) and CJA10

322 (11 cM). Chromosome-wide significant QTLs were also detected for production traits  
323 such as W17 on CJA8 (41 cM) and CJA10 (30 cM), W65 on CJA10 (21 cM) and  
324 CJA18 (18 cM), AFEgg on CJA19 (4 cM) and NEgg on CJA18 (3 cM).

325

## 326 Discussion

327 Quail show social behaviors close to those observed in the chicken. Moreover,  
328 Japanese Quail and chickens have the same number of chromosomes despite showing  
329 several morphological differences [39]. As such, the Japanese Quail can be  
330 considered as a reliable model for the chicken in the field of genetics [40]. However, a  
331 previous study by Inoue-Murayama *et al.* [41] showed that genetic markers used in  
332 the genetic mapping for the chicken were ineffective in Japanese Quail, which  
333 highlighted the need to develop quail-specific markers. Consequently several maps  
334 were developed using AFLP markers [18], microsatellite markers [19] and both [20].  
335 Comparisons between the information from the quail genetic map and from the  
336 assembled chicken sequence showed that the macrochromosomes of the two species  
337 had a highly conserved synteny [42]. Similarly, cytogenetic comparisons by  
338 Shibusawa *et al.* [43], showed conservation of the chromosomal organization between  
339 the two species. Nevertheless, Kayang *et al.* [42] observed rearrangements on CJA1,  
340 CJA2 and CJA5 and Shibusawa *et al.* [43] on CJA1, CJA2, CJA4 and CJA8, although  
341 the inverted regions on CJA1 and CJA2 were not the same in the two studies. FISH  
342 analyses performed by Kayang *et al.* [42] confirmed the results of Shibusawa *et al.*  
343 [43] on CJA1 and CJA4. Moreover, a study by Sasazaki *et al.* [44] comparing the  
344 positions of orthologous genes between the two species showed a chromosomal  
345 rearrangement on CJA2 (in a similar position to that of Shibusawa *et al.* [43]) and on  
346 CJA5 (in a similar position to that of Kayang *et al.* [42]). It also showed new  
347 rearrangements on CJA3 and CJA7. Interestingly, our results were consistent with  
348 those of Shibusawa *et al.* [43] for CJA1, CJA2 and CJA8 and of Sasazaki *et al.* [43]  
349 for CJA3. We also confirmed the inverted region on CJA5 reported by Kayang *et al.*  
350 [42] and Sasazaki *et al.* [44]. Surprisingly, we did not observe the inverted region  
351 described by Shibusawa *et al.* [43] and Kayang *et al.* [42] on CJA4. This might have  
352 originated from a lack of information from the markers present in the region,



353 preventing identification of the chromosomal rearrangement. We also observed an  
354 inverted region on CJA6 never previously reported. Findings by Shibusawa *et al.* [43]  
355 seem to indicate a lack of cytogenetic markers in the rearranged region, which could  
356 explain the impossibility of confirming the existence of chromosomal rearrangement  
357 on CJA6 by cytogenetic means. In conclusion, the map constructed for this study  
358 should accurately represent the genetic organization of the quail genome. With the  
359 exception of a few regions, the marker order was conserved between the Japanese  
360 Quail and the chicken, which confirmed conserved synteny and supported the  
361 relevance of the Japanese Quail as a model for the chicken.

362

363 In order to confirm the similarity between QTLs observed in the quail and the  
364 chicken, we used the chicken QTL Database [36, 37]. We first undertook these  
365 comparisons on widely studied traits such as body weight. In the present study, we  
366 detected several QTLs for body weight at a juvenile age (W17) and at a sexually  
367 mature age (W65). Interestingly, QTL controlling these two traits co-localized on  
368 CJA1 (316 to 328 cM) and CJA5 (56 to 115 cM), suggesting the existence of regions  
369 controlling the overall growth of the animal. As shown in Additional Table 1, growth-  
370 related QTLs were discovered in the homologous regions of the chicken by several  
371 studies at a juvenile age but more rarely at a mature age. Similarly, body weight QTLs  
372 in the chicken were found in the homologous regions of W65 QTL on CJA3 (148-165  
373 cM) and W17 QTL on CJA8 (37-60 cM). These results showed that several QTLs  
374 were consistent for similar traits between the chicken and the quail, although we do  
375 not have any indication that they are governed by common genes. By contrast, egg  
376 trait-related QTLs were rarely identified in the chicken. Only one QTL for WEgg on  
377 CJA3 (52.6 to 56.7 Mb) showed coordinates overlapping with an egg weight QTL  
378 detected on GGA3 (49.0 to 81.4 Mb) by Tuiskula-Haavisto *et al.* [45]. One hypothesis  
379 is that the genetic determinism of egg production traits is not as conserved between  
380 the quail and the chicken as the determinism of body weight; our population may also  
381 lack the genetic variability in the QTL regions identified in the chicken. Another  
382 explanation may be that our experimental scheme was less powerful for the egg  
383 production traits, which were measured in only half of the birds. Interestingly, our  
384 results indicated the existence of putative pleiotropic loci affecting both weight and  
385 egg traits. This was the case on CJA3 where a WEgg QTL co-localized with a W65

386 QTL. Physiologically, it has been shown that the average egg weight roughly  
387 represents 8% of the female bodyweight in the quail and 3% in the chicken [46]. This  
388 candidate region could underlie the genetic correlation already observed in the quail  
389 between these two traits [47-50]. The W65 QTL and NEgg QTL identified on CJA18  
390 suggested another candidate region which might partly explain the unfavorable  
391 genetic correlation in the quail between these two traits reported by Silva *et al.* [49].

392

393 As only a few studies have focused on the detection of behavioral QTL in  
394 either the quail [11, 12] or the chicken [10, 13-15, 17, 51-53], comparison with  
395 previous studies is less comprehensive than for production traits. Interestingly, the  
396 AgrP QTL on CJA1 corresponded to the homologous region (around 109 Mb to 127  
397 Mb) in the chicken harboring a QTL controlling the number of feather pecks an  
398 individual received [15]. The effect of this locus was recently confirmed by Biscarini  
399 *et al.* [53] who showed a significant effect of SNP rs1530785 on the number of pecks  
400 received on the dorsal and ventral parts of the body. This behavioral QTL was shown  
401 to contain the gene coding for the isoenzyme MAOA (Mono-Amine Oxidase A),  
402 while two studies showed increased aggressive behavior in *MAOA* knockout mice [54,  
403 55]. Indeed, MAOA regulates the concentration of several substrates such as  
404 serotonin, dopamine and the norepinephrine [56]. One of these substrates, serotonin,  
405 has been shown to affect several behavioral processes such as cooperation between  
406 individuals, hierarchy establishment and aggressiveness (see [57] for review).  
407 Furthermore, the study by van Hierden *et al.* [58] demonstrated that lines of chicken  
408 divergently selected for their feather pecking propensity showed a different serotonin  
409 turnover with a slower degradation of serotonin in the HFP (High Feather Pecking)  
410 than in the LFP lines (Low Feather Pecking). Moreover, Wysocki *et al.* [59] studied  
411 *MAOA* expression in brain tissue of HFP and LFP lines and suggested that it could  
412 possibly be downgraded in HFP. However, the observation on micro-arrays could not  
413 be confirmed by qPCR. Further research is needed to investigate the variability of this  
414 gene in the HSR and LSR lines, which also differed in terms of aggressiveness [60,  
415 61]. Another QTL for AgrP (46.6 Mb) was observed on CJA2 which co-localized  
416 with a QTL for the number of severe feather pecks given by a chick (46.0 to 51.3 Mb)  
417 identified by Buitenhuis *et al.* [14]. When considering the extent of our confidence  
418 interval, it seems that we identified a more refined region than that described by

419 Buitenhuis *et al.* [14]. In addition, the chromosomal rearrangement we observed in the  
420 quail brought the AgrP-QTL and DistSR-QTL observed on CJA2 closer, suggesting a  
421 possible pleiotropic effect of this region. The coordinates of the DistSR QTL (79.2 to  
422 79.4 Mb and 81.1 to 81.4 Mb for the Sire and Sire-Dam models, respectively) co-  
423 localized with a suggestive QTL for the number of Gentle Feather Pecks given by an  
424 individual (67 to 85 Mb) identified by Buitenhuis *et al.* [14]. Previous reports on the  
425 HSR and LSR lines showed that, in cases of group disruption, HSR birds manifested  
426 increased explorative behavior of unfamiliar conspecifics such as gentle peckings  
427 [62], which reinforces this QTL co-localization.

428

429         Interestingly, the TI-QTL on CJA11 showed coordinates (3.3 to 3.7 Mb and  
430 0.5 to 2.8 Mb for the Sire and Sire-Dam models, respectively) corresponding to a  
431 QTL controlling the frequency of defecation in an Open-Field (0.5 to 5.0 Mb)  
432 identified by Buitenhuis *et al.* [63] in the chicken. These co-localizations suggest an  
433 effect of this region on some aspects of emotional reactivity of an animal as the  
434 duration of tonic immobility after restraint and the frequency of defecation in Open-  
435 Field are both behavioral responses expressed during stressful events [64, 65]. Our  
436 results also highlighted putative pleiotropic regions controlling emotional reactivity  
437 and body-weight. This was the case for CJA5 for a region (spanning 38 to 75 cM)  
438 which harbored a genome-wide significant QTL for W17 and a chromosome-wide  
439 significant QTL for TI. It was also the case for CJA8 where QTLs for HeadNO and  
440 W17 overlapped. A genetic link between a bird's growth and its emotional reactivity  
441 or sociability has already been evidenced by studying the *Growth 1* region in the  
442 chicken [10, 17] and several candidate genes affecting the sociability or the emotional  
443 reactivity in this region have been suggested (*AVRPI*, *AVRP2*, *NRCAM*) by Wiren *et al.*  
444 [66]. A pleiotropic role of the *Growth 2* region [16] was also suggested as it co-  
445 localized with a QTL controlling the reaction to a novel object [10]. We also  
446 identified a putative pleiotropic QTL for AFEgg and DistIso on CJA19. Moreover, it  
447 is interesting to note that DistSR QTL on CJA13 had overlapping coordinates (1.6 to  
448 1.8 Mb) with an AFEgg QTL (0.6 to 16.0 Mb) identified by Podisi *et al.* [67] on  
449 GGA13, although the latter is very wide. An unfavorable correlation between growth  
450 and fearfulness has already been reported in poultry, as in this F2 experimental design  
451 [9, 68]. At the same time, favorable genetic relationships between sociability or

452 emotional reactivity and egg traits (age at first egg and number of eggs) have been  
453 reported [9]. Further research is needed to confirm the pleiotropic effects of the QTL  
454 regions we identified, and to look for candidate genes underlying the relationship  
455 between production and behavior. Identification of these molecular factors should  
456 help to understand whether production can be improved without impairing emotional  
457 and social behavior, which remains a vexing question for poultry production.

458

459 With a total of 15 QTLs obtained by the two models, the most numerous  
460 regions involved the social motivation traits (i.e. DistSR and DistIso), which  
461 highlighted the interest of divergent lines selected on social motivation for QTL  
462 detection. This study is the first to date to identify social motivation QTL across the  
463 whole genome, as previous studies focused either on a selected QTL region [66] or  
464 considered composite traits obtained by Principal Component Analysis [51]. The  
465 eight regions we identified for DistSR did not co-localize with the seven found for  
466 DistIso. This finding is consistent with the low phenotypic and genetic correlations  
467 we observed between DistSR and DistIso with the same design [9] and suggests that  
468 these two traits are under different genetic control and measure different components  
469 of social motivation, probably depending on whether the animals are in visual and  
470 auditory contact with conspecifics or not. Although the confidence intervals of the  
471 social motivation QTLs were relatively wide and the identification of candidate genes  
472 rather speculative at this stage, the use of Ingenuity Pathway Analysis [69] revealed  
473 two interesting genes related to behavior establishment. The first (located in the  
474 DistSR QTL on CJA2) is the dopa-decarboxylase gene (*DDC*) which encodes the  
475 aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC). This enzyme allows conversion of L-  
476 DOPA to dopamine and L-5 hydroxytryptophan to serotonin. Genetic variations in the  
477 *DDC* gene have been reported to be associated with the defective attention and  
478 disorders such as Attention Deficit Hyperactivity [70] in humans. The second (located  
479 in the DistSR QTL on CJA9) is the serotonin receptor 2B gene (*HTR2B*). Studies in  
480 the field of personality traits were recently conducted on *HTR2B*. *HTR2B* knockout  
481 mice showed increased impulsive behavior and novelty seeking [71]. Moreover, an  
482 association between *HTR2B* polymorphism and a personality trait of fun seeking has  
483 been found in humans [72].

484

## 485 Conclusions

486 This study identified several QTL regions for social and emotional behaviors  
487 in the quail. Further research will be needed to refine these regions and confirm or  
488 refute the role of candidate genes, such as the neurotransmitters genes. Our genetic  
489 map confirmed a well conserved synteny while the linkage analysis suggested some  
490 putative common QTLs between the quail and the chicken. It is to be hoped that the  
491 discovery of genes and polymorphisms related to behavioral traits in the quail will  
492 have further applications for the chicken and will contribute to solving the animal  
493 welfare issues encountered in poultry production.

494

## 495 Competing interests

496 The authors declare that they have no competing interests.

497

## 498 Authors' contributions

499 CL, ELBD, FP, CA, AV, FM and CB conceived the study and participated in its  
500 design and coordination. LC, AB and DG participated in the design of the study and  
501 to the data collection. SL and OB carried out the molecular studies and analysis. PD,  
502 SL and FP conducted the sequence analysis, SNP detection and genotypes analysis.  
503 MIF participated in the sequence analyses. JR did the genetic map and QTL mapping  
504 analyses under the supervision of ELBD and CM, and drafted the manuscript. ELBD,  
505 CL and FP helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final  
506 manuscript.

507

## 508 Acknowledgements

509 We thank the French “Agence Nationale de la Recherche” SNPBB grant [ANR-009-  
510 GENM-008] and the AIP Bioressources Genocot grant (2012). JR was supported by a  
511 PhD grant from the Conseil Régional du Centre and INRA.

## 512 References

- 513 1. Vaisanen J, Hakansson J, Jensen P: Social interactions in Red Junglefowl  
514 (*Gallus gallus*) and White Leghorn layers in stable groups and after re-grouping.  
515 *British Poultry Science* 2005, 46:156-168.
- 516 2. Estevez I, Newberry RC, Keeling LJ: Dynamics of aggression in the domestic  
517 fowl. *Applied Animal Behaviour Science* 2002, 76:307-325.
- 518 3. Estevez I, Keeling LJ, Newberry RC: Decreasing aggressions with increasing  
519 group size in young domestic fowl. *Applied Animal Behaviour Science* 2003, 84:213-  
520 218.
- 521 4. Estevez I, Andersen IL, Naevdal E: Group size, density and social dynamics in  
522 farm animals. *Applied Animal Behaviour Science* 2007, 103:185-204.
- 523 5. Leone EH, Estevez I, Christman MC: Environmental complexity and group  
524 size: Immediate effects on use of space by domestic fowl. *Applied Animal Behaviour*  
525 *Science* 2007, 102:39-52.
- 526 6. Mills AD, Faure JM: Divergent selection for duration of tonic immobility and  
527 social reinstatement behavior in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) chicks. *J*  
528 *Comp Psychol* 1991, 105:25-38.
- 529 7. Francois N, Mills AD, Faure JM: Inter-individual distances during open-field  
530 tests in Japanese quail (*Coturnix japonica*) selected for high or low levels of social  
531 reinstatement behaviour. *Behavioural Processes* 1999, 47:73-80.
- 532 8. Schweitzer C, Levy F, Arnould C: Increasing group size decreases social  
533 bonding in young Japanese quail, *Coturnix japonica*. *Anim Behav* 2011, 81:535-542.
- 534 9. Recoquillay J, Leterrier C, Calandreau L, Bertin A, Pitel F, Gourichon D,  
535 Vignal A, Beaumont C, Le Bihan-Duval E, Arnould C: Evidence of Phenotypic and

536 Genetic Relationships between Sociality, Emotional Reactivity and Production Traits  
537 in Japanese Quail. Plos One 2013, 8:11.

538 10. Schütz KE, Kerje S, Jacobsson L, Forkman B, Carlborg O, Andersson L,  
539 Jensen P: Major growth QTLs in fowl are related to fearful behavior: possible genetic  
540 links between fear responses and production traits in a red junglefowl x White  
541 Leghorn intercross. Behav Gen 2004, 34:121-130.

542 11. Beaumont C, Roussot O, Fève K, Vignoles F, Leroux S, Pitel F, Faure JM,  
543 Mills AD, Guemene D, Sellier N, et al: A genome scan with AFLP((TM)) markers to  
544 detect fearfulness-related QTLs in Japanese quail. Anim Genet 2005, 36:401-407.

545 12. Minvielle F, Kayang BB, Inoue-Murayama M, Miwa M, Vignal A, Gourichon  
546 D, Neau A, Monvoisin JL, Ito S: Microsatellite mapping of QTL affecting growth,  
547 feed consumption, egg production, tonic immobility and body temperature of  
548 Japanese quail. BMC Genomics 2005, 6.

549 13. Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, Siwek M, Cornelissen SJB, Nieuwland MGB,  
550 Crooijmans R, Groenen MAM, Koene P, Bovenhuis H, van der Poel JJ: Identification  
551 of QTLs involved in open-field behavior in young and adult laying hens. Behav Genet  
552 2004, 34:325-333.

553 14. Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, van Hierden YM, Siwek M, Cornelissen SJB,  
554 Nieuwland MGB, Crooijmans R, Groenen MAM, Koene P, Korte SM, et al: Mapping  
555 quantitative trait loci affecting feather pecking behavior and stress response in laying  
556 hens. Poultry Science 2003, 82:1215-1222.

557 15. Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, Siwek M, Cornelissen SJB, Nieuwland MGB,  
558 Crooijmans R, Groenen MAM, Koene P, Bovenhuis H, van der Poel JJ: Identification  
559 of quantitative trait loci for receiving pecks in young and adult laying hens. Poultry  
560 Science 2003, 82:1661-1667.

561 16. Kerje S, Carlborg O, Jacobsson L, Schutz K, Hartmann C, Jensen P,  
562 Andersson L: The twofold difference in adult size between the red junglefowl and  
563 White Leghorn chickens is largely explained by a limited number of QTLs. Animal  
564 Genetics 2003, 34:264-274.



- 565 17. Wiren A, Jensen P: A Growth QTL on Chicken Chromosome 1 Affects  
566 Emotionality and Sociality. *Behav Genet* 2011, 41:303-311.
- 567 18. Roussot O, Feve K, Plisson-Petit F, Pitel F, Faure JM, Beaumont C, Vignal A:  
568 AFLP linkage map of the Japanese quail *Coturnix japonica*. *Genetics Selection  
569 Evolution* 2003, 35:559-572.
- 570 19. Kayang BB, Vignal A, Inoue-Murayama M, Miwa M, Monvoisin JL, Ito S,  
571 Minvielle F: A first-generation microsatellite linkage map of the Japanese quail.  
572 *Animal Genetics* 2004, 35:195-200.
- 573 20. Kikuchi S, Fujima D, Sasazaki S, Tsuji S, Mizutani M, Fujiwara A, Mannen  
574 H: Construction of a genetic linkage map of Japanese quail (*Coturnix japonica*) based  
575 on AFLP and microsatellite markers. *Animal Genetics* 2005, 36:227-231.
- 576 21. Mills AD, Jones RB, Faure JM, Williams JB: Responses to isolation in  
577 Japanese Quail genetically selected for high and low sociality. *Physiol Behav* 1993,  
578 53:183-189.
- 579 22. Burns M, Domjan M, Mills AD: Effects of genetic selection for fearfulness or  
580 social reinstatement behavior on adult social and sexual behavior in domestic quail  
581 (*Coturnix japonica*). *Psychobiology* 1998, 26:249-257.
- 582 23. Jones RB, Mills AD: Divergent selection for social reinstatement behaviour in  
583 Japanese quail: Effects on sociality and social discrimination. *Avian Biol Res* 1999,  
584 10:213-223.
- 585 24. Schweitzer C, Arnould C: Emotional reactivity of Japanese quail chicks with  
586 high or low social motivation reared under unstable social conditions. *Appl Anim  
587 Behav Sci* 2010, 125:143-150.
- 588 25. Schweitzer C, Houdelier C, Lumineau S, Levy F, Arnould C: Social  
589 motivation does not go hand in hand with social bonding between two familiar  
590 Japanese quail chicks, *Coturnix japonica*. *Anim Behav* 2010, 79:571-578.
- 591 26. Jones RB: Assessment of fear in adult laying hens - Correlational analysis of  
592 methods and measures. *British Poultry Science* 1987, 28:319-326.

- 593 27. Jones RB, Waddington D: Modification of fear in domestic Chicks, *Gallus*  
594 *gallus domesticus*, via regular handling and early environmental enrichment. *Anim*  
595 *Behav* 1992, 43:1021-1033.
- 596 28. Savory CJ: Feather pecking and cannibalism. *Worlds Poult Sci J* 1995,  
597 51:215-219.
- 598 29. Li H, Durbin R: Fast and accurate long-read alignment with Burrows-Wheeler  
599 transform. *Bioinformatics* 2010, 26:589-595.
- 600 30. Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D,  
601 Maller J, Sklar P, de Bakker PIW, Daly MJ, Sham PC: PLINK: A tool set for whole-  
602 genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* 2007,  
603 81:559-575.
- 604 31. Green P., Falls K., Crooks S.: *Cri-Map Version 2.4*. 1990.
- 605 32. Elsen JM, Mangin B, Goffinet B, Boichard D, Le Roy P: Alternative models  
606 for QTL detection in livestock. I. General introduction. *Genetics Selection Evolution*  
607 1999, 31:213-224.
- 608 33. Rebai A, Goffinet B, Mangin B: Approximate thresholds of interval mapping  
609 tests for QTL detection. *Genetics* 1994, 138:235-240.
- 610 34. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ: Basic Local  
611 Alignment Search Tool. *J Mol Biol* 1990, 215:403-410.
- 612 35. UCSC Genome Browser [<http://genome-euro.ucsc.edu/>]
- 613 36. Zhi-Liang Hu, Carissa A. Park, Xiao-Lin Wu, Reecy JM: Animal QTLdb: an  
614 improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in  
615 the post-genome era. *Nucleic Acids Research* 2013, 41:871-879.
- 616 37. Chicken QTLdb [<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/GG/index>]
- 617 38. Fresard L, Leroux S, Dehais P, Servin B, Gilbert H, Bouchez O, Klopp C,  
618 Cabau C, Vignoles F, Feve K, et al: Fine mapping of complex traits in non-model

- 619 species: using next generation sequencing and advanced intercross lines in Japanese  
620 quail. *Bmc Genomics* 2012, 13:11.
- 621 39. Sasaki M: High resolution G-band karyotypes of domestic fowl and the  
622 Japanese Quail. *Chromosome Information Service* 1981, 31:26-28.
- 623 40. Minvielle F: What are quail good for in a chicken-focused world? *Worlds*  
624 *Poult Sci J* 2009, 65:601-608.
- 625 41. Inoue-Murayama M, Kayang BB, Kimura K, Ide H, Nomura A, Takahashi H,  
626 Nagamine Y, Takeda T, Hanada H, Tatsuda K, et al: Chicken microsatellite primers  
627 are not efficient markers for Japanese quail. *Animal Genetics* 2001, 32:7-11.
- 628 42. Kayang BB, Fillon V, Inoue-Murayama M, Miwa M, Leroux S, Feve K,  
629 Monvoisin JL, Pitel F, Vignoles M, Mouilhayrat C, et al: Integrated maps in quail  
630 (*Coturnix japonica*) confirm the high degree of synteny conservation with chicken  
631 (*Gallus gallus*) despite 35 million years of divergence. *Bmc Genomics* 2006, 7:18.
- 632 43. Shibusawa M, Minai S, Nishida-Umehara C, Suzuki T, Mano T, Yamada K,  
633 Namikawa T, Matsuda Y: A comparative cytogenetic study of chromosome  
634 homology between chicken and Japanese quail. *Cytogenet Cell Genet* 2001, 95:103-  
635 109.
- 636 44. Sasazaki S, Hinenoya T, Lin B, Fujiwara A, Mannen H: A comparative map of  
637 macrochromosomes between chicken and Japanese quail based on orthologous genes.  
638 *Animal Genetics* 2006, 37:316-320.
- 639 45. Tuiskula-Haavisto M, De Koning DJ, Honkatukia M, Schulman NF, Maki-  
640 Tanila A, Vilkki J: Quantitative trait loci with parent-of-origin effects in chicken.  
641 *Genet Res* 2004, 84:57-66.
- 642 46. Martin FW, Martin Davis AG, A. M: Quail : An egg and meat production  
643 system. *ECHO* 1998.
- 644 47. Saatci M, Omed H, Dewi IA: Genetic parameters from univariate and bivariate  
645 analyses of egg and weight traits in Japanese quail. *Poultry Science* 2006, 85:185-190.

- 646 48. Ozsoy AN, Aktan S: Estimation of genetic parameters for body weight and  
647 egg weight traits in Japanese quails. *Trends in Animal and Veterinary Sciences* 2011,  
648 2:17-20.
- 649 49. Silva LP, Ribeiro JC, Crispim AC, Silva FG, Bonafe CM, Silva FF, Torres  
650 RA: Genetic parameters of body weight and egg traits in meat-type quail. *Livestock*  
651 *Science* 2013, 153:27-32.
- 652 50. Lotfi E, Zerehdaran S, Raoufi Z: Genetic properties of egg quality traits and  
653 their correlations with performance traits in Japanese quail. *British Poultry Science*  
654 2012, 53:585-591.
- 655 51. Schütz K, Kerje S, Carlborg O, Jacobsson L, Andersson L, Jensen P: QTL  
656 analysis of a red junglefowl x white leghorn intercross reveals trade-off in resource  
657 allocation between behavior and production traits. *Behav Gen* 2002, 32:423-433.
- 658 52. Jensen P, Keeling L, Schutz K, Andersson L, Mormede P, Brandstrom H,  
659 Forkman B, Kerje S, Fredriksson R, Ohlsson C, et al: Feather pecking in chickens is  
660 genetically related to behavioural and developmental traits. *Physiology & Behavior*  
661 2005, 86:52-60.
- 662 53. Biscarini F, Bovenhuis H, van Arendonk JAM, Parmentier HK, Jungerius AP,  
663 van der Poel JJ: Across-line SNP association study of innate and adaptive immune  
664 response in laying hens. *Animal Genetics* 2010, 41:26-38.
- 665 54. Cases O, Seif I, Grimsby J, Gaspar P, Chen K, Pournin S, Muller U, Aguet M,  
666 Babinet C, Shih JC, Demaeyer E: Aggressive-behavior and altered amounts of brain-  
667 serotonin and norepinephrine in mice lacking MAOA. *Science* 1995, 268:1763-1766.
- 668 55. Scott AL, Bortolato M, Chen K, Shih JC: Novel monoamine oxidase A knock  
669 out mice with human-like spontaneous mutation. *Neuroreport* 2008, 19:739-743.
- 670 56. Shih JC, Chen K, Ridd MJ: Monoamine oxidase: From genes to behavior.  
671 *Annu Rev Neurosci* 1999, 22:197-217.
- 672 57. Kiser D, Steemer S B, Branchi I, Homberg JR: The reciprocal interaction  
673 between serotonin and social behaviour. *Neurosci Biobehav Rev* 2012, 36:786-798.

- 674 58. van Hierden YM, Korte SM, Ruesink EW, van Reenen CG, Engel B, Korte-  
675 Bouws GAH, Koolhaas JM, Blokhuis HJ: Adrenocortical reactivity and central  
676 serotonin and dopamine turnover in young chicks from a high and low feather-  
677 pecking line of laying hens. *Physiology & Behavior* 2002, 75:653-659.
- 678 59. Wysocki M, Preuss S, Stratz P, Bennewitz J: Investigating gene expression  
679 differences in two chicken groups with variable propensity to feather pecking. *Animal*  
680 *Genetics* 2013, 44:773-777.
- 681 60. Schweitzer C, Poindron P, Arnould C: Social Motivation Affects the Display  
682 of Individual Discrimination in Young and Adult Japanese Quail (*Coturnix japonica*).  
683 *Dev Psychobiol* 2009, 51:311-321.
- 684 61. Schweitzer C: Caractérisation des liens sociaux chez la caille Japonaise  
685 (*Coturnix japonica*) : motivation sociale et lien entre familiers. François-Rabelais,  
686 2009.
- 687 62. Francois N, Decros S, Picard M, Faure JM, Mills AD: Effect of group  
688 disruption on social behaviour in lines of Japanese quail (*Coturnix japonica*) selected  
689 for high or low levels of social reinstatement behaviour. *Behavioural Processes* 2000,  
690 48:171-181.
- 691 63. Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, Wissink PH, Visscher J, Koene P, Bovenhuis  
692 H, Ducro BJ, van der Poel JJ: Genetic and phenotypic correlations between feather  
693 pecking behavior, stress response, immune response, and egg quality traits in laying  
694 hens. *Poultry Science* 2004, 83:1077-1082.
- 695 64. Forkman B, Boissy A, Meunier-Salauen MC, Canali E, Jones RB: A critical  
696 review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiol Behav*  
697 2007, 92:340-374.
- 698 65. Bindra D, Thompson WR: An evaluation of defecation and urination as  
699 measures of fearfulness. *Journal of comparative and physiological psychology* 1953,  
700 46:43-45.

- 701 66. Wiren A, Wright D, Jensen P: Domestication-related variation in social  
702 preferences in chickens is affected by genotype on a growth QTL. *Genes Brain and*  
703 *Behavior* 2013, 12:330-337.
- 704 67. Podisi BK, Knott SA, Dunn IC, Law AS, Burt DW, Hocking PM: Overlap of  
705 quantitative trait loci for early growth rate, and for body weight and age at onset of  
706 sexual maturity in chickens. *Reproduction* 2011, 141:381-389.
- 707 68. Wright D, Rubin CJ, Barrio AM, Schutz K, Kerje S, Brandstrom H, Kindmark  
708 A, Jensen P, Andersson L: The genetic architecture of domestication in the chicken:  
709 effects of pleiotropy and linkage. *Mol Ecol* 2010, 19:5140-5156.
- 710 69. Ingenuity Pathway Analysis [<http://www.ingenuity.com/>]
- 711 70. Zhu B, Chen CS, Moyzis RK, Dong Q, Chen CH, He QH, Li J, Lei XM, Lin  
712 CD: The DOPA decarboxylase (DDC) gene is associated with alerting attention. *Prog*  
713 *Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 2013, 43:140-145.
- 714 71. Bevilacqua L, Doly S, Kaprio J, Yuan QP, Tikkanen R, Paunio T, Zhou ZF,  
715 Wedenoja J, Maroteaux L, Diaz S, et al: A population-specific HTR2B stop codon  
716 predisposes to severe impulsivity. *Nature* 2010, 468:1061-U1460.
- 717 72. Zhu B, Chen CS, Moyzis RK, Dong Q, Chen CH, He QH, Li J, Lei XM, Lin  
718 CD: Association between the HTR2B gene and the personality trait of fun seeking.  
719 *Pers Individ Differ* 2012, 53:1029-1033.

## 720 Tables

721 Table 1 - Length and average genetic distance between markers  
722 for each linkage group.

Linkage group	Number of markers	Map length (cM)	Average distance between markers (cM)
CJA1	231	382	1.7
CJA2	140	346	2.5
CJA3	148	313	2.1
CJA4	119	186	1.6
CJA5	88	164	1.9
CJA6	53	86	1.6
CJA7	50	107	2.1
CJA8	59	89	1.5
CJA9	50	80	1.6
CJA10	41	54	1.3
CJA11	35	72	2.1
CJA12	42	91	2.2
CJA13	39	74	1.9
CJA14	34	65	1.9
CJA15	35	100	2.9
CJA16	-	-	-
CJA17	39	72	1.8
CJA18	34	101	3.0
CJA19	27	54	2.0
CJA20	26	69	2.7
CJA21	27	60	2.2
CJA22	17	46	2.7
CJA23	24	63	2.6
CJA24	23	60	2.6
CJA25	13	60	4.6
CJA26	30	70	2.3
CJA27	17	73	4.3
CJA28	25	81	3.2
CJE22	13	39	3.0
CJE64	-	-	-
CJW	-	-	-
CJZ	-	-	-

Table 2 - Descriptive statistics of traits studied in QTL detection

	DistSR (AU)	DistIso (cm)	TI (s)	HeadNO	Mount	AgrP	GentleP	W17 (g)	W65 (g)	AFEgg (day)	NEgg	WEgg (g)
Number of Birds	731	720	728	726	335	353	353	730	711	355	347	350
Minimum	0	5.4	0	0	0	0	0	74	165	48	73	9.7
Maximum	2126	3,961	135	12	23	12	11	131	325	72	174	15.3
Mean	487.5	1,168	31.8	1.7	6.7	4.8	1.2	100.2	226.1	56.4	143.1	12.6
Standard deviation	495.6	705.7	20.9	2.9	6.5	4.9	2.1	8.2	29.6	5.0	18.4	1.0

DistSR: Distance travelled on the treadmill in the social reinstatement behavior test; DistIso: Distance travelled at periphery in the social isolation test; TI: Time spent immobile in the tonic immobility test; HeadNO: Number of scans when the quail passed its head through the wire at the front of the cage in the novel object test; Mount: Number of mounts in the sexual motivation test; AgrP: Number of aggressive pecks in the aggressive behavior test; GentleP: Number of gentle pecks in the aggressive behavior test; W17: Body weight at 17 days; W65: Body weight at 65 days; AFEgg: Age at first egg; NEgg: Number of eggs laid; WEgg: Mean egg weight.



Table 3 - QTL for social, emotional and production traits in the F2 population.

Chromosome	Traits	Position (cM)	Nearest Markers	Confidence Interval (cM)	Flanking Markers	Model	Level of significance <sup>(1)</sup>	QTL Effect <sup>(2)</sup>	Sires <sup>(3)</sup>	Dams
CJA1	HeadNO	132	snp_soc_3409-snp_soc_3085	131-133	snp_soc_3409-snp_soc_3085	S+D	P<0.01 †	0.49[0.15; 1.71]	2	5
	WEgg	193	snp_soc_3301-snp_soc_3547	179-203	snp_soc_3733-snp_soc_4023	S	P<0.01	0.28[0.20; 0.49]	5	-
	AgrP	236	snp_soc_3475-snp_soc_2139	224-245	snp_soc_4684-snp_soc_2782	S	P=0.025	0.40[0.28; 0.69]	3	-
	DistSR	281	snp_soc_4666-snp_soc_2881	278-285	snp_soc_4127-snp_soc_4345	S+D	P=0.037	0.31[0.18; 0.48]	3	9
	W65	317	snp_soc_3213-snp_soc_4360	316-319	snp_soc_3481-snp_soc_3247	S+D	P<0.01 †	0.51[0.17; 1.512]	3	9
	W17	319	snp_soc_4529-snp_soc_3247	316-328	snp_soc_3481-snp_FSIEL0M01BAIJK_30	S	P<0.01 †	0.21[0.10; 0.46]	5	-
	W17	325	snp_F3SDQUK02BW99J_142-snp_soc_4532	323-325	snp_soc_1488-snp_FJXLD7H02JLTX-0_66	S+D	P<0.01 †	0.39[0.15; 0.79]	5	9
CJA2	AgrP	141	snp_soc_0368-snp_soc_0890	131-153	snp_FSIEL0M02D0BGS_129-snp_soc_2344	S	P=0.039	0.28[0.16; 0.39]	5	-
	DistSR	149	snp_soc_1978-snp_soc_3824	146-155	snp_soc_4483-snp_soc_4405	S+D	P=0.043	0.36[0.16; 0.65]	3	6
	DistSR	155	snp_soc_4405-snp_soc_3819	152-159	snp_soc_1978-snp_soc_2372	S	P=0.024	0.22[0.10; 0.36]	4	-
	DistIso	319	snp_soc_3054-snp_soc_0012	302-337	snp_soc_4310-snp_soc_2553	S	P=0.038	0.21[0.18; 0.26]	4	-
CJA3	WEgg	156	snp_soc_4141-snp_soc_3447	154-158	snp_soc_4141-snp_soc_3447	S+D	P<0.01 †	0.53[0.18; 1.49]	5	3
	W65	156	snp_soc_4141-snp_soc_3447	148-161	snp_soc_0755-snp_soc_0929	S	P<0.01 †	0.21[0.12; 0.32]	6	-
	NEgg	225	snp_soc_4257-snp_soc_2884	215-229	snp_soc_4257-snp_soc_3740	S	P=0.025	0.31[0.15; 0.52]	5	-
	AFEgg	302	snp_soc_3800-snp_soc_4350	294-313	snp_soc_4338-snp_soc_3680	S	P=0.026	0.39[0.27; 0.48]	4	-
CJA4	DistIso	105	snp_soc_2929-snp_soc_3811	100-118	snp_soc_0843-snp_soc_3328	S+D	P<0.01 †	0.26[0.16; 0.70]	4	8
CJA5	W17	54	snp_soc_0024-snp_FSIEL0M02D2UBC_47	45-75	snp_soc_1561-snp_soc_2224	S	P<0.01 †	0.24[0.10; 0.43]	4	-
	TI	59	snp_soc_3635-snp_soc_2699	38-68	snp_soc_2028-snp_soc_0641	S	P=0.050	0.25[0.16; 0.34]	3	-
	W65	88	snp_soc_3485-snp_FSIEL0M02DEXEG_146	83-99	snp_soc_0380-snp_soc_3299	S+D	P<0.01 †	0.30[0.12; 0.60]	4	9
	W17	90	snp_FSIEL0M02DEXEG_146-snp_ble_0738	87-101	snp_soc_3485-snp_ble_0738	S+D	P<0.01 †	0.38[0.11; 0.80]	4	11
	W65	97	snp_soc_3485-snp_FSIEL0M02DEXEG_146	56-115	snp_FSIEL0M02D2UBC_47-snp_FSIEL0M02D7AG8_195	S	P<0.01 †	0.26[0.17; 0.38]	4	-
CJA7	DistIso	96	snp_soc_2405-snp_soc_1537	92-99	snp_soc_2405-snp_soc_1826	S+D	P<0.01	0.29[0.11; 0.56]	4	12

CJA8	W17	41	snp_soc_2116-snp_soc_2490	37-44	snp_soc_0876-snp_soc_1323	S+D	P=0.021	0.30[0.15; 0.74]	3	10
	W17	56	snp_soc_2933-snp_soc_2335	53-60	snp_soc_2074-snp_soc_1161	S	P=0.026	0.23[0.19; 0.26]	4	-
	HeadNO	65	snp_soc_1161- snp_FSIEL0M02DE4EL_249	53-69	snp_soc_2074-snp_soc_1987	S	P=0.024	0.19[0.13; 0.29]	5	-
CJA9	DistSR	42	snp_soc_1270-snp_soc_0268	39-53	snp_soc_0028-snp_soc_0558	S+D	P<0.01	0.43[0.19; 1.33]	3	7
	DistSR	55	snp_soc_2491-snp_soc_0558	37-60	snp_soc_0028-snp_soc_2117	S	P=0.016	0.28[0.11; 0.49]	2	-
CJA10	DistIso	11	snp_soc_2706-snp_soc_0126	8-13	snp_FSIEL0M02C42PC_418 -snp_FSIEL0M03HDV3S_67	S+D	P=0.035	0.36[0.10; 0.81]	2	9
	W65	21	snp_soc_0359-snp_soc_2673	17-22	snp_soc_2915-snp_soc_1219	S+D	P=0.034	0.42[0.13; 1.25]	3	8
	W17	30	snp_soc_0939- snp_FQU5R7M02IBV7P-0	27-31	snp_soc_0968- snp_FQU5R7M02IBV7P-0_110	S+D	P<0.01	0.37[0.18; 0.65]	1	9
CJA11	TI	1	snp_soc_0708-snp_soc_1139	0-6	snp_soc_0157-snp_soc_2036	S+D	P<0.01	0.35[0.18; 0.58]	4	11
	TI	5	snp_soc_0003-snp_soc_1569	0-26	snp_soc_0157-snp_soc_1166	S	P=0.018	0.21[0.15; 0.38]	5	-
	DistSR	47	snp_soc_1642-snp_soc_1220	34-49	snp_soc_1436- snp_FSIEL0M01BMPFH_253	S	P=0.023	0.21[0.13; 0.34]	4	-
CJA13	DistSR	4	snp_soc_0855- snp_FSIEL0M02D43ZD_185	0-15	snp_soc_1438-snp_soc_1000	S	P=0.031	0.21[0.14; 0.28]	4	-
CJA15	DistIso	63	snp_soc_1598-snp_ble_0416	60-65	snp_soc_2236-snp_ble_0416	S	P=0.033	0.31[0.18; 0.52]	3	-
CJA18	NEgg	3	snp_soc_0250-snp_soc_0714	0-22	snp_soc_2064-snp_soc_0279	S+D	P=0.025	0.45[0.19; 1.41]	4	
	W65	18	snp_soc_2042-snp_soc_1172	13-26	snp_soc_2085-snp_soc_1907	S+D	P<0.01	0.33[0.19; 0.50]	3	9
	W65	42	snp_soc_0424-snp_soc_0163	20-50	snp_soc_1172-snp_soc_0772	S	P<0.01	0.23[0.12; 0.38]	4	-
	WEgg	61	snp_soc_0010-snp_soc_0395	57-75	snp_soc_1648-snp_soc_1792	S	P<0.01	0.29[0.15; 0.51]	5	-
	WEgg	62	snp_soc_0395-snp_soc_0042	58-73	snp_soc_0010- snp_FZVM81102DNHYX_129	S+D	P<0.01	0.34[0.13; 0.79]	5	3
CJA19	AFEgg	4	snp_soc_0193-snp_soc_0715	0-10	snp_soc_1697-snp_soc_0483	S+D	P=0.029	0.36[0.24; 0.51]	5	4
	DistIso	8	snp_soc_0715-snp_soc_0483	6-16	snp_soc_0193-snp_soc_1227	S+D	P=0.020	0.29[0.14; 0.50]	4	9
	DistIso	14	snp_soc_0396-snp_soc_1227	0-20	snp_soc_1697-snp_soc_1227	S	P=0.039	0.23[0.10; 0.29]	4	-
CJA23	HeadNO	57	snp_soc_1394-snp_ble_033	45-63	snp_soc_1286- snp_FSIEL0M02EPU6F_133	S	P<0.01	0.20[0.14; 0.30]	5	-
CJA26	DistSR	21	snp_FQU5R7M02I6ZE8-0_225- snp_soc_1180	19-27	snp_soc_1867-snp_soc_0288	S	P=0.025	0.30[0.15; 0.46]	3	-

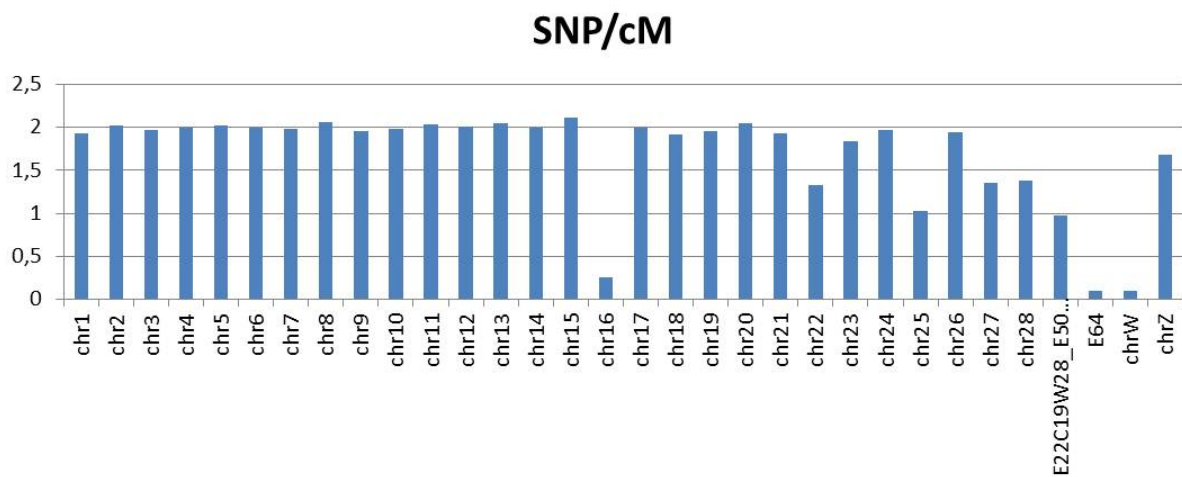
(1) Level of significance of the QTL at the chromosome level; † indicates that the QTL is genome-wide significant; (2) Average effect of the QTL estimated from the significant parents, with the minimum and the maximum effects given between square brackets; (3) Number of significant parents.

# Additional Figures 2<sup>nd</sup> Article

Additional Figure 1: **Chicken genome coverage (%)**.



Additional Figure 2: **Chicken genetic map coverage in SNP/cM for each chromosome.**



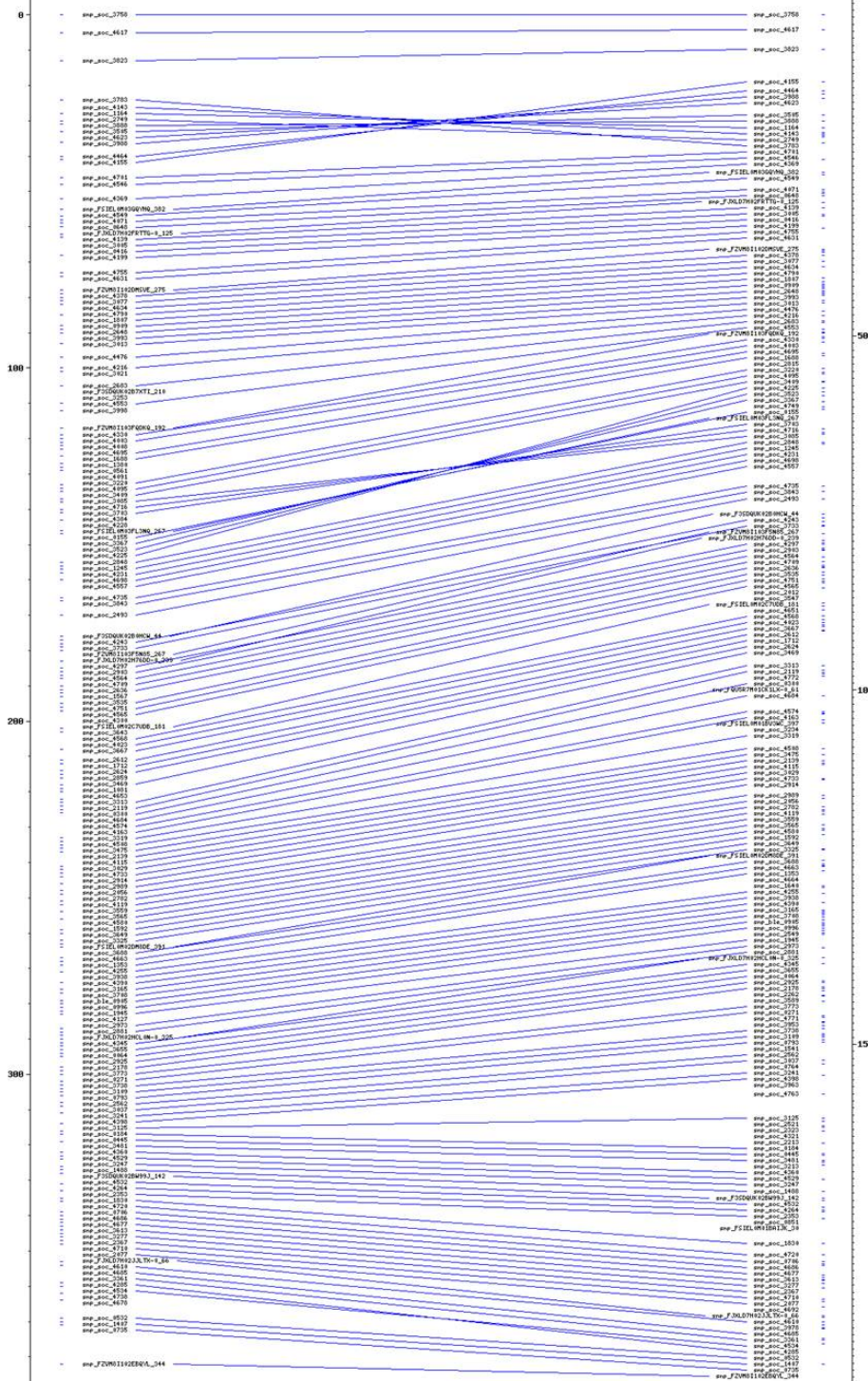
**Additional Figure 3 : Comparison between the Quail genetic map and the Chicken.**

Comparative cartography between the Quail genetic map (Left, in cM) and the Chicken physical organization of the markers (Right, in Mb). Crossing lines shows the existence of chromosomal rearrangements.

# Chromosome 1

Quail Genetic Map CJA1

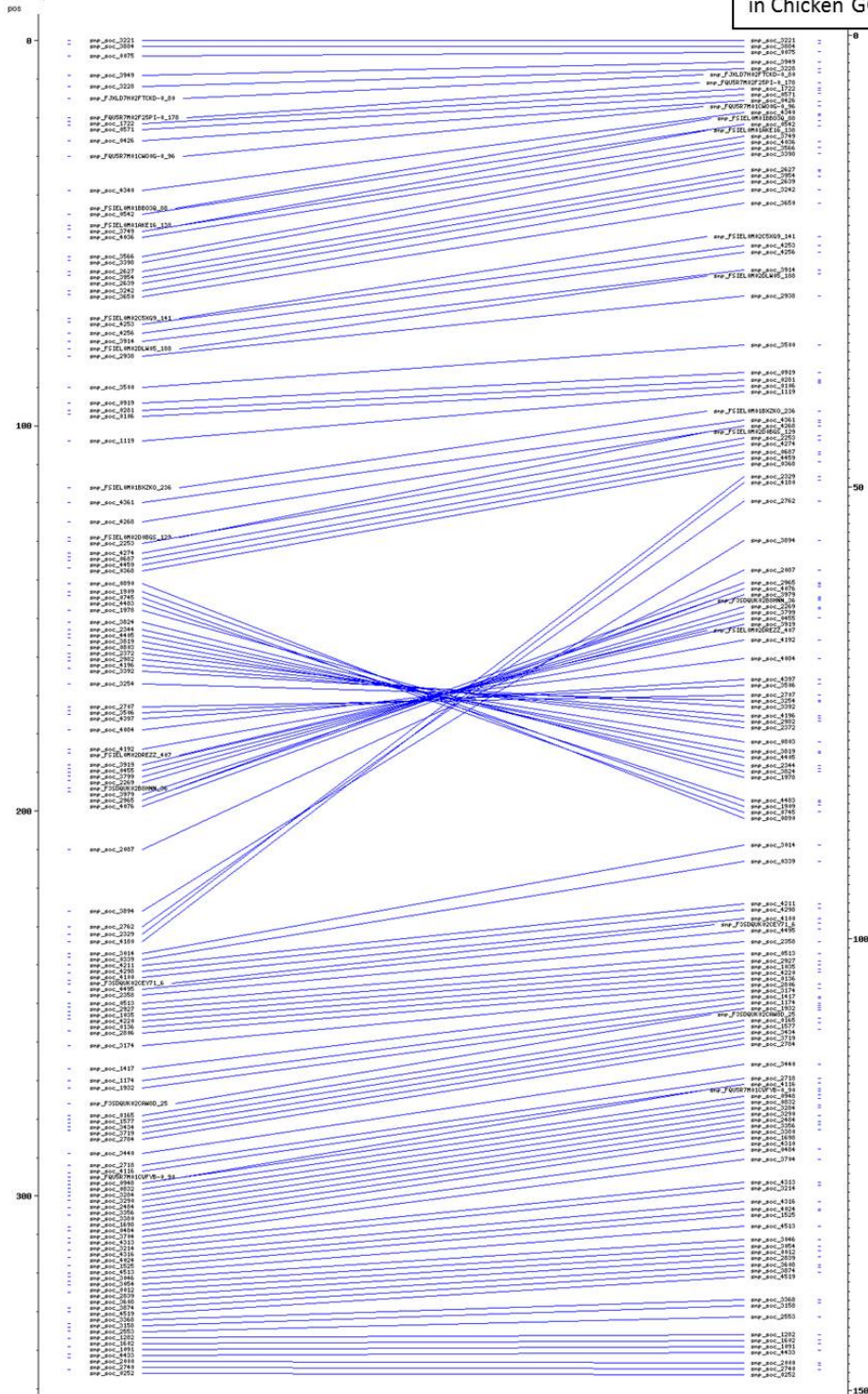
Markers physical organization  
in Chicken GGA1



Quail Genetic Map CJA2

### Chromosome 2

Markers physical organization  
in Chicken GGA2

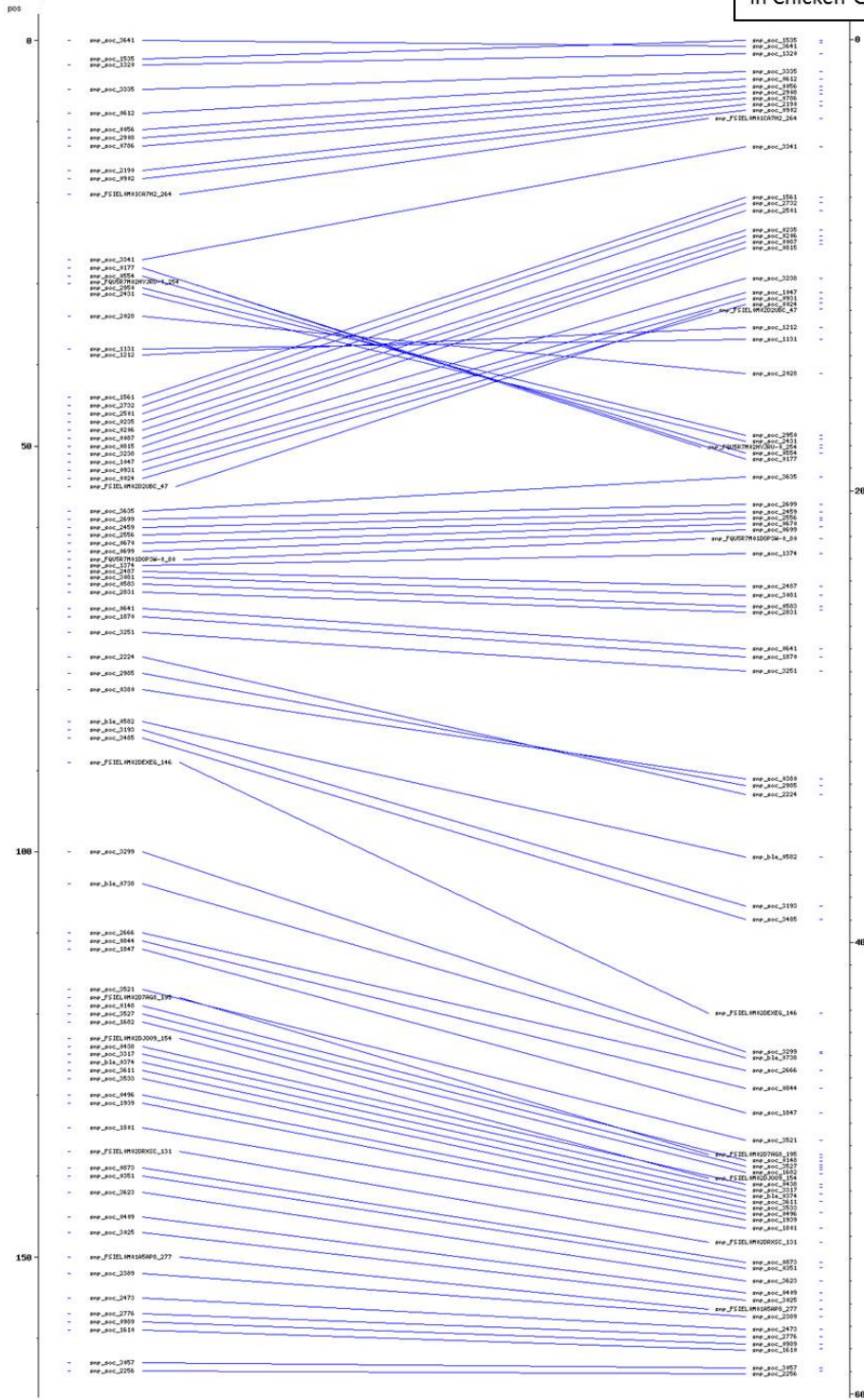




Quail Genetic Map CJA5

Chromosome 5

Markers physical organization in Chicken GGA5

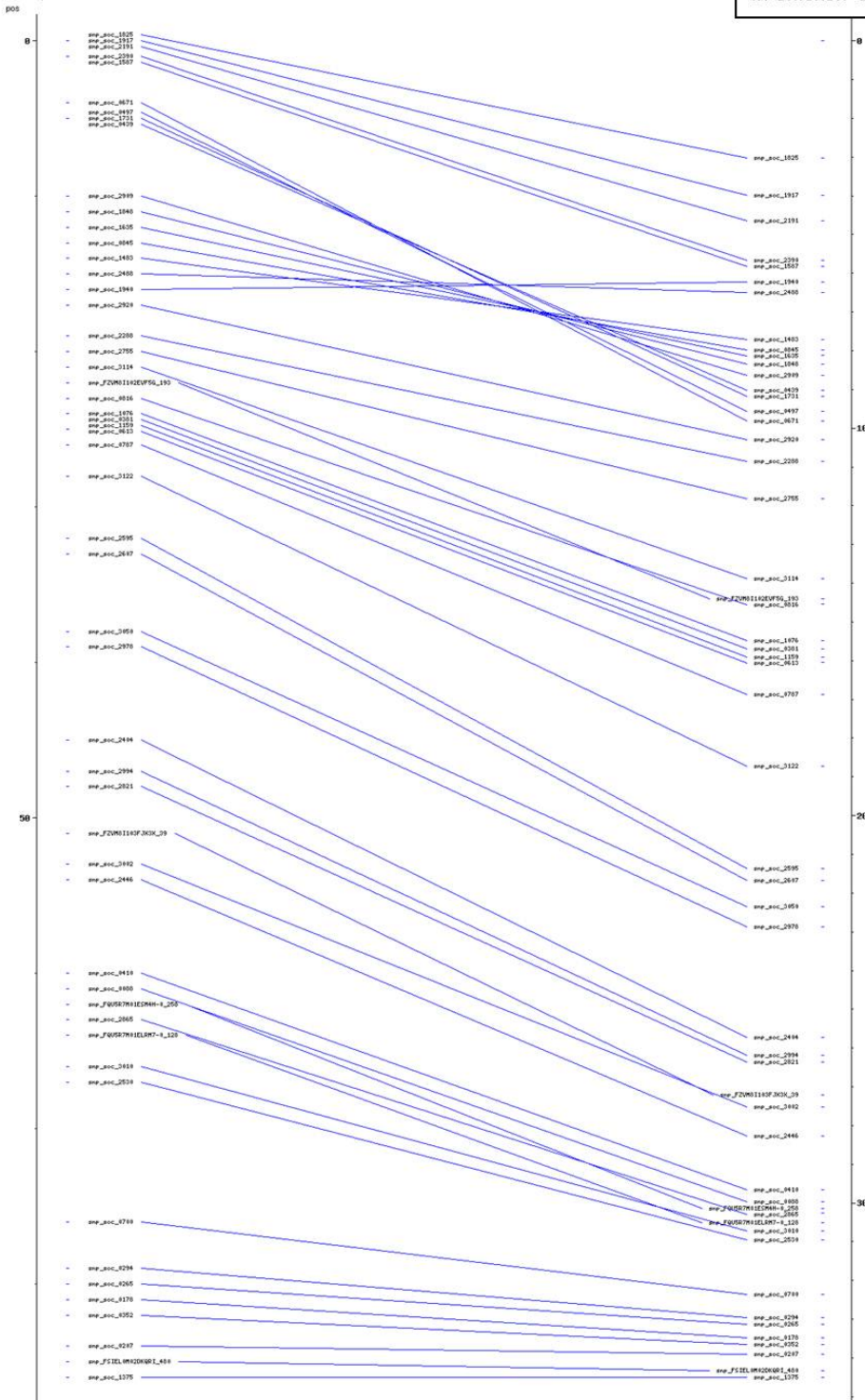




Quail Genetic Map CJA6

Chromosome 6

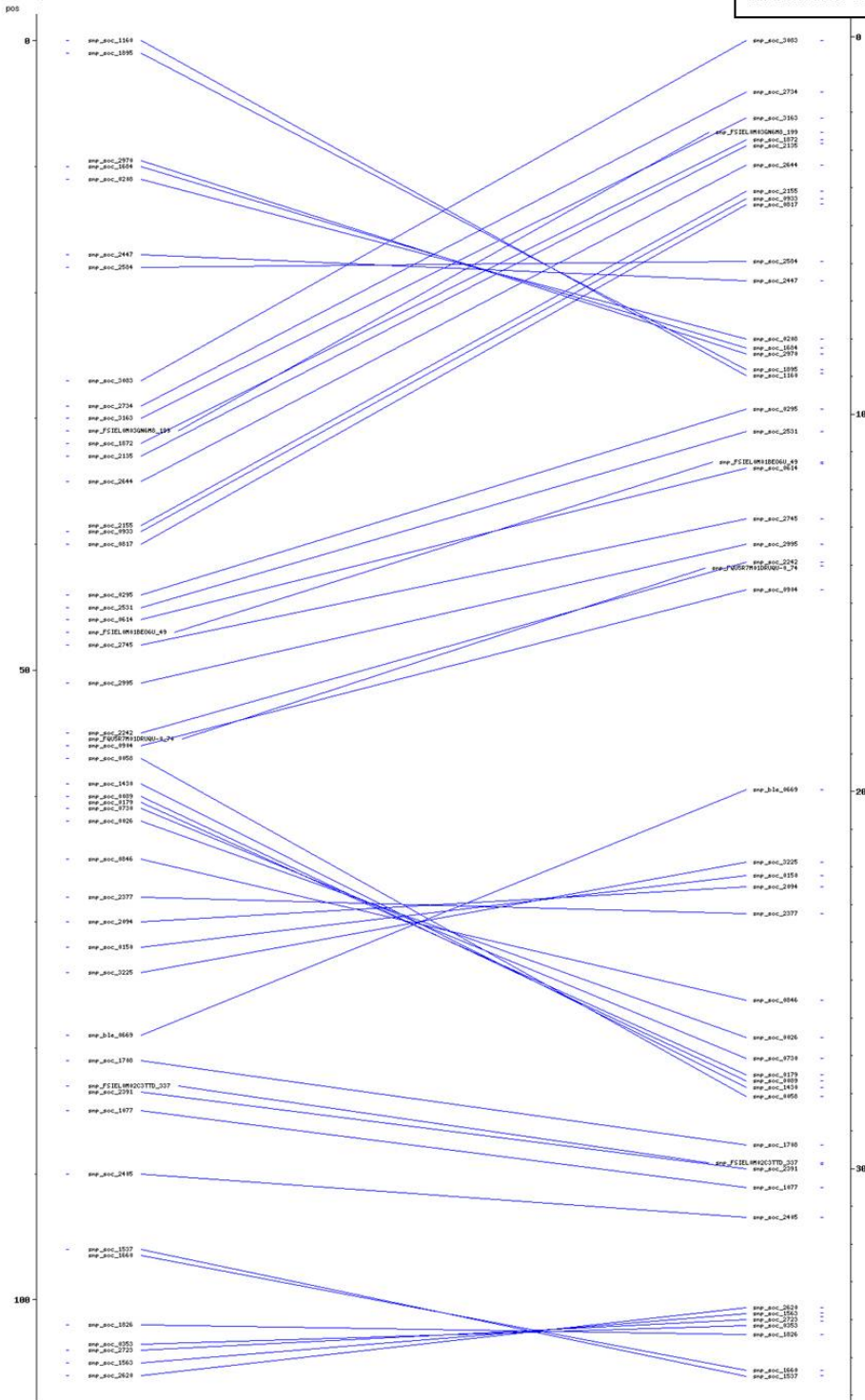
Markers physical organization in Chicken GGA6



Quail Genetic Map CJA7

Chromosome 7

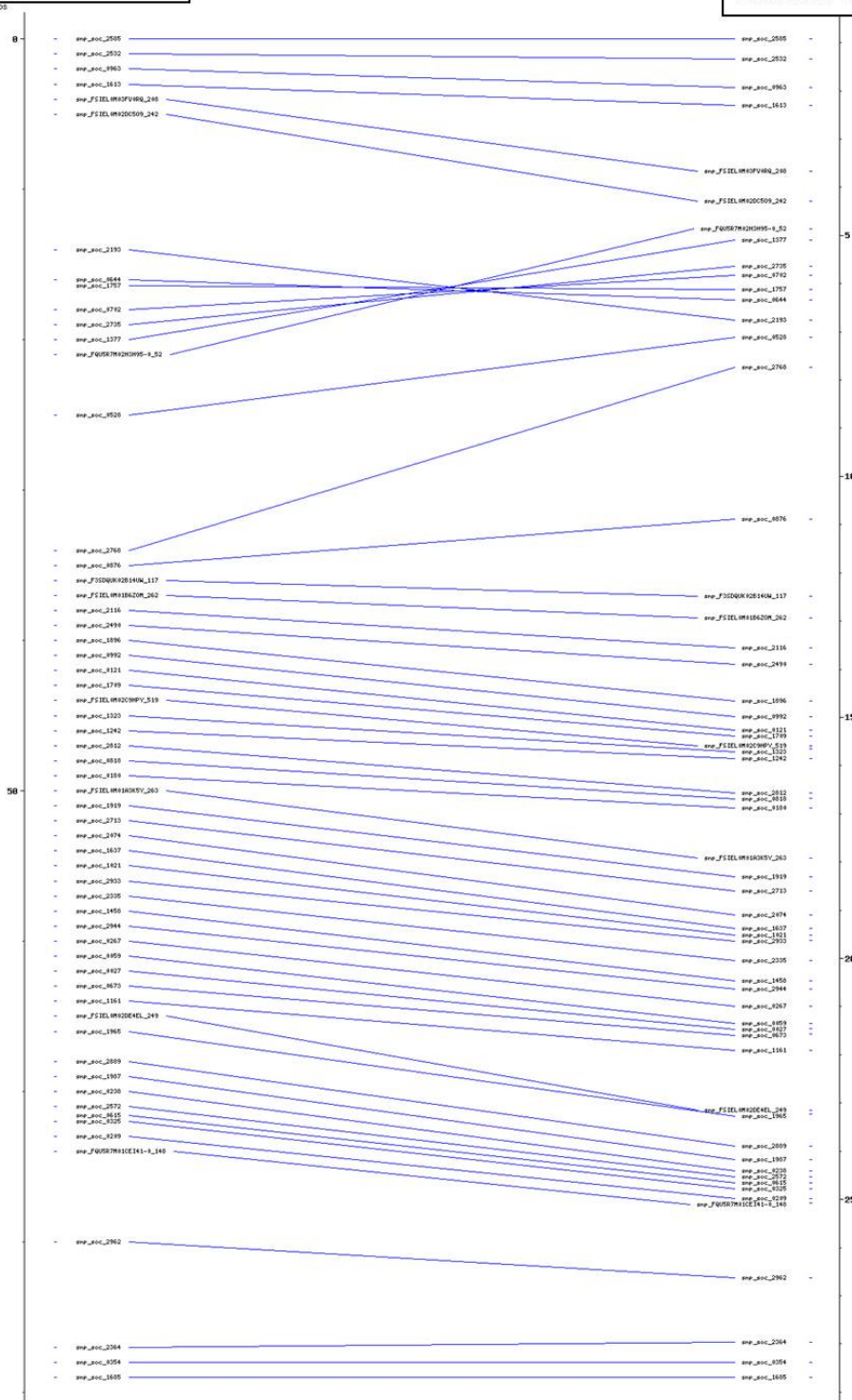
Markers physical organization in Chicken GGA7



Quail Genetic Map CJA8

Chromosome 8

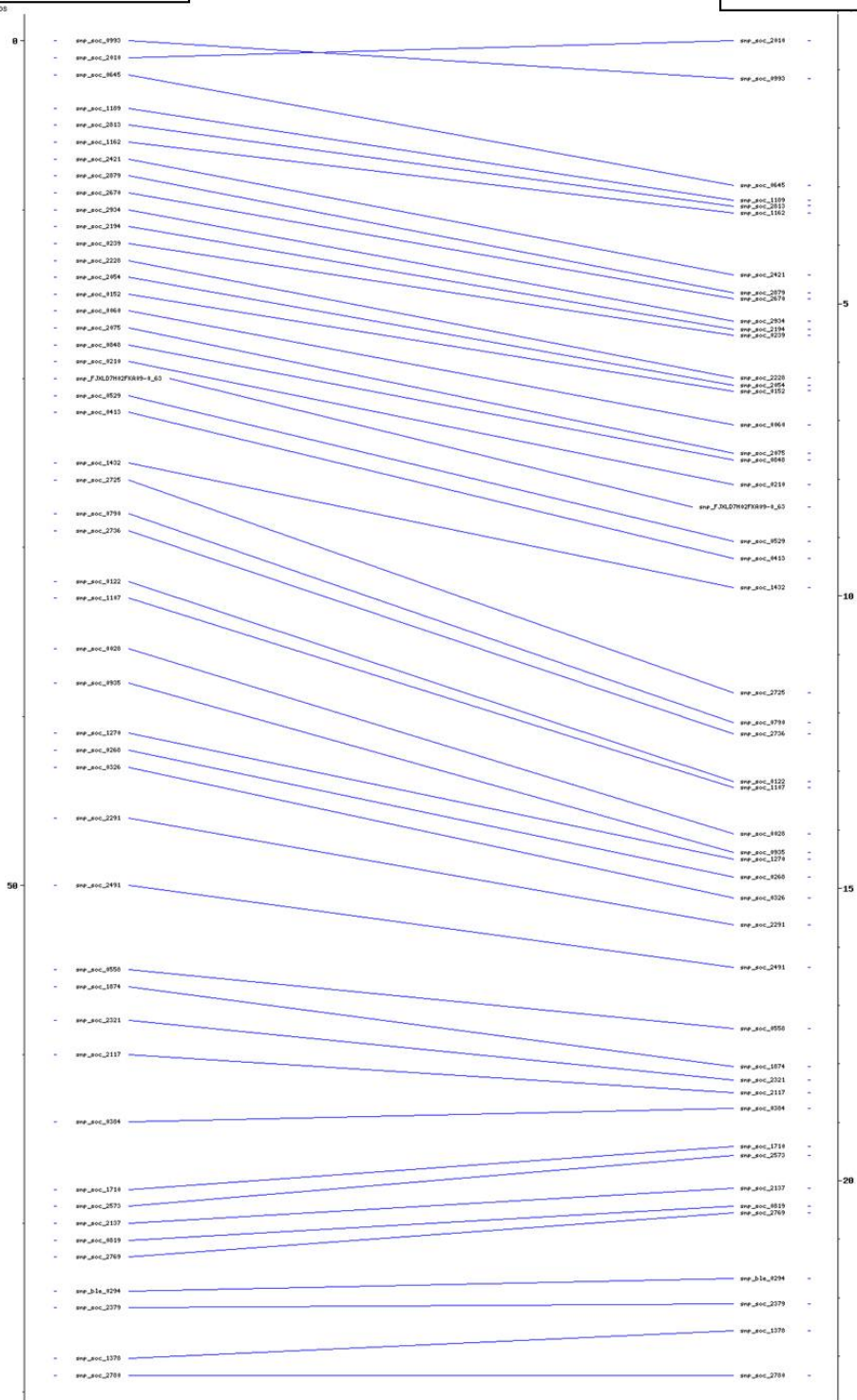
Markers physical organization  
in Chicken GGA8



Quail Genetic Map CJA9

Chromosome 9

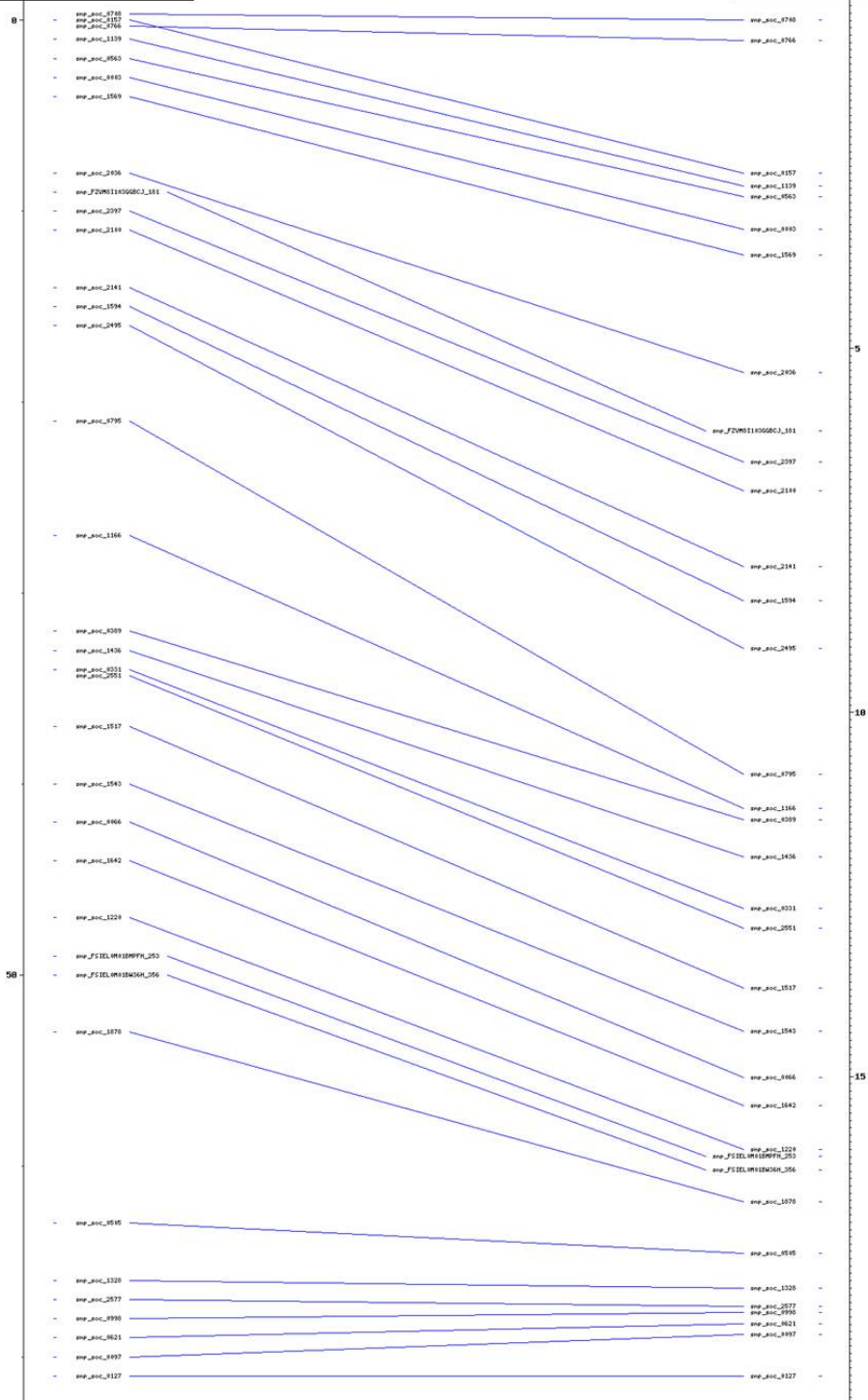
Markers physical organization  
in Chicken GGA9



Quail Genetic Map CJA11

Chromosome 11

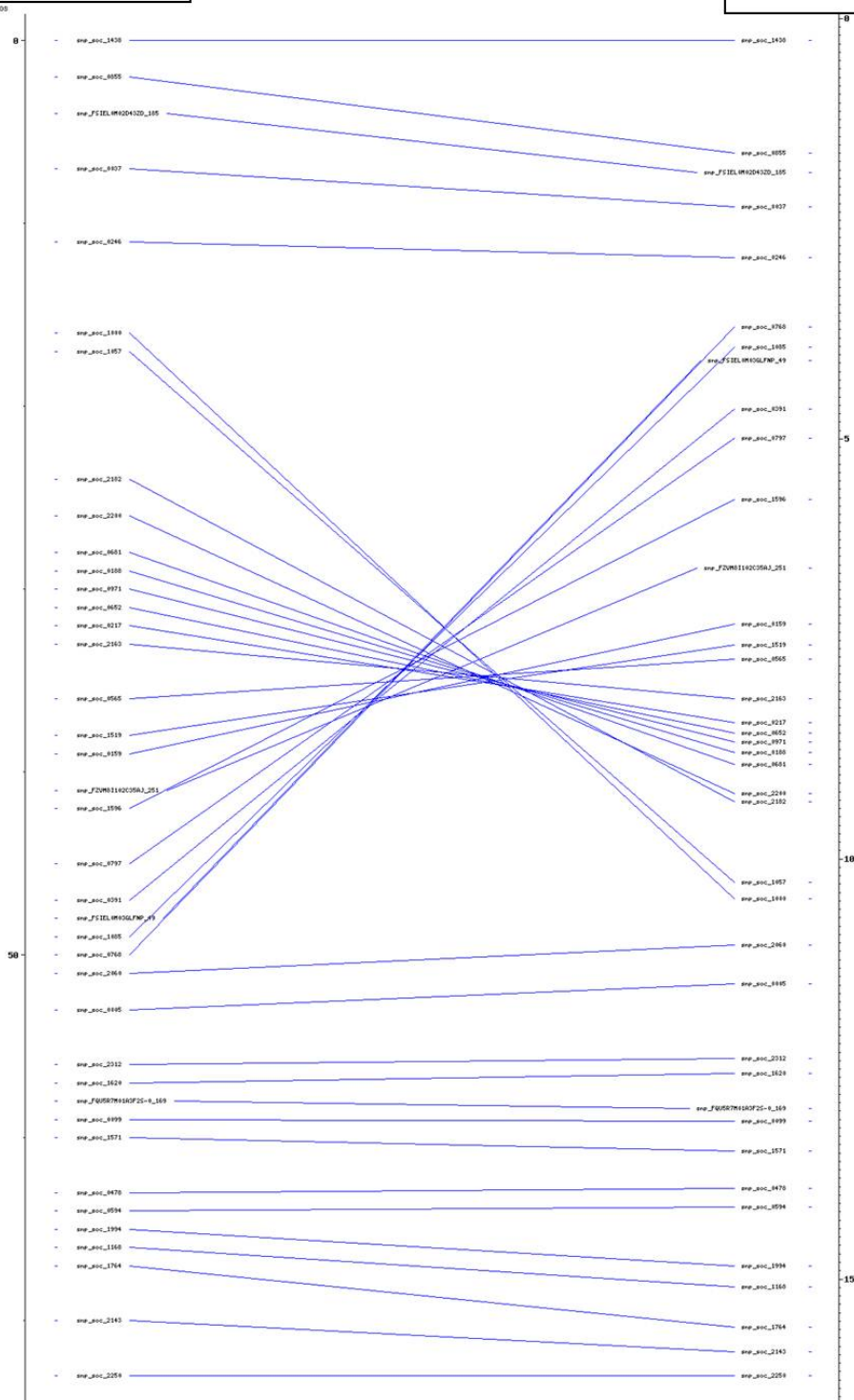
Markers physical organization in Chicken GGA11



Quail Genetic Map CJA13

Chromosome 13

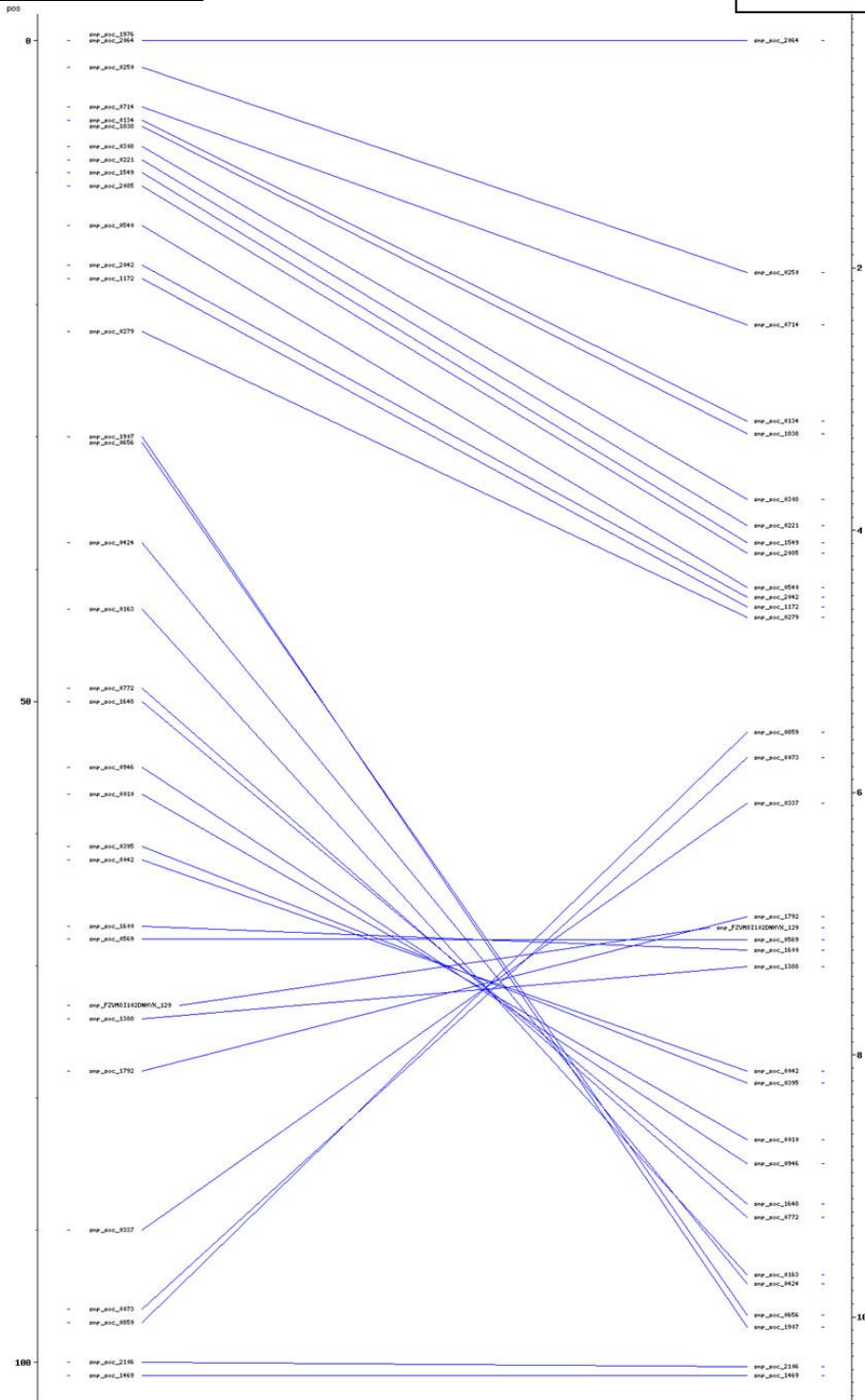
Markers physical organization in Chicken GGA13



Quail Genetic Map CJA18

Chromosome 18

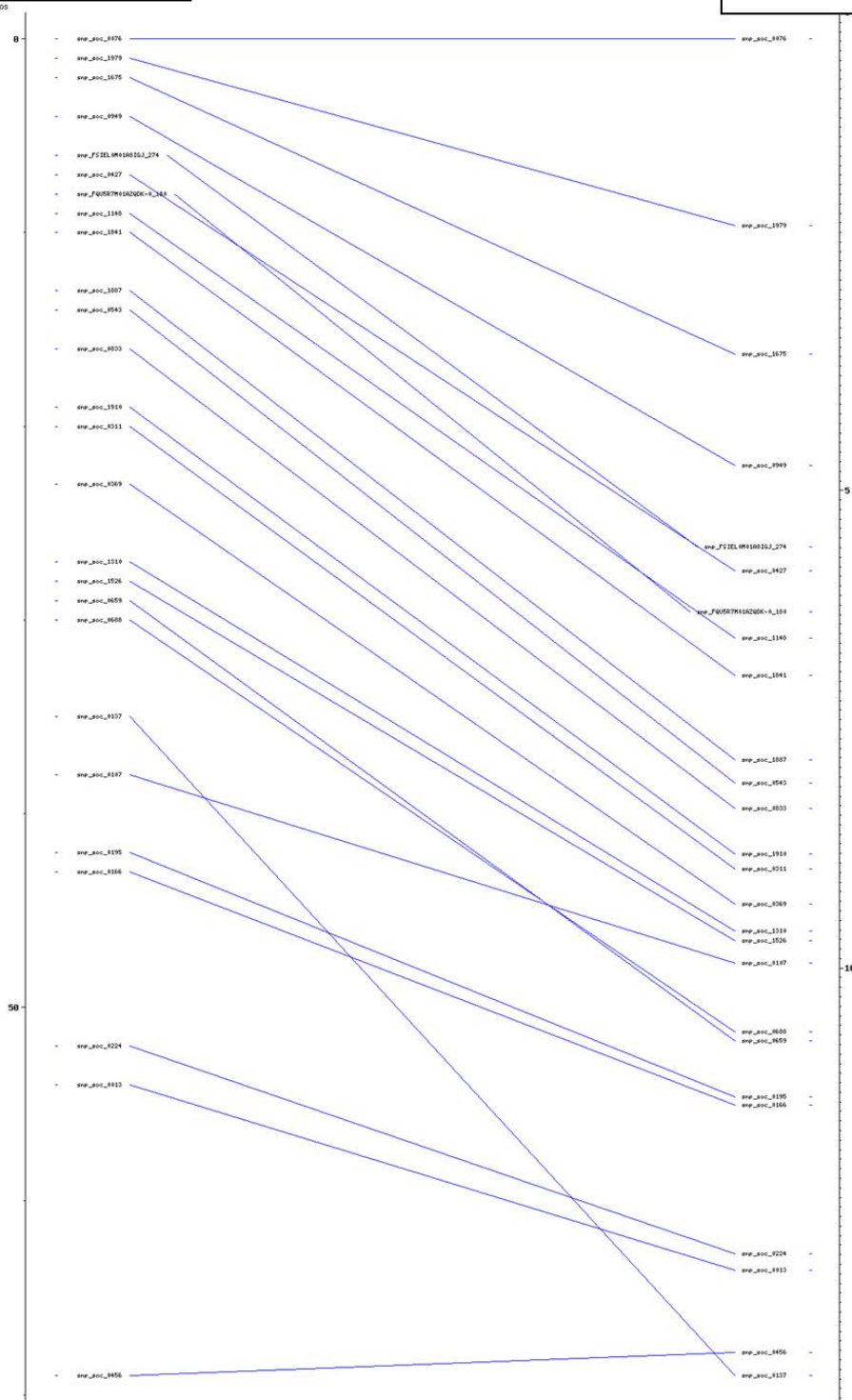
Markers physical organisation  
in Chicken GGA18



Quail Genetic Map CJA20

Chromosome 20

Markers physical organization in Chicken GGA20

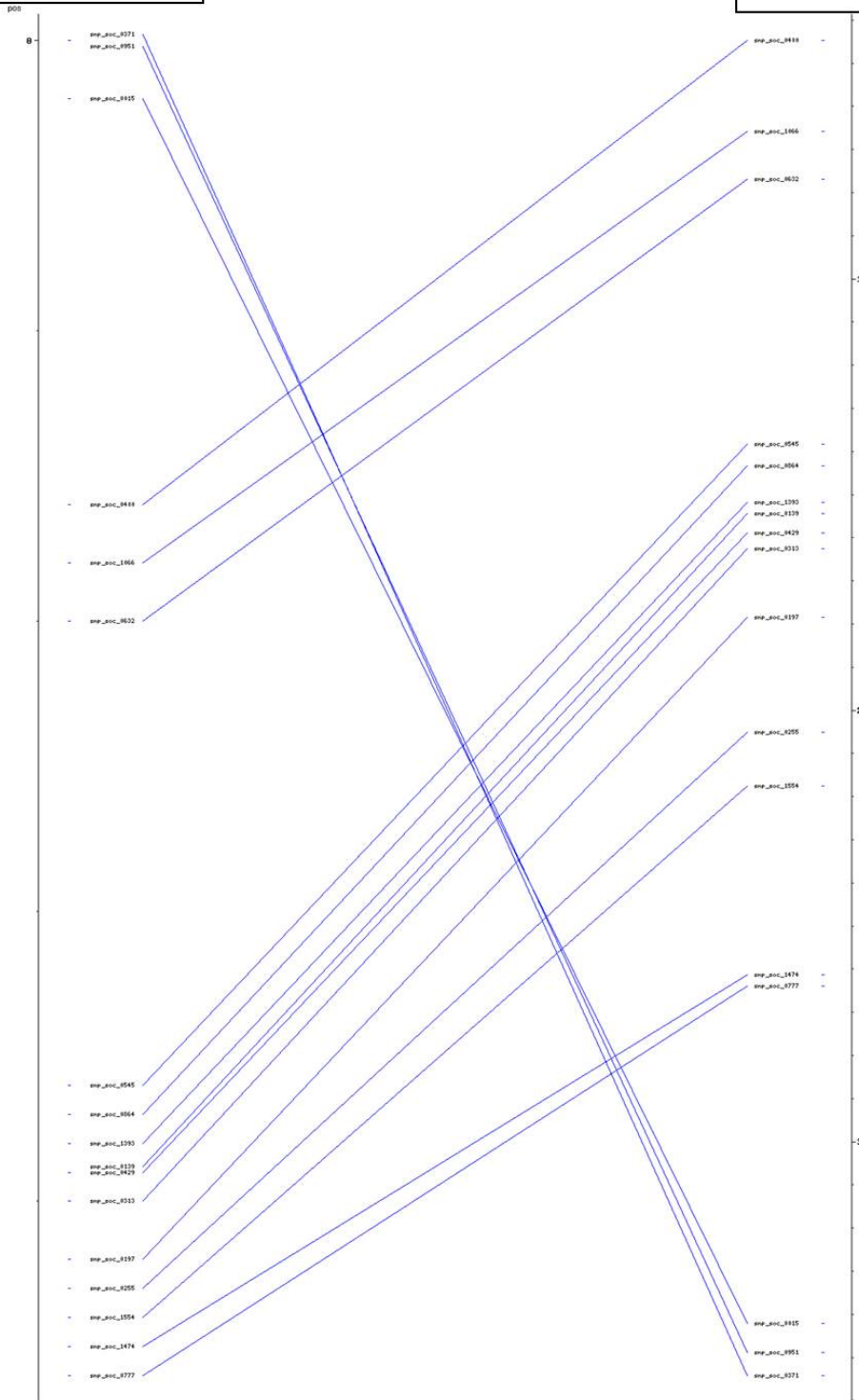




Quail Genetic Map CJA22

Chromosome 22

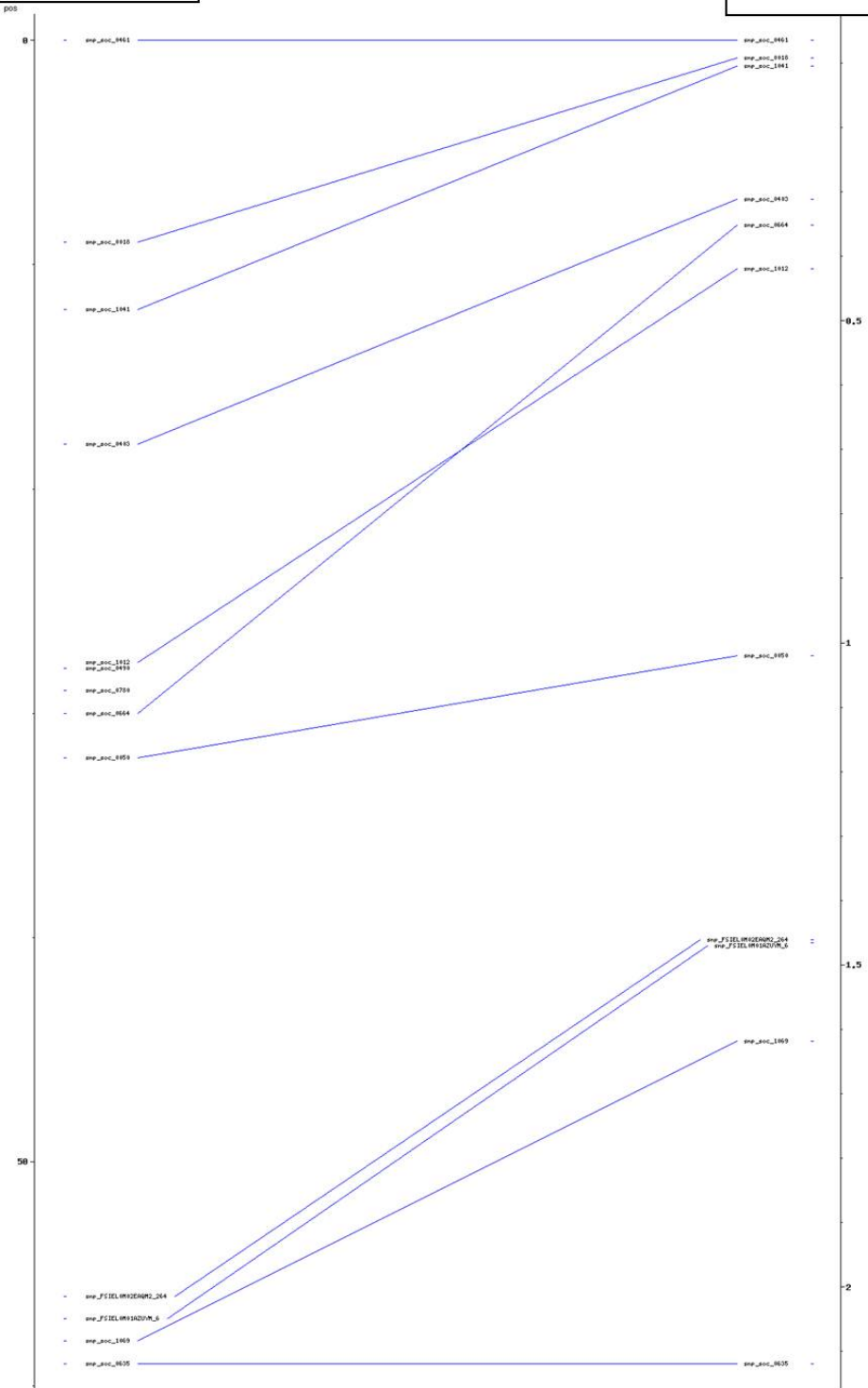
Markers physical organization in Chicken GGA22



Quail Genetic Map CJA25

### Chromosome 25

Markers physical organization in Chicken GGA25



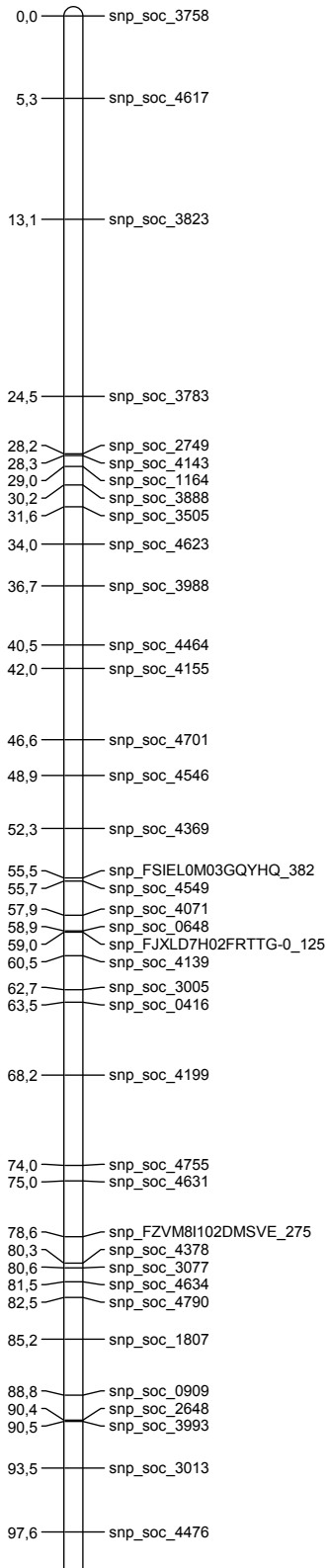
#### Additional Figure 4: **Quail genetic map with positioned QTLs.**

Graphic representation of the genetic map of the Quail with distance expressed in centiMorgan (cM).

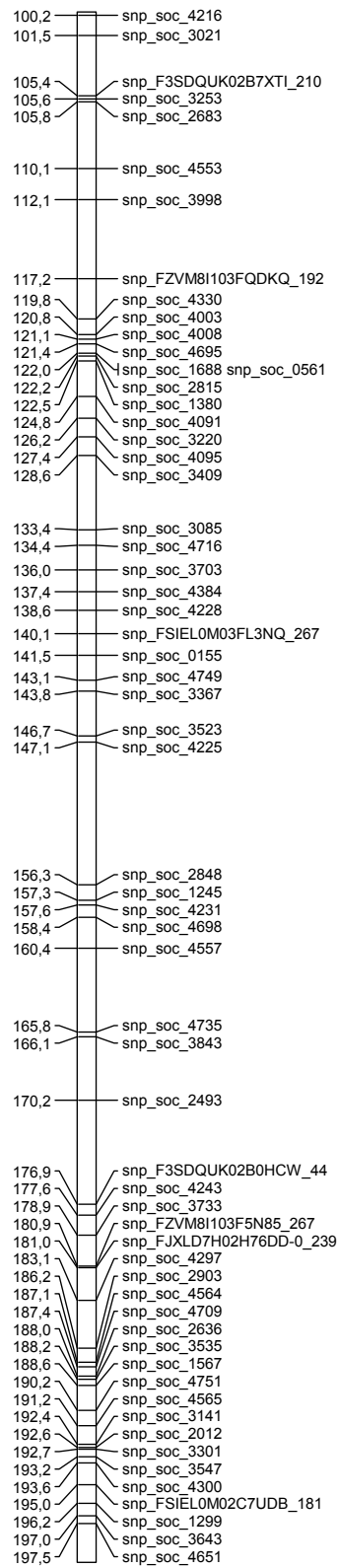
QTL are positioned using the coordinates of their confidence interval and illustrated by colored boxes with pink for social motivation related QTL, red for emotional reactivity QTL, blue for aggressiveness QTL, and in green for production QTL. Genome-wide significant QTL are represented in filled boxes and chromosome-wide significant QTL in shaded boxes.

**DistSR**: Distance travelled on the treadmill in the social reinstatement behavior test; **DistIso**: Distance travelled in periphery in the social isolation test; **TI**: Time spent immobile in the tonic immobility test; **HeadNO**: Number of scans when the Quail passed its head through the wire of the front of the cage in the novel object test; **AgrP**: Number of aggressive pecks in the aggressive behavior test; **W17**: weight at 17 days; **W65**: weight at 65 days; **AFEgg**: Age at first egg; **NEgg**: Number of eggs laid; **WEgg**: Mean egg weight.

CJA1 [1]



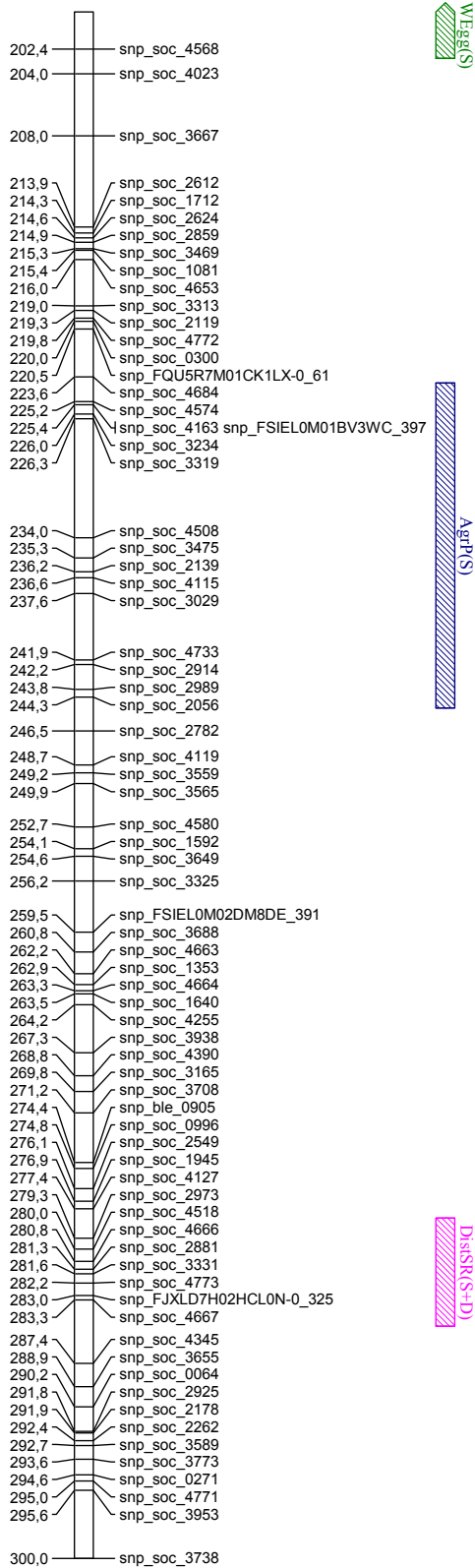
CJA1 [2]



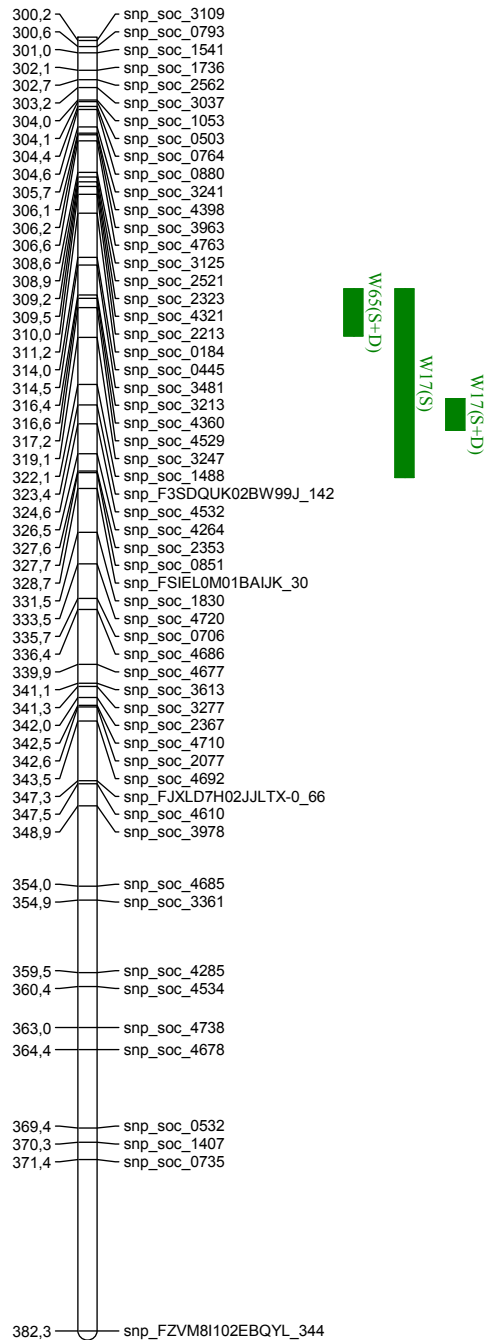
Head(N)(S+D)

Wleg(S)

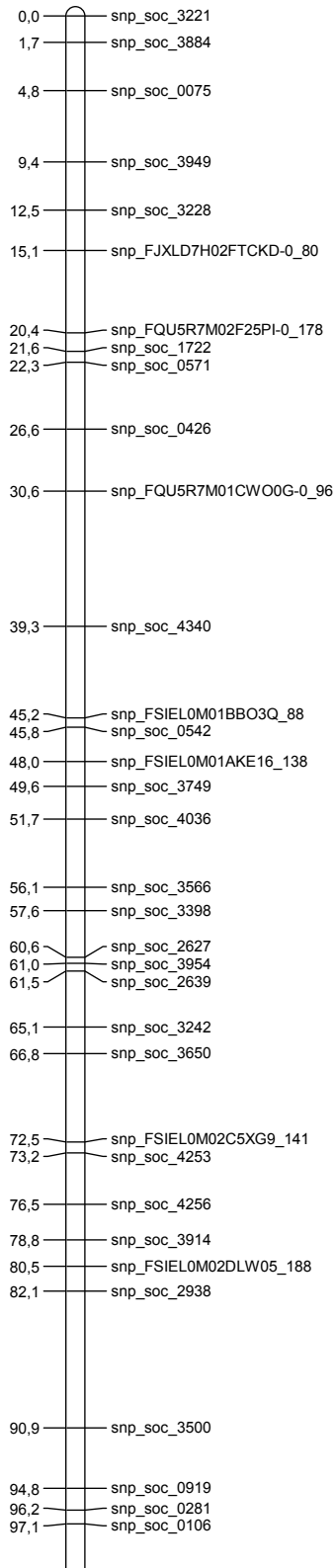
CJA1 [3]



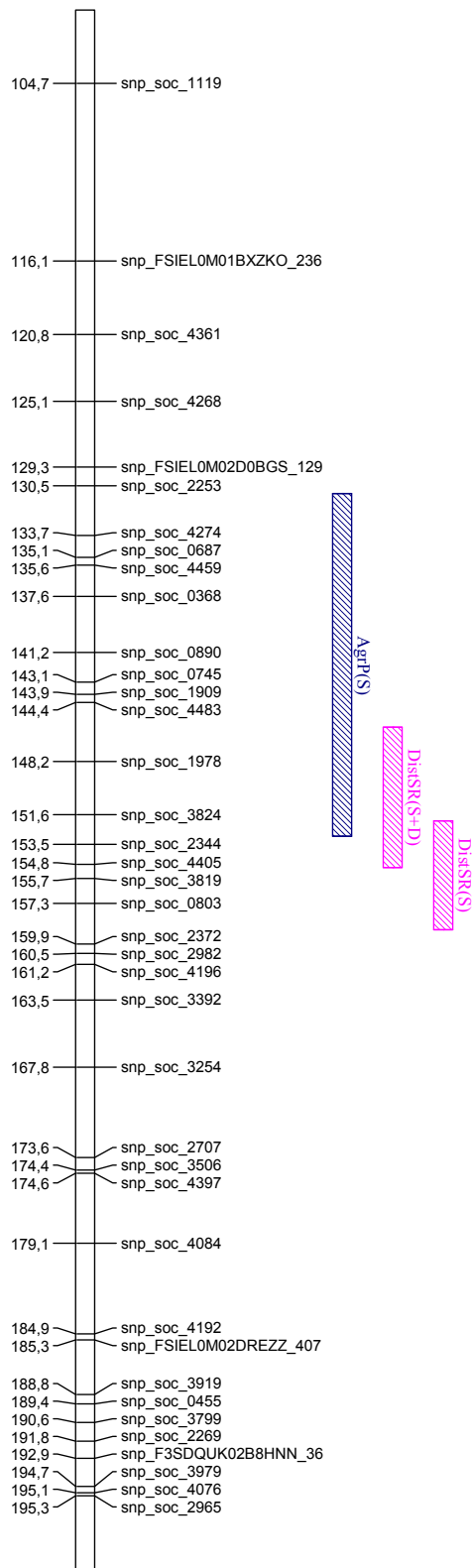
CJA1 [4]



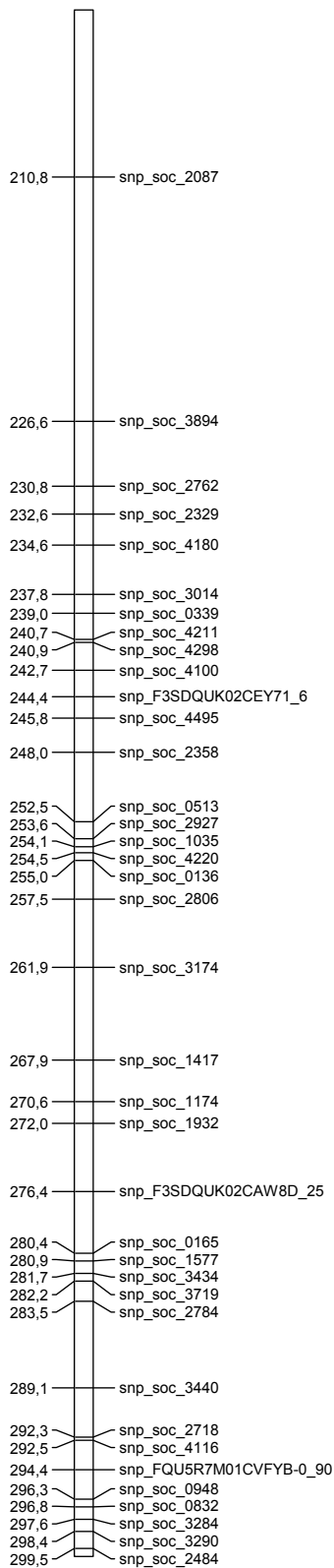
CJA2 [1]



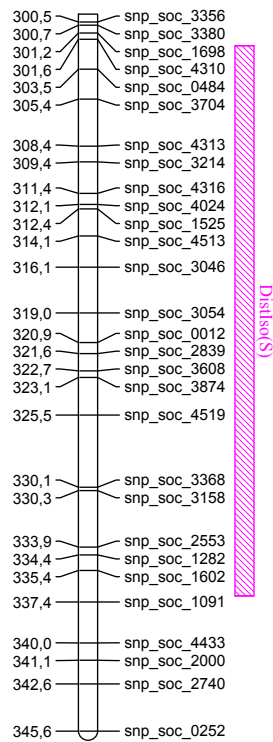
CJA2 [2]



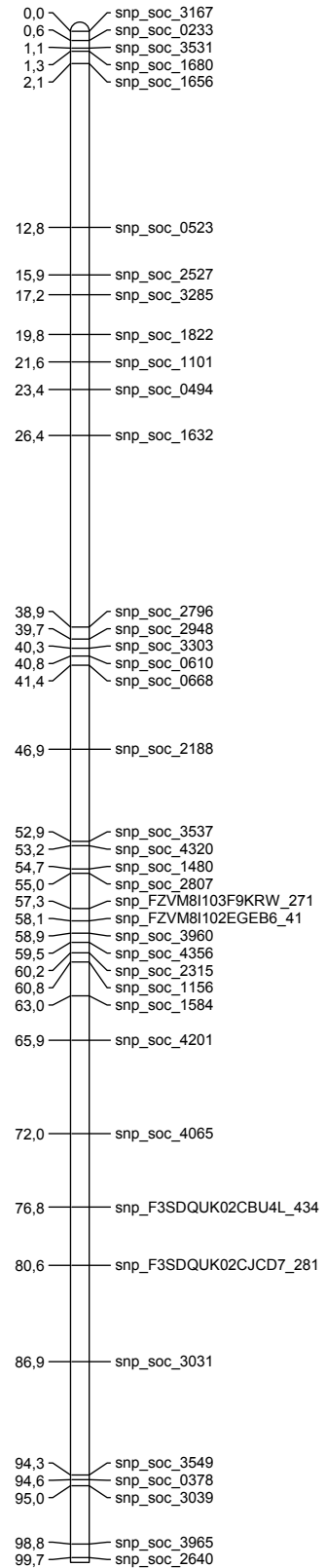
CJA2 [3]



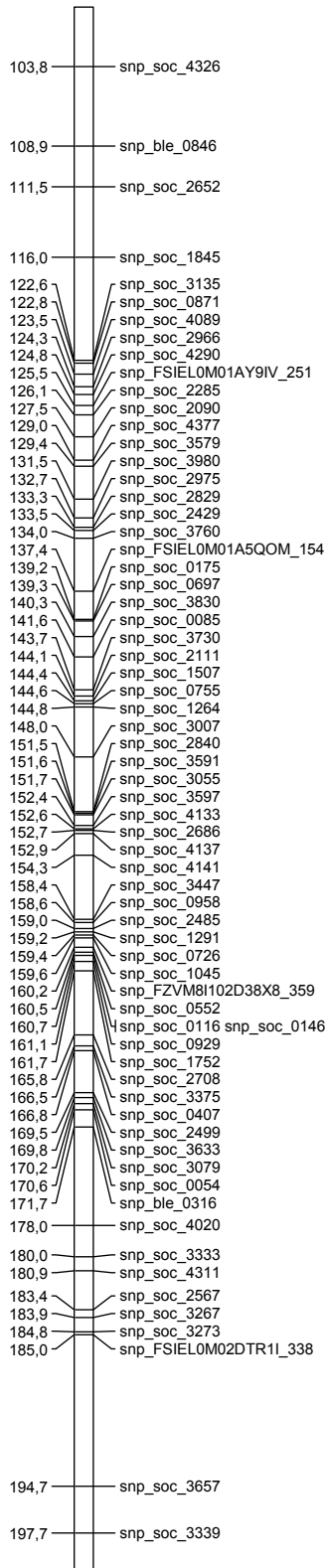
CJA2 [4]



CJA3 [1]

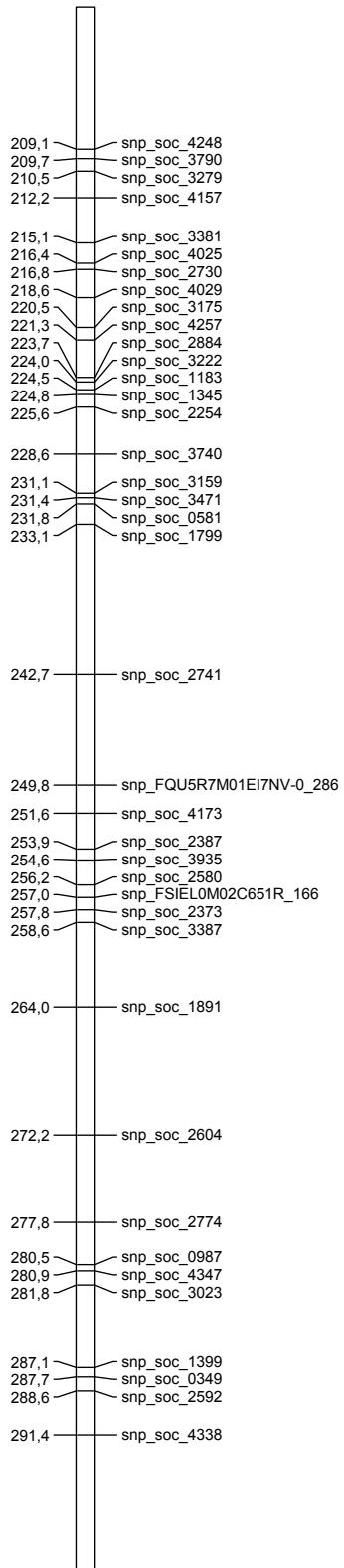


CJA3 [2]



WEGG(S+D)  
W65(S)

CJA3 [3]

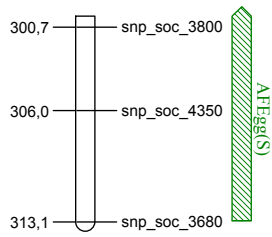


NIEgg(S)

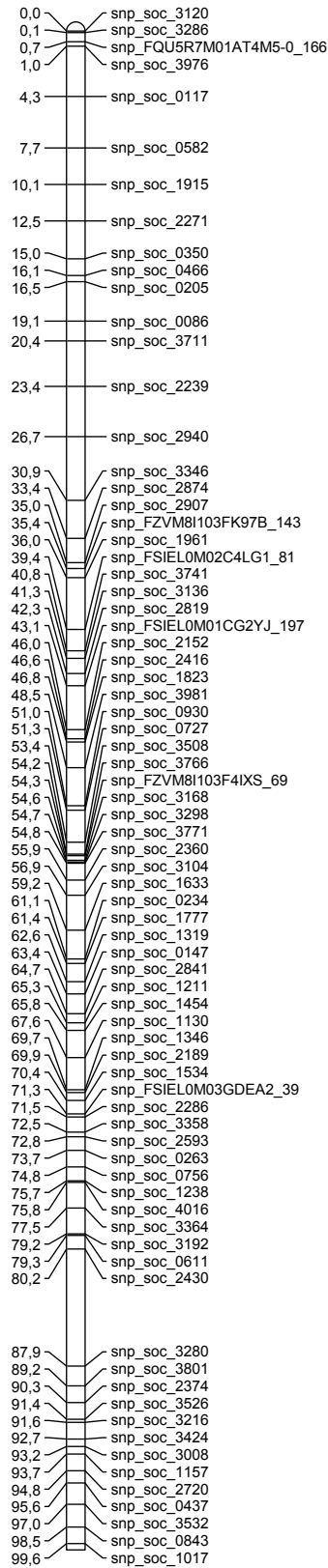
AIEgg(S)



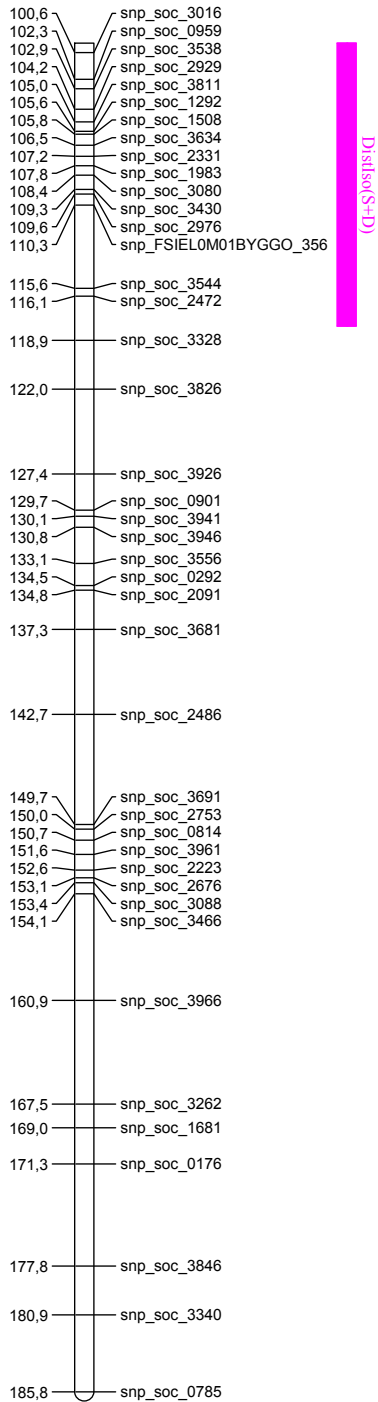
### CJA3 [4]



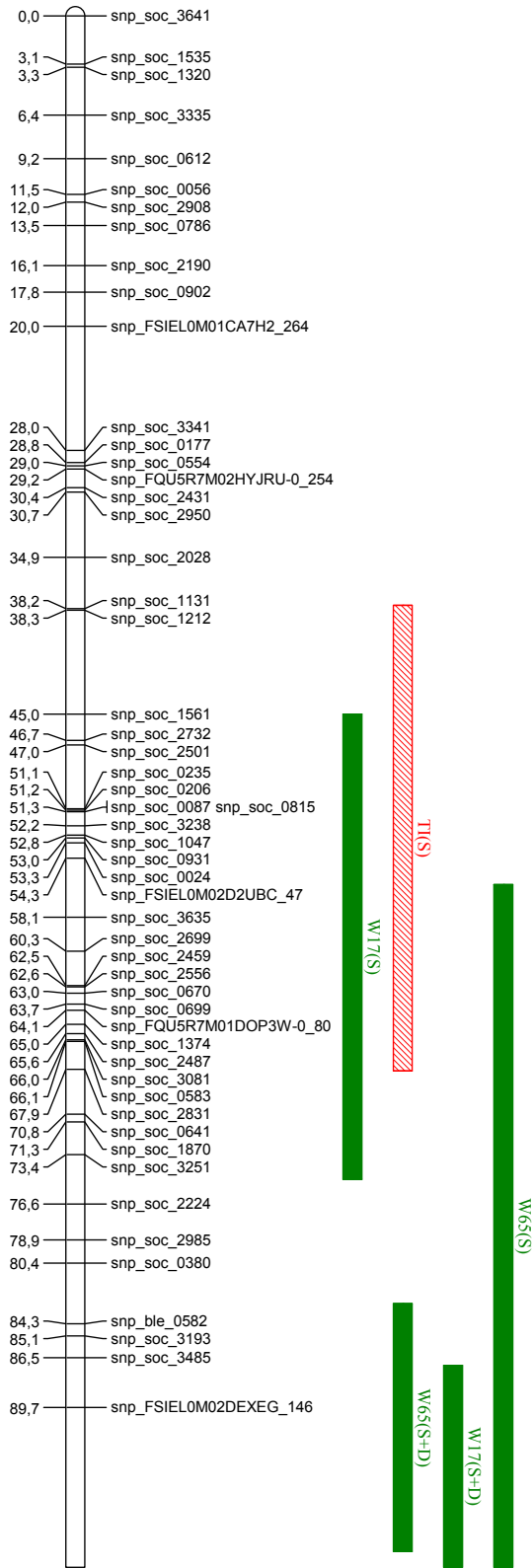
### CJA4 [1]



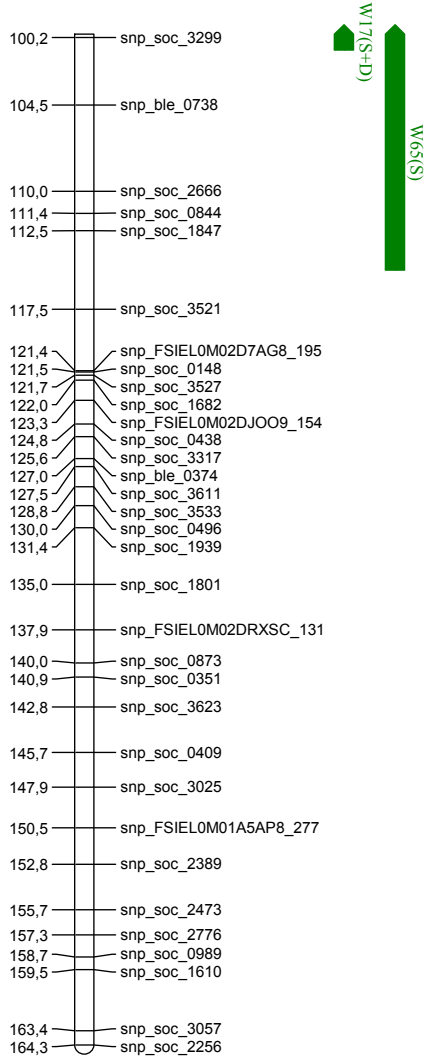
CJA4 [2]



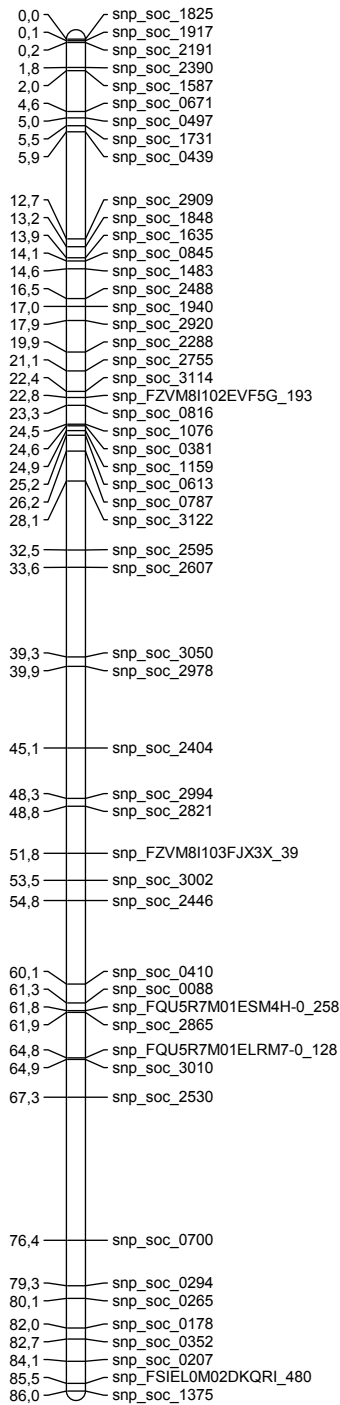
CJA5 [1]



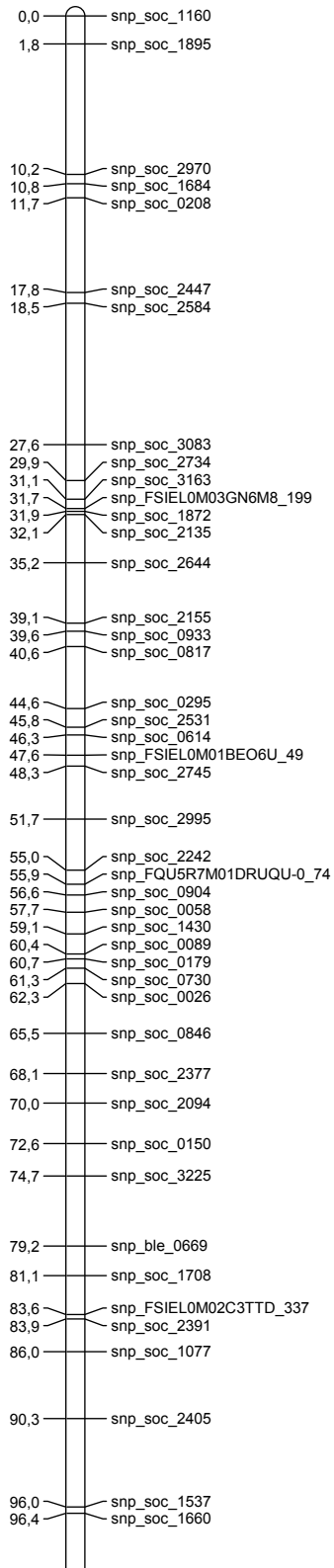
**CJA5 [2]**



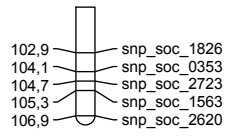
**CJA6**



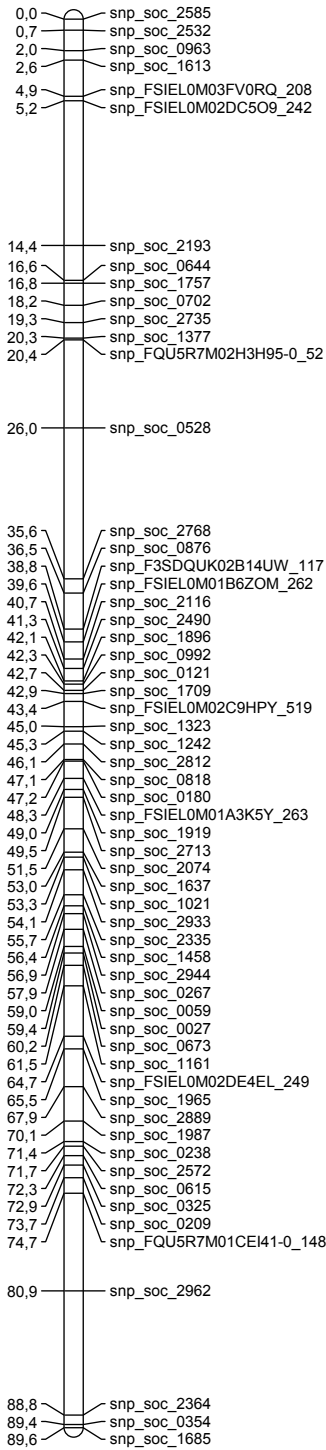
CJA7 [1]



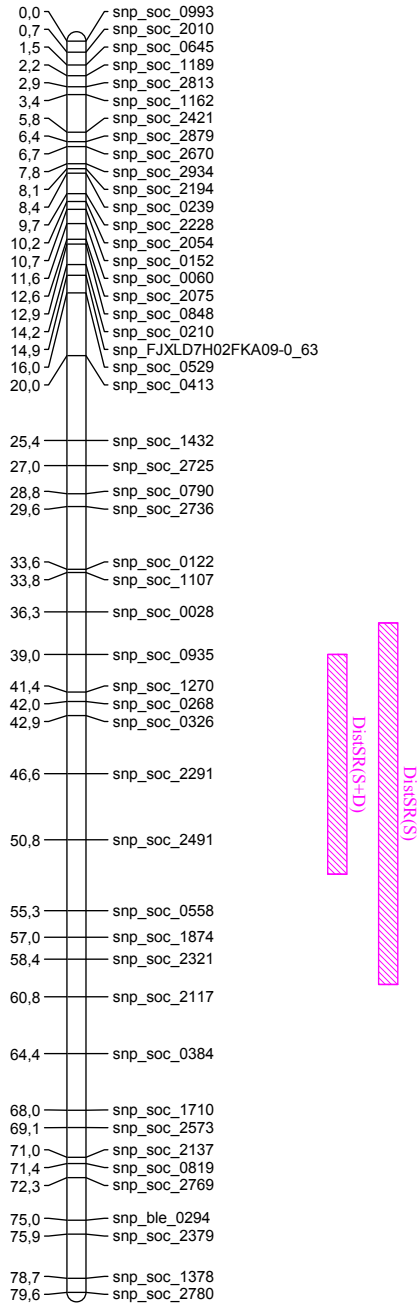
CJA7 [2]



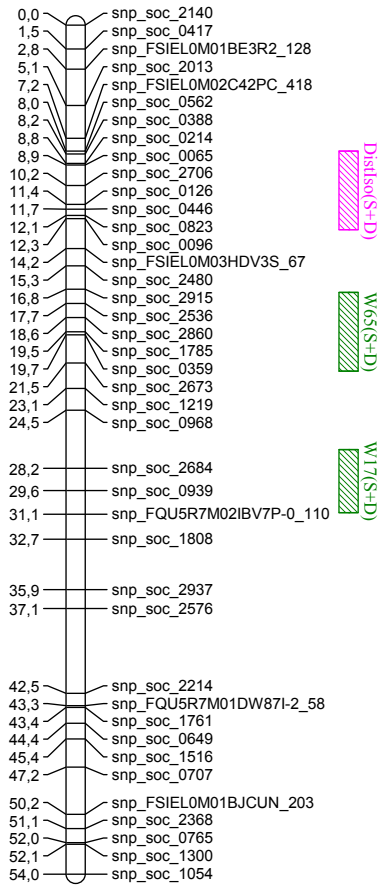
CJA8



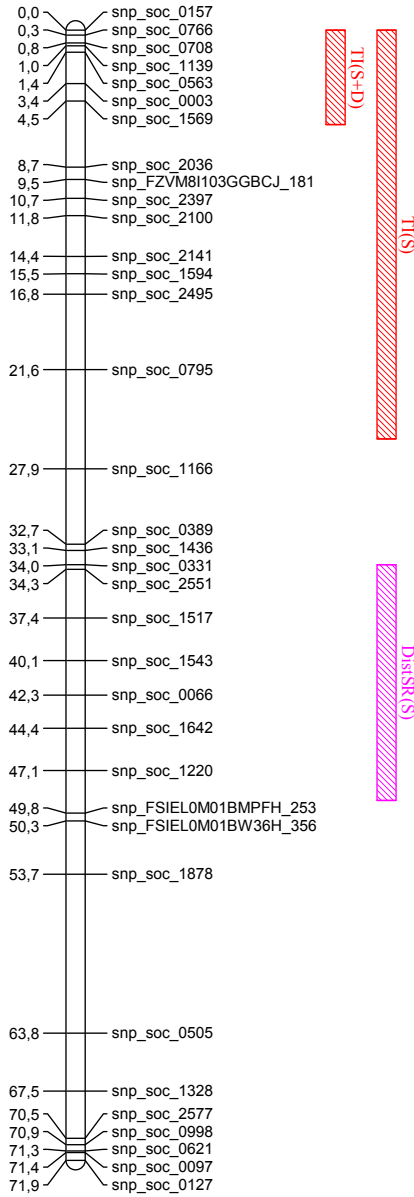
CJA9



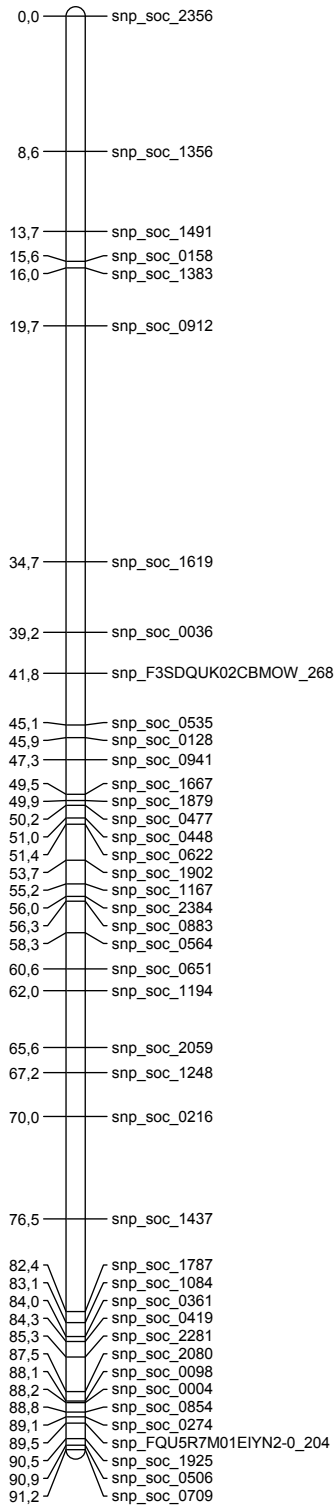
**CJA10**



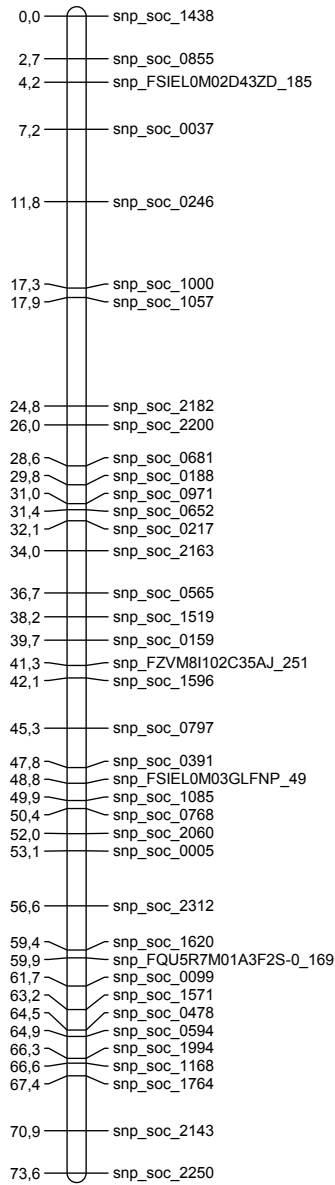
**CJA11**



**CJA12**

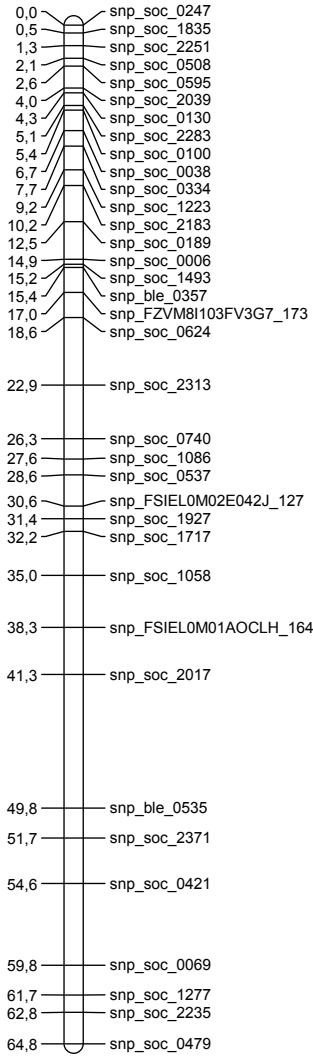


**CJA13**

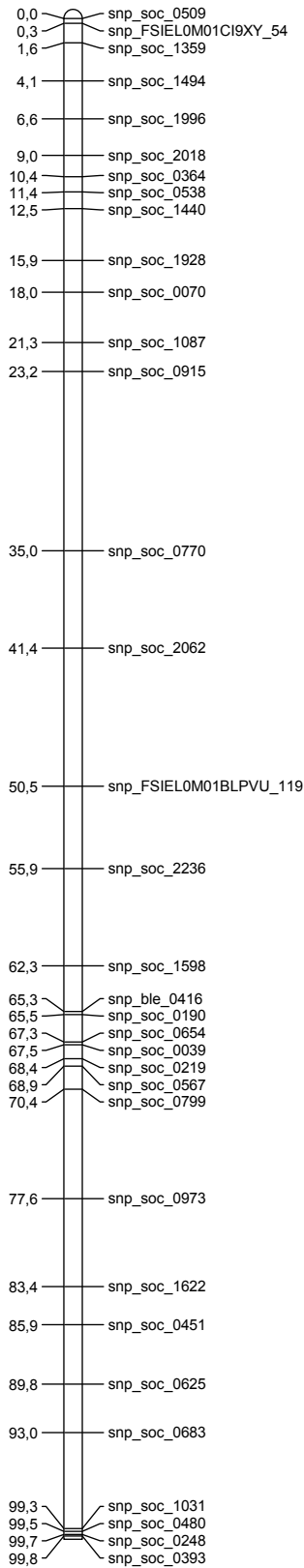


DIS(R)S

CJA14



CJA15 [1]

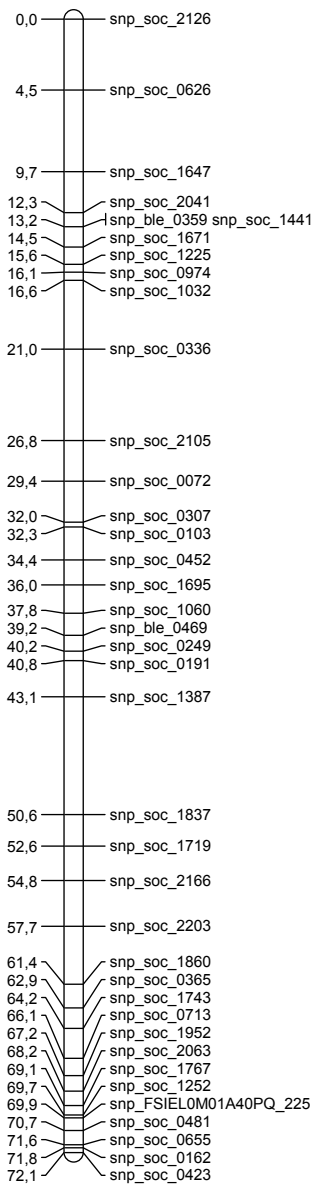


100,1 — snp\_soc\_0161

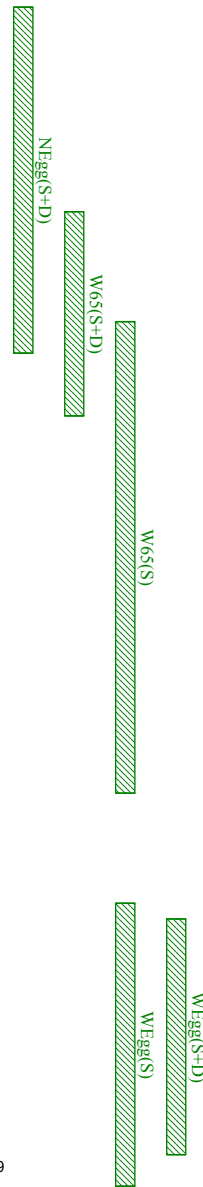
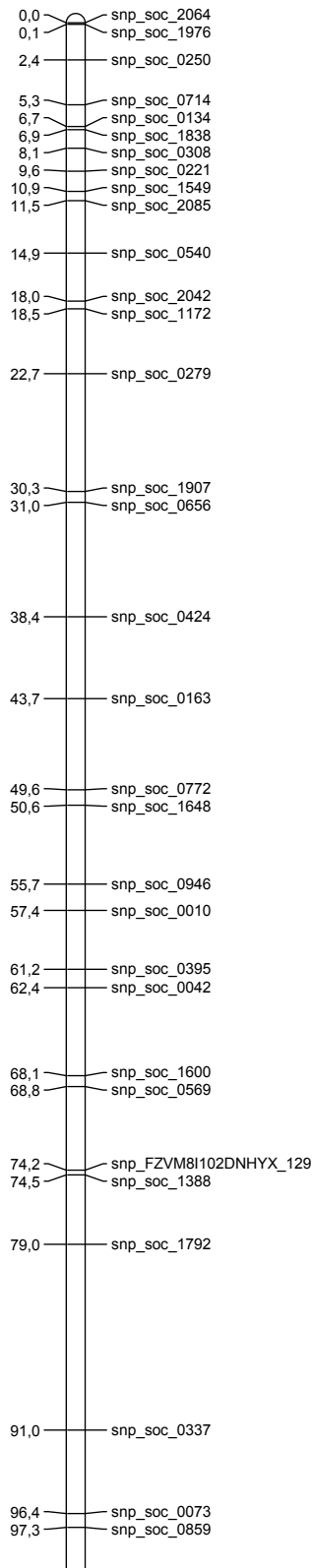
Dist(soc(S))



CJA17

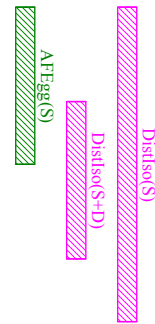
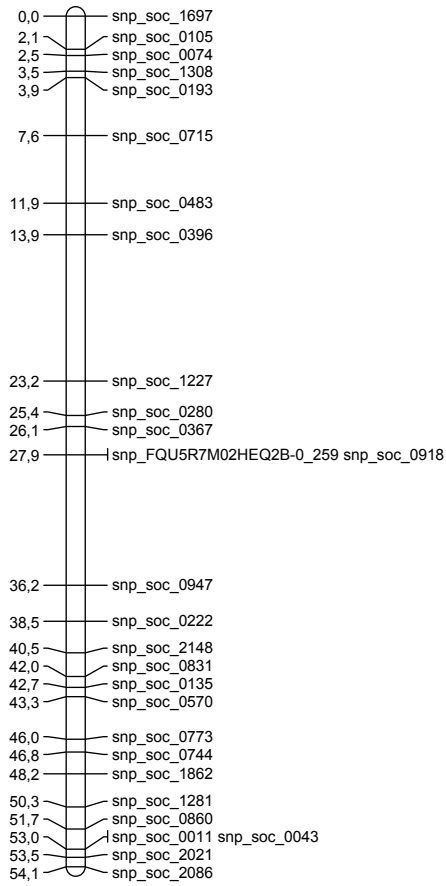
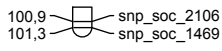


CJA18 [1]

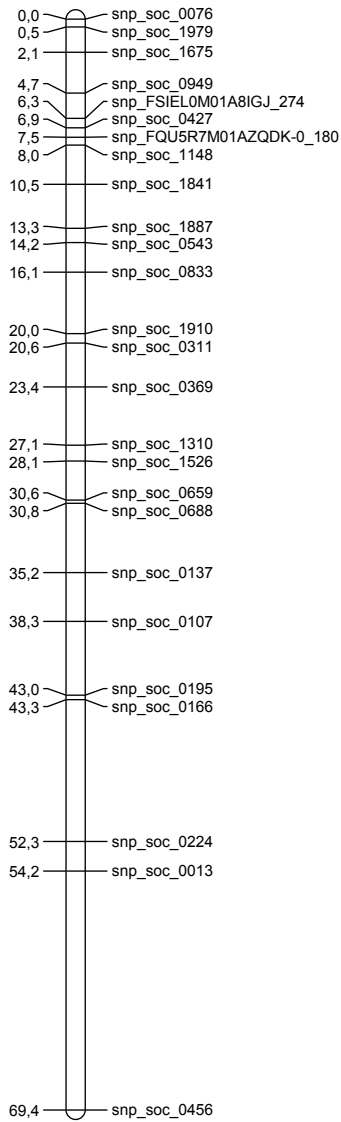


CJA18 [2]

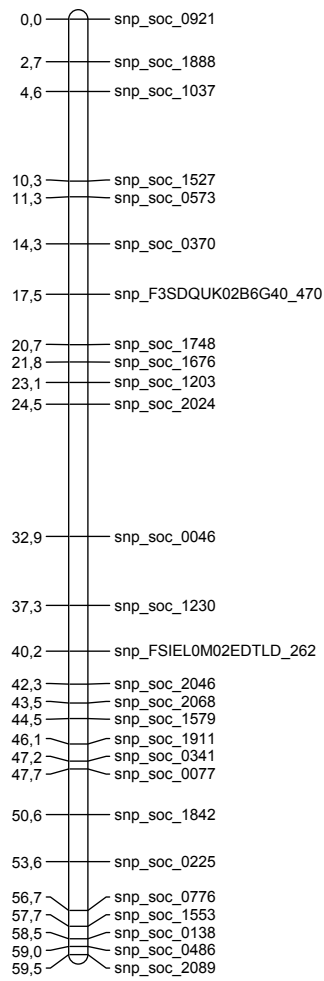
CJA19



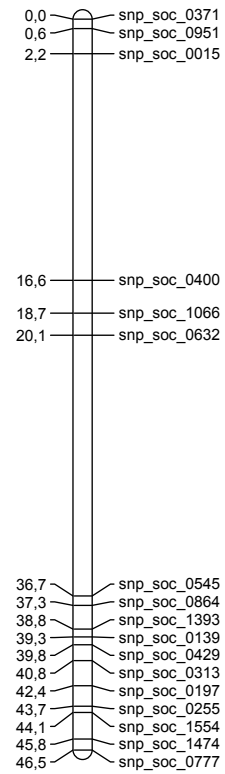
### CJA20



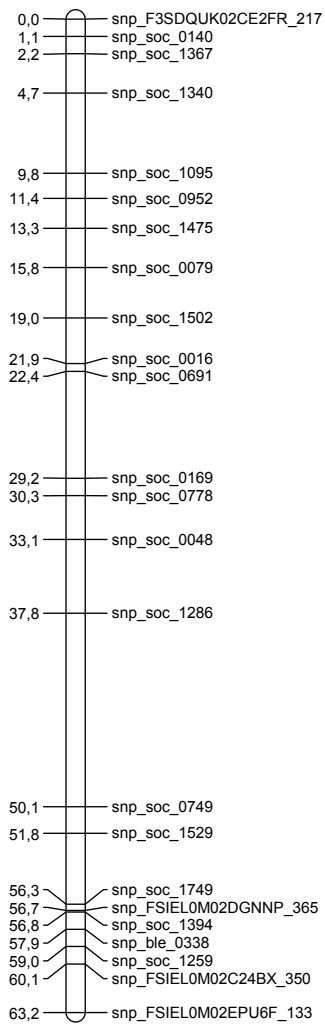
### CJA21



### CJA22

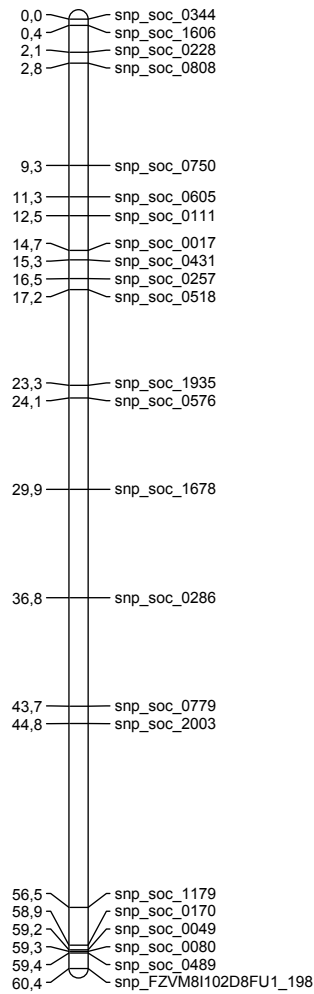


### CJA23

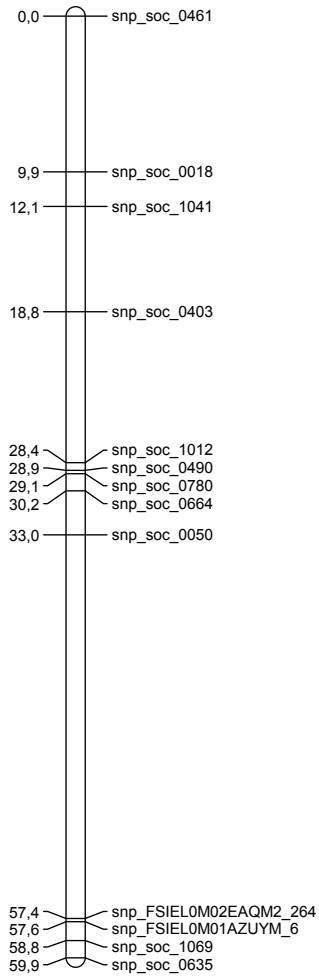


HeadNOS

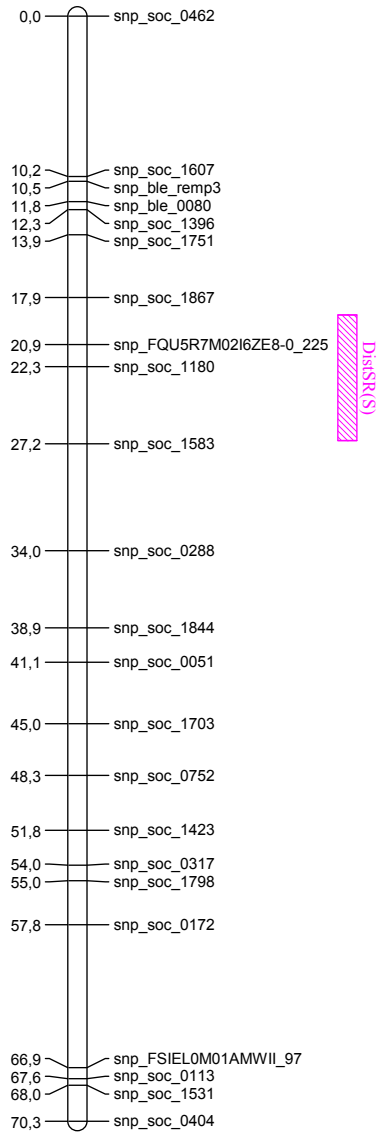
### CJA24



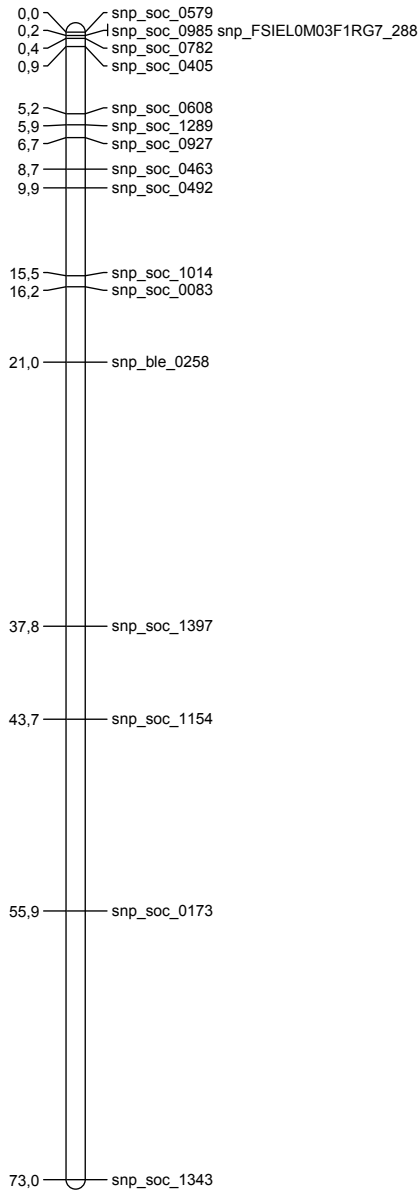
CJA25



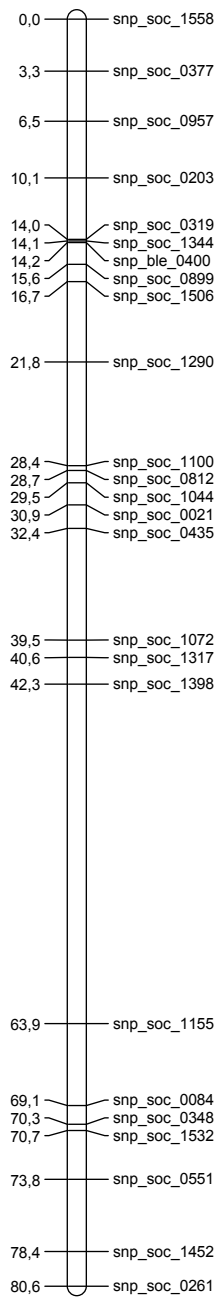
CJA26



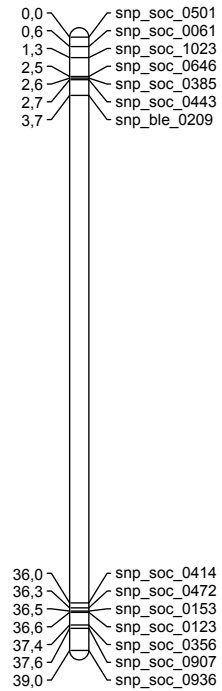
### CJA27



### CJA28



### E22



Additional Table 1 : **QTL physical comparisons between Quail and Chicken.**

Legend: **BW**: QTL linked to body-weight traits; **AFEgg**: QTL linked to the Age at First Egg; **WEgg**: QTL linked to egg-weight traits; **FreqDef**: QTL linked to the frequency of defecation during an Open-Field test; **LCall**: Latency to emit calls during an Open-Field test; **LTW**: QTL linked to the latency to walk during an Open-Field Test; **RCFP**: QTL linked to receiving feather pecks; **FP**: QTL linked to the number of feather pecks given; **GentleP**: QTL linked to the number of gentle feather pecks given ; **NO**: QTL linked to the reaction at a novel object.

Chromosome	Traits	Position in the Quail map (cM)	Model	Reference giving physical coordinates of putative nearest markers in Chicken map, assuming synteny between both maps.	Reference giving physical coordinates of putative Flanking Markers in Chicken map, assuming synteny between both maps.
CJA1	HeadNO	132	S+D	BW: [1-3]; AFEgg: [4]	
	WEgg	193	S	BW: [5]	
	AgrP	236	S	BW: [1, 6] ; RCFP: [7, 8]	LCall: [9]
	DistSR	281	S+D	BW: [1, 2, 6, 10]	
	W65	317	S+D	BW: [2, 3, 11-13]	
	W17	319	S	BW: [2, 3, 10-13]	BW: [14, 15]; NO: [16]
	W17	325	S+D	BW: [2, 3, 10-15]; NO: [16]	BW: [15, 17]
CJA2	AgrP	141	S	FP: [18]	
	DistSR	149	S+D	BW: [2, 19]; GentleP: [18]	
	DistSR	155	S	BW: [2, 19]	
	DistIso	319	S	BW: [20]	BW: [1, 4]
CJA3	WEgg	156	S+D	BW: [10, 12, 20, 21]; AFEgg: [4]; WEGG: [5]	
	W65	156	S	BW: [10, 12, 20, 21]; AFEgg: [4]; WEGG: [5]	
	NEgg	225	S	BW: [1, 20]	
	AFEgg	302	S		
CJA4	DistIso	105	S+D	BW: [2]	WEgg: [22-24]
CJA5	W17	54	S	BW: [10, 24]	
	TI	59	S	BW:[10, 11, 20]; WEgg: [23]	
	W65	88	S+D	BW: [10, 12, 25]	
	W17	90	S+D	BW: [10, 12, 25]	BW: [12]
	W65	97	S	BW: [20, 25]	

Additional Table 1 (Suite): **QTL physical comparisons between Quail and Chicken.**

Legend: **BW**: QTL linked to body-weight traits; **AFEgg**: QTL linked to the Age at First Egg; **WEgg**: QTL linked to egg-weight traits; **FreqDef**: QTL linked to the frequency of defecation during an Open-Field test; **LCall**: Latency to emit calls during an Open-Field test; **LTW**: QTL linked to the latency to walk during an Open-Field Test; **RCFP**: QTL linked to receiving feather pecks; **FP**: QTL linked to the number of feather pecks given; **GentleP**: QTL linked to the number of gentle feather pecks given ; **NO**: QTL linked to the reaction at a novel object.

Chromosome	Traits	Position in the Quail map (cM)	Model	Reference giving physical coordinates of putative nearest markers in Chicken map, assuming synteny between both maps.	Reference giving physical coordinates of putative Flanking Markers in Chicken map, assuming synteny between both maps.
CJA7	DistIso	96	S+D		
CJA8	W17	41	S+D	BW: [3, 11]	
	W17	56	S	BW: [2]	
	HeadNO	65	S	BW: [1, 3]	
CJA9	DistSR	42	S+D	BW: [26]	
	DistSR	55	S		BW: [26]
CJA10	DistIso	11	S+D		
	W65	21	S+D		
	W17	30	S+D		
CJA11	TI	1	S+D	BW: [1]; FreqDef: [9]	
	TI	5	S	FreqDef: [9]	BW: [1, 27]
	DistSR	47	S		BW: [10]
CJA13	DistSR	4	S	BW-AFEgg: [4]	
CJA15	DistIso	63	S		
CJA18	NEgg	3	S+D	BW: [19]	
	W65	18	S+D		
	W65	42	S		
	WEgg	61	S		
	WEgg	62	S+D		
CJA19	AFEgg	4	S+D		
	DistIso	8	S+D		
	DistIso	14	S		
CJA23	HeadNO	57	S		
CJA26	DistSR	21	S		



## References for Additional Table 1

1. Podisi BK, Knott SA, Burt DW, Hocking PM: Comparative analysis of quantitative trait loci for body weight, growth rate and growth curve parameters from 3 to 72 weeks of age in female chickens of a broiler-layer cross. *BMC Genet* 2013, 14:11.
2. Carlborg R, Hocking PM, Burt DW, Haley CS: Simultaneous mapping of epistatic QTL in chickens reveals clusters of QTL pairs with similar genetic effects on growth. *Genet Res* 2004, 83:197-209.
3. SWEggalem A, Morrice DM, Law A, Windsor D, Haley CS, Ikeobi CON, Burt DW, Hocking PM: Mapping of quantitative trait loci for body weight at three, six, and nine weeks of age in a broiler layer cross. *Poultry Science* 2002, 81:1775-1781.
4. Podisi BK, Knott SA, Dunn IC, Law AS, Burt DW, Hocking PM: Overlap of quantitative trait loci for early growth rate, and for body weight and age at onset of sexual maturity in chickens. *Reproduction* 2011, 141:381-389.
5. Tuiskula-Haavisto M, De Koning DJ, Honkatukia M, Schulman NF, Maki-Tanila A, Vilkki J: Quantitative trait loci with parent-of-origin effects in chicken. *Genet Res* 2004, 84:57-66.
6. Rao Y, Shen X, Xia M, Luo C, Nie Q, Zhang D, Zhang X: SNP mapping of QTL affecting growth and fatness on chicken GGA1. *Genetics Selection Evolution* 2007, 39:569-582.
7. Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, Siwek M, Cornelissen SJB, Nieuwland MGB, Crooijmans R, Groenen MAM, Koene P, Bovenhuis H, van der Poel JJ: Identification of quantitative trait loci for receiving pecks in young and adult laying hens. *Poultry Science* 2003, 82:1661-1667.
8. Biscarini F, Bovenhuis H, van Arendonk JAM, Parmentier HK, Jungerius AP, van der Poel JJ: Across-line SNP association study of innate and adaptive immune response in laying hens. *Animal Genetics* 2010, 41:26-38.
9. Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, Siwek M, Cornelissen SJB, Nieuwland MGB, Crooijmans R, Groenen MAM, Koene P, Bovenhuis H, van der Poel JJ: Identification of QTLs involved in open-field behavior in young and adult laying hens. *Behav Genet* 2004, 34:325-333.
10. Carlborg O, Kerje S, Schutz K, Jacobsson L, Jensen P, Andersson L: A global search reveals epistatic interaction between QTL for early growth in the chicken. *Genome Res* 2003, 13:413-421.
11. Kerje S, Carlborg O, Jacobsson L, Schutz K, Hartmann C, Jensen P, Andersson L: The twofold difference in adult size between the red junglefowl and White Leghorn chickens is largely explained by a limited number of QTLs. *Animal Genetics* 2003, 34:264-274.
12. Jacobsson L, Park HB, Wahlberg P, Fredriksson R, Perez-Enciso M, Siegel PB, Andersson L: Many QTLs with minor additive effects are associated with a large difference in growth between two selection lines in chickens. *Genet Res* 2005, 86:115-125.

13. Liu X, Li H, Wang S, Hu X, Gao Y, Wang Q, Li N, Wang Y, Zhang H: Mapping quantitative trait loci affecting body weight and abdominal fat weight on chicken chromosome one. *Poultry Science* 2007, 86:1084-1089.
14. Wright D, Rubin CJ, Barrio AM, Schutz K, Kerje S, Brandstrom H, Kindmark A, Jensen P, Andersson L: The genetic architecture of domestication in the chicken: effects of pleiotropy and linkage. *Mol Ecol* 2010, 19:5140-5156.
15. Wahlberg P, Carlborg O, Foglio M, Tordoir X, Syvanen AC, Lathrop M, Gut IG, Siegel PB, Andersson L: Genetic analysis of an F-2 intercross between two chicken lines divergently selected for body-weight. *Bmc Genomics* 2009, 10:13.
16. Schütz KE, Kerje S, Jacobsson L, Forkman B, Carlborg O, Andersson L, Jensen P: Major growth QTLs in fowl are related to fearful behavior: possible genetic links between fear responses and production traits in a red junglefowl x White Leghorn intercross. *Behav Gen* 2004, 34:121-130.
17. Zhou H, Deeb N, Evock-Clover CM, Ashwell CM, Lamont SJ: Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken. I. Growth and average daily gain. *Poultry Science* 2006, 85:1700-1711.
18. Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, van Hierden YM, Siwek M, Cornelissen SJB, Nieuwland MGB, Crooijmans R, Groenen MAM, Koene P, Korte SM, et al: Mapping quantitative trait loci affecting feather pecking behavior and stress response in laying hens. *Poultry Science* 2003, 82:1215-1222.
19. Ambo M, Moura A, Ledur MC, Pinto LFB, Baron EE, Ruy DC, Nones K, Campos RLR, Boschiero C, Burt DW, Coutinho LL: Quantitative trait loci for performance traits in a broiler x layer cross. *Animal Genetics* 2009, 40:200-208.
20. Nadaf J, Pitel F, Gilbert H, Duclos MJ, Vignoles F, Beaumont C, Vignal A, Porter TE, Cogburn LA, Aggrey SE, et al: QTL for several metabolic traits map to loci controlling growth and body composition in an F-2 intercross between high- and low-growth chicken lines. *Physiol Genomics* 2009, 38:241-249.
21. Ankra-Badu GA, Le Bihan-Duval E, Mignon-Grasteau S, Pitel F, Beaumont C, Duclos MJ, Simon J, Carre W, Porter TE, Vignal A, et al: Mapping QTL for growth and shank traits in chickens divergently selected for high or low body weight. *Animal Genetics* 2010, 41:400-405.
22. Schreiweis MA, Hester PY, Moody DE: Identification of quantitative trait loci associated with bone traits and body weight in an F2 resource population of chickens. *Genetics Selection Evolution* 2005, 37:677-698.
23. Goraga ZS, Nassar MK, Brockmann GA: Quantitative trait loci segregating in crosses between NWEgg Hampshire and White Leghorn chicken lines: I. egg production traits. *Animal Genetics* 2012, 43:183-189.
24. Sasaki O, Odawara S, Takahashi H, Nirasawa K, Oyamada Y, Yamamoto R, Ishii K, Nagamine Y, Takeda H, Kobayashi E, Furukawa T: Genetic mapping of quantitative trait loci affecting body weight, egg character and egg production in F2 intercross chickens. *Animal Genetics* 2004, 35:188-194.
25. Tercic D, Holcman A, Dovc P, Morrice DR, Burt DW, Hocking PM, Horvat S: Identification of chromosomal regions associated with growth and carcass traits in an F-3 full sib intercross line originating from a cross of chicken lines divergently selected on body weight. *Animal Genetics* 2009, 40:743-748.

26. Siwek M, Cornelissen SJB, Buitenhuis AJ, Nieuwland MGB, Bovenhuis H, Crooijmans R, Groenen MAM, Parmentier HK, van der Poel JJ: Quantitative trait loci for body weight in layers differ from quantitative trait loci specific for antibody responses to sheep red blood cells. *Poultry Science* 2004, 83:853-859.
27. Nassar MK, Goraga ZS, Brockmann GA: Quantitative trait loci segregating in crosses between NWEgg Hampshire and White Leghorn chicken lines: II. Muscle weight and carcass composition. *Animal Genetics* 2012, 43:739-745.

Quatrième partie :  
Discussion générale

## 1) Comparaison avec les QTLs détectés chez la caille japonaise.

Dans l'article 2, nous avons principalement comparé les QTLs détectés dans notre dispositif à ceux identifiés chez la poule pour souligner, comme l'avaient fait Minvielle et collaborateurs (Minvielle, 2009), l'intérêt de la caille japonaise comme espèce modèle de la poule. En complément, nous avons élargi ces comparaisons aux résultats des quelques études réalisées chez la caille japonaise. Les caractères étudiés concernaient principalement la ponte, la croissance et la couleur du plumage (Minvielle, *et al.*, 2005 ; Miwa, *et al.*, 2005 ; Minvielle, *et al.*, 2006 ; Miwa, *et al.*, 2006 ; Fresard, *et al.*, 2012 ; Shimogiri, *et al.*, 2012). Au niveau comportemental, seule la réactivité émotionnelle représentée par la durée de l'immobilité tonique a été étudiée (Beaumont, *et al.*, 2005 ; Minvielle, *et al.*, 2005). Parmi les QTLs identifiés dans ces travaux, ceux associés au poids et détectés par Minvielle et ses collaborateurs (2005) sur CJA1, présentent des coordonnées cohérentes avec les QTLs contrôlant le poids à 17 ou 65 jours dans notre dispositif. Dans la même étude, un QTL associé à la durée d'immobilité tonique a été identifié sur CJA1. Bien que nous n'ayons pas détecté de QTL pour ce caractère sur ce chromosome, de façon intéressante le QTL détecté par Minvielle et ses collaborateurs (2005) co-localise avec le QTL associé aux coups de bec agressifs dans notre étude. Cela pourrait suggérer une relation entre réactivité émotionnelle et agressivité. Un autre QTL associé à la durée d'immobilité tonique a été détecté sur le chromosome CJA1 par Beaumont et ses collaborateurs (2005). Ce QTL semble avoir des coordonnées co-localisant avec un de nos QTLs associé à la motivation sociale. Cela pourrait indiquer que la réponse au test du tapis roulant serait influencée par la réactivité émotionnelle. Le fait que nous ne retrouvions pas les QTLs précédemment identifiés au sein de notre dispositif reflète l'influence du génotype étudié. Dans les études de Beaumont (2005) et Minvielle (2005, 2006), les lignées de cailles utilisées étaient issues d'une sélection divergente sur la durée d'immobilité tonique et présentaient un fond génétique différent de nos lignées. En utilisant des lignées de cailles sélectionnées de façon divergente sur leur poids, Shimogiri et ses collaborateurs (2012) ont pu identifier sur le chromosome CJA1, une région affectant le poids des individus avec une position proche de la région *Growth1* identifiée chez la poule par Kerje et ses collaborateurs (Kerje, *et al.*, 2003). Cette région n'a pas non plus été retrouvée dans notre dispositif. Si les lignées divergentes apparaissent donc particulièrement pertinentes

pour comprendre les mécanismes biologiques et identifier les gènes contrôlant un caractère, la transposition des QTLs entre populations semble loin d'être systématique. Ceci est sans doute lié à l'histoire des populations qui entraîne la fixation ou la disparition des polymorphismes génétiques de façon relativement spécifique. Par ailleurs, nous nous sommes intéressés aux travaux de Miwa et ses collaborateurs (2005, 2006) qui ont identifié des QTLs et des gènes intervenant dans la coloration du plumage. Le but était de comprendre si des QTLs associés à la couleur du plumage pouvaient être associés à des QTLs de comportements agressifs, comme cela a déjà été observé chez la poule (Keeling, *et al.*, 2004 ; Natt, *et al.*, 2007 ; Karlsson, *et al.*, 2010) . Cependant, aucun de nos QTLs n'a montré de co-localisation avec les régions identifiées par Miwa et ses collaborateurs (2005, 2006).

## 2) Architecture génétique du comportement.

### a) Caractères de motivation sociale.

Au cours notre étude, nous avons pu mettre en évidence que les caractères de motivation sociale, à savoir la distance parcourue sur le tapis roulant (DistSR) et la distance parcourue en périphérie dans le test d'isolement social (DistIso), semblaient génétiquement indépendants et représentaient donc deux composantes différentes de la motivation sociale. Il existe une différence notable entre les deux caractères : la possibilité ou non de percevoir la présence de congénères. Dans le cas du tapis roulant, l'individu testé peut voir la cage contenant ses congénères tandis que lors du test d'isolement social, aucun autre animal ne peut être perçu. D'après une étude d'Hayashi et ses collaborateurs (Hayashi, *et al.*, 2001), il semble que ce soit la perte de contact visuel qui influence le plus la réponse à l'isolement social. En effet, cette étude a montré que la diffusion d'images de cailles suffisait à supprimer les appels de détresse tandis que des signaux auditifs seuls n'avaient pas cet effet (Hayashi, *et al.*, 2001). Cette distinction entre les deux tests due à la possibilité ou pas de contacts visuels avec des congénères, semble aussi avoir été observée chez des lignées de cailles sélectionnées de façon divergente pour leur réponse adrénocorticale après une contrainte physique (Satterlee and Johnson, 1988). En effet, lors de tests estimant la motivation sociale, Jones et ses collaborateurs (Jones, *et al.*, 2002) ont pu montrer que les individus de la lignée sélectionnée pour une faible réponse (LS) restaient en groupe plus compact et rejoignaient plus rapidement un groupe de congénères par rapport aux individus de la lignée sélectionnée pour la forte réponse (HS). Lors de tests en open-field, considérés principalement comme testant la

réactivité émotionnelle (KeerKeer, *et al.*, 1996), les cailles LS montraient une plus faible latence à se déplacer et moins de périodes d'immobilité par rapport aux cailles HS. Ceci était cohérent avec la diminution globale des réactions de peur observée chez les individus LS et éventuellement avec leur sociabilité plus importante (Jones, *et al.*, 2002). Cependant, Kembro et ses collaborateurs (Kembro, *et al.*, 2008) suggèrent dans leurs travaux que les différences de comportements observées en open-field pour les individus de ces deux lignées ne sont pas dues à une différence de motivation sociale mais à une différence de réaction au stress lié au passage dans un environnement inconnu. Cette hypothèse vient du fait qu'une fois une première phase d'immobilité passée, les individus HS présentent des schémas de déplacements équivalents à ceux de la lignée LS. Ceci indiquerait donc que dans le cadre de ce test, les deux lignées présentent une motivation sociale similaire une fois passé l'effet du stress, dû au transfert dans l'environnement de test. Cette différence entre les résultats obtenus par Jones et ses collaborateurs (2002) et ceux de Kembro et ses collaborateurs (2008) peuvent résulter de la présence (Jones, *et al.*, 2002) ou de l'absence de congénères (Kembro, *et al.*, 2008) dans leurs tests respectifs.

Ces résultats ainsi que les nôtres confirmeraient bien l'existence de deux composantes indépendantes de la motivation sociale, la première étant la motivation à rejoindre des congénères (test du tapis roulant, test du couloir, etc.) et la seconde étant la recherche de congénères (test d'open-field, test d'isolement social, etc.).

#### b) Caractères d'agressivité, de motivation sexuelle et de néophobie.

D'après Savory (1995), la différence entre un coup de bec dit « doux » et un coup de bec agressif tient à deux facteurs, la réaction de l'animal et la zone ciblée. En effet, les coups de bec doux ne provoquent pas de réaction de la part de l'animal ciblé et touchent en général le bout des plumes ou bien l'environnement. Ainsi, les coups de bec doux sont considérés comme l'expression d'un comportement exploratoire. Au contraire, les coups de bec agressifs ciblent en général le cou, la tête ou les yeux et sont, le plus souvent, exprimés dans le but de mettre en place ou de maintenir la hiérarchie au sein du groupe. L'animal subissant les coups réagit en général par la fuite, une posture de soumission ou dans le cas d'une hiérarchie non établie, une contre-attaque.

Durant cette étude, coups de bec agressifs et coups de bec doux semblent génétiquement indépendants. Ces résultats vont dans le sens de ceux obtenus par Buitenhuis et ses collaborateurs (2003a, b) chez la poule, aucune co-localisation n'ayant été observée entre les QTLs associés aux coups de bec agressifs ou doux. Ces résultats indiquent que coups de bec agressifs et coups de bec doux sont deux comportements distincts et non pas deux niveaux différents d'une même réponse comportementale. Ces deux comportements auraient par ailleurs des bases génétiques et des motivations différentes de celles du picage. En effet, pour les coups de bec agressifs, les observations phénotypiques et génétiques semblent indiquer qu'ils sont indépendants des comportements de picage (Kjaer, *et al.*, 2001 ; Bessei, *et al.*, 2013) même si une étude récente semble remettre ce consensus en cause (Bennewitz, *et al.*, 2014). Pour les coups de bec doux par contre, la relation avec les comportements de picage est plus complexe. Il a été montré qu'au sein des lignées divergentes pour le picage de Kjaer et ses collaborateurs (2001), les individus présentant une forte propension au picage (HFP) présentaient aussi une expression plus importante de coups de bec doux. Cette observation semble être confirmée par plusieurs études faisant l'hypothèse que l'expression de coups de bec doux serait un précurseur de l'expression de comportements de picage, ceux-ci évoluant avec l'âge des individus (Chow and Hogan, 2005 ; Shimmura, *et al.*, 2008). Néanmoins, plusieurs études semblent démontrer le contraire, indiquant une indépendance entre les deux caractères (Newberry, *et al.*, 2007 ; Rodenburg, *et al.*, 2008 ; Lambton, *et al.*, 2010 ; Rodenburg, *et al.*, 2013). D'ailleurs des travaux à un niveau génétique vont dans le sens d'une indépendance entre les deux caractères en démontrant l'absence de régions chromosomiques communes les affectant (Buitenhuis, *et al.*, 2003a ; Buitenhuis, *et al.*, 2003b). Par ailleurs, des analyses du transcriptome du cerveau révèlent des groupes de gènes dont l'expression est associée à un seul des deux caractères à la fois (Hughes and Buitenhuis, 2010).

Notre étude a suggéré des corrélations génétiques fortes entre caractères d'agressivité, de motivation sexuelle et de néophobie évaluée au travers de la réponse face à un objet nouveau. Comme discuté dans l'article 1, l'utilisation d'un miroir ou d'un leurre au lieu d'autres congénères a pu contribuer à introduire une composante de réactivité émotionnelle dans l'évaluation de l'agressivité et de la motivation sexuelle faite dans notre étude. De précédentes études ont aussi suggéré un possible lien entre ces différents comportements. En cherchant à identifier la structure des mouvements réalisés par une poule pour effectuer



différents types de coup de bec, Dixon et ses collaborateurs (Dixon, *et al.*, 2008) ont montré que la structure des coups de bec doux présentait une similarité avec les coups portés à un objet nouveau. De même, une étude récente réalisée chez le diamant mandarin (*Taeniopygia guttata*) par McCowan et ses collaborateurs (McCowan, *et al.*, 2014) indique que les mâles présentant de forts comportements exploratoires montreraient aussi une plus forte motivation à se reproduire. Les coups de bec doux étant une expression de la tendance à l'exploration de l'individu, cette étude apporte une possible explication quant aux relations observées entre la réaction à l'objet nouveau, la motivation sexuelle et les coups de bec doux. Aucun QTL pléiotrope affectant ces différents caractères n'ayant été identifié dans notre étude, il reste difficile de discuter plus avant les possibles mécanismes sous-jacents impliqués.

### 3) Gènes candidats.

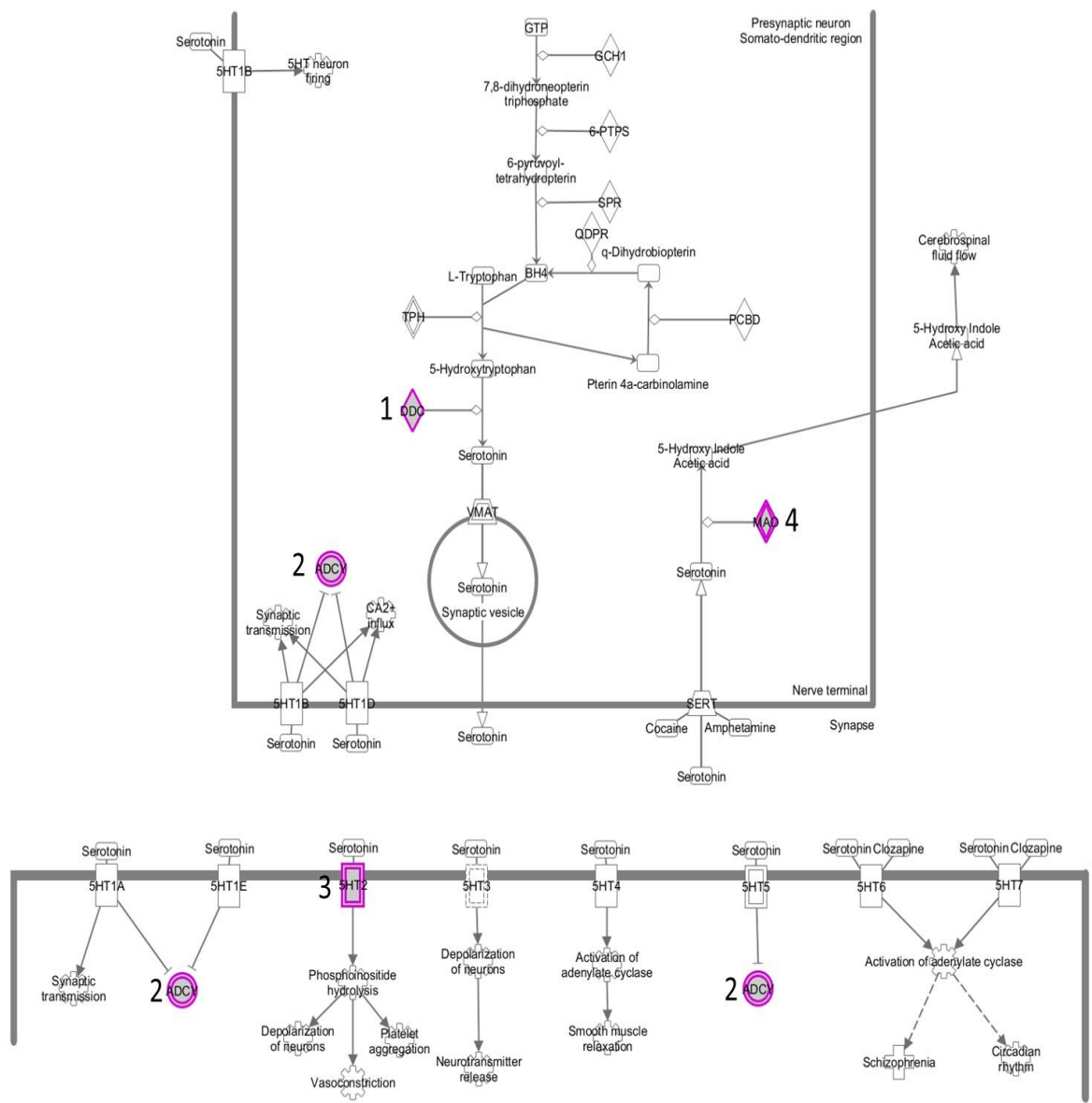
Afin d'explorer les bases génétiques des QTLs détectés, nous avons utilisé le logiciel Ingenuity Pathway Analysis. Nous nous sommes principalement focalisés sur les QTLs associés à la motivation sociale. Du fait de l'intervalle de confiance parfois important de nos QTLs, un nombre important de gènes se retrouve dans les régions étudiées. Une sélection de gènes d'intérêt (Tableau 2) a donc été faite sur la base de leurs fonctions et de leurs possibles relations avec le comportement social.

Plusieurs gènes candidats identifiés au sein des QTLs détectés pour la réponse à l'isolement social semblent associés à des caractères d'anxiété plutôt que de sociabilité. Ainsi, le gène *ADCY8* sur CJA2, codant pour l'adénylate cyclase 8, une protéine permettant la conversion de molécules d'ATP en molécule de cAMP, a été montré comme ayant un effet sur les comportements d'évitement chez la souris (de Mooij-van Malsen, *et al.*, 2009). De même, le gène *GABRA2* observé dans le QTL sur CJA4, code pour un récepteur spécifique de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique, un neurotransmetteur intervenant notamment dans l'inhibition de l'activité synaptique dans le cerveau adulte, et a été décrit comme lié à l'anxiété chez l'homme et chez la souris (Engin, *et al.*, 2012). La relation suggérée par ces QTLs entre comportement d'anxiété et réaction au test d'isolement social pourrait refléter la part de réactivité émotionnelle intervenant dans la réponse à ce test. Un autre gène d'intérêt identifié au sein du QTL sur CJA4 est *ADHIC*. Ce gène codant pour une alcool déshydrogénase pourrait avoir un effet inhibiteur sur la locomotion des individus, des souris knock-out

présentant une activité motrice plus intense que les individus sauvages. Cette augmentation de l'activité motrice semble être liée à des modifications de la régulation du système dopaminergique, les individus Knock-Out pour *ADHIC* présentant une diminution dans le cerveau de la dopamine, des produits issus de la dégradation de la dopamine (acide dihydroxyphénylacétique -DOPAC- et acide homovanillique -HVA-) ainsi qu'une altération du turn-over entre la dopamine et ces produits de dégradation (Anvret, *et al.*, 2012). Un autre gène associé à la voie dopaminergique a pu être observé parmi nos gènes candidats au sein du QTL pour la distance parcourue sur le tapis roulant (DistSR) du chromosome CJA2. Ce gène, *DDC*, code pour la dopa décarboxylase qui catalyse la transformation du L-3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) en dopamine et du L-5-hydroxytryptophane en sérotonine. Associé à la sécrétion de deux neurotransmetteurs, ce gène pourrait donc avoir une action sur les comportements influencés par les voies dopaminergiques et sérotoninergiques. Le système dopaminergique étant impliqué dans le circuit de la récompense, il semble particulièrement intéressant qu'un QTL de motivation sociale abrite des gènes intervenant dans cette voie. De plus, nous avons pu identifier, au sein d'un QTL associé à DistSR sur CJA11, le gène *HTR2B*. Ce gène code pour un récepteur spécifique à la sérotonine et intervient dans la régulation de la sécrétion de sérotonine (Callebert, *et al.*, 2006). Au niveau comportemental, une expérience réalisée chez des souris Knock-Out a montré une augmentation des comportements impulsifs ainsi que des comportements de recherche de nouveautés (Bevilacqua, *et al.*, 2010). De même chez l'Homme, une étude a montré une association entre un polymorphisme de ce gène et la recherche d'amusement (Zhu, *et al.*, 2012).

Plusieurs des gènes candidats identifiés dans les QTLs de motivation sociale agissent dans les voies de régulation de la sérotonine et de la dopamine, comme le montrent les figures 8 et 9 pour les protéines issues des gènes *ADCY8*, *DDC* et *HTR2B*. Les gènes *ADHIC* et *GABRA2* ont des rôles plus indirects. En effet, il a pu être montré que la sérotonine et la dopamine pouvaient moduler l'effet inhibiteur des récepteurs à l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique de type alpha (Crunelli et Di Giovanni, 2014 pour revue) tandis que le rôle des alcool déshydrogénases (ADH) comme *ADHIC*, dans le cycle de la dopamine, n'est pas encore bien connu (Anvret et al., 2012). Le fait que les voies sérotoninergiques et dopaminergiques ressortent de nos recherches de gènes candidats est intéressant car ces deux neurotransmetteurs sont impliqués dans de nombreux aspects comportementaux. La sérotonine intervient notamment dans la mise en place des comportements de coopération

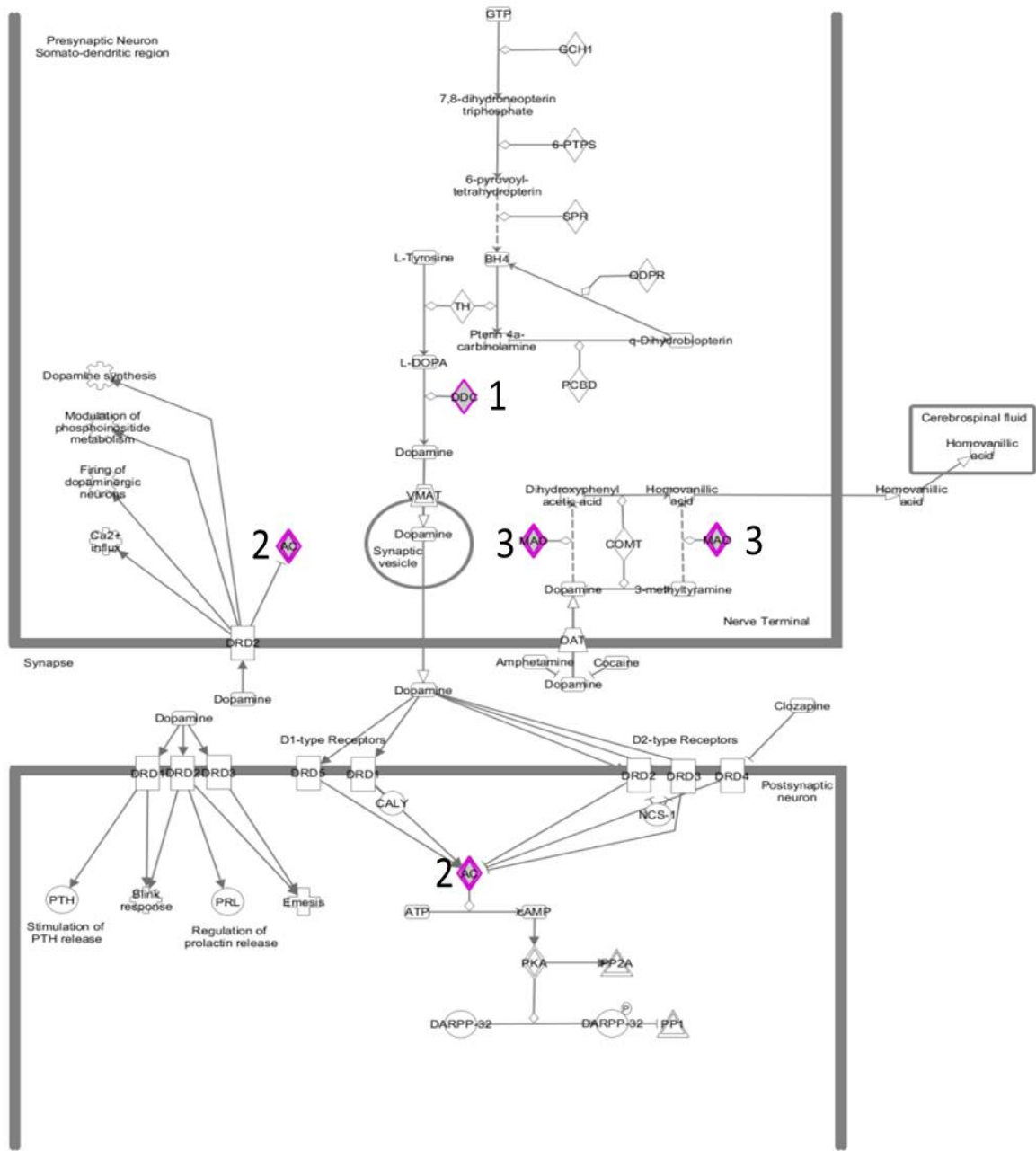
entre individus, d'établissement de la hiérarchie et d'agressivité (Kiser et al., 2012 pour revue) mais aussi, par exemple, dans les comportements d'anxiété. La dopamine quant à elle intervient dans les fonctions motrices ainsi que dans les comportements motivés par une récompense (Schultz, 2007) et logiquement dans les comportements sociaux étudiés ici.



© 2000-2014 QIAGEN. All rights reserved.

Figure 8 : Schéma de la voie métabolique de la sérotonine (5-HT) (réalisé sous Igenuity Pathway Analysis).

Les protéines codées par les gènes candidats sont surlignées de violet. 1 : DDC. 2 : ADCY8. 3 : HTR2B. 4 : MAOA.



© 2000-2014 QIAGEN. All rights reserved.

Figure 9 : Schéma de la voie métabolique de la dopamine (réalisé sous Ingenuity Pathway Analysis).

Les protéines des gènes candidats sont entourées de violet. 1 : DDC. 2 : ADCY8. 3 : MAOA

Le QTL de réaction à l'isolement social identifié sur CJA19 contient deux gènes d'intérêt : *GTF2I* et *GTF2IDRI* qui, chez l'Homme, sont positionnés au sein du locus 7q11.23 du chromosome 7. La délétion de ce locus (qui contient plus d'une vingtaine de gènes) est à l'origine du syndrome de Williams et Beuren (Peoples, *et al.*, 2000). Les personnes atteintes présentent une apparence dite « elfique » (i.e un front large, un nez court, évasé et retroussé, une bouche large avec des lèvres charnues et une dentition irrégulière) ainsi que des problèmes cardio-vasculaires. Ils ont aussi le plus souvent une déficience mentale légère ou modérée (Martens, *et al.*, 2008 ; Merla, *et al.*, 2010). Cependant, le phénotype le plus marquant lié à ce syndrome est une hypersociabilité maintenue à l'âge adulte (Jones, *et al.*, 2000). Celle-ci s'exprime, par exemple, par un besoin d'entrée en contact avec des individus non-familiers (Dykens, 2003 ; Doyle, *et al.*, 2004). Selon, une hypothèse récente, cette sociabilité exacerbée aurait pour origine, en plus d'un manque d'inhibition, une perception anormale des expressions faciales et donc une déficience dans l'estimation des possibilités d'approches d'individus inconnus (Jaervinen-Pasley, *et al.*, 2010).

Les gènes *GTF2I* et *GTF2IRD1* sont des gènes appartenant à la famille des TFII-I, codant pour des facteurs de transcription (Merla, *et al.*, 2010) et auraient une action sur les fonctions visuelles et spatiales ainsi que sur le développement de la matière grise dans le cerveau (Hoeft, *et al.*, 2014). Leurs rôles dans la mise en place du syndrome de Williams et Beuren ne sont pas encore bien connus. Chez l'Homme, il a pu être montré que *GTF2I* pouvait être impliqué dans l'expression de la sociabilité (Dai, *et al.*, 2009). Ces résultats semblent être confirmés par une étude réalisée chez des souris Knock-Out hétérozygotes (un KO complet étant létal au stade embryonnaire) qui montrent une préférence pour la nouveauté sociale ainsi qu'une absence d'habituation à la nouveauté sociale. Cette absence d'habituation pourrait provenir de l'incapacité à reconnaître un individu familier d'un non-familier, ce qui pourrait être équivalent à l'incapacité de reconnaître des expressions faciales chez l'Homme (Sakurai, *et al.*, 2011). De façon intéressante, des enfants présentant une duplication du locus 7q11.23 montrent au contraire une déficience dans les comportements sociaux et une augmentation de leur propension à l'anxiété par rapport à des enfants non-atteints (Merla, *et al.*, 2010). Chez la souris, la duplication du gène *GTF2I* semble avoir pour effet une augmentation de l'anxiété associée à la séparation de la mère (Mervis, *et al.*, 2012). Enfin, dans le cadre de l'étude du gène *GTFIRD1*, une expérience réalisée chez la souris montre que

la délétion de ce gène induit une diminution de l'anxiété, de l'agressivité et une altération du métabolisme de la sérotonine (Young, *et al.*, 2008).

La relation entre ce QTL associé à la motivation sociale et le syndrome de Williams et Beuren est particulièrement intéressante car un homologue du gène *WBSCR17*, un autre gène du locus 7q11.23, est aussi associé à une région liée à la domestication du chien (von Holdt, *et al.*, 2010). Cette région chromosomique est elle-même homologue d'une région identifiée chez le renard comme étant associée à un comportement docile (Kukekova, *et al.*, 2011a ; Kukekova, *et al.*, 2012). La domestication et la sélection sur la docilité étant à l'origine de modifications des comportements, cette convergence d'observations entre l'Homme, le chien, le renard, la souris et la caille japonaise fait des gènes présents dans cette région des candidats particulièrement intéressants à explorer en relation avec le comportement social.

Tableau 2 : Gènes candidats identifiés dans les QTLs associés à la motivation sociale.

Chromosomes et QTLs	Gènes candidats	Protéine codée	Fonction de la protéine codée.
<b>CJA2</b>			
DistSR (146-159 cM)	<i>DDC</i>	Dopa Décarboxylase	Catalyse la décarboxylation du L-3,4-dihydroxyphénylalanine (DOPA) en dopamine, du L-5-hydroxytryptophane en sérotonine et du L-tryptophane en tryptamine.
DistIso (302-337 cM)	<i>ADCY8</i>	Adénylate Cyclase 8	Convertit l'ATP en cAMP et pyrophosphate.
<b>CJA4</b>			
DistIso (100-118 cM)	<i>ADH1C</i>	Alcool Déhydrogénase 1C	Dégrade des composés alcooliques (éthanol, rétinol, etc.)
	<i>GABRA2</i>	Récepteur GABA Alpha 2	Récepteur spécifique de l'acide $\gamma$ -aminobutyrique (neurotransmetteur GABA).
<b>CJA11</b>			
DistSR (34-49 cM)	<i>HTR2B</i>	Récepteur à la sérotonine 2B (5-HT2B)	Récepteur spécifique à la sérotonine (5-HT)



Tableau 3 (Suite) : **Gènes candidats identifiés dans les QTLs associés à la motivation sociale.**

<b>CJA19</b>			
DistIso (0-20 cM)	<i>GTF2I</i>	General Transcription Factor Ili	Ce gène code pour une phosphoprotéine se fixant sur les régions promoteurs et a donc une action de régulateur transcriptionnel.
	<i>GTF2IRD1</i>	GT2I Domaine Répété 1	La protéine codée par ce gène aurait un rôle de régulateur transcriptionnel.

#### 4) La sociabilité comme caractère de sélection.

Dans notre étude, nous avons pu montrer que l'amélioration des critères de motivation sociale pouvait avoir des conséquences positives sur des critères de production comme l'âge au premier œuf. De plus, nous n'observons pas de relations défavorables entre la motivation sociale et certains comportements potentiellement délétères en élevage tels les coups de becs agressifs ou la réactivité émotionnelle. Même s'ils doivent être confirmés en lignées commerciales, ces résultats sont donc en faveur d'une introduction des critères de motivation sociale en sélection. Dans une perspective d'application, se pose néanmoins la question des tests à mettre en œuvre en fonction de leur pertinence pour l'amélioration des comportements en élevage et de leur faisabilité.

Le test du tapis roulant est réalisé à un âge assez jeune (six à huit jours), bien avant la maturité sexuelle et développementale de l'animal, et il est possible que le profil comportemental évolue avec l'âge. Chez les femelles issues des lignées HSR et LSR, la persistance à l'âge adulte de la différence de motivation sociale entre les deux lignées a cependant été confirmée jusqu'à douze semaines par Formanek et ses collaborateurs (Formanek, *et al.*, 2008). Ces résultats sont cohérents avec les premières expériences de Launay et ses collaborateurs (Launay, *et al.*, 1993) sur la motivation de cailles âgées d'une, deux, quatre, six et dix semaines. Le second point, lié au précédent, est la possible association entre motivation sociale et agressivité. Selon les travaux de Schweitzer et ses collaborateurs (Schweitzer, *et al.*, 2009 ; Schweitzer, *et al.*, 2010a), les individus HSR réalisent plus de comportements agressifs (coups de bec agressifs, postures de menace) que les individus de la lignée LSR. Cependant, aucune corrélation significative n'a été mise en évidence au sein du dispositif F2 entre mesures de sociabilité et d'agressivité. Ce résultat illustre au passage que des différences observées entre des lignées divergentes et parfois extrêmes ne sont pas forcément retrouvées au sein de populations qui partagent un fond génétique plus homogène et présentent des réponses comportementales finalement plus complexes.

La motivation sociale possédant de multiples facettes, récemment a été proposé un test par Guzman et ses collaborateurs (Guzman, *et al.*, 2013) pour estimer la préférence d'une caille japonaise envers des groupes de congénères de faible ou de forte densité. Le matériel de test consiste en deux cages connectées par une zone centrale, chaque cage contenant dans sa section distale un groupe d'animaux en faible (3 animaux) ou forte (12 animaux) densité. La zone centrale est pourvue de quatre portes coulissantes pouvant ainsi, lorsqu'elles se ferment, séparer les animaux testés dans différentes zones de l'appareil de test. Au contraire lorsque les portes sont ouvertes, les animaux testés sont libres de se déplacer. Ces portes se ferment à intervalles réguliers (toutes

les heures), un score peut être attribué aux individus selon qu'ils se trouvent à proximité de la zone du groupe à forte ou faible densité. Ce score a permis de définir et de séparer des individus préférant les groupes à forte densité (HD) et ceux à faible densité (LD). La séparation des individus selon ces deux groupes a permis de mettre en évidence que les individus HD présentaient moins de comportements agressifs que les individus LD. Là où le test du tapis roulant mesurait la motivation à rejoindre des congénères, le test développé par Guzman et ses collaborateurs (2013) mesurerait plutôt la motivation à rester auprès de congénères. Il serait alors intéressant de confronter la réponse des individus des lignées HSR et LSR à ce nouveau test. S'il était confirmé que les individus HSR préfèrent les groupes à forte densité et par réciproque, les individus LSR ceux à faible densité, cela rendrait le test du tapis roulant d'autant plus intéressant qu'il ne dure que cinq minutes contre neuf heures pour le test de Guzman et ses collaborateurs (2013).

## Conclusions et perspectives

Appliquées sur un modèle particulièrement original de lignées de cailles sélectionnées de façon divergente sur la motivation sociale, les approches de génétique et de génomique mises en œuvre ont fait progresser notre connaissance du contrôle génétique et plus largement de la biologie des caractères comportementaux étudiés. Parmi les résultats marquants obtenus, nous observons des liens génétiques parfois étroits entre comportements et production, alertant sur un possible effet délétère de la sélection pour une plus forte productivité sur la sociabilité et la réactivité émotionnelle des animaux mais ouvrant aussi la voie à de possibles synergies. Afin d'élargir la portée de ces résultats, il serait important de les valider sur d'autres lignées, de cailles ou de poules, en particulier de type commercial.

Malgré un déterminisme complexe, cette étude a permis l'identification de plusieurs QTLs de motivation sociale chez la caille et a suggéré l'implication de plusieurs gènes candidats, dont certains interviennent directement ou indirectement dans les voies sérotoninergiques et dopaminergiques et d'autres sont liés à des pathologies affectant la sociabilité chez l'Homme. D'autres gènes, tel *MAOA* affectant l'agressivité, ont aussi été identifiés. Nos résultats ouvrent donc la voie à des approches plus ciblées pour valider les relations entre ces gènes et les comportements dans les deux lignées.

Par rapport à la poule, l'absence de génome de référence et d'outils de génotypage tels que les puces à SNP constitue un handicap au développement des études de génétique chez la caille. La carte de moyenne densité développée dans cette étude à partir de marqueurs SNP apporte un premier outil pour lever ces freins et pourra être exploitée sur d'autres dispositifs. La constitution d'un génome de référence chez la caille et le développement de nombreux marqueurs SNP devraient à moyen terme permettre d'autres types d'approches : de génétique d'association pour détecter plus finement les QTL ou de génomique fonctionnelle comme le RNAseq pour explorer les gènes ou réseaux de gènes impliqués. Ceci renforcera d'autant l'intérêt des lignées divergentes pour l'étude des phénotypes complexes que sont les comportements.

# Bibliographie

1. **Aerni V, Brinkhof MWG, Wechsler B, Oester H, Frohlich E:** Productivity and mortality of laying hens in aviaries: a systematic review. *Worlds Poult Sci J* 2005, **61**:130-142.
2. **Andersen IL, Naevdal E, Bakken M, Boe KE:** Aggression and group size in domesticated pigs, *Sus scrofa*: 'when the winner takes it all and the loser is standing small'. *Anim Behav* 2004, **68**:965-975.
3. **Anvret A, Ran C, Westerlund M, Gellhaar S, Lindqvist E, Pernold K, Lundstromer K, Duester G, Felder MR, Galter D, Belin AC:** Adh1 and Adh1/4 knockout mice as possible rodent models for presymptomatic Parkinson's disease. *Behavioural Brain Research* 2012, **227**:252-257.
4. **Arnone M, Dantzer R:** Does frustration induce aggression in Pigs ? *Applied Animal Ethology* 1980, **6**:351-362.
5. **Arnould C, Bery A, Porter RH:** Individual discrimination following 24 h of pair contact in one- and seven-day-old Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Behaviour* 2008, **145**:327-345.
6. **Aslam ML, Bastiaansen JWM, Crooijmans RPMA, Vereijken A, Megens H-J, Groenen MAM:** A SNP based linkage map of the turkey genome reveals multiple intrachromosomal rearrangements between the Turkey and Chicken genomes. *Bmc Genomics* 2010, **11**.
7. **Axelrod J, Reisine TD:** Stress hormones - Their interaction and regulation. *Science* 1984, **224**:452-459.
8. **Axelsson E, Webster MT, Smith NGC, Burt DW, Ellegren H:** Comparison of the chicken and turkey genomes reveals a higher rate of nucleotide divergence on microchromosomes than macrochromosomes. *Genome Res* 2005, **15**:120-125.
9. **Baker BS, Taylor BJ, Hall JC:** Are complex behaviors specified by dedicated regulatory genes? Reasoning from *Drosophila*. *Cell* 2001, **105**:13-24.
10. **Beaumont C, Roussot O, Feve K, Vignoles F, Leroux S, Pitel F, Faure JM, Mills AD, Guemene D, Sellier N, et al:** A genome scan with AFLP(TM) markers to detect fearfulness-related QTLs in Japanese quail. *Anim Genet* 2005, **36**:401-407.
11. **Beaumont C, Roussot O, Marissal-Avry N, Mormede P, Prunet P, Roubertoux P:** Genetics and adaptation: introduction. *Productions Animales* 2002, **15**:343-348.
12. **Belyaev DK:** Destabilizing selection as a factor in Domestication. *Journal of Heredity* 1979, **70**:301-308.
13. **Bennewitz J, Boegelein S, Stratz P, Rodehutsord M, Piepho HP, Kjaer JB, Bessei W:** Genetic parameters for feather pecking and aggressive behavior in a large F-2-cross of laying hens using generalized linear mixed models. *Poultry Science* 2014, **93**:810-817.
14. **Berg P, Hansen BK, Hansen SW, Malmkvist J:** *Both direct and indirect genetic effects influence behavioural response in mink*. 2002.
15. **Bernon DE, Siegel PB:** Mating frequency in male Japanese Quail - Crosses among selected and unselected lines. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 1983, **25**:450-456.
16. **Bessei W:** Genetic aspects of movement in the fowl and Japanese quail. *Aktuelle Arbeiten zur artgemassen Tierhaltung 1978 Bericht uber die Tagung der Deutschen Veterinarmedizinischen Gesellschaft eV Fachgruppe Verhaltensforschung vom 2-4 November 1978 im Tierhygienischen Institut Freiburg* 1979:142-152.
17. **Bessei W:** Genetics of feather pecking. In *Book Genetics of feather pecking* (Editor ed.^eds.). pp. 9-21. City; 1996:9-21.
18. **Bessei W:** Welfare of broilers: a review. *Worlds Poult Sci J* 2006, **62**:455-466.
19. **Bessei W, Bauhaus H, Boegelein S:** The effect of selection for high and low feather pecking on aggression - related behaviours of laying hens. *Archiv Fur Geflugelkunde* 2013, **77**:10-14.
20. **Bevilacqua L, Doly S, Kaprio J, Yuan QP, Tikkanen R, Paunio T, Zhou ZF, Wedenoja J, Maroteaux L, Diaz S, et al:** A population-specific HTR2B stop codon predisposes to severe impulsivity. *Nature* 2010, **468**:1061-U1460.
21. **Biscarini F, Bovenhuis H, van Arendonk JAM, Parmentier HK, Jungerius AP, van der Poel JJ:** Across-line SNP association study of innate and adaptive immune response in laying hens. *Animal Genetics* 2010, **41**:26-38.

22. **Bizeray D, Leterrier C, Constantin P, Le Pape G, Faure JM:** Typology of activity bouts and effect of fearfulness on behaviour in meat-type chickens. *Behavioural Processes* 2002, **58**:45-55.
23. **Blohowiak CC, Zelenka DJ, Siegel PB:** Ontogeny of aggressive sexual behavior between males in lines of Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) selected for male mating frequency. *J Comp Psychol* 1985, **99**:30-34.
24. **Blokhuis HJ, Metz JHM:** Integration of animal-welfare into housing systems for laying hens. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 1992, **40**:327-337.
25. **Bogdan R, Pringle PL, Goetz EL, Pizzagalli DA:** Perceived Stress, Anhedonia and Illusion of Control: Evidence for Two Mediation Models. *Cognitive Therapy and Research* 2012, **36**:827-832.
26. **Bohus B, Benus RF, Fokkema DS, Koolhaas JM, Nyakas C, van Oortmerssen GA, Prins AJA, de Ruiter AJH, Scheurink AJW, Steffens AB:** Neuroendocrine states and behavioral and physiological stress responses. *Progress in Brain Research* 1987, **72**:57-70.
27. **Boissy A, Manteuffel G, Jensen MB, Moe RO, Spruijt B, Keeling LJ, Winckler C, Forkman B, Dimitrov I, Langbein J, et al:** Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiology & Behavior* 2007, **92**:375-397.
28. **Boissy A, Terlouw C, Le Neindre P:** Presence of cues from stressed conspecifics increases reactivity to aversive events in cattle: Evidence for the existence of alarm substances in urine. *Physiology & Behavior* 1998, **63**:489-495.
29. **Boissy A, Veissier I, Roussel S:** Behavioural reactivity affected by chronic stress: An experimental approach in calves submitted to environmental instability. *Animal Welfare* 2001, **10**:S175-S185.
30. **Bolhuis JE, Schouten WGP, de Leeuw JA, Schrama JW, Wiegant VA:** Individual coping characteristics, rearing conditions and behavioural flexibility in pigs. *Behavioural Brain Research* 2004, **152**:351-360.
31. **Bony JBM:** Comparaisons de différentes nature de couchage pour les vaches laitières en logettes. In *Rencontre autour des Recherches sur les Ruminants*. 2000
32. **Botreau R, Bonde M, Butterworth A, Perny P, Bracke MBM, Capdeville J, Veissier I:** Aggregation of measures to produce an overall assessment of animal welfare. Part 1: a review of existing methods. *Animal* 2007, **1**:1179-1187.
33. **Botreau R, Bracke MBM, Perny R, Butterworth A, Capdeville J, Van Reenen CG, Veissier I:** Aggregation of measures to produce an overall assessment of animal welfare. Part 2: analysis of constraints. *Animal* 2007, **1**:1188-1197.
34. **Broom DM:** Applications of neurobiological studies to farm animal welfare. *Biology of stress in farm animals: an integrative approach* 1987:101-110.
35. **Broom DM:** Animal-welfare - Concepts and measurement. *Journal of Animal Science* 1991, **69**:4167-4175.
36. **Bruford MW, Bradley DG, Luikart G:** DNA markers reveal the complexity of livestock domestication. *Nature Reviews Genetics* 2003, **4**:900-910.
37. **Buitenhuis AJ, Kjaer JB:** Long term selection for reduced or increased pecking behaviour in laying hens. *Worlds Poult Sci J* 2008, **64**:477-487.
38. **Buitenhuis AJ, Kjaer JB, Labouriau R, Juul-Madsen HR:** Altered circulating levels of serotonin and immunological changes in laying hens divergently selected for feather pecking behavior. *Poultry Science* 2006, **85**:1722-1728.
39. **Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, Siwek M, Cornelissen SJB, Nieuwland MGB, Crooijmans R, Groenen MAM, Koene P, Bovenhuis H, van der Poel JJ:** Identification of quantitative trait loci for receiving pecks in young and adult laying hens. *Poultry Science* 2003b, **82**:1661-1667.
40. **Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, Siwek M, Cornelissen SJB, Nieuwland MGB, Crooijmans R, Groenen MAM, Koene P, Bovenhuis H, van der Poel JJ:** Identification of QTLs involved in open-field behavior in young and adult laying hens. *Behav Genet* 2004, **34**:325-333.
41. **Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, van Hierden YM, Siwek M, Cornelissen SJB, Nieuwland MGB, Crooijmans R, Groenen MAM, Koene P, Korte SM, et al:** Mapping quantitative trait loci affecting feather pecking behavior and stress response in laying hens. *Poultry Science* 2003a, **82**:1215-1222.



42. **Buitenhuis AJ, Rodenburg TB, Wissink PH, Visscher J, Koene P, Bovenhuis H, Ducro BJ, van der Poel JJ:** Genetic and phenotypic correlations between feather pecking behavior, stress response, immune response, and egg quality traits in laying hens. *Poultry Science* 2004, **83**:1077-1082.
43. **Buitenhuis B, Hedegaard J, Janss L, Sorensen P:** Differentially expressed genes for aggressive pecking behaviour in laying hens. *Bmc Genomics* 2009, **10**.
44. **Burman OHP, Ilyat A, Jones G, Mendl M:** Ultrasonic vocalizations as indicators of welfare for laboratory rats (*Rattus norvegicus*). *Applied Animal Behaviour Science* 2007, **104**:116-129.
45. **Burns M, Domjan M, Mills AD:** Effects of genetic selection for fearfulness or social reinstatement behavior on adult social and sexual behavior in domestic quail (*Coturnix japonica*). *Psychobiology* 1998, **26**:249-257.
46. **Burt DW:** Origin and evolution of avian microchromosomes. *Cytogenetic and Genome Research* 2002, **96**:97-112.
47. **Burt DW, Bruley C, Dunn IC, Jones CT, Ramage A, Law AS, Morrice DR, Paton IR, Smith J, Windsor D, et al:** The dynamics of chromosome evolution in birds and mammals. *Nature* 1999, **402**:411-413.
48. **Callebert J, Esteve JM, Herve P, Peoc'h K, Tournois C, Drouet L, Launay JM, Maroteaux L:** Evidence for a control of plasma serotonin levels by 5-hydroxytryptamine(2B) receptors in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2006, **317**:724-731.
49. **Campo JL, Carnicer C:** Realized heritability of tonic immobility in White Leghorn hens - A replicated single generation test. *Poultry Science* 1993, **72**:2193-2199.
50. **Canario L, Mignon-Grasteau S, Dupont-Nivet M, Phocas F:** Genetics of behavioural adaptation of livestock to farming conditions. *Animal* 2013, **7**:357-377.
51. **Caporale V, Alessandrini B, Dalla Villa P, Del Papa S:** Global perspectives on animal welfare: Europe. *Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties* 2005, **24**:567-577.
52. **Carere C, Welink D, Drent PJ, Koolhaas JM, Groothuis TGG:** Effect of social defeat in a territorial bird (*Parus major*) selected for different coping styles. *Physiology & Behavior* 2001, **73**:427-433.
53. **Carmichael NL, Jones RB, Mills AD:** Social preferences in Japanese quail chicks from lines selected for low or high social reinstatement motivation: effects of number and line identity of the stimulus birds. *Applied Animal Behaviour Science* 1998, **58**:353-363.
54. **Carpenter E:** *Animals and ethics.*: Watkins Publishing; 1980.
55. **Cases O, Seif I, Grimsby J, Gaspar P, Chen K, Pournin S, Muller U, Aguet M, Babinet C, Shih JC, Demaeyer E:** Aggressive-behavior and altered amounts of brain-serotonin and norepinephrine in mice lacking *MAOA*. *Science* 1995, **268**:1763-1766.
56. **Cesarini D, Dawes CT, Fowler JH, Johannesson M, Lichtenstein P, Wallace B:** Heritability of cooperative behavior in the trust game. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2008, **105**:3721-3726.
57. **Chaloupkova H, Illmann G, Bartos L, Spinka M:** The effect of pre-weaning housing on the play and agonistic behaviour of domestic pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 2007, **103**:25-34.
58. **Chang GB, Chang H, Liu XP, Xu W, Wang HY, Zhao WM, Olowofeso O:** Developmental research on the origin and phylogeny of quails. *Worlds Poult Sci J* 2005, **61**:105-112.
59. **Chang GB, Liu XP, Chang H, Chen GH, Zhao WM, Ji DJ, Chen R, Qin YR, Shi XK, Hu GS:** Behavior differentiation between wild Japanese quail, domestic quail, and their first filial generation. *Poultry Science* 2009, **88**:1137-1142.
60. **Chase ID, Bartolomeo C, Dugatkin LA:** Aggressive interactions and inter-contest interval - How long do winners keep winning. *Anim Behav* 1994, **48**:393-400.
61. **Chaves LD, Krueth SB, Reed KM:** Defining the Turkey MHC: Sequence and Genes of the B Locus. *Journal of Immunology* 2009, **183**:6530-6537.
62. **Cheng HW, Dillworth G, Singleton P, Chen Y, Muir WM:** Effects of group selection for productivity and longevity on blood concentrations of serotonin, catecholamines, and corticosterone of laying hens. *Poultry Science* 2001, **80**:1278-1285.
63. **Cheng KM, Siegel PB:** Quantitative genetics of multiple mating. *Anim Behav* 1990, **40**:406-407.

64. **Choleris E, Clipperton AE, Phan A, Kavaliers M:** Estrogen receptor beta agonists in neurobehavioral investigations. *Current Opinion in Investigational Drugs* 2008, **9**:760-773.
65. **Choleris E, Kavaliers M, Pfaff DW:** Functional genomics of social recognition. *Journal of Neuroendocrinology* 2004, **16**:383-389.
66. **Choleris E, Ogawa S, Kavaliers M, Gustafsson JA, Korach KS, Muglia LJ, Pfaff DW:** Involvement of estrogen receptor alpha, beta and oxytocin in social discrimination: a detailed behavioral analysis with knockout female mice. *Genes Brain and Behavior* 2006, **5**:528-539.
67. **Chow A, Hogan JA:** The development of feather pecking in Burmese Red Junglefowl: the influence of early experience with exploratory-rich environments. *Applied Animal Behaviour Science* 2005, **93**:283-294.
68. **Cloutier S, Newberry RC, Honda K, Alldredge JR:** Cannibalistic behaviour spread by social learning. *Anim Behav* 2002, **63**:1153-1162.
69. **Clutton-Brock J:** Domestication in animals. In *The Cambridge Encyclopaedia of Human Evolution*. Edited by Jones S, Martin, R., Pilbeam, D. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 1992: pp. 380-385
70. **Collias NE, Collias EC:** Social organization of a Red Junglefowl, *Gallus gallus*, population related to evolution theory. *Anim Behav* 1996, **51**:1337-1354.
71. **Crabbe JC, Phillips TJ, Feller DJ, Hen R, Wenger CD, Lessov CN, Schafer GL:** Elevated alcohol consumption in null mutant mice lacking 5-HT1B serotonin receptors. *Nature Genetics* 1996, **14**:98-101.
72. **Craig JV, Muir WM:** Selection for reduction of beak-inflicted injuries among caged hens. *Poultry Science* 1993, **72**:411-420.
73. **Crawford RD:** Origins and history of poultry species. In *Poultry breedings Developpements in animal and veterinary sciences. Volume 22*. Edited by Crawford RD. Amsterdam; 1990: 1-41
74. **Crowe TM, Bowie RCK, Bloomer P, Mandiwana TG, Hedderson TAJ, Randi E, Pereira SL, Wakeling J:** Phylogenetics, biogeography and classification of, and character evolution in, gamebirds (Aves : Galliformes): effects of character exclusion, data partitioning and missing data. *Cladistics* 2006, **22**:495-532.
75. **Cunningham DL, Siegel PB:** Response to bidirectionnal and reverse selection for mating-behavior in Japanese Quail; *Coturnix coturnix japonica*. *Behavior Genetics* 1978, **8**:387-397.
76. **D'Eath RB, Conington J, Lawrence AB, Olsson IAS, Sandoe P:** Breeding for behavioural change in farm animals: practical, economic and ethical considerations. *Animal Welfare* 2010, **19**:17-27.
77. **D'Eath RB, Keeling LJ:** Social discrimination and aggression by laying hens in large groups: from peck orders to social tolerance. *Applied Animal Behaviour Science* 2003, **84**:197-212.
78. **Dai L, Bellugi U, Chen XN, Pulst-Korenberg AM, Jarvinen-Pasley A, Tirosh-Wagner T, Eis PS, Graham J, Mills D, Searcy Y, Korenberg JR:** Is It Williams Syndrome? GTF2IRD1 Implicated in Visual-Spatial Construction and GTF2I in Sociability Revealed by High Resolution Arrays. *American Journal of Medical Genetics Part A* 2009, **149A**:302-314.
79. **Dalloul RA, Long JA, Zimin AV, Aslam L, Beal K, Blomberg LA, Bouffard P, Burt DW, Crasta O, Crooijmans RPMA, et al:** Multi-Platform Next-Generation Sequencing of the Domestic Turkey (*Meleagris gallopavo*): Genome Assembly and Analysis. *Plos Biology* 2010, **8**.
80. **Danchev N, Stanevastoytcheva D:** Effects of the beta-adrenergic blockers propranolol and acebutol on stress-induced learned helplessness behavior of Rats. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* 1995, **17**:463-467.
81. **Dantzer R:** *Les Emotions*. Paris: Presses Universitaires de France; 1988.
82. **Dawkins MS:** *La souffrance animale*. Maisons-Alfort: Editions du Point Vétérinaire; 1983.
83. **de Haas EN, Nielsen BL, Buitenhuis AJ, Rodenburg TB:** Selection on feather pecking affects response to novelty and foraging behaviour in laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* 2010, **124**:90-96.
84. **De Jong G:** Quantitative genetics of reaction norms. *Journal of Evolutionary Biology* 1990, **3**:447-468.

85. **De Kloet ER:** Adrenal-steroid as modulator of nerve-cell function. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 1984, **20**:175-181.
86. **De Leeuw JA, Ekkel ED:** Effects of feeding level and the presence of a foraging substrate on the behaviour and stress physiological response of individually housed gilts. *Applied Animal Behaviour Science* 2004, **86**:15-25.
87. **de Mooij-van Malsen A, van Lith HA, Oppelaar H, Hendriks J, de Wit M, Kostrzewa E, Breen G, Collier DA, Olivier B, Kas MJ:** Interspecies Trait Genetics Reveals Association of Adcy8 with Mouse Avoidance Behavior and a Human Mood Disorder. *Biological Psychiatry* 2009, **66**:1123-1130.
88. **de Oliveira EHC, Habermann FA, Lacerda O, Sbalqueiro IJ, Wienberg J, Muller S:** Chromosome reshuffling in birds of prey: the karyotype of the world's largest eagle (Harpy eagle, *Harpia harpyja*) compared to that of the chicken (*Gallus gallus*). *Chromosoma* 2005, **114**:338-343.
89. **Delany ME, Robinson CM, Goto RM, Miller MM:** Architecture and Organization of Chicken Microchromosome 16: Order of the NOR, MHC-Y, and MHC-B Subregions. *Journal of Heredity* 2009, **100**:507-514.
90. **Dempster ER, Lerner IM:** Heritability of Threshold Characters. *Genetics* 1950, **35**:212-236.
91. **Dennis RL, Chen ZQ, Cheng HW:** Serotonergic mediation of aggression in high and low aggressive chicken strains. *Poultry Science* 2008, **87**:612-620.
92. **Dennis RL, Cheng HW:** The dopaminergic system and aggression in laying hens. *Poultry Science* 2011, **90**:2440-2448.
93. **Dennis RL, Cheng HW:** Effects of selective serotonin antagonism on central neurotransmission. *Poultry Science* 2012, **91**:817-822.
94. **Derjusheva S, Kurganova A, Habermann F, Gaginskaya E:** High chromosome conservation detected by comparative chromosome painting in chicken, pigeon and passerine birds. *Chromosome Research* 2004, **12**:715-723.
95. **Desire L, Boissy A, Veissier I:** Emotions in farm animals: a new approach to animal welfare in applied ethology. *Behav Processes* 2002, **60**:165-180.
96. **DeVries AC, Glasper ER, Detillion CE:** Social modulation of stress responses. *Physiology & Behavior* 2003, **79**:399-407.
97. **DeVries TJ, Vankova M, Veira DM, von Keyserlingk MAG:** Short communication: Usage of mechanical brushes by lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2007, **90**:2241-2245.
98. **Diamond J:** *Guns, Germs and Steel: the Fate of Human Societies*. New York; 1999.
99. **Dimcheff DE, Krishnan M, Mindell DP:** Evolution and characterization of tetraonine endogenous retrovirus: A new virus related to avian sarcoma and leukosis viruses. *Journal of Virology* 2001, **75**:2002-2009.
100. **Dixon LM:** Feather pecking behaviour and associated welfare issues in laying hens. *Avian Biology Research* 2008, **1**:73-87.
101. **Dixon LM, Duncan IJH, Mason G:** What's in a peck? Using fixed action pattern morphology to identify the motivational basis of abnormal feather-pecking behaviour. *Anim Behav* 2008, **76**:1035-1042.
102. **Donaldson SI, Grant-Vallone EJ:** Understanding self-report bias in organizational behavior research. *Journal of Business and Psychology* 2002, **17**:245-260.
103. **Doyle RE, Lee C, Deiss V, Fisher AD, Hinch GN, Boissy A:** Measuring judgement bias and emotional reactivity in sheep following long-term exposure to unpredictable and aversive events. *Physiology & Behavior* 2011, **102**:503-510.
104. **Doyle TF, Bellugi U, Korenberg JR, Graham J:** "Everybody in the world is my friend" hypersociability in young children with Williams syndrome. *American Journal of Medical Genetics Part A* 2004, **124A**:263-273.
105. **Drago A, Serretti A:** Focus on HTR2C: A Possible Suggestion for Genetic Studies of Complex Disorders. *American Journal of Medical Genetics Part B-Neuropsychiatric Genetics* 2009, **150B**:601-637.

106. **Dudink S, Simonse H, Marks I, de Jonge FH, Spruijt BM:** Announcing the arrival of enrichment increases play behaviour and reduces weaning-stress-induced behaviours of piglets directly after weaning. *Applied Animal Behaviour Science* 2006, **101**:86-101.
107. **Dugatkin LA, Druen M:** The social implications of winner and loser effects. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 2004, **271**:S488-S489.
108. **Dugatkin LA, Earley RL:** Individual recognition, dominance hierarchies and winner and loser effects. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 2004, **271**:1537-1540.
109. **Duncan IJH:** Frustration in the fowl. In *Aspects of Poultry Behaviour*. Edited by R.F. FBMG. Edinburgh: British Poultry Science; 1970: 15-31
110. **Duncan IJH:** Poultry welfare: science or subjectivity? *British Poultry Science* 2002, **43**:643-652.
111. **Duncan IJH:** Science-based assessment of animal welfare: farm animals. *Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties* 2005, **24**:483-492.
112. **Duncan IJH, Fraser D:** *Understanding animal welfare*. 1997.
113. **Dunn AJ, Berridge CW:** Is corticotropin-releasing factor a mediator of stress responses ? *Annals of the New York Academy of Sciences* 1990, **579**:183-191.
114. **Dyke GJ, Gulas BE, Crowe TM:** Suprageneric relationships of galliform birds (Aves, Galliformes): a cladistic analysis of morphological characters. *Zoological Journal of the Linnean Society* 2003, **137**:227-244.
115. **Dykens EM:** Anxiety, fears, and phobias in persons with Williams syndrome. *Developmental Neuropsychology* 2003, **23**:291-316.
116. **Edwards SL, Beesley J, French JD, Dunning AM:** Beyond GWASs: Illuminating the Dark Road from Association to Function. *Am J Hum Genet* 2013, **93**:779-797.
117. **Eipper BA, Mains RE:** Structure and biosynthesis of pro-adrenocorticotropin/endorphin and related peptides. *Endocrine Reviews* 1980, **1**:1-27.
118. **Eklund B, Jensen P:** Domestication effects on behavioural synchronization and individual distances in chickens (*Gallus gallus*). *Behavioural Processes* 2011, **86**:250-256.
119. **El-Iethy H, Jungi TW, Huber-Eicher B:** Effects of feeding corticosterone and housing conditions on feather pecking in laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Physiology & Behavior* 2001, **73**:243-251.
120. **Ellegren H:** Evolutionary stasis: the stable chromosomes of birds. *Trends in Ecology & Evolution* 2010, **25**:283-291.
121. **Ellegren H:** The Evolutionary Genomics of Birds. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, Vol 44* 2013, **44**:239-259.
122. **Elsen JM, Mangin B, Goffinet B, Boichard D, Le Roy P:** Alternative models for QTL detection in livestock. I. General introduction. *Genetics Selection Evolution* 1999, **31**:213-224.
123. **Eltanany M, Distl O:** Genetic diversity and genealogical origins of domestic chicken. *Worlds Poult Sci J* 2010, **66**:715-726.
124. **Engin E, Liu J, Rudolph U:** alpha 2-containing GABA(A) receptors: A target for the development of novel treatment strategies for CNS disorders. *Pharmacology & Therapeutics* 2012, **136**:142-152.
125. **Eriksson J, Larson G, Gunnarsson U, Bed'hom B, Tixier-Boichard M, Stromstedt L, Wright D, Jungerius A, Vereijken A, Randi E, et al:** Identification of the Yellow skin gene reveals a hybrid origin of the domestic chicken. *Plos Genetics* 2008, **4**.
126. **Estevez I, Keeling LJ, Newberry RC:** Decreasing aggressions with increasing group size in young domestic fowl. *Applied Animal Behaviour Science* 2003, **84**:213-218.
127. **Estevez I, Newberry RC, Keeling LJ:** Dynamics of aggression in the domestic fowl. *Applied Animal Behaviour Science* 2002, **76**:307-325.
128. **Estevez I, Newberry, R.C., Arias de Reyna, L.:** Broiler chickens: a tolerant social system? *Etológica* 1997:19-29.
129. **Falconer DS, Mackay TFC:** *Introduction to quantitative genetics*. 1996.
130. **Faure JM, Folmer JC, Morozeau F:** Etude genetique de l'activite precoce en open-field du jeune poussin. *Annales De Genetique Et De Selection Animale* 1975, **7**:123-132.

131. **Flink LG, Allen R, Barnett R, Malmstrom H, Peters J, Eriksson J, Andersson L, Dobney K, Larson G:** Establishing the validity of domestication genes using DNA from ancient chickens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2014, **111**:6184-6189.
132. **Flisikowski K, Schwarzenbacher H, Wysocki M, Weigend S, Preisinger R, Kjaer JB, Fries R:** Variation in neighbouring genes of the dopaminergic and serotonergic systems affects feather pecking behaviour of laying hens. *Animal Genetics* 2009, **40**:192-199.
133. **Fokkema DS, Koolhaas JM, Vandergugten J:** Individual characteristics of behavior, blood-pressure, and adrenal hormones in colony rats. *Physiology & Behavior* 1995, **57**:857-862.
134. **Forkman B, Boissy A, Meunier-Salauen MC, Canali E, Jones RB:** A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiol Behav* 2007, **92**:340-374.
135. **Formanek L, Houdelier C, Lumineau S, Bertin A, Cabanes G, Richard-Yris M-A:** Selection of social traits in juvenile Japanese quail affects adults' behaviour. *Appl Anim Behav Sci* 2008, **112**:174-186.
136. **Fowler JH, Dawes CT, Christakis NA:** Model of genetic variation in human social networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2009, **106**:1720-1724.
137. **Fox MW:** *The dog: its domestication and behavior.* 1978.
138. **Francois N, Decros S, Picard M, Faure JM, Mills AD:** Effect of group disruption on social behaviour in lines of Japanese quail (*Coturnix japonica*) selected for high or low levels of social reinstatement behaviour. *Behavioural Processes* 2000, **48**:171-181.
139. **Francois N, Mills AD, Faure JM:** Inter-individual distances during open-field tests in Japanese quail (*Coturnix japonica*) selected for high or low levels of social reinstatement behaviour. *Behavioural Processes* 1999, **47**:73-80.
140. **Fraser D:** Toward a global perspective on farm animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science* 2008, **113**:330-339.
141. **Fraser D, Duncan IJH:** 'Pleasures','pains' and animal welfare: Toward a natural history of affect. *Animal Welfare* 1998, **7**:383-396.
142. **Freeman JL, Perry GH, Feuk L, Redon R, McCarroll SA, Altshuler DM, Aburatani H, Jones KW, Tyler-Smith C, Hurles ME, et al:** Copy number variation: New insights in genome diversity. *Genome Res* 2006, **16**:949-961.
143. **Fresard L, Leroux S, Dehais P, Servin B, Gilbert H, Bouchez O, Klopp C, Cabau C, Vignoles F, Feve K, et al:** Fine mapping of complex traits in non-model species: using next generation sequencing and advanced intercross lines in Japanese quail. *Bmc Genomics* 2012, **13**:11.
144. **Fridolfsson AK, Cheng H, Copeland NG, Jenkins NA, Liu HC, Raudsepp T, Woodage T, Chowdhary B, Halverson J, Ellegren H:** Evolution of the avian sex chromosomes from an ancestral pair of autosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1998, **95**:8147-8152.
145. **Fumihito A, Miyake T, Sumi SI, Takada M, Ohno S, Kondo N:** One subspecies of the Red Junglefowl (*Gallus gallus gallus*) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994, **91**:12505-12509.
146. **Galkina S, Deryusheva S, Fillon V, Vignal A, Crooijmans R, Groenen M, Rodionov A, Gaginskaya E:** FISH on avian lampbrush chromosomes produces higher resolution gene mapping. *Genetica* 2006, **128**:241-251.
147. **Gentle MJ:** Pain issues in poultry. *Applied Animal Behaviour Science* 2011, **135**:252-258.
148. **Gerken M, Petersen J:** The influence of sex and genotype on dustbathing in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Archiv Fur Geflugelkunde* 1985, **49**:237-246.
149. **Ghareeb K:** Presence of males within laying hens affects tonic immobility response and sociality. *International Journal of Poultry Science* 2010, **9**:1087-1091.
150. **Gholizadeh M, Mianji GR:** Use of microsatellite markers in poultry research. *International Journal of Poultry Science* 2007, **6**:145-153.

151. **Gogoleva SS, Volodin IA, Volodina EV, Kharlamova AV, Trut LN:** Kind granddaughters of angry grandmothers: The effect of domestication on vocalization in cross-bred silver foxes. *Behavioural Processes* 2009, **81**:369-375.
152. **Gogoleva SS, Volodin IA, Volodina EV, Kharlamova AV, Trut LN:** Vocalization toward conspecifics in silver foxes (*Vulpes vulpes*) selected for tame or aggressive behavior toward humans. *Behavioural Processes* 2010, **84**:547-554.
153. **Gogoleva SS, Volodin IA, Volodina EV, Kharlamova AV, Trut LN:** Explosive vocal activity for attracting human attention is related to domestication in silver fox. *Behavioural Processes* 2011, **86**:216-221.
154. **Gogoleva SS, Volodin IA, Volodina EV, Kharlamova AV, Trut LN:** Effects of selection for behavior, human approach mode and sex on vocalization in silver fox. *Journal of Ethology* 2013, **31**:95-100.
155. **Gouveia JJdS, Silva MVGBd, Paiva SR, Oliveira SnMPd:** Identification of selection signatures in livestock species. *Genetics and Molecular Biology* 2014, **37**:330-342.
156. **Grandin T:** *Genetics and the Behavior of Domestic Animals*. Academic Press; 1998.
157. **Green P., Falls K., Crooks S.:** Cri-Map Version 2.4. 1990.
158. **Gregory TR:** *The evolution of the genome*. Academic Press; 2005.
159. **Greiveldinger L, Veissier I, Boissy A:** Behavioural and physiological responses of lambs to controllable vs. uncontrollable aversive events. *Psychoneuroendocrinology* 2009, **34**:805-814.
160. **Griffin DK, Robertson LB, Tempest HG, Vignal A, Fillon V, Crooijmans RPMA, Groenen MAM, Deryusheva S, Gaginskaya E, Carre W, et al:** Whole genome comparative studies between chicken and turkey and their implications for avian genome evolution. *Bmc Genomics* 2008, **9**.
161. **Griffin DK, Robertson LBW, Tempest HG, Skinner BM:** The evolution of the avian genome as revealed by comparative molecular cytogenetics. *Cytogenetic and Genome Research* 2007, **117**:64-77.
162. **Grigor PN, Hughes, B.O., Appleby, M.C., :** Social inhibition of movement in domestic hens. *Anim Behav* 1995:1381-1388.
163. **Gruszczynska J, Michalska E:** Application of chicken microsatellite markers to molecular monitoring of the experimental population of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Animal Science Papers and Reports* 2013, **31**:73-84.
164. **Guhl AM (Ed.).** Social behavior of the domestic fowl; 1953.
165. **Gulevich RG, Oskina IN, Shikhevich SG, Fedorova EV, Trut LN:** Effect of selection for behavior on pituitary-adrenal axis and proopiomelanocortin gene expression in silver foxes (*Vulpes vulpes*). *Physiology & Behavior* 2004, **82**:513-518.
166. **Gutierrez-Gil B, Ball N, Burton D, Haskell M, Williams JL, Wiener P:** Identification of Quantitative Trait Loci Affecting Cattle Temperament. *Journal of Heredity* 2008, **99**:629-638.
167. **Guttenbach M, Nanda I, Feichtinger W, Masabanda JS, Griffin DK, Schmid M:** Comparative chromosome painting of chicken autosomal paints 1-9 in nine different bird species. *Cytogenetic and Genome Research* 2003, **103**:173-184.
168. **Guzman DA, Pellegrini S, Kembro JM, Marin RH:** Social interaction of juvenile Japanese quail classified by their permanence in proximity to a high or low density of conspecifics. *Poultry Science* 2013, **92**:2567-2575.
169. **Hackett SJ, Kimball RT, Reddy S, Bowie RCK, Braun EL, Braun MJ, Chojnowski JL, Cox WA, Han K-L, Harshman J, et al:** A phylogenomic study of birds reveals their evolutionary history. *Science* 2008, **320**:1763-1768.
170. **Hale EB:** Domestication and the evolution of behavior. In *The Behavior of the Domestic Animals*. Edited by Bailliere TT. London: E.S.E Hafez; 1969: pp. 22-42
171. **Handa RJ, Weiser MJ:** Gonadal steroid hormones and the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2014, **35**:197-220.
172. **Hansen CPB:** Stereotypies in ranch mink - The effect of genes, litter size and neighbors. *Behavioural Processes* 1993, **29**:165-178.

173. **Hansen SW:** Selection for behavioural traits in farm mink. *Applied Animal Behaviour Science* 1996, **49**:137-148.
174. **Harding EJ, Paul ES, Mendl M:** Animal behavior - Cognitive bias and affective state. *Nature* 2004, **427**:312-312.
175. **Hare B, Plyusnina I, Ignacio N, Schepina O, Stepika A, Wrangham R, Trut L:** Social cognitive evolution in captive foxes is a correlated by-product of experimental domestication. *Current Biology* 2005, **15**:226-230.
176. **Harlander-Matauschek A, Haeusler K:** Understanding feather eating behaviour in laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* 2009, **117**:35-41.
177. **Haskell M, Coerse NCA, Forkman B:** Frustration-induced aggression in the domestic hen: The effect of thwarting access to food and water on aggressive responses and subsequent approach tendencies. *Behaviour* 2000, **137**:531-546.
178. **Hayashi I, Ono Y, Matsushima T:** Visual cues for suppressing isolation-induced distress calls in quail chicks. *Zoological Science* 2001, **18**:1065-1071.
179. **Held SDE, Spinka M:** Animal play and animal welfare. *Anim Behav* 2011, **81**:891-899.
180. **Hen R, Saudou F, Amara DA, Belzung C, Dierich A, Lemeur M, Ramboz S, Segu L, Misslin R, Buhot M:** Enhanced aggressive-behavior in mice lacking 5-HT1B Receptor. *Behavior Genetics* 1995, **25**:298-298.
181. **Henry L, Le Cars K, Mathelier M, Bruderer C, Hausberger M:** The use of a mirror as a 'social substitute' in laboratory birds. *Comptes Rendus Biologies* 2008, **331**:526-531.
182. **Hillier LW, Miller W, Birney E, Warren W, Hardison RC, Ponting CP, Bork P, Burt DW, Groenen MAM, Delany ME, et al:** Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature* 2004, **432**:695-716.
183. **Hirschenhauser K, Wittek M, Johnston P, Moestl E:** Social context rather than behavioral output or winning modulates post-conflict testosterone responses in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Physiol Behav* 2008, **95**:457-463.
184. **Hoelt F, Dai L, Haas BW, Sheau K, Mimura M, Mills D, Galaburda A, Bellugi U, Korenberg JR, Reiss AL:** Mapping genetically controlled neural circuits of social behavior and visuo-motor integration by a preliminary examination of atypical deletions with Williams syndrome. *Plos One* 2014, **9**:e104088-e104088.
185. **Hosomichi K, Shiina T, Suzuki S, Tanaka M, Shimizu S, Iwamoto S, Hara H, Yoshida Y, Kulski JK, Inoko H, Hanzawa K:** The major histocompatibility complex (MHC) class IIB region has greater genomic structural flexibility and diversity in the quail than the chicken. *Bmc Genomics* 2006, **7**.
186. **Howes JR:** Japanese Quail as found in Japan. *Quail Q* 1964:19-30.
187. **Hoyer D, Hannon JP, Martin GR:** Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2002, **71**:533-554.
188. **Huff ME, Balch WE, Kelly JW:** Pathological and functional amyloid formation orchestrated by the secretory pathway. *Current Opinion in Structural Biology* 2003, **13**:674-682.
189. **Hughes AL, Buitenhuis AJ:** Reduced variance of gene expression at numerous loci in a population of chickens selected for high feather pecking. *Poultry Science* 2010, **89**:1858-1869.
190. **Hughes AL, Yeager M:** Natural selection at major histocompatibility complex loci of vertebrates. *Annual Review of Genetics* 1998, **32**:415-435.
191. **Hughes BO:** Behaviour as an index of welfare [poultry]. *5th European Poultry Conference, Malta 5th-11th September 1976 Volume II* 1976:1005-1018.
192. **Hughes BO, Carmichael NL, Walker AW, Grigor PN:** Low incidence of aggression in large flocks of laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* 1997, **54**:215-234.
193. **Inoue-Murayama M, Kayang BB, Kimura K, Ide H, Nomura A, Takahashi H, Nagamine Y, Takeda T, Hanada H, Tatsuda K, et al:** Chicken microsatellite primers are not efficient markers for Japanese quail. *Animal Genetics* 2001, **32**:7-11.
194. **Iwamoto K, Bundo M, Kato T:** Serotonin receptor 2C and mental disorders Genetic, expression and RNA editing studies. *Rna Biology* 2009, **6**:248-253.

195. **Jaervinen-Pasley A, Adolphs R, Yam A, Hill KJ, Grichanik M, Reilly J, Mills D, Reiss AL, Korenberg JR, Bellugi U:** Affiliative behavior in Williams syndrome: Social perception and real-life social behavior. *Neuropsychologia* 2010, **48**:2110-2119.
196. **Jarvis S, Reed BT, Lawrence AB, Calvert SK, Stevenson J:** Peri-natal environmental effects on maternal behaviour, pituitary and adrenal activation, and the progress of parturition in the primiparous sow. *Animal Welfare* 2004, **13**:171-181.
197. **Jensen P, Buitenhuis B, Kjaer J, Zanella A, Mormede P, Pizzari T:** Genetics and genomics of animal behaviour and welfare-Challenges and possibilities. *Applied Animal Behaviour Science* 2008, **113**:383-403.
198. **Jensen P, Keeling L, Schutz K, Andersson L, Mormede P, Brandstrom H, Forkman B, Kerje S, Fredriksson R, Ohlsson C, et al:** Feather pecking in chickens is genetically related to behavioural and developmental traits. *Physiology & Behavior* 2005, **86**:52-60.
199. **Jeppesen LL, Heller KE, Bildsoe A:** Stereotypies in female farm mink (*Mustela vison*) may be genetically transmitted and associated with higher fertility due to effects on body weight. *Applied Animal Behaviour Science* 2004, **86**:137-143.
200. **Jones RB:** Assessment of fear in adult laying hens - Correlational analysis of methods and measures. *British Poultry Science* 1987, **28**:319-326.
201. **Jones RB, Marin RH, Satterlee DG, Cadd GG:** Sociality in Japanese quail (*Coturnix japonica*) genetically selected for contrasting adrenocortical responsiveness. *Applied Animal Behaviour Science* 2002, **75**:337-346.
202. **Jones RB, Mills AD, Faure JM:** Social discrimination in Japanese quail (*Coturnix japonica*) chicks genetically selected for low or high social reinstatement motivation. *Behavioural Processes* 1996, **36**:117-124.
203. **Jones RB, Waddington D:** Modification of fear in domestic Chicks, *Gallus gallus domesticus*, via regular handling and early environmental enrichment. *Anim Behav* 1992, **43**:1021-1033.
204. **Jones W, Bellugi U, Lai Z, Chiles M, Reilly J, Lincoln A, Adolphs R:** Hypersociability in Williams syndrome. *Journal of Cognitive Neuroscience* 2000, **12**:30-46.
205. **Kalmendal R, Bessei W:** The preference for high-fiber feed in laying hens divergently selected on feather pecking. *Poultry Science* 2012, **91**:1785-1789.
206. **Kan X-Z, Li X-F, Lei Z-P, Chen L, Gao H, Yang Z-Y, Yang J-K, Guo Z-C, Yu L, Zhang L-Q, Qian C-J:** Estimation of divergence times for major lineages of galliform birds: Evidence from complete mitochondrial genome sequences. *African Journal of Biotechnology* 2010b, **9**:3073-3078.
207. **Kan XZ, Yang JK, Li XF, Chen L, Lei ZP, Wang M, Qian CJ, Gao H, Yang ZY:** Phylogeny of major lineages of galliform birds (Aves: Galliformes) based on complete mitochondrial genomes. *Genetics and Molecular Research* 2010a, **9**:1625-1633.
208. **Karlsson AC, Kerje S, Andersson L, Jensen P:** Genotype at the PMEL17 locus affects social and explorative behaviour in chickens. *British Poultry Science* 2010, **51**:170-177.
209. **Kawahara T:** Genetic changes occurring in wild quails due to "natural selection" under domestication. *Annual Report National Institut Genetics Japan* 1972:111-112.
210. **Kayang BB, Fillon V, Inoue-Murayama M, Miwa M, Leroux S, Feve K, Monvoisin JL, Pitel F, Vignoles M, Mouilhayrat C, et al:** Integrated maps in quail (*Coturnix japonica*) confirm the high degree of synteny conservation with chicken (*Gallus gallus*) despite 35 million years of divergence. *Bmc Genomics* 2006, **7**:18.
211. **Kayang BB, Inoue-Murayama M, Hoshi T, Matsuo K, Takahashi H, Minezawa M, Mizutani M, Ito S:** Microsatellite loci in Japanese quail and cross-species amplification in chicken and guinea fowl. *Genetics Selection Evolution* 2002, **34**:233-253.
212. **Keeling L, Anderson L, Schutz KE, Kerje S, Fredriksson R, Carlborg O, Cornwallis CK, Pizzari T, Jensen P:** Chicken genomics: Feather-pecking and victim pigmentation. *Nature* 2004, **431**:645-646.
213. **KeerKeer S, Hughes BO, Hocking PM, Jones RB:** Behavioural comparison of layer and broiler fowl: Measuring fear responses. *Applied Animal Behaviour Science* 1996, **49**:321-333.



214. **Kelley J, Walter L, Trowsdale J:** Comparative genomics of major histocompatibility complexes. *Immunogenetics* 2005, **56**:683-695.
215. **Kembro JM, Satterlee DG, Schmidt JB, Perillo MA, Marin RH:** Open-Field Temporal Pattern of Ambulation in Japanese Quail Genetically Selected for Contrasting Adrenocortical Responsiveness to Brief Manual Restraint. *Poultry Science* 2008, **87**:2186-2195.
216. **Kenttamies H, Nikkila M, Miettinen M, Asikainen J:** Phenotypic and genetic parameters and responses in temperament of silver fox cubs in a selection experiment for confident behaviour. *Agricultural and Food Science* 2006, **15**:340-349.
217. **Kenttamies H, Nordrum NV, Brenoe UT, Smeds K, Johannessen KR, Bakken M:** Selection for more confident foxes in Finland and Norway: Heritability and selection response for confident behaviour in blue foxes (*Alopex lagopus*). *Applied Animal Behaviour Science* 2002, **78**:67-82.
218. **Kerje S, Carlborg O, Jacobsson L, Schutz K, Hartmann C, Jensen P, Andersson L:** The twofold difference in adult size between the Red Junglefowl and White Leghorn chickens is largely explained by a limited number of QTLs. *Animal Genetics* 2003, **34**:264-274.
219. **Kimball RT, Braun EL:** Does more sequence data improve estimates of galliform phylogeny? Analyses of a rapid radiation using a complete data matrix. *PeerJ* 2014, **2**:e361-e361.
220. **Kimball RT, Braun EL, Zwartjes PW, Crowe TM, Ligon JD:** A molecular phylogeny of the pheasants and partridges suggests that these lineages are not monophyletic. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 1999, **11**:38-54.
221. **Kiser D, Steemer S B, Branchi I, Homberg JR:** The reciprocal interaction between serotonin and social behaviour. *Neurosci Biobehav Rev* 2012, **36**:786-798.
222. **Kjaer JB:** Feather Pecking in Domestic Fowl is Genetically Related to Locomotor Activity Levels: Implications for a Hyperactivity Disorder Model of Feather Pecking. *Behavior Genetics* 2009, **39**:564-570.
223. **Kjaer JB, Bessei W:** The interrelationships of nutrition and feather pecking in the domestic fowl - A review. *Archiv Fur Geflugelkunde* 2013, **77**:1-9.
224. **Kjaer JB, Guemene D:** Adrenal reactivity in lines of domestic fowl selected on feather pecking behavior. *Physiology & Behavior* 2009, **96**:370-373.
225. **Kjaer JB, Jorgensen H:** Heart rate variability in domestic chicken lines genetically selected on feather pecking behavior. *Genes Brain and Behavior* 2011, **10**:747-755.
226. **Kjaer JB, Mench, J.A.:** Problems and issues associated with poultry breeding. In *Poultry breeding and biotechnology*. Edited by Muir WM, Aggrey, S.E. Wallingford: CAB International; 2003
227. **Kjaer JB, Sorensen P:** Feather pecking behaviour in White Leghorns, a genetic study. *British Poultry Science* 1997, **38**:333-341.
228. **Kjaer JB, Sorensen P, Sub G:** Divergent selection on feather pecking behaviour in laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Appl Anim Behav Sci* 2001, **71**:229-239.
229. **Klein J:** How many Class-II immune-response genes - A commentary on a reappraisal. *Immunogenetics* 1986, **23**:309-310.
230. **Koolhaas JM, Bartolomucci A, Buwalda B, de Boer SF, Fluegge G, Korte SM, Meerlo P, Murison R, Olivier B, Palanza P, et al:** Stress revisited: A critical evaluation of the stress concept. *Neurosci Biobehav Rev* 2011, **35**:1291-1301.
231. **Koolhaas JM, Korte SM, De Boer SF, Van Der Vegt BJ, Van Reenen CG, Hopster H, De Jong IC, Ruis MAW, Blokhuis HJ:** Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. *Neurosci Biobehav Rev* 1999, **23**:925-935.
232. **Kops MS, de Haas EN, Rodenburg TB, Ellen ED, Korte-Bouws GAH, Olivier B, Guentuerkuen O, Bolhuis JE, Korte SM:** Effects of feather pecking phenotype (severe feather peckers, victims and non-peckers) on serotonergic and dopaminergic activity in four brain areas of laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Physiology & Behavior* 2013, **120**:77-82.
233. **Kops MS, Kjaer JB, Guentuerkuen O, Westphal KGC, Korte-Bouws GAH, Olivier B, Bolhuis JE, Korte SM:** Serotonin release in the caudal nidopallium of adult laying hens genetically selected for

- high and low feather pecking behavior: An in vivo microdialysis study. *Behavioural Brain Research* 2014, **268**:81-87.
234. **Korte SM, Beuving G, Ruesink W, Blokhuis HJ**: Plasma catecholamine and corticosterone levels during manual restraint in chicks from a high and low feather pecking line of laying hens. *Physiology & Behavior* 1997, **62**:437-441.
235. **Korte SM, Koolhaas JM, Wingfield JC, McEwen BS**: The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neurosci Biobehav Rev* 2005, **29**:3-38.
236. **Korte SM, Olivier B, Koolhaas JM**: A new animal welfare concept based on allostasis. *Physiology & Behavior* 2007, **92**:422-428.
237. **Kostal L, Savory CJ**: Influence of pharmacological manipulation of dopamine and opioid receptor subtypes on stereotyped behavior of restricted-fed fowls. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1994, **48**:241-252.
238. **Kukekova AV, Johnson JL, Teiling C, Li L, Oskina IN, Kharlamova AV, Gulevich RG, Padte R, Dubreuil MM, Vladimirova AV, et al**: Sequence comparison of prefrontal cortical brain transcriptome from a tame and an aggressive silver fox (*Vulpes vulpes*). *Bmc Genomics* 2011b, **12**.
239. **Kukekova AV, Temnykh SV, Johnson JL, Trut LN, Acland GM**: Genetics of behavior in the silver fox. *Mammalian Genome* 2012, **23**:164-177.
240. **Kukekova AV, Trut LN, Chase K, Kharlamova AV, Johnson JL, Temnykh SV, Oskina IN, Gulevich RG, Vladimirova AV, Klebanov S, et al**: Mapping Loci for Fox Domestication: Deconstruction/Reconstruction of a Behavioral Phenotype. *Behavior Genetics* 2011a, **41**:593-606.
241. **Kukekova AV, Trut LN, Oskina IN, Johnson JL, Temnykh SV, Kharlamova AV, Shepeleva DV, Gulievich RG, Shikhevich SG, Graphodatsky AS, et al**: A meiotic linkage map of the silver fox, aligned and compared to the canine genome. *Genome Res* 2007, **17**:387-399.
242. **Kukekova AV, Trut LN, Oskina IN, Kharlamova AV, Shikhevich SG, Kirkness EF, Aguirre GD, Acland GM**: A marker set for construction of a genetic map of the silver fox (*Vulpes vulpes*). *Journal of Heredity* 2004, **95**:185-194.
243. **Kulski JK, Shiina T, Anzai T, Kohara S, Inoko H**: Comparative genomic analysis of the MHC: the evolution of class I duplication blocks, diversity and complexity from shark to man. *Immunological Reviews* 2002, **190**:95-122.
244. **Kupczynski R, Budny A, Spitalniak K, Tracz E**: Dehorning of calves - Methods of pain and stress alleviation - A Review. *Annals of Animal Science* 2014, **14**:231-243.
245. **Labouriau R, Kjaer JB, Abreu GCG, Hedegaard J, Buitenhuis AJ**: Analysis of severe feather pecking behavior in a high feather pecking selection line. *Poultry Science* 2009, **88**:2052-2062.
246. **Lambton SL, Knowles TG, Yorke C, Nicol CJ**: The risk factors affecting the development of gentle and severe feather pecking in loose housed laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* 2010, **123**:32-42.
247. **Larson G, Burger J**: A population genetics view of animal domestication. *Trends in Genetics* 2013, **29**:197-205.
248. **Launay F, Mills AD, Faure JM**: Social motivation in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) chicks selected for high and low-levels of treadmill behavior. *Behavioural Processes* 1991, **24**:95-110.
249. **Launay F, Mills AD, Faure JM**: Effects of test age, line and sex on tonic immobility responses and social reinstatement behavior in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Behavioural Processes* 1993, **29**:1-16.
250. **Legarra A, Varona, L., Lopez de Maturana, E.** : TM (Threshold Model), available at <http://genoweb.toulouse.inra.fr/~alegarra>  
In Book *TM (Threshold Model)*, available at <http://genoweb.toulouse.inra.fr/~alegarra>  
(Editor ed.^eds.). City; 2011.
251. **Lescourret F, Coulon JB**: Modelling the impact of mastitis on milk-production by dairy-cow. *Journal of Dairy Science* 1994, **77**:2289-2301.

252. **Levin I, Cheng HH, Baxterjones C, Hillel J:** Turkey microsatellite DNA loci amplified by chicken-specific primers. *Animal Genetics* 1995, **26**:107-110.
253. **Liu YP, Wu GS, Yao YG, Miao YW, Luikart G, Baig M, Beja-Pereira A, Ding ZL, Palanichamy MG, Zhang YP:** Multiple maternal origins of chickens: Out of the Asian jungles. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2006, **38**:12-19.
254. **Liu Z, Crooijmans R, vanderPoel JJ, Groenen MAM:** Use of chicken microsatellite markers in turkey: A pessimistic view. *Animal Genetics* 1996, **27**:191-193.
255. **Loh YP, Gritsch HA, Chang TL:** Pro-opiocortin processing in the pituitary - A Model for neuropeptide biosynthesis. *Peptides* 1982, **3**:397-404.
256. **Lynch M, Walsh, B.:** *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.; 1998.
257. **Lynn SE:** Behavioral insensitivity to testosterone: Why and how does testosterone alter paternal and aggressive behavior in some avian species but not others? *Gen Comp Endocrino* 2008, **157**:233-240.
258. **Marin RH, Satterlee DG, Cadd GG, Jones RB:** T-maze behavior and early egg production in Japanese quail selected for contrasting adrenocortical responsiveness. *Poult Sci* 2002, **81**:981-986.
259. **Martens MA, Wilson SJ, Reutens DC:** Research Review: Williams syndrome: a critical review of the cognitive, behavioral, and neuroanatomical phenotype. *Journal of Child Psychology and Psychiatry* 2008, **49**:576-608.
260. **Martin F, Beaugrand JP, Lague PC:** The role of hen's weight and recent experience on dyadic conflict outcome. *Behavioural Processes* 1997a, **41**:139-150.
261. **Martin F, Beaugrand JP, Lague PC:** The role of recent experience and weight on hen's agonistic behaviour during dyadic conflict resolution. *Behavioural Processes* 1997b, **41**:159-170.
262. **Masne L:** *Sociétés animales*. Paris: Encyclopaedia Universalis; 1996.
263. **Mather JA, Anderson RC:** Personalities of octopuses (*Octopus rubescens*). *Journal of Comparative Psychology* 1993, **107**:336-340.
264. **Matsubara K, Tarui H, Toriba M, Yamada K, Nishida-Umehara C, Agata K, Matsuda Y:** Evidence for different origin of sex chromosomes in snakes, birds, and mammals and step-wise differentiation of snake sex chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006, **103**:18190-18195.
265. **McAdie TM, Keeling LJ:** The social transmission of feather pecking in laying hens: effects of environment and age. *Applied Animal Behaviour Science* 2002, **75**:147-159.
266. **McCowan LSC, Rollins LA, Griffith SC:** Personality in captivity: More exploratory males reproduce better in an aviary population. *Behavioural Processes* 2014, **107**:150-157.
267. **McEwen BS:** Protective and damaging effects of stress mediators. *New England Journal of Medicine* 1998, **338**:171-179.
268. **McEwen BS, Wingfield JC:** The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and Behavior* 2003, **43**:2-15.
269. **Mench J, Keeling LJ:** The social behaviour of domestic birds. In *Social behaviour in farm animals*. Edited by Keeling LJ, Gonyou HW; 2001: 177-209
270. **Merla G, Brunetti-Pierri N, Micale L, Fusco C:** Copy number variants at Williams-Beuren syndrome 7q11.23 region. *Human Genetics* 2010, **128**:3-26.
271. **Mervis CB, Dida J, Lam E, Crawford-Zelli NA, Young EJ, Henderson DR, Onay T, Morris CA, Woodruff-Borden J, Yeomans J, Osborne LR:** Duplication of GTF2I Results in Separation Anxiety in Mice and Humans. *Am J Hum Genet* 2012, **90**:1064-1070.
272. **Middlebush CW, Mountjoy PT, Riley V:** Unconditioned aggression in the Japanese Quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Psychon Sci* 1968:113-114.
273. **Miele M, Lever J:** Civilizing the market for welfare friendly products in Europe? The techno-ethics of the Welfare Quality (R) assessment. *Geoforum* 2013, **48**:63-72.
274. **Miele M, Veissier I, Evans A, Botreau R:** Animal welfare: establishing a dialogue between science and society. *Animal Welfare* 2011, **20**:103-117.

275. **Mignon-Grasteau S, Boissy A, Bouix J, Faure JM, Fisher AD, Hinch GN, Jensen P, Le Neindre P, Mormede P, Prunet P, et al:** Genetics of adaptation and domestication in livestock. *Livestock Production Science* 2005, **93**:3-14.
276. **Mignon-Grasteau S, Faure JM:** Genetics and adaptation: situation in poultry. *INRA Productions Animales* 2002, **15**:357-364.
277. **Millman ST, Duncan IJH, Widowski TM:** Male broiler breeder fowl display high levels of aggression toward females. *Poultry Science* 2000, **79**:1233-1241.
278. **Mills AD, Crawford LL, Domjan M, Faure JM:** The behavior of the Japanese or domestic quail *Coturnix japonica*. *Neurosci Biobehav Rev* 1997, **21**:261-281.
279. **Mills AD, Duncan IJH, Slee GS, Clark JSB:** Heart-rate and laying behavior in 2 strains of domestic chicken. *Physiology & Behavior* 1985, **35**:145-147.
280. **Mills AD, Faure JM:** *Panic and hysteria in domestic fowl: a review*. 1990.
281. **Mills AD, Faure JM:** Divergent selection for duration of tonic immobility and social reinstatement behavior in Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*) chicks. *J Comp Psychol* 1991, **105**:25-38.
282. **Mills AD, Jones RB, Faure JM:** Species-specificity of social reinstatement in Japanese Quail (*Coturnix japonica*) genetically selected for high and low-levels of social reinstatement behavior. *Behavioural Processes* 1995, **34**:13-22.
283. **Mills AD, Jones RB, Faure JM, Williams JB:** Responses to isolation in Japanese Quail genetically selected for high and low sociality. *Physiol Behav* 1993, **53**:183-189.
284. **Minvielle F:** The future of Japanese quail for research and production. *Worlds Poult Sci J* 2004, **60**:500-507.
285. **Minvielle F:** What are quail good for in a chicken-focused world? *Worlds Poult Sci J* 2009, **65**:601-608.
286. **Minvielle F, Kayang BB, Inoue-Murayama M, Miwa M, Vignal A, Gourichon D, Neau A, Monvoisin JL, Ito S:** Microsatellite mapping of QTL affecting growth, feed consumption, egg production, tonic immobility and body temperature of Japanese quail. *BMC Genomics* 2005, **6**.
287. **Minvielle F, Kayang BB, Inoue-Murayama M, Miwa M, Vignal A, Gourichon D, Neau A, Monvoisin JL, Ito S:** Search for QTL affecting the shape of the egg laying curve of the Japanese quail. *BMC Genet* 2006, **7**.
288. **Minvielle F, Mills AD, Faure JM, Monvoisin JL, Gourichon D:** Fearfulness and performance related traits in selected lines of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Poult Sci* 2002, **81**:321-326.
289. **Miwa M, Inoue-Murayama M, Kayang BB, Minvielle F, Monvoisin JL, Takahashi H, Ito S:** Mapping of plumage colour and blood protein loci on the microsatellite linkage map of the Japanese quail. *Animal Genetics* 2005, **36**:396-400.
290. **Miwa M, Inoue-Murayama M, Kobayashi N, Kayang BB, Mizutani M, Takahashi H, Ito S:** Mapping of panda plumage color locus on the microsatellite linkage map of the Japanese quail. *BMC Genet* 2006, **7**.
291. **Muir WM:** Group selection for adaptation to multiple-hen cages: Selection program and direct responses. *Poultry Science* 1996, **75**:447-458.
292. **Murphy PM:** Temperament of Merinos ewes influences maternal behaviour and survival of lambs. In *Congr ISAE; Clermont-Ferrand, France*. 1998: p.131.
293. **Myers B, McKlveen JM, Herman JP:** Glucocorticoid actions on synapses, circuits, and behavior: Implications for the energetics of stress. *Frontiers in Neuroendocrinology* 2014, **35**:180-196.
294. **Nahashon SN, Amenyenu A, Harris C, Adefope N:** Chicken and Quail Microsatellite Markers Reveal Polymorphisms in Guinea Fowl. *Journal of Poultry Science* 2008, **45**:249-254.
295. **Natt D, Kerje S, Andersson L, Jensen P:** Plumage color and feather pecking - Behavioral differences associated with PMEL17 genotypes in chicken (*Gallus gallus*). *Behavior Genetics* 2007, **37**:399-407.
296. **Newberry RC, Keeling LJ, Estevez I, Bilocik B:** Behaviour when young as a predictor of severe feather pecking in adult laying hens: The redirected foraging hypothesis revisited. *Applied Animal Behaviour Science* 2007, **107**:262-274.

297. **Nicol CJ, Gregory NG, Knowles TG, Parkman ID, Wilkins LJ:** Differential effects of increased stocking density, mediated by increased flock size, on feather pecking and aggression in laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* 1999, **65**:137-152.
298. **Ninomiya S:** Satisfaction of farm animal behavioral needs in behaviorally restricted systems: Reducing stressors and environmental enrichment. *Animal Science Journal* 2014, **85**:634-638.
299. **Oden K, Berg C, Gunnarsson S, Algers B:** Male rank order, space use and female attachment in large flocks of laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* 2004, **87**:83-94.
300. **Oden K, Vestergaard KS, Algers B:** Agonistic behaviour and feather pecking in single-sexed and mixed groups of laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* 1999, **62**:219-231.
301. **Oden K, Vestergaard KS, Algers B:** Space use and agonistic behaviour in relation to sex composition in large flocks of laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* 2000, **67**:307-320.
302. **Oostindjer M, van den Brand H, Kemp B, Bolhuis JE:** Effects of environmental enrichment and loose housing of lactating sows on piglet behaviour before and after weaning. *Applied Animal Behaviour Science* 2011, **134**:31-41.
303. **Oskina IN, Tinnikov AA:** Interaction between cortisol and cortisol-binding protein in Silver fox (*Vulpes vulpes*). *Comparative Biochemistry and Physiology a-Physiology* 1992, **101**:665-668.
304. **Pagel M, Dawkins MS:** Peck orders and group size in laying hens: 'Futures contracts' for non-aggression. *Behavioural Processes* 1997, **40**:13-25.
305. **Pang SWY, Ritland C, Carlson JE, Cheng KM:** Japanese quail microsatellite loci amplified with chicken-specific primers. *Animal Genetics* 1999, **30**:195-199.
306. **Papciak J, Popik P, Fuchs E, Rygula R:** Chronic psychosocial stress makes rats more 'pessimistic' in the ambiguous-cue interpretation paradigm. *Behavioural Brain Research* 2013, **256**:305-310.
307. **Peoples R, Franke Y, Wang YK, Perez-Jurado L, Paperna T, Cisco M, Francke U:** A physical map, including a BAC/PAC clone contig, of the Williams-Beuren syndrome-deletion region at 7q11.23. *Am J Hum Genet* 2000, **66**:47-68.
308. **Popova NK, Kulikov AV, Avgustinovich DF, Voitenko NN, Trut LN:** Effect of domestication on the basic enzymes of serotonin metabolism and serotonin receptors in the silver foxes. *Genetika* 1997, **33**:370-374.
309. **Popova NK, Naumenko VS, Kozhemyakina RV, Plyusnina IZ:** Functional characteristics of serotonin 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors in the brain and the expression of the 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptor genes in aggressive and non-aggressive rats. *Neuroscience and behavioral physiology* 2010, **40**:357-361.
310. **Price EO:** Behavioral aspects of animal domestication. *Q Rev Biol* 1984, **59**:1-32.
311. **Price EO:** Behavioral genetics and the process of animal domestication. In *Genetics and the behavior of domestic animals*. Edited by Grandin T; 1998: 31-66
312. **Price EO:** Behavioral development in animals undergoing domestication. *Applied Animal Behaviour Science* 1999, **65**:245-271.
313. **Price EO, King JA:** Domestication and adaptation. In *Adaptation of Domestic Animals*. Edited by Hafez ESE. Philadelphia: Lea & Febiger; 1968: 34-45
314. **Proudfoot KL, Weary DM, von Keyserlingk MAG:** Linking the social environment to illness in farm animals. *Applied Animal Behaviour Science* 2012, **138**:203-215.
315. **Raposo G, Tenza D, Murphy DM, Berson JF, Marks MS:** Distinct protein sorting and localization to premelanosomes, melanosomes, and lysosomes in pigmented melanocytic cells. *Journal of Cell Biology* 2001, **152**:809-823.
316. **Rault J-L:** Friends with benefits: Social support and its relevance for farm animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science* 2012, **136**:1-14.
317. **Rauw WM, Kanis E, Noordhuizen-Stassen EN, Grommers FJ:** Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. *Livestock Production Science* 1998, **56**:15-33.
318. **Reed KM, Mendoza KM, Beattie CW:** Utility of chicken-specific microsatellite primers for mapping the turkey genome. *Animal Biotechnology* 1999, **10**:137-141.

319. **Reed KM, Mendoza KM, Beattie CW:** Comparative analysis of microsatellite loci in chicken and turkey. *Genome* 2000, **43**:796-802.
320. **Reiner G, Koehler F, Berge T, Fischer R, Huebner-Weitz K, Scholl J, Willems H:** Mapping of quantitative trait loci affecting behaviour in swine. *Animal Genetics* 2009, **40**:366-376.
321. **Rodenburg TB, Buitenhuis AJ, Ask B, Uitdehaag KA, Koene P, van der Poel JJ, Bovenhuis H:** Heritability of feather pecking and open-field response of laying hens at two different ages. *Poult Sci* 2003, **82**:861-867.
322. **Rodenburg TB, Buitenhuis AJ, Ask B, Uitdehaag KA, Koene P, van der Poel JJ, van Arendonk JAM, Bovenhuis H:** Genetic and phenotypic correlations between feather pecking and open-field response in laying hens at two different ages. *Behavior Genetics* 2004, **34**:407-415.
323. **Rodenburg TB, de Haas EN, Nielsen BL, Buitenhuis AJ:** Fearfulness and feather damage in laying hens divergently selected for high and low feather pecking. *Applied Animal Behaviour Science* 2010, **128**:91-96.
324. **Rodenburg TB, Koene P:** The impact of group size on damaging behaviours, aggression, fear and stress in farm animals. *Applied Animal Behaviour Science* 2007, **103**:205-214.
325. **Rodenburg TB, Komen H, Ellen ED, Uitdehaag KA, van Arendonk JAM:** Selection method and early-life history affect behavioural development, feather pecking and cannibalism in laying hens: A review. *Applied Animal Behaviour Science* 2008, **110**:217-228.
326. **Rodenburg TB, Turner SP:** The role of breeding and genetics in the welfare of farm animals. *Animal Frontiers* 2012, **2**:16-21.
327. **Rodenburg TB, van Krimpen MM, de Jong IC, de Haas EN, Kops MS, Riedstra BJ, Nordquist RE, Wagenaar JP, Bestman M, Nicol CJ:** The prevention and control of feather pecking in laying hens: identifying the underlying principles. *Worlds Poult Sci J* 2013, **69**:361-373.
328. **Ruis MAW, Brake J, Van de Burgwal JA, de Jong IC, Blokhuis HJ, Koolhaas JM:** Personalities in female domesticated pigs: behavioural and physiological indications. *Applied Animal Behaviour Science* 2000, **66**:31-47.
329. **Ruis MAW, te Brake JHA, Engel B, Buist WG, Blokhuis HJ, Koolhaas JM:** Adaptation to social isolation - Acute and long-term stress responses of growing gilts with different coping characteristics. *Physiology & Behavior* 2001, **73**:541-551.
330. **Rushen J:** The peck orders of chickens - How do they develop and why are they linear. *Anim Behav* 1982, **30**:1129-1137.
331. **Sachser N, Durschlag M, Hirzel D:** Social relationships and the management of stress. *Psychoneuroendocrinology* 1998, **23**:891-904.
332. **Saint-Dizier H, Leterrier C, Levy F, Richard S:** Selection for tonic immobility duration does not affect the response to novelty in quail. *Appl Anim Behav Sci* 2008, **112**:297-306.
333. **Sakurai T, Dorr NP, Takahashi N, McInnes LA, Elder GA, Buxbaum JD:** Haploinsufficiency of Gtf2i, a Gene Deleted in Williams Syndrome, Leads to Increases in Social Interactions. *Autism Research* 2011, **4**:28-39.
334. **Salinska EJ, Chaudhury D, Bourne RC, Rose SPR:** Passive avoidance training results in increased responsiveness of voltage- and ligand-gated calcium channels in chick brain synaptoneurosome. *Neuroscience* 1999, **93**:1507-1514.
335. **Salvador A:** Coping with competitive situations in humans. *Neurosci Biobehav Rev* 2005, **29**:195-205.
336. **Salvador A, Costa R:** Coping with competition: Neuroendocrine responses and cognitive variables. *Neurosci Biobehav Rev* 2009, **33**:160-170.
337. **Sapolsky RM:** Individual-differences and the stress-response. *Seminars in the Neurosciences* 1994, **6**:261-269.
338. **Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU:** How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews* 2000, **21**:55-89.
339. **Sargent AB, Eberhardt, L.E.:** Death feigning by ducks in response to predation by red foxes (*Vulpes fulva*). 1975, **94**:108-119.

340. **Sasazaki S, Hinenoya T, Lin B, Fujiwara A, Mannen H:** A comparative map of macrochromosomes between chicken and Japanese quail based on orthologous genes. *Animal Genetics* 2006, **37**:316-320.
341. **Satterlee DG, Johnson WA:** Selection of Japanese Quail for contrasting blood corticosterone response to immobilization. *Poultry Science* 1988, **67**:25-32.
342. **Saudou F, Amara DA, Dierich A, Lemeur M, Ramboz S, Segu L, Buhot MC, Hen R:** Enhanced aggressive-behavior in mice lacking 5-HT1B receptor. *Science* 1994, **265**:1875-1878.
343. **Savory CJ:** Feather pecking and cannibalism. *Worlds Poult Sci J* 1995, **51**:215-219.
344. **Schmid I, Wechsler B:** Behaviour of Japanese quail (*Coturnix japonica*) kept in semi-natural aviaries. *Applied Animal Behaviour Science* 1997, **55**:103-112.
345. **Schmid M, Nanda I, Hoehn H, Schartl M, Haaf T, Buerstedde JM, Arakawa H, Caldwell RB, Weigend S, Burt DW, et al:** Second report on chicken genes and chromosomes 2005. *Cytogenetic and Genome Research* 2005, **109**:415-479.
346. **Schütz K, Kerje S, Carlborg O, Jacobsson L, Andersson L, Jensen P:** QTL analysis of a red junglefowl x white leghorn intercross reveals trade-off in resource allocation between behavior and production traits. *Behav Gen* 2002, **32**:423-433.
347. **Schütz KE, Kerje S, Jacobsson L, Forkman B, Carlborg O, Andersson L, Jensen P:** Major growth QTLs in fowl are related to fearful behavior: possible genetic links between fear responses and production traits in a red junglefowl x White Leghorn intercross. *Behav Gen* 2004, **34**:121-130.
348. **Schweitzer C, Arnould C:** Emotional reactivity of Japanese quail chicks with high or low social motivation reared under unstable social conditions. *Appl Anim Behav Sci* 2010b, **125**:143-150.
349. **Schweitzer C, Houdelier C, Lumineau S, Levy F, Arnould C:** Social motivation does not go hand in hand with social bonding between two familiar Japanese quail chicks, *Coturnix japonica*. *Anim Behav* 2010a, **79**:571-578.
350. **Schweitzer C, Poindron P, Arnould C:** Social Motivation Affects the Display of Individual Discrimination in Young and Adult Japanese Quail (*Coturnix japonica*). *Dev Psychobiol* 2009, **51**:311-321.
351. **Scott AL, Bortolato M, Chen K, Shih JC:** Novel monoamine oxidase A knock out mice with human-like spontaneous mutation. *Neuroreport* 2008, **19**:739-743.
352. **Scott JP:** The analysis of social organization in animals. *Ecology* 1956, **37**:213-221.
353. **Sefton AE, Siegel PB:** Mating behavior of Japanese quail. *Poultry Science* 1973, **52**:1001-1007.
354. **Sefton AE, Siegel PB:** Selecting for mating ability in Japanese Quail. *Poult Sci* 1975, **54**:788-794.
355. **Selye H:** A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 1936, **32**.
356. **Selye H:** Stress and the general adaptation syndrome. *British medical journal* 1950, **1**:1383-1392.
357. **Shanawany MM:** *Quail production systems*. 1994.
358. **Shen Y-Y, Dai K, Cao X, Murphy RW, Shen X-J, Zhang Y-P:** The Updated Phylogenies of the Phasianidae Based on Combined Data of Nuclear and Mitochondrial DNA. *Plos One* 2014, **9**.
359. **Shetty S, Griffin DK, Graves JAM:** Comparative painting reveals strong chromosome homology over 80 million years of bird evolution. *Chromosome Research* 1999, **7**:289-295.
360. **Shibusawa M, Minai S, Nishida-Umehara C, Suzuki T, Mano T, Yamada K, Namikawa T, Matsuda Y:** A comparative cytogenetic study of chromosome homology between chicken and Japanese quail. *Cytogenet Cell Genet* 2001, **95**:103-109.
361. **Shibusawa M, Nishibori M, Nishida-Umehara C, Tsudzuki M, Masabanda J, Griffin DK, Matsuda Y:** Karyotypic evolution in the Galliformes: An examination of the process of karyotypic evolution by comparison of the molecular cytogenetic findings with the molecular phylogeny. *Cytogenetic and Genome Research* 2004a, **106**:111-119.
362. **Shibusawa M, Nishida-Umehara C, Masabanda J, Griffin DK, Isobe T, Matsuda Y:** Chromosome rearrangements between chicken and guinea fowl defined by comparative chromosome painting and FISH mapping of DNA clones. *Cytogenetic and Genome Research* 2002, **98**:225-230.
363. **Shibusawa M, Nishida-Umehara C, Tsudzuki M, Masabanda J, Griffin DK, Matsuda Y:** A comparative karyological study of the blue-breasted quail (*Coturnix chinensis*, Phasianidae) and

- California quail (*Callipepla californica*, Odontophoridae). *Cytogenetic and Genome Research* 2004b, **106**:82-90.
364. **Shih JC, Chen K, Ridd MJ**: Monoamine oxidase: From genes to behavior. *Annu Rev Neurosci* 1999, **22**:197-217.
365. **Shiina T, Shimizu S, Hosomichi K, Kohara S, Watanabe S, Hanzawa K, Beck S, Kulski JK, Inoko H**: Comparative genomic analysis of two avian (quail and chicken) MHC regions. *Journal of Immunology* 2004, **172**:6751-6763.
366. **Shimmura T, Suzuki T, Azuma T, Hirahara S, Eguchi Y, Uetake K, Tanaka T**: Form but not frequency of beak use by hens is changed by housing system. *Applied Animal Behaviour Science* 2008, **115**:44-54.
367. **Shimogiri T, Yamakawa T, Isobe H, Moe HH, Hiraguchi T, Kawabe K, Okamoto S, Okamoto S, Maeda Y**: Detection of a Polymorphism Associated with Shank Length and Body Weight in Japanese Quail (*Coturnix japonica*) by AFLP. *Journal of Poultry Science* 2012, **49**:5-11.
368. **Sibley C.G. AJE**: *Phylogeny and Classification of Birds*. New Haven, Connecticut: Yale University Press; 1990.
369. **Siegel PB**: Genetics of behavior: selection for mating ability in chickens. *Genetics* 1965, **52**:1269-1277.
370. **Sih A, Bell A, Johnson JC**: Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology & Evolution* 2004, **19**:372-378.
371. **Sims D, Sudbery I, Ilott NE, Heger A, Ponting CP**: Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses. *Nature Reviews Genetics* 2014, **15**:121-132.
372. **Skinner BM, Al Mutery A, Smith D, Voelker M, Hojjat N, Raja S, Trim S, Houde P, Boecklen WJ, Griffin DK**: Global patterns of apparent copy number variation in birds revealed by cross-species comparative genomic hybridization. *Chromosome Research* 2014, **22**:59-70.
373. **Skinner BM, Griffin DK**: Intrachromosomal rearrangements in avian genome evolution: evidence for regions prone to breakpoints. *Heredity* 2012, **108**:37-41.
374. **Solinac R, Leroux S, Galkina S, Chazara O, Fève K, Vignoles F, Morisson M, Derjusheva S, Bed'hom B, Vignal A, et al**: Integrative mapping analysis of chicken microchromosome 16 organization. *Bmc Genomics* 2010, **11**.
375. **Sorensen D, Gianola D**: *Likelihood, Bayesian, and MCMC methods in quantitative genetics*. Springer; 2002.
376. **Spinka M**: Social dimension of emotions and its implication for animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science* 2012, **138**:170-181.
377. **Su G, Kjaer JB, Sorensen P**: Variance components and selection response for feather-pecking behavior in laying hens. *Poultry Science* 2005, **84**:14-21.
378. **Su G, Kjaer JB, Sorensen P**: Divergent selection on feather pecking behavior in laying hens has caused differences between lines in egg production, egg quality, and feed efficiency. *Poultry Science* 2006, **85**:191-197.
379. **Sutherland MA, Webster J, Sutherland I**: Animal health and welfare issues facing organic production systems. *Animals* 2013, **3**:1021-1035.
380. **Thompson RKR, Foltin RW, Boylan RJ, Sweet A, Graves CA, Lowitz CE**: Tonic immobility in Japanese Quail can reduce the probability of sustained attack by cats. *Animal Learning & Behavior* 1981, **9**:145-149.
381. **Trowsdale J**: Both Man and Bird and Beast - Comparative organization of MHC genes. *Immunogenetics* 1995, **41**:1-17.
382. **Trut L, Oskina I, Kharlamova A**: Animal evolution during domestication: the domesticated fox as a model. *Bioessays* 2009, **31**:349-360.
383. **Trut LN**: Early canid domestication: The farm-fox experiment. *American Scientist* 1999, **87**:160-169.
384. **Trut LN**: *Experimental studies of early canid domestication*. 2001.
385. **Trut LN, Plyusnina IZ, Oskina IN**: An experiment on fox domestication and debatable issues of evolution of the dog. *Russian Journal of Genetics* 2004, **40**:644-655.



386. **Turner SP, D'Eath RB, Roehle R, Lawrence AB:** Selection against aggressiveness in pigs at re-grouping: practical application and implications for long-term behavioural patterns. *Animal Welfare* 2010, **19**:123-132.
387. **Tuytens F, Vanhonacker F, Verbeke W:** Broiler production in Flanders, Belgium: current situation and producers' opinions about animal welfare. *Worlds Poult Sci J* 2014, **70**:343-354.
388. **Ursin H:** Personality, activation and somatic health: a new psychosomatic theory. In *Coping and health*. Edited by Levine S, Ursin, H., . New York: Plenum Press; 1980: 259-279
389. **Ursin H, Eriksen HR:** The cognitive activation theory of stress. *Psychoneuroendocrinology* 2004, **29**:567-592.
390. **Vaisanen J, Hakansson J, Jensen P:** Social interactions in Red Junglefowl (*Gallus gallus*) and White Leghorn layers in stable groups and after re-grouping. *British Poultry Science* 2005, **46**:156-168.
391. **Valance D, Despres G, Richard S, Constantin P, Mignon-Grasteau S, Leman S, Boissy A, Faure J-M, Leterrier C:** Changes in Heart Rate Variability during a tonic immobility test in quail. *Physiology & Behavior* 2008, **93**:512-520.
392. **van der Poel JJ, Biscarini F, Rodenburg BT, van Arendonk JA, Parmentier HK, Jungerius AP, Bovenhuis H:** Across-line SNP association study for (innate) immune and behavioral traits in laying hens. *BMC proceedings* 2011, **5 Suppl 4**:S18-S18.
393. **van Hierden YM, de Boer SF, Koolhaas JM, Korte SM:** The control of feather pecking by serotonin. *Behavioral Neuroscience* 2004a, **118**:575-583.
394. **van Hierden YM, Koolhaas JM, Korte SM:** Chronic increase of dietary L-tryptophan decreases gentle feather pecking behaviour. *Applied Animal Behaviour Science* 2004b, **89**:71-84.
395. **van Hierden YM, Koolhaas JM, Kost'al L, Vyboh P, Sedlackova M, Rajman M, Jurani M, Korte SM:** Chicks from a high and low feather pecking line of laying hens differ in apomorphine sensitivity. *Physiology & Behavior* 2005, **84**:471-477.
396. **van Hierden YM, Korte SM, Ruesink EW, van Reenen CG, Engel B, Korte-Bouws GAH, Koolhaas JM, Blokhuis HJ:** Adrenocortical reactivity and central serotonin and dopamine turnover in young chicks from a high and low feather-pecking line of laying hens. *Physiology & Behavior* 2002, **75**:653-659.
397. **van Tuinen M, Hedges SB:** Calibration of avian molecular clocks. *Molecular Biology and Evolution* 2001, **18**:206-213.
398. **Veenema AH, Meijer OC, de Kloet ER, Koolhaas JM:** Genetic selection for coping style predicts stressor susceptibility. *Journal of Neuroendocrinology* 2003, **15**:256-267.
399. **Veissier I, Boissy A:** Stress and welfare: Two complementary concepts that are intrinsically related to the animal's point of view. *Physiology & Behavior* 2007, **92**:429-433.
400. **Vijay S, Chand D, Arneja DV:** Feather pecking and cannibalism in poultry: causes and control measures. *International Journal of Animal Sciences* 1999, **14**:117-121.
401. **Volker M, Backstrom N, Skinner BM, Langley EJ, Bunzey SK, Ellegren H, Griffin DK:** Copy number variation, chromosome rearrangement, and their association with recombination during avian evolution. *Genome Res* 2010, **20**:503-511.
402. **von Holdt BM, Pollinger JP, Lohmueller KE, Han E, Parker HG, Quignon P, Degenhardt JD, Boyko AR, Earl DA, Auton A, et al:** Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication. *Nature* 2010, **464**:898-U109.
403. **von Keyserlingk MAG, Olenick D, Weary DM:** Acute behavioral effects of regrouping dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2008, **91**:1011-1016.
404. **Wang B, Ekblom R, Strand TM, Portela-Bens S, Hoglund J:** Sequencing of the core MHC region of black grouse (*Tetrao tetrix*) and comparative genomics of the galliform MHC. *Bmc Genomics* 2012, **13**.
405. **Wang N, Kimball RT, Braun EL, Liang B, Zhang Z:** Assessing Phylogenetic Relationships among Galliformes: A Multigene Phylogeny with Expanded Taxon Sampling in Phasianidae. *Plos One* 2013, **8**.
406. **Wechsler B, Schmid I:** Aggressive pecking by males in breeding groups of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *British Poultry Science* 1998, **39**:333-339.

407. **White DJ, Galef BG:** Affiliative preferences are stable and predict mate choices in both sexes of Japanese quail, *Coturnix japonica*. *Anim Behav* 1999, **58**:865-871.
408. **White DJ, Galef BG:** Social effects on mate choices of male Japanese quail, *Coturnix japonica*. *Anim Behav* 1999, **57**:1005-1012.
409. **White DJ, Galef BG:** Mate choice copying and conspecific cueing in Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Anim Behav* 1999, **57**:465-473.
410. **Widowski TM, Duncan IJH:** Working for a dustbath: are hens increasing pleasure rather than reducing suffering? *Applied Animal Behaviour Science* 2000, **68**:39-53.
411. **Wiener P, Wilkinson S:** Deciphering the genetic basis of animal domestication. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 2011, **278**:3161-3170.
412. **Willner P:** Chronic mild stress (CMS) revisited: Consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology* 2005, **52**:90-110.
413. **Wiren A, Gunnarsson U, Andersson L, Jensen P:** Domestication-related genetic effects on social behavior in chickens - Effects of genotype at a major growth quantitative trait locus. *Poult Sci* 2009, **88**:1162-1166.
414. **Wiren A, Jensen P:** A growth QTL affects emotionality and sociality in chickens. *Behavior Genetics* 2011, **40**:819-819.
415. **World Organisation for Animal H:** *Terrestrial animal health code. Volume I: general provisions*. 2012.
416. **Wright D, Rubin CJ, Barrio AM, Schutz K, Kerje S, Brandstrom H, Kindmark A, Jensen P, Andersson L:** The genetic architecture of domestication in the chicken: effects of pleiotropy and linkage. *Mol Ecol* 2010, **19**:5140-5156.
417. **Wysocki M, Preuss S, Stratz P, Bennewitz J:** Investigating gene expression differences in two chicken groups with variable propensity to feather pecking. *Animal Genetics* 2013, **44**:773-777.
418. **Yasumoto K, Watabe H, Valencia JC, Kushimoto T, Kobayashi T, Appella E, Hearing VJ:** Epitope mapping of the melanosomal matrix protein gp100 (PMEL17) - Rapid processing in the endoplasmic reticulum and glycosylation in the early Golgi compartment. *Journal of Biological Chemistry* 2004, **279**:28330-28338.
419. **Ye Q, He K, Wu S-Y, Wan Q-H:** Isolation of a 97-kb Minimal Essential MHC B Locus from a New Reverse-4D BAC Library of the Golden Pheasant. *Plos One* 2012, **7**.
420. **Yildirim BO, Derksen JJJ:** Systematic review, structural analysis, and new theoretical perspectives on the role of serotonin and associated genes in the etiology of psychopathy and sociopathy. *Neurosci Biobehav Rev* 2013, **37**:1254-1296.
421. **Young EJ, Lipina T, Tam E, Mandel A, Clapcote SJ, Bechard AR, Chambers J, Mount HTJ, Fletcher PJ, Roder JC, Osborne LR:** Reduced fear and aggression and altered serotonin metabolism in Gtf2ird1-targeted mice. *Genes Brain and Behavior* 2008, **7**:224-234.
422. **Zhang Y, Zhang X, O'Hare TH, Payne WS, Dong JJ, Scheuring CF, Zhang M, Huang JJ, Lee M-K, Delany ME, et al:** A comparative physical map reveals the pattern of chromosomal evolution between the turkey (*Meleagris gallopavo*) and chicken (*Gallus gallus*) genomes. *Bmc Genomics* 2011, **12**.
423. **Zhu B, Chen CS, Moyzis RK, Dong Q, Chen CH, He QH, Li J, Lei XM, Lin CD:** Association between the *HTR2B* gene and the personality trait of fun seeking. *Pers Individ Differ* 2012, **53**:1029-1033.
424. **Zimmerman PH, Buijs SAF, Bolhuis JE, Keeling LJ:** Behaviour of domestic fowl in anticipation of positive and negative stimuli. *Anim Behav* 2011, **81**:569-577.
425. **Zlotina A, Galkina S, Krasikova A, Crooijmans RPMA, Groenen MAM, Gaginskaya E, Deryusheva S:** Centromere positions in chicken and Japanese quail chromosomes: de novo centromere formation versus pericentric inversions. *Chromosome Research* 2012, **20**:1017-1032.
426. **Zulkifli I:** Review of human-animal interactions and their impact on animal productivity and welfare. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 2013, **4**.

**Julien RECOQUILLAY**

**Architecture génétique du  
comportement chez la Caille  
Japonaise et relation avec des  
caractères de production**

## Résumé

Notre étude a porté sur le contrôle génétique des comportements sociaux ou de peur et leur relation avec les caractères de production au sein d'un croisement entre deux lignées de cailles sélectionnées de façon divergente sur la motivation sociale. Les résultats alertent sur un possible effet délétère de la sélection pour une plus forte productivité sur la sociabilité et la réactivité émotionnelle des animaux. Dans le même temps, ils indiquent des synergies possibles entre une plus forte motivation sociale et la précocité de la ponte, ou une plus faible réactivité émotionnelle et une production d'œufs plus importante. L'étude a permis la construction de la première carte génétique de moyenne densité à l'aide de marqueurs SNP chez la caille. Les analyses de liaison ont révélé un total de 45 QTLs dont 23 pour les caractères comportementaux et 22 pour ceux de production. Ce sont pour les critères de motivation sociale que les QTLs sont les plus nombreux (15). Certaines régions contrôlent à la fois la réactivité émotionnelle et le poids ou la sociabilité et l'âge au premier œuf. Plusieurs gènes candidats en lien avec la sociabilité ont été suggérés.

Mots-Clefs : Caille - Motivation sociale - Réactivité émotionnelle - QTL - Carte génétique

## Résumé en anglais

Our study focused on the genetic control of social and fear behaviors and their relationships with production traits in a second generation crossing between two lines of quail divergently selected for their social reinstatement behavior. The results warn us about a possible deleterious effect of the selection for higher productivity on the animal's sociability and emotional reactivity. At the same time, they also indicate possible synergies between a stronger social motivation and a precocious laying onset, or a lower emotional reactivity toward a novel object and a higher egg production. The study allowed us to construct the first genetic map of medium density using SNP markers in the quail. Linkage analyses reveal a total of 45 QTLs with 23 linked to behavioral traits and 22 to the production traits. Most of the behavioral QTLs were linked to the social motivation (15). Also, some regions control both emotional reactivity and weight or sociability and the age at first egg. At this stage of the study, several candidate genes related to sociability were suggested.

Keywords: Quail - Social reinstatement - Emotional reactivity - QTL - Genetic map