



HAL
open science

Rôle des influences maternelles prénatales sur le développement des descendants, sa transmission épigénétique et ses conséquences adaptatives

Marion Charrier

► To cite this version:

Marion Charrier. Rôle des influences maternelles prénatales sur le développement des descendants, sa transmission épigénétique et ses conséquences adaptatives. Biologie animale. Université de Rennes, 2021. Français. NNT : 2021REN1B033 . tel-04264057

HAL Id: tel-04264057

<https://theses.hal.science/tel-04264057>

Submitted on 30 Oct 2023

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

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

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE DE RENNES 1

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie Santé

Spécialité : *Neurosciences, Éthologie*

Par

Marion Charrier

Rôle des influences maternelles prénatales sur le développement des descendants, sa transmission épigénétique et ses conséquences adaptatives

Thèse présentée et soutenue à Rennes, le 29 octobre 2021

Unité de recherche : UMR 6552

Rapporteurs avant soutenance :

Raquel Monclús	Professeure associée Université Sorbonne Paris Nord
Michel Saint-Jalme	Maître de Conférence MNHN

Composition du Jury :

Ludovic Dickel Président	Professeur Université Caen Normandie
Audrey Dussutour Examinatrice	Directrice de Recherche CNRS
Thierry Charlier Examineur	Professeur Université de Rennes 1
Cécilia Houdelier Directrice de thèse	Maîtresse de Conférence Université de Rennes 1
Ludovic Calandreau Co-directeur de thèse	Directeur de Recherche INRAE Val de Loire

Invité(s) :

Daniel Guémené	Directeur du SYSAAF Directeur de Recherche INRAE Val de Loire
Jean-Claude Ricci	Directeur de l'IMPCF

Avant-propos

Ce travail de thèse est le fruit de nombreuses collaborations impliquant des laboratoires de recherche français (Université de Rennes 1, CNRS, INRAE Centre Val-de-Loire) et européens (Université de Médecine Vétérinaire de Vienne, Centre d'Etudes Biologiques de Chizé (CEBC)) ainsi que des structures associatives et privées (Interprochasse, Syndicat des Sélectionneurs Avicoles et Aquacoles Français (SYSAAF), Institut Méditerranéen du Patrimoine Cynégétique et Faunistique (IMPCF)).

Le consortium GibAdapt (Interprochasse, SYSAAF, IMPCF, Université de Rennes 1, INRAE Centre Val-de-Loire) à l'origine de ce projet, en a permis la réalisation par le financement d'une bourse CIFRE, d'un stage de Master 2 et des frais de fonctionnement. Les Fédérations Départementales des Chasseurs (FDC) de la Vendée, de la Drôme et de l'Ardèche ont permis la réalisation de nos études en nature grâce à leur soutien logistique et financier. L'Université de Médecine Vétérinaire de Vienne et le CEBC ont en partie financé les dosages hormonaux réalisés dans le cadre de ce travail.

Les données présentées dans le CHAPITRE III ont été récoltées avant puis analysées pendant ce travail de thèse. Cette partie du projet (CHAPITRE III) a été soutenue par l'ANR Presto'Cog (ANR-13-BSV7-0002-02). Les données présentées dans les CHAPITRES IVA et IVB ont quant à elles été récoltées et analysées tout au long de ce travail.



Remerciements

Ça y est, j'achève bientôt la rédaction de ce manuscrit. Ces trois années de thèse ont été intenses, passionnantes et extrêmement enrichissantes. Vous êtes nombreux à m'avoir accompagnée et soutenue dans cette aventure et je voulais donc, à travers ces quelques lignes, vous exprimer toute ma reconnaissance.

Merci à Interprochasse, au SYSAAF, à l'IMPCF, à l'Université de Rennes 1 et à l'INRAE Val-de-Loire d'avoir financé ce travail de thèse.

Merci aux Fédérations Départementales des chasseurs de la Vendée, de la Drôme et de l'Ardèche pour leur soutien logistique et financier qui a permis la réalisation de nos études en nature.

Merci à l'Université de Médecine Vétérinaire de Vienne et au Centre d'Études Biologiques de Chizé qui ont contribué aux financements des dosages hormonaux réalisés dans le cadre de ce travail.

Merci à Raquel Monclús et Michel Saint-Jalme d'avoir accepté de rapporter ce travail et merci à Audrey Dussutour, Thierry Charlier et Ludovic Dickel d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Un merci tout particulier à Cécilia Houdelier et Ludovic Calandreau, mes directeur-riche-s de thèse. Merci de m'avoir fait confiance, encouragée et soutenue tout au long de ce projet. Je mesure sincèrement la chance que j'ai eu de travailler avec vous. Merci Cécilia de m'avoir accompagnée depuis mes premiers pas en éthologie jusqu'à aujourd'hui. Merci pour tout ce que vous m'avez apporté, j'ai énormément appris à vos côtés. Vous avez toujours été à l'écoute, toujours été présente pour moi, pour discuter de nos résultats, pour m'encourager ou pour me rassurer. Merci pour votre enthousiasme, pour vos coups de pouces lors des manips et de l'analyse des données et pour vos idées nocturnes qui ont particulièrement fait avancer ce projet. Merci Ludovic pour vos encouragements permanents, pour toutes nos discussions et pour vos idées qui m'ont permis de prendre beaucoup de recul sur mon travail et mes données.

Merci à Daniel Guémené, ex-directeur du SYSAAF. Merci Daniel de m'avoir si bien accueillie au sein de cette belle équipe. Merci pour ton investissement dans ce projet, pour ton soutien, ta bienveillance et pour la confiance que tu m'as accordée. Merci également à Michel Sourdioux, nouveau directeur du SYSAAF. Merci Michel pour l'intérêt que tu as porté à ce projet et pour tes messages d'encouragement lors de la dernière ligne droite de ma rédaction.

Merci à Jean-Claude Ricci, papa perdrix. Merci Jean-Claude pour ton investissement dans ce projet, pour avoir partagé avec moi ta passion et pour m'avoir tant appris sur ce surprenant oiseau qu'est la perdrix. Merci aussi de m'avoir accueillie sur Montagnac et d'avoir fait de chacun de mes séjours dans le Sud, de très bons moments. On ne lâche rien !

Merci aux membres du consortium GibAdapt pour votre investissement, pour vos conseils, pour l'ensemble de nos échanges et pour tout l'intérêt que vous avez porté à ce projet. Merci notamment à Denis Bourrasseau qui nous a donné accès à toutes les infrastructures nécessaires nous permettant de mener dans les meilleures conditions, notre étude sur la perdrix rouge. Merci à Jean-Christophe Chastang d'avoir tant participé à la mise en nature de nos perdrix dans la Drôme et de m'avoir, le temps d'une escale, accueillie dans sa famille. Merci également à Nicolas Despas d'avoir travaillé à nos côtés sur le volet alimentaire de notre étude chez la perdrix.

Merci aux membres de mon comité de thèse, Heiko Rödel, Frédérique Pitel et Aurélie Célérier, pour nos échanges, vos conseils avisés et votre bienveillance.

Merci à toutes les stagiaires qui ont tant contribué à ce travail : Audrey Bailly, Clémentine Tchadjiane, Noémie Pantel, Cyrielle Garenq, Salomé Chaumont, Emilie Audabrame et Katy Santos. Je vous souhaite à toutes bonne chance pour vos futurs projets. Merci en particulier à Noémie, Cyrielle, Clémentine et Audrey que j'ai eu la chance d'encadrer. Merci pour votre implication et votre motivation, ce fut un réel plaisir de travailler à vos côtés.

Merci à Maryse Meurisse, Marion Georgelin, Paul Constantin, Julie Lermarchand, Fabien Cornilleau, Frédéric Angelier, Rupert Palme et toutes les personnes impliquées dans la réalisation des analyses neuro-physiologiques effectuées dans le cadre de ce travail.

À toutes les personnes rencontrées lors du projet perdrix et que je ne remercierai jamais assez pour leur aide immense, leur investissement et l'ensemble de nos échanges :

Merci à Serge Tricoire, Jean-Claude Vigneron et Patrick Vigneron d'avoir permis la réalisation de notre étude chez la perdrix en nous accueillant chez GEN'ETHIC et AVILANDE.

Merci Serge, Angélique, Évelyne, Laurent, Meddy et Madeleine de m'avoir si bien accueillie chez GEN'ETHIC. Merci pour tout ce que vous m'avez appris, pour votre aide, pour votre bonne humeur quotidienne, pour tous les bons moments passés en votre compagnie et pour la petite boule de poils que vous m'avez offerte. Merci en particulier à toi Serge pour avoir tant participé à l'organisation de ce projet.

Merci Jean-Claude et Patrick pour votre investissement dans ce projet, pour votre gentillesse, pour le temps passé à réfléchir au baguage de nos 2000 oiseaux, pour avoir partagé avec moi votre métier et pour m'avoir accueillie dans votre belle famille.

Merci à Joël Porchet, à Hervé Billaud et Houston ainsi qu'à Patrick Vigneron et Loye d'avoir participé à la mise en place de notre protocole perdrix.

Merci à Serge, Angélique, Évelyne, Meddy, Madeleine, Cécilia, Maxime, Jean-Claude, Patrick, Claudine, Coralie, Valentin, Félix, Germain, Françoise, Jacky, Valentin, Cécilia et toutes les personnes qui ont participé chaque année, à l'éclosion, au baguage et à la préparation de la mise en nature des perdrix.

À Menglon, un immense merci à Stéphane et Virginie, membres incontestables du fan club de la perdrix rouge, pour votre investissement considérable dans ce projet. Merci aussi de m'avoir accueillie dans vos familles et de m'avoir fait découvrir à chacune de mes visites, votre belle région. Merci aussi à Christophe, Karine, Étienne, Théo, Aki, Élie, Guy, Sylvie, Sully, Joseph, Loïc, André, René et à l'ensemble des membres de l'ACCA de Menglon pour votre aide lors de la mise en nature des perdrix et la réalisation des captures de printemps. Merci également à Christophe Mathez et Brice Chauderon, techniciens à la FDC de la Drôme, pour leur aide tout au long de ce projet. Enfin, merci à Agathe et Baptiste qui ont participé aux captures de printemps lors de leur stage à la FDC.

À Brétignolles-sur-Mer, merci à Jean-Paul, Gervais, François, Jean-Claude, Clément, Serge et à tous les membres de la Société de Chasse pour leur travail lors de la mise en nature des perdrix, la réalisation des captures de printemps et des IKAPRV. Merci également à Philippe Verneau et Mickaël Angelin, techniciens à la FDC de Vendée, pour leur aide tout au long de ce projet.

À Montagnac, merci à Jean-Claude, Jacques, Fabien, Nicolas, Julien et David. Merci à tous pour votre investissement, pour le temps consacré à l'échantillonnage de mes petites perdrix et à Nicolas Julien et David pour avoir assuré leur suivi par télémétrie. Merci aussi pour votre superbe accueil, pour les bons moments partagés, pour cette merveilleuse omelette aux asperges, pour m'avoir embarquée sur le terrain et initiée au suivi par télémétrie. (Merci aussi à toi chère petite pétrolette).

Merci à toute mon équipe DEEP. Merci Sophie de me soutenir depuis 1, 2, 3...presque 6 ans maintenant et d'avoir été présente tout au long de ce projet. Merci Valérie, Tiffany, Géraldine, Emmanuel et Geoffrey pour tous les bons moments passés en votre compagnie. Merci Marie pour ta gentillesse et pour nos petites discussions. Merci Isabelle pour toutes nos conversations et vos encouragements jusque dans les derniers instants de cette rédaction.

Merci à tous les membres du laboratoire Ethos et tous les stagiaires de passage pour les bons moments passés à vos côtés. Merci en particulier à toi Géraldine pour ta bonne humeur permanente et pour tes photos à faire pâlir d'envie les agences de voyage. Merci Antoine pour ta passion Zotero et pour tes stratégies douteuses au Time Bomb. Merci à tous les deux pour votre indispensable soutien logistique et administratif. Merci Virginie pour nos pauses cafés/thés du matin, les idées de batchcooking, la découverte des jeux insolites et l'unique séance de course à pied à laquelle je t'ai accompagnée. Merci Véronique pour nos échanges statistiques et tes conseils plantes vertes. Merci Hugo pour tes petits coucous de 10h30 et de 16h30 et les débats plus ou moins sérieux qui les accompagnaient. Merci Laurence pour tes petites idées recettes du vendredi.

Merci aux SYSAAFreux pour tous les bons moments passés à vos côtés. Merci en particulier à toi Maxime, pour ton soutien, tes encouragements et ta bonne humeur permanente. Merci Rosine, Marie-Christine et Steven pour votre gentillesse, pour votre disponibilité et pour toute l'aide administrative que vous m'avez apportée. Et enfin merci Benoît et Romuald pour votre participation indispensable à la mise en place de notre étude chez la perdrix.

Merci à toute l'équipe de l'animalerie, pour les soins apportés à mes petits bébés. Merci Céline pour ta bonne humeur et tes innombrables coups de main lors des pesées ou des sessions omelettes. Merci Damien pour ta patate et pour tous les œufs que tu as laissés dans mes chaussures ou dans ma blouse. Merci Géraldine, Tiffany, Valérie et Christine pour votre aide, votre gentillesse et tous les bons moments passés à vos côtés à l'animalerie.

Merci Stéphane, Fouad et Kyra pour votre aide dans la mise en place de toutes nos expériences.

Merci à Ann Cloarec, à ma maman, ma petite sœur, à Christiane, Noémie, Bastien, Delphine, Hélène et Azeline, pour vos relectures du bon anglais de mes articles ou celles de ce manuscrit, parfois jusque tard dans la nuit (n'est pas Christiane !).

À tous les doctorants EthoS, rennais, paimpontais ou caennais que j'ai eu la chance de rencontrer. Merci en particulier à mes collègues devenues amies, Delphine et Christiane. Thank you for your friendship, your support, for all the beautiful evenings we shared and for our common love of pesto pasta and Basilic&Co's pizza. This adventure would not have been as beautiful without you. Delphine, partenaire indispensable de ces derniers mois, jours, nuits, heures, secondes de rédaction, merci mille fois, je ne sais pas comment j'aurais fait sans toi. Merci pour nos marathons hebdomadaires avec Øksy, pour ta présence, pour le recul que tu m'as aidé à prendre sur mon sujet et pour les rires, joies, angoisses, galères administratives et crises existentielles que nous avons

partagées. Merci d'être une personne aussi passionnée notamment quand tu parles chatons trop mignons, chèvre chaud, cerveau et DFTc. Christiane, thanks a lot for your kindness, your thousands of little attentions, for your crazy moments and for your addiction, love, passion for birds. Thank you for being my second brain (keys, pencils, SD cards, cameras) and for your daily messages and GIFs of motivation that have helped me so much in these last moments of writing. Looking forward to discovering Austria with you! Merci Bastien pour ta présence solaire qui illumine nos journées depuis maintenant un an. Tu es le phare breton qui guide nos frêles esquifs dans cette tumultueuse aventure qu'est la thèse. Merci Geoffrey pour ta gentillesse, ça a toujours été un plaisir de te retrouver et de discuter avec toi. Merci Juliette, Lord Pougnauld, Noémie et Pablo pour votre humour douteux, pour nos folles parties de Skribbl, pour votre bonne humeur, votre enthousiasme, votre soutien et pour tous les bons moments que nous avons partagés. C'est une véritable chance de vous avoir rencontré. Merci à Lisa et Manon pour notre petit week-end au Festival des Sciences. Merci également aux anciennes, Vanessa, Nadège, Lucie et Pauline. Enfin merci à Harold, Harold et Harold pour des raisons évidentes de dignité.

Merci aux petites mains de Noémie, Harold, Bastien, Christiane et Delphine qui s'affairent à imprimer ma thèse alors que j'écris les dernières lignes de ces remerciements.

Merci aux ami.e.s incroyables qui partagent ma vie et qui me manquent tant. Aux plus douces, Alizé, Elsa et Hélène, ma coloc' fille préférée, pour son amour des virgules, son soutien immense et ses petites attentions lors de ces derniers instants de rédaction. À Dany, copain de l'autre bout du monde. Aux beautés des îles, Léa, Tiffanie, Azeline, Amandine, Jérémy, Charlie et Antoine. Aux copains Rennais, aux plus ou moins Lyonnais et en particulier à Mélanie, Hugo et Geoffrey.

Merci à ma belle et grande famille pour votre présence tout simplement. À mes grands-parents, tontons, tatas, à mon petit beau-frère, à mes cousins, cousines et à tous vos petits bébés.

Merci à mes cailles et mes perdrix avec qui j'ai adoré travailler (même si ce n'était certainement pas toujours réciproque).

Merci à tous les animaux qui ont partagé ou partagent ma vie et qui m'apportent tant d'amour et de douceur. Merci notamment à Gui et Sam mes incroyables petits hamsters et à Casse-Croûte le plus merveilleux des chatons.

À mon papa, ma maman et ma petite sœur que j'aime tant. Merci pour votre soutien inconditionnel et votre amour infini. Merci de m'avoir toujours encouragée et d'être présents à chaque instant. Je n'y serai jamais arrivée sans vous.

Sommaire

CHAPITRE I - Introduction générale	1
1. L'ontogenèse des comportements	3
1.1. Évolution et concept	3
1.2. Facteurs environnementaux et effets parentaux	4
2. Les effets maternels postnatals	5
2.1. Privation maternelle	5
2.2. Empreinte, comportements et styles maternels	7
3. Les effets maternels prénatals	10
3.1. Stimulations sensorielles	10
3.2. Expériences de la femelle lors de sa gestation ou de sa phase de ponte	15
4. Potentiel adaptatif des effets maternels prénatals	22
5. Transmission à travers les générations des effets maternels prénatals	25
5.1. Effets multi- et trans-générationnels	25
5.2. Des invertébrés aux vertébrés	26
6. Mécanismes mis en jeu dans la transmission des effets maternels prénatals	28
6.1. Les hormones d'origine maternelle	29
6.2. Les modifications épigénétiques	35
7. Les effets maternels prénatals : de nouveaux outils pour les programmes de réintroduction ?	40
7.1. Déclin des espèces et programmes de réintroduction	40
7.2. Altérations phénotypiques liées à la captivité	41
7.3. Optimisation des conditions d'élevage en captivité	42
8. Présentation de la thèse	44
CHAPITRE II - Méthodologie générale	49
1. Modèles biologiques	51
1.1. Statuts phylogénétiques et conservation	51

1.2. Caille japonaise	51
1.3. Perdrix rouge	56
2. Protocoles expérimentaux	60
2.1. Caille japonaise	60
2.2. Perdrix rouge	64
3. Caractérisation des oiseaux	68
3.1. Suivi morpho-physiologique	69
3.2. Caractérisation comportementale	69
3.3. Suivi en milieu naturel	80
3.4. Analyse des œufs	82
3.5. Analyse de la corticostérone plasmatique	83
3.6. Analyse de marqueurs épigénétiques au sein du cerveau	84
CHAPITRE III - Stress	89
Synthèse du chapitre	91
Article I - Prenatal maternal stress is associated with behavioural and epigenetic changes in Japanese quail	95
Introduction	96
Methods	97
Results and discussion	103
References	111
Supporting information	115
Article II - When ancestors transmit their stress: prenatal maternal stress transmission across generations in a precocial bird	125
Introduction	126
Methods	128
Results	133
Discussion	137
References	140
Supporting information	146

CHAPITRE IV - Complexité et variabilité	155
Problématique générale	157
CHAPITRE IV - Complexité et variabilité - Partie A	159
Problématique	161
Méthodologie	161
Résultats	170
Discussion	194
Références	199
CHAPITRE IV - Complexité et variabilité - Partie B	203
Problématique	205
Méthodologie	206
Résultats	216
Discussion	235
Références	242
CHAPITRE V - Discussion générale	249
1. Bilan des principaux résultats	251
2. Persistance des effets maternels à travers les générations	252
3. Stress, complexité et variabilité de l'environnement	254
4. Potentiel adaptatif des effets maternels prénatals	256
4.1. Potentiel adaptatif des effets maternels prénatals inter-générationnels	256
4.2. Potentiel adaptatif des effets maternels prénatals multi- et trans-générationnels	260
5. Mécanismes de transmission des effets maternels à travers les générations	262
5.1. Composition hormonale de l'œuf	262
5.2. Les mécanismes épigénétiques	268
6. Pertinence pour la conservation de la perdrix rouge	271
6.1. Réflexion sur nos protocoles de complexification	271
6.2. Personnalité, adaptation et survie en milieu naturel	275
6.3. Incubation et mise en nature : des étapes pré- et postnatales à ne pas négliger ?	277

7. Conclusion	280
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	283
ANNEXES	323
Annexe I - Caractéristiques des territoires de mise en nature	325
Annexe II - Répartition des parquets et volières de pré-lâcher	326
Annexe III - Traitement prénatal mis en place chez les perdrix F0	327
Annexe IV - Liste des publications	328
Annexe V - Communications nationales et internationales	329
Annexe VI - Activités d'enseignement et de co-encadrement	332
Annexe VII - Activités de vulgarisation scientifique	333
Annexe VIII - Responsabilités collectives et vie associative	334
Annexe IX - Formations suivies	335

Chapitre I

Introduction générale

Introduction générale

En 1963, dans son article intitulé « On Aims and Methods of Ethology » (Tinbergen, 1963), Tinbergen, inspiré par les travaux d'Huxley, désigne l'étude du comportement animal selon quatre perspectives, i) phylogénétique (i.e. émergence d'un comportement au cours de l'évolution), ii) mécanistique (i.e. mécanismes internes et externes permettant l'expression d'un comportement), iii) fonctionnelle (i.e. valeur adaptative d'un comportement) et iv) ontogénique (i.e. développement d'un comportement au cours de la vie d'un individu). Ces quatre perspectives autrement appelées les quatre questions de Tinbergen, ont permis de poser les fondements de l'éthologie moderne. Si chacune d'elles nécessite bien évidemment une attention particulière, nous nous concentrerons plus spécifiquement, dans le cadre de cette thèse, à la question de l'ontogénèse des comportements.

1. L'ontogénèse des comportements

1.1. Évolution et concept

Les théories et processus développementaux associés à l'ontogénèse ont longtemps été débattus. Dans les années 1950, Lorenz et Tinbergen, pères fondateurs de l'éthologie classique ou objectiviste, défendaient l'idée d'une relation unidirectionnelle entre gènes et comportements (i.e. prédéterminisme génétique) et distinguaient les comportements innés, instinctifs, des comportements acquis (pour revue Gheusi, 2019). Ce concept sera vivement critiqué notamment par Lehrman, psychologue de l'école américaine, qui reprochera à Lorenz et Tinbergen, la simplicité des processus de développement qu'ils défendent et la distinction même entre comportements innés et acquis (pour revue Gheusi, 2019). Ainsi pour Lehrman, l'ontogénèse comportementale résulterait plutôt de l'interaction entre maturation et expérience ainsi que de la relation réciproque entre gènes et comportements (Schneirla, 1965).

Dans les années 1990, Gottlieb proposera finalement une théorie largement acceptée aujourd'hui, celle de l'épigénèse probabiliste (Gottlieb, 1991). Ce modèle de développement comportemental a permis de définir l'ontogénèse des comportements comme un processus dynamique et complexe résultant des interactions bidirectionnelles entre génétique, maturation et expérience (pour revue Houdelier, 2019). La maturation fait référence ici à l'influence sur l'ontogénèse des comportements, de la croissance, de la différenciation tissulaire et de leurs

conséquences structurelles et fonctionnelles, héritées de toutes les étapes du développement (Gottlieb, 2008). L'expérience quant à elle, désigne toutes stimulations internes et externes provenant notamment de l'environnement biotique et abiotique de l'organisme, et pouvant influencer l'ontogenèse des comportements depuis les étapes les plus précoces du développement (i.e. périodes pré- et post-natale) (Schneirla, 1965). Depuis lors de nombreux travaux, notamment ceux mettant en évidence l'existence des processus épigénétiques, ne cessent de confirmer l'hypothèse de Gottlieb.

1.2. Facteurs environnementaux et effets parentaux

Parmi les facteurs environnementaux susceptibles d'influencer le développement comportemental d'un individu, les effets parentaux, ont reçu une attention toute particulière (Mousseau et al., 2009). Les effets parentaux autrement appelés mécanismes d'héritabilité non génétique, correspondent aux effets du phénotype ou de l'environnement parental sur le phénotype du jeune, ces effets ne pouvant être uniquement attribués au génome des parents ou de leurs descendants, à l'environnement non parental ou à l'interaction entre ces éléments (Bonduriansky et al., 2012; Mousseau and Fox, 1998; Uller, 2008). Les effets parentaux peuvent impliquer différents facteurs, tels que l'expression de comportements particuliers, des nutriments, des sécrétions glandulaires, des productions hormonales ou encore des modifications épigénétiques. Ces facteurs peuvent être largement dépendant des comportements parentaux que l'on peut définir comme l'ensemble des expressions comportementales réalisées par un individu et qui permettent d'augmenter la survie et le succès reproducteur des jeunes (Royle et al., 2012).

Dans la littérature, les effets parentaux et les effets maternels sont souvent confondus, notamment parce que chez de nombreuses espèces animales, la mère investit plus de ressources que le père dans la production ou le soin au jeune (e.g. allocation hormonale, protection et nourrissage du jeune, etc. ; Mousseau and Fox, 1998; Räsänen and Kruuk, 2007). Si aujourd'hui, des travaux commencent à explorer le rôle des effets paternels dans le développement individuel (e.g. Chan et al., 2018; Hellmann et al., 2020; Yeshurun et al., 2017), notre propos ici se focalisera sur les influences maternelles.

On distingue ainsi, deux grandes périodes au cours desquelles les effets maternels peuvent influencer le développement comportemental du jeune. Ces périodes cruciales de développement dites précoces (Lindström, 1999) s'étendent i) de la conception à la naissance d'un individu (i.e.

période prénatale), période au cours de laquelle se développent les structures neuronales, nerveuses ainsi que les systèmes sensoriels et moteurs et ii) de sa naissance à sa maturité développementale (i.e. période postnatale), période de maturation des différents systèmes neurosensoriels.

*
* *

Dans la suite de cette introduction, nous présenterons, à partir d'exemples empruntés aux vertébrés et aux invertébrés, un aperçu des effets maternels mis en évidence lors de la période postnatale puis lors de la période prénatale. Nous nous concentrerons plus précisément sur la période prénatale, période au cœur de ce sujet de thèse, et nous verrons que les effets maternels prénatals, bien loin de se limiter à la première génération de descendants, peuvent influencer les générations suivantes. Nous détaillerons ensuite les mécanismes potentiellement impliqués dans la transmission de ces effets puis nous verrons pour finir que les effets maternels prénatals sont aujourd'hui largement considérés comme adaptatifs pour les jeunes.

2. Les effets maternels postnatals

La période postnatale peut être plus ou moins longue selon le niveau de maturité du jeune au moment de sa naissance (i.e. espèce (semi-)nidicole ou (semi-)nidifuge ; **Figure 1**). Toutefois, nous verrons que la mère par sa présence et ses soins va, quelle que soit l'espèce, considérablement influencer le phénotype de ses descendants lors de cette étape cruciale de leur développement.

2.1. Privation maternelle

La présence de la mère, après la naissance ou l'éclosion de son jeune, joue un rôle fondamental sur son développement comportemental (Champagne and Curley, 2009). Les travaux les plus célèbres à ce sujet sont certainement ceux d'Harlow et de ses collaborateurs qui ont montré chez le macaque rhésus (*Macaca mulatta*) que des jeunes séparés précocement de leur mère développent des comportements anormaux, parfois irréversibles, tels qu'une réactivité émotionnelle accrue, des comportements socio-sexuels inadaptés (e.g. agression envers les congénères, comportements de jeu déficients) et des comportements maternels abusifs allant

parfois jusqu'à l'infanticide (Arling and Harlow, 1967; Harlow et al., 1965; Seay and Harlow, 1965; Seay et al., 1964; Suomi et al., 1971). Les jeunes macaques isolés de leur mère mais pouvant interagir avec des congénères présentent aussi des perturbations de leurs capacités d'apprentissage et des comportements sociaux inadaptés (lu dans Champagne and Curley, 2009). Ces résultats suggèrent qu'au-delà de l'isolement social, c'est la rupture du lien mère-jeune qui contribue majoritairement aux effets comportementaux observés. Dans la continuité de ces travaux, des études chez les rongeurs et les oiseaux, montrent que des séparations avec la mère qu'elles soient brèves, prolongées ou totales, augmentent l'émotivité et les comportements de type anxieux chez les jeunes (poule (*Gallus g. domesticus*) : Perré et al., 2002 ; rat (*Rattus norvegicus*) : Kalinichev et al., 2002; Penke et al., 2001 ; caille japonaise (*Coturnix c. japonica*) : Pittet et al., 2014), diminuent leurs capacités exploratoires et cognitives (rat : Aisa et al., 2007 ; caille japonaise : de Margerie et al., 2013; Pittet et al., 2014), modulent leurs comportements alimentaires (rat : Penke et al., 2001) et sociaux (poule : Perré et al., 2002) et altèrent également leur rythmicité (caille japonaise : Formanek et al., 2009) et leurs comportements maternels (rat : Gonzalez et al., 2001 ; caille japonaise : Pittet et al., 2014).



Figure 1 | Jeunes chez des espèces nidifuges (à gauche) et des espèces nidicoles (à droite). Les systèmes moteurs et sensoriels sont extrêmement matures à la naissance ou l'éclosion du jeune nidifuge. Au contraire, ils subiront une forte maturation après la naissance ou l'éclosion chez le jeune nidicole. Il faut noter qu'il existe entre espèces nidicoles et nidifuges, tout un continuum d'état de développement à la naissance qui est déterminé par les niveaux de maturation de ces différents systèmes et de ce fait, par la dépendance du jeune à ses parents. © Pixabay.

2.2. Empreinte, comportements et styles maternels

Lors de la période de maternage, les processus par lesquels la mère va orienter le phénotype comportemental de ses jeunes sont multiples. Parmi eux, on retrouve des processus d'apprentissage tels que l'empreinte filiale, popularisée par Lorenz (Lorenz, 1935) et particulièrement bien décrite chez les oiseaux nidifuges. Juste après la naissance ou l'éclosion (i.e. période sensible), le jeune apprend à reconnaître, par simple exposition, les caractéristiques visuelles et/ou auditives (Nakamori et al., 2013) du premier objet qu'il rencontre, généralement sa mère et/ou ses partenaires sociaux. À court terme, l'empreinte permet de confiner à cet objet spécifique les préférences sociales et l'attachement du jeune (Bolhuis, 1991). Ce processus est toutefois modulé par la complexité de l'environnement social dans lequel il se développe (Lickliter et al., 1993). À plus long terme, l'empreinte influence les préférences sexuelles du jeune, on parle alors d'empreinte sexuelle. Grâce à des expériences d'adoptions croisées hétérospécifiques, certains auteurs ont ainsi montré que les jeunes ne parvenaient pas à s'apparier à des individus de leur propre espèce et présentaient même une préférence sexuelle pour des individus de la même espèce que leur mère adoptive (mouton (*Ovis aries*) et chèvre (*Capra hircus*) : Kendrick et al., 2001 ; diamant mandarins (*Taeniopygia guttata*) et moineaux du Japon (*Lonchura striata*) : Immelmann, 1972 ; mésange charbonnière (*Parus major*) et mésange bleue (*Cyanistes caeruleus*) : Slagsvold et al., 2002). De même que pour les comportements socio-sexuels, la mère va influencer les comportements anti-prédateurs (bernaches nées (*Branta sandvicensis*) : Marshall and Black, 1992 ; grues blanches (*Grus americana*) : Kreger et al., 2005 ; scinque de White (*Liopholis whitii*) : Munch et al., 2018) ou encore les comportements et préférences alimentaires de ses jeunes (lagopède à queue blanche (*Lagopus leucura*) : Clarke, 2010 ; roselin du Mexique (*Carpodacus mexicanus*) : Avery, 1996 ; mouton : (Mirza and Provenza, 1990; Sanga et al., 2011; Thorhallsdottir et al., 1990) ; rat : Terry and Johanson, 1996 ; chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) : Lonsdorf, 2005). Ces processus d'apprentissage peuvent impliquer l'expression de comportements maternels spécifiques. Par exemple, pour attirer ses jeunes vers un aliment particulier, la poule (*Gallus gallus domesticus*) émet une série de comportements



Figure 2 | Offrande alimentaire chez la poule domestique (*Gallus gallus domesticus*). Afin d'attirer ses poussins vers un item alimentaire particulier, la mère, présente cet item du bec et produit une vocalisation typique, le cri d'offrande alimentaire. © Pixabay.

complexes combinant des vocalisations spécifiques (i.e. cris d'offrande alimentaire) et le pointage du bec vers l'item alimentaire (**Figure 2** ; Sherry, 1977; Wauters et al., 2002). L'expression de ces comportements, plus intense en présence d'aliments qualitatifs et appréciés par la mère, favorise la connaissance de la palatabilité des aliments par le poussin (Nicol, 2004) et oriente ses préférences alimentaires (Wauters et al., 1999, 2002).

Les effets maternels postnatals n'impliquent pas uniquement des processus d'apprentissage. On observe également une transmission de la mère à ses jeunes de ses propres caractéristiques comportementales. Ainsi, les cailleteaux élevés par des femelles rythmiques (i.e. exprimant un rythme circadien d'activité en conditions constantes) vont, contrairement à des jeunes élevés par des femelles arythmiques, exprimer eux-aussi un profil circadien rythmique à l'âge adulte (Formanek et al., 2009). Si la mère peut moduler l'ontogenèse des rythmes intrinsèques de ses jeunes, elle peut également leur transmettre ses traits individuels de socialité et d'émotivité. Ainsi, des cailleteaux élevés par des femelles sélectionnées pour leur forte motivation sociale sont, après leur émancipation, plus motivés socialement que les cailleteaux élevés par des femelles sélectionnées pour leur faible motivation sociale (Formanek et al., 2008). De même, des expériences d'adoptions croisées réalisées chez des cailles sélectionnées sur leur durée plus (LTI) ou moins (STI) longue d'immobilité tonique ont mis en évidence que, quel que soit leur génotype, la réactivité émotionnelle des poussins élevés par des mères LTI est plus élevée que celle des poussins élevés par des mères STI (Houdelier et al., 2011).

La transmission de telles caractéristiques entre la mère et ses jeunes semble également médié par le comportement maternel. Celui-ci est influencé par de nombreux facteurs tels que les conditions environnementales (e.g. disponibilité alimentaire, contexte social) ou encore les expériences (e.g. expérience précoce, expérience maternelle) et les caractéristiques intrinsèques (e.g. âge, tempérament, génétique) de la femelle (caille japonaise: Pittet et al., 2012, 2013, mouton : Dwyer and Lawrence, 2000a ; cheval (*Equus caballus*) : Cameron et al., 2003 ; macaque rhésus: Arling and Harlow, 1967 ; souris (*Mus musculus*) : König, 1989). Les variations interindividuelles de ce comportement et leur stabilité d'une période de maternage à la suivante ont permis de mettre en évidence l'existence de styles maternels (cochon d'inde : Vossen et al., 1999 ; caille japonaise : Pittet et al., 2014b ; rat : Champagne et al., 2003 ; mouton : Dwyer and Lawrence, 2000b). Leurs conséquences sur le phénotype comportemental du jeune sont importantes. On distingue par exemple, chez les primates non-humains notamment, les mères permissives des mères restrictives. Chez le singe vervet (*Chlorocebus pygerythrus*), les mères permissives encouragent l'éloignement de leurs jeunes et leurs interactions avec d'autres congénères ce qui favorisent par la suite leur

intégration dans le groupe social. À l'inverse, les mères restrictives, en maintenant un contact étroit avec leurs petits, inhibent leurs comportements exploratoires et limitent leurs compétences sociales (Fairbanks, 1996; Fairbanks and McGuire, 1988). Les interactions entre la mère et son jeune, sont déterminantes à l'expression de tels comportements. Par exemple, chez la caille japonaise, l'un des critères permettant de caractériser le style maternel est le comportement de réchauffement ou au contraire de rejet de la mère envers ses jeunes. Pittet et ses collaborateurs,



Figure 3 | Posture d'arched-back nursing chez le rat (*Rattus norvegicus*). L'expression de cette posture d'allaitement traduit la qualité du comportement maternel chez les rongeurs et influence le comportement des jeunes. © Neurowiki ;

ont montré que les cailleteaux élevés par les mères les plus rejetantes présentent une plus forte motivation sociale. En étant moins bien réchauffés par leur mères ces jeunes, incapables de se thermoréguler seuls, se réchaufferaient mutuellement renforçant ainsi le lien social avec leur couvée (Pittet et al., 2014b). De même, l'expression importante par les rates de léchage, de toilettage et de postures d'allaitement adaptées (i.e. arched-back nursing ; **Figure 3**) diminue la néophobie de leurs jeunes et augmente l'expression de ces mêmes comportements chez leurs filles une fois adultes (Caldji et al., 1998; Francis et al., 1999). Ces effets sont médiés par toute une cascade moléculaire et épigénétique (**CHAPITRE I - 6.2**) et impliquent notamment l'action des hormones glucocorticoïdes et l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA ; **CHAPITRE I - 3.2.2.1**). En effet, la qualité et la quantité des soins maternels reçus augmentent dans l'hippocampe des jeunes rats, l'expression du facteur de transcription NGFI-A (i.e. Nerve Growth Factor Inducible Protein A). La liaison de cette protéine au promoteur du gène du récepteur des glucocorticoïdes (GR) provoque l'hypométhylation de l'ADN, l'acétylation des histones et une expression accrue du gène GR. L'augmentation des récepteurs aux glucocorticoïdes dans l'hippocampe de ces jeunes permet une diminution de leurs niveaux de stress et à plus long-terme, l'expression par les femelles d'un comportement maternel de qualité (Meaney, 2001; Weaver et al., 2004, 2007).

*
* *

Ainsi, les effets maternels ont lors de la période postnatale des conséquences majeures sur l'ontogenèse comportementale des descendants. Outre son rôle évident dans la protection et le

nourrissage de ses jeunes, la mère, de par sa présence, son phénotype ou la qualité de ses soins, va moduler, orienter et façonner leurs comportements. Ainsi, les effets maternels postnatals, en favorisant l'établissement de comportements socio-sexuels adaptés ou l'apprentissage d'un comportement alimentaire adéquat, représentent une voie d'adaptation spécifique permettant de préparer les jeunes à leur environnement. Nous allons voir dans la suite de cette introduction que les effets maternels ne se limitent pas à la période postnatale et qu'ils peuvent, avant même la naissance ou l'éclosion de l'individu, influencer le développement de ses futurs comportements.

3. Les effets maternels prénatals

Chez les espèces vivipares, la période prénatale se déroule exclusivement au sein de l'organisme maternel (i.e. de la fécondation à la naissance du jeune). Chez les espèces ovipares, elle inclut deux étapes distinctes. La première se déroule, comme pour les espèces vivipares, au sein de l'organisme maternel (i.e. de la fécondation à la ponte). La seconde en revanche, se déroule à l'extérieur, au sein de l'œuf (i.e. de la ponte de l'œuf à l'éclosion du jeune). Les effets maternels prénatals vont intervenir à chacune de ces étapes, soit du fait des stimulations sensorielles de l'embryon provenant de la mère et de son milieu, soit du fait des expériences vécues par la femelle au cours de sa gestation ou de sa phase de ponte.

3.1. Stimulations sensorielles

Chez les vertébrés, quelle que soit l'espèce, les systèmes sensoriels se développent selon une séquence invariante et séquentielle : le système somatosensoriel (systèmes tactile et vestibulaire) se développe en premier suivi par les systèmes chimiosensoriel (système olfacto-gustatif), auditif puis visuel (Lickliter, 2000). Comme nous allons le voir dans cette partie, les effets maternels prénatals peuvent être médiés par chacun de ces systèmes.

3.1.1. Stimulations tactiles et vestibulaires

Chez les oiseaux, les femelles retournent régulièrement leurs œufs au cours de la période de couvaie. Ce comportement prévient l'adhésion des membranes embryonnaires et est à l'origine de stimulations vestibulaires qui influencent les rythmes biologiques des jeunes en phase

postnatale. Chez la poule par exemple, un retournement artificiel des œufs toutes les 20 minutes module le rythme ultradien d'activité locomotrice des jeunes qui passe de 29 minutes chez les oiseaux témoins à 21 minutes chez les oiseaux expérimentaux (Guyomarc'h et al., 1973)

3.1.2. Stimulations olfacto-gustatives

Les embryons sont capables de percevoir et de mémoriser des signaux chimio-sensoriels rencontrés *in utero* ou *in ovo* tels que les odeurs et saveurs provenant de l'alimentation maternelle. Cette capacité influence les comportements postnatals des jeunes qui s'orientent préférentiellement vers l'odeur à laquelle ils ont été exposés prénatalement. Ainsi, chez le lapin (*Oryctolagus cuniculus*), les jeunes expriment naturellement des comportements d'évitement lorsqu'ils sont exposés à l'odeur de cumin alors qu'ils s'orientent préférentiellement vers celle-ci après y avoir été exposé *in utero* (Coureaud et al., 2002). Cette réponse a été mise en évidence chez de nombreuses espèces soit expérimentalement, pour les espèces ovipares notamment, via des injections réalisées dans les œufs (poule : Bertin et al., 2010; Sneddon et al., 1998 ; grenouille (*Smilisca phaeota*, *Rana temporaria* et *Rana sylvatica*) : Gutiérrez-Cárdenas, 2006; Hepper and Waldman, 1992), soit naturellement, via les aliments consommés par la mère lors de sa gestation ou de sa phase de ponte (poule : Aigueperse et al., 2013 ; chien : Wells and Hepper, 2006 ; humain : Schaal, 2000 ; mouton : Schaal et al., 1995 ; cochon (*Sus scrofa domesticus*) : Figueroa et al., 2013; Oostindjer et al., 2009). Cette orientation préférentielle vers une odeur familière influence les préférences alimentaires des jeunes (poule : Aigueperse et al., 2013 ; mouton : Simitzis et al., 2008 ; chat (*Felis silvestris*) : Hepper et al., 2012 ; rat : Kamenetzky et al., 2018). Par exemple, les agneaux à qui l'on propose des aliments ayant la saveur de l'origan, de l'orange ou de l'eucalyptus consomment préférentiellement celui à l'origan, odeur/saveur qu'ils ont déjà rencontrée *in utero* via le régime alimentaire maternel (Simitzis et al., 2008). Selon l'hypothèse de continuité chimiosensorielle transnatale (Schaal and Orgeur, 1992), la capacité des jeunes à mémoriser les odeurs rencontrées prénatalement favoriserait l'acquisition d'un comportement alimentaire optimal et orienterait les préférences des jeunes vers des ressources alimentaires sûres.

3.1.3. Stimulations auditives

Chez de nombreuses espèces, les jeunes sont capables de percevoir et de mémoriser les vocalisations maternelles avant même la naissance ou l'éclosion. Ces vocalisations sont transmises

par l'air ou par des signaux vibro-acoustiques et déclenchent une réponse embryonnaire (colin de virginie (*Colinus virginianus*) : Heaton and Galleher, 1981 ; canard musqué (*Cairina moschata f. domestica*) : Höchel et al., 2002). Kisilevsky et ses collaborateurs ont montré que dès 38 semaines de grossesse, l'embryon humain réagit à la voix de sa mère et la discrimine d'une voix étrangère. En réponse à la voix maternelle, son rythme cardiaque accélère alors qu'il ralentit en réponse à une voix non familière. (Kisilevsky et al., 2003). De même, chez la poule ou le canard de Pékin (*Anas platyrhynchos domesticus*), les embryons produisent claquements de bec et pépiements en réponse à des playbacks de cris maternels (Gottlieb, 1965, 1979). La capacité des jeunes à émettre des pépiements *in ovo* a été mise en évidence chez une multitude d'espèces (perdre rouge (*Alectoris rufa*) : Goodwin, 1953 ; mouette atricille (*Leucophaeus atricilla*) : Impeken, 1973). Selon l'hypothèse du « care-soliciting signal », ces vocalisations seraient capables de moduler l'attention des parents et le soin qu'ils portent aux œufs, notamment lors de la période pré-éclosion (mouette atricille : Impeken, 1973 ; perruche ondulée (*Mehpsittucus Undulufus*) : Berlin and Clark, 1998 ; pélican d'Amérique (*Pelecanus erythrorhynchos*) : Evans, 1990 ; grèbe à cou noir (*Podiceps nigricollis*) : Brua et al., 1996). Chez le pélican d'Amérique (**Figure 4**) par exemple, les embryons en hypothermie produiraient une vocalisation spécifique favorisant le réchauffement de l'œuf par la femelle (Evans, 1990, 1992).

L'expérience *in utero* ou *in ovo* des vocalisations maternelles va également influencer les préférences postnatales du jeune. Chez l'humain, les nouveau-nés vont notamment préférer la voix de leur mère à une voix non familière (DeCasper and Fifer, 1980) ou un discours énoncé dans la langue maternelle plutôt que dans une langue inconnue (Mehler et al., 1988). Chez le colin de Virginie (Bertin et al., 2009; Lickliter and Hellewell, 1992) et la poule domestique (Fält, 1981), les poussins après leur éclosion vont préférer une vocalisation maternelle entendue *in ovo* à une vocalisation maternelle non familière. Ainsi, les vocalisations produites par la mère lors de sa gestation ou des soins portés aux œufs, favoriseraient la transition entre les milieux pré- et



Figure 4 | Comportements d'incubation chez le pélican d'Amérique (*Pelecanus erythrorhynchos*). Lors d'une hypothermie, les vocalisations produites *in ovo* par l'embryon, favoriseraient le réchauffement de l'œuf par la femelle. Celle-ci (A et B) ramènerait l'œuf sous elle, au centre du nid et (C) le réchaufferait. © Evans, 1992.

postnatal et faciliteraient la reconnaissance postnatale de la mère et de son jeune. Selon certains auteurs, elles permettraient également aux jeunes d’anticiper et de s’adapter à leur environnement futur. Par exemple, chez le mériion superbe (*Malurus cyaneus* ; **Figure 5**) et le mériion à dos rouge (*Malurus melanocephalus*), la femelle produit une vocalisation pendant l’incubation qui contient une séquence signature apprise *in ovo* par les embryons. Après l’éclosion, la qualité de l’imitation de cette séquence particulière permet la discrimination par les parents des jeunes parasites (e.g. coucou de Horsfield (*Chalcites basalis*)) et



Figure 5 | Femelle de mériion superbe (*Malurus cyaneus*). Chez le genre *Malurus*, la femelle émet une séquence vocale signature lors de l’incubation. L’imitation par le jeune de cette séquence après l’éclosion, influencera le comportement des parents. © C. Jones.

assure un meilleur approvisionnement alimentaire des oisillons (Colombelli-Négrel et al., 2012, 2016). Une autre étude chez le diamant mandarin a récemment montré que les parents, à l’approche de l’éclosion de leurs jeunes, produisent une vocalisation spécifique si les températures atteignent les 26°C. Les embryons exposés *in ovo* à ces vocalisations présentent plus de comportements de quémante après l’éclosion et une fois adulte, choisissent les sites de nidification les plus chauds. Les parents, via l’émission de cette vocalisation particulière, ont donc influencé la trajectoire développementale de leurs jeunes et induit l’expression d’un phénotype adapté aux conditions thermiques de leur environnement (Mariette and Buchanan, 2016).

3.1.4. Stimulations lumineuses et thermiques

Les stimulations lumineuses et thermiques perçues par l’embryon peuvent être modulées *in utero* ou *in ovo* par la mère et son comportement. Chez les mammifères par exemple, l’horloge interne du fœtus se synchronise sur le rythme de la femelle qui est lui-même synchronisé sur les conditions photopériodiques de son environnement (humain : Reppert and Schwartz, 1983 ; hamster doré (*Mesocricetus auratus*) : Davis and Gorski, 1985). Ainsi chez le rat, les femelles exposées *in utero* à une lumière constante (i.e. altération du rythme circadien de la femelle et modification de son système mélatonine/sérotonine) donnent naissance à des jeunes qui présentent à l’âge adulte des comportements de type dépressifs et anxieux ainsi que des troubles de la mémoire à court terme (Voiculescu et al., 2015, 2016). Chez les espèces ovipares, le choix du

site de ponte et/ou le temps passé par la femelle sur le nid peuvent exposer les embryons à des fluctuations thermiques (i.e. températures sur- ou sous-optimales) et lumineuses influençant finalement le phénotype postnatal des jeunes (agame barbu (*Pogona vitticeps*) : Siviter et al., 2017 ; colin de Virginie : Belnap et al., 2019 ; tortue olivâtre (*Lepidochelys olivacea*) : Mueller et al., 2019). Bertin et ses collaborateurs ont par exemple montré qu'une exposition chronique à une température inférieure à l'optimum d'incubation (27.2°C vs 37.8°C) retarde l'éclosion des poussins, ralentit leur croissance et augmente leurs comportements néophobiques (Bertin et al., 2018a). Chez le python d'eau (*Liasis fuscus* ; **Figure 6**) qui présente une couvaison maternelle facultative, le choix du site de nidification et les soins maternels influencent la température d'incubation des œufs. Shine et ses collaborateurs ont incubés des œufs selon différents régimes thermiques observés dans des nids naturels (i.e. avec ou sans fluctuations thermiques, avec ou sans soins maternels). Ils ont montré que ces traitements influencent non seulement la durée de l'incubation mais également la croissance des jeunes, leur comportement de fuite et leur motivation à se nourrir (Shine et al., 1997). Plusieurs études expérimentales ont également montré l'influence d'une exposition lumineuse *in ovo* sur les comportements sociaux des jeunes (poule : Riedstra and Groothuis, 2004), sur leur latéralisation motrice et visuelle (colin de virginie : Casey and Lickliter, 1998 ; poule : Chiandetti and Vallortigara, 2019; Chiandetti et al., 2013) ainsi que sur leur capacité à effectuer deux tâches en simultanée (i.e. alimentation et vigilance) (poule : Rogers et al., 2004). Au cours de leurs études chez le colin de Virginie, Lickliter et ses collaborateurs ont évalué les effets d'une redondance intersensorielle sur les processus attentionnels et les capacités d'apprentissage et de mémorisation des poussins. En fin d'incubation, ils ont exposé des embryons à un cri maternel



Figure 6 | Python d'eau (*Liasis fuscus*). Cette espèce présente une couvaison maternelle facultative ce qui influence la température d'incubation des œufs et module la croissance des jeunes, leur comportement de fuite et leur comportement alimentaire. © iNaturalist.

en condition i) de stimulation auditive unimodale, ii) de stimulation auditive couplée à des stimulations visuelles asynchrones (i.e. flash lumineux) ou iii) de stimulations auditive et visuelle redondantes et synchrones (i.e. fréquence, rythme et durée). Après leur éclosion, les poussins ont effectué un test de choix entre un cri maternel non familier et le cri familier perçu *in ovo*. Les jeunes exposés de manière synchrone aux stimulations auditive et visuelle ont montré des capacités d'apprentissage et de mémoire supérieures aux jeunes exposés au cri maternel seul. Qui plus est, les jeunes exposés de manière asynchrone aux

stimulations auditives et visuelles n’ont montré aucune préférence pour le cri maternel entendu *in ovo*. Lorsqu’elles sont synchrones, les stimulations intersensorielles peuvent donc avoir un effet facilitateur remarquable sur les capacités d’apprentissage prénatales des jeunes. À l’inverse, lorsque ces stimulations sont asynchrones, cela peut perturber les processus attentionnels prénatals et *in fine* les capacités d’apprentissage du jeune (Lickliter et al., 2002, 2004).

3.2. Expériences de la femelle lors de sa gestation ou de sa phase de ponte

Les expériences vécues par la femelle lors de sa gestation ou de sa phase de ponte ont des effets majeurs sur l’environnement embryonnaire et modifie ainsi le développement et le phénotype du futur jeune. On retrouve dans la littérature une dichotomie nette entre les expériences maternelles positives et négatives. Nous présenterons dans la partie suivante un aperçu de ces différents effets. Même si ici nous présentons séparément les effets des stimulations sensorielles et des expériences de la femelle, leur interaction est fortement probable en nature. On peut effectivement penser qu’en fonction de ses expériences, l’état émotionnel ou les comportements de la femelle gestante ou pondeuse soient modulés (e.g. comportement d’incubation ; Basso and Richner, 2015; Londoño et al., 2008) influençant ainsi l’exposition de l’embryon aux différentes stimulations sensorielles présentées précédemment.

3.2.1. Expériences positives

Les effets que peuvent avoir les expériences positives vécues par la femelle gestante ou pondeuse sur ses jeunes ont principalement été étudiés suite à un enrichissement environnemental. Le concept d’enrichissement environnemental, parfois désigné sous le terme de complexité environnemental, a été décrit pour la première fois par Hebb (Hebb, 1947). Hebb a montré que des rats qu’il avait laissés libres dans sa maison présentaient de meilleures capacités cognitives (i.e. résolution de problème) que ceux maintenus en laboratoire. Depuis ces premiers travaux, l’enrichissement environnemental est défini comme une modification du milieu visant à améliorer le bien-être physique et psychologique des animaux captifs en leur fournissant des stimuli sensoriels, moteurs, cognitifs, visuels et/ou sociaux, répondant aux besoins spécifiques de leur espèce (Newberry, 1995). Malgré l’abondante littérature sur les effets d’un enrichissement environnemental postnatal (e.g. saumon atlantique (*Salmo salar*) : Salvanes et al., 2013 ; cochon : Douglas et al., 2012 ; poule : pour revue Riber et al., 2018 ; rongeurs : Brydges et al., 2011; pour

revue Hutchinson et al., 2005), les effets d'un enrichissement environnemental prénatal n'ont été que plus rarement étudiés. Certains auteurs ont cependant montré que les jeunes issus de mères maintenues en milieu enrichi présentaient de meilleures capacités d'apprentissage (rat : Kiyono et al., 1985), un niveau d'activité plus élevé (kili des mangroves (*Kryptolebias marmoratus*) : Berbel-Filho et al., 2020 ; rat : McKim and Thompson, 1975; Mychasiuk et al., 2012 ; souris : Maruoka et al., 2009) ou encore une diminution de leur réactivité émotionnelle et de leur agressivité (cochon : Tatemoto et al., 2019 ; caille japonaise : Guibert, 2011). Chez les rongeurs, les effets sur le phénotype du jeune seraient d'autant plus marqués qu'un enrichissement du milieu de vie de la femelle avant, pendant et/ou après la gestation augmente les comportements de soins maternels (**CHAPITRE I - 2.2**) tels que le léchage, le toilettage ou bien le temps passé au nid (Curley, 2009; Cutuli et al., 2015; Knop et al., 2019; Sparling et al., 2020). Parmi les stimulations pouvant participer à l'enrichissement environnemental de la femelle, on retrouve les stimulations des comportements moteurs. Certains auteurs ont exposé des femelles gestantes à une activité physique régulière pendant leur gestation (e.g. tapis de course, nage en piscine de Morris). Ils ont montré que leurs jeunes présentaient de meilleures capacités d'apprentissage spatial et de mémoire à court terme (rat : Lee et al., 2006; Parnpiansil et al., 2003). Les effets d'une activité physique de la femelle pendant sa gestation semblent donc bénéfiques aux jeunes. Il faut toutefois noter que les protocoles utilisés dans ces études ont été imposés aux femelles. Les passages sur tapis de course ou les séances de nage forcée auxquels elles ont été exposés ont donc peut-être été perçus comme des expériences négatives et stressantes plutôt que comme des expériences positives.

3.2.2. Expériences négatives

Le stress de la femelle lors de sa gestation ou de sa phase de ponte (i.e. stress maternel prénatal) est certainement l'un des effets maternels ayant reçu le plus d'attention. Avant d'en montrer l'influence sur le phénotype des jeunes, il nous paraissait important de définir le concept de stress et d'en présenter les mécanismes.

3.2.2.1. Le stress et ses mécanismes physiologiques

Bien que la définition du stress soit aujourd'hui encore débattue, il est généralement défini comme des changements métaboliques, (neuro)endocriniens, physiologiques ou comportementaux qui se produisent en réponse à des stimulations négatives (stresseurs), réelles

ou interprétées et qui permettent le maintien ou le rétablissement de l'homéostasie (Romero et al., 2015). On distingue alors deux catégories de stress. D'une part, le stress aigu (e.g. exposition brève à un prédateur) qui résulte d'une stimulation négative, brève, non répétée dans le temps et qui implique des modifications physiologiques et comportementales permettant à l'animal de réagir face à un danger potentiel puis de recouvrer son homéostasie. D'autre part, le stress chronique, qui résulte de stimulations négatives régulières et dont les réponses physiologiques et comportementales associées, perdurent et ne permettent plus le rétablissement de l'homéostasie. Les réponses physiologiques et comportementales au stress sont communes à de nombreuses espèces et apparaissent particulièrement conservées chez les vertébrés (Wingfield et al., 1998). Suite à la perception d'une stimulation négative, deux systèmes endocriniens sont activés (Boonstra, 2004; Matthews, 2002). Le premier permet en quelques secondes la synthèse de catécholamines (e.g. adrénaline) par la glande médullosurrénale et déclenche une réponse au stress, intense, rapide et adaptative connue sous le terme de « fight or flight » (e.g. augmentation du rythme cardiaque et de la fréquence respiratoire permettant une mobilisation musculaire immédiate ; Freeman, 1975; Wingfield et al., 1998). Le second est activé quelques minutes après la perception de la stimulation (**Figure 7** ; Boonstra, 2004; Matthews, 2002; Sapolsky et al., 2000). Le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (PVN) libère de l'arginine-vasopressine (AVP) et de la corticolibérine (CRH) qui vont stimuler en synergie la sécrétion par la glande pituitaire antérieure de l'hormone adrénocorticotrope (ACTH). L'ACTH va finalement stimuler la production et la sécrétion, par les glandes surrénales (ou glande interrénale chez les poissons), de glucocorticoïdes (corticostérone chez les muridés et la majorité des poissons, amphibiens, reptiles et oiseaux et cortisol chez la majorité des mammifères ; Harvey et al., 1984). D'une part, l'augmentation des glucocorticoïdes dans la circulation sanguine déclenchera une série de réponses métaboliques, physiologiques et comportementales permettant le maintien ou le rétablissement de l'homéostasie (e.g. néoglucogénèse hépatique, inhibition de l'absorption du glucose par les tissus périphériques, suppression de certaines réactions immunitaires ; Munck et al., 1984). D'autre part, elle permettra via une boucle de rétrocontrôle négatif de réguler le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien ou axe HPA (axe hypothalamo-hypophyso-interrénal ou axe HPI chez les poissons). Les glucocorticoïdes vont effectivement activer les récepteurs minéralocorticoïdes (MR) et glucocorticoïdes (GR) du cerveau (e.g. PVN, hippocampe) et de la glande pituitaire antérieure ce qui limitera leur propre sécrétion. Dans le cas d'un stress aigu, les mécanismes de rétrocontrôle régulent rapidement l'activation de l'axe HPA permettant, une fois la stimulation négative terminée, un retour à l'homéostasie. Dans le cas d'un stress chronique, les mécanismes de rétrocontrôle ne sont plus efficaces, l'activation de l'axe HPA et la sécrétion des glucocorticoïdes

sont donc prolongées et l'homéostasie altérée. Ainsi, alors que le stress aigu (dans une gamme d'intensité modérée) déclenche une réponse adaptative et facilite la récupération de l'individu, le stress chronique, notamment lorsqu'il est imprévisible et incontrôlable, provoque des ajustements neuro-physiologiques, morphologiques et comportementaux potentiellement néfastes (Dantzer et al., 2014; Sapolsky et al., 2000) incluant une diminution de la réaction immunitaire (pour revue Pruett, 2003), une modulation du fonctionnement de l'axe HPA et de la réponse au stress (étourneau sansonnet (*Sturnus vulgaris*) : Rich and Romero, 2005), une diminution de la prolifération et de la survie cellulaire hippocampique (caille japonaise : Lormant et al., 2020), des modulations des capacités cognitives (caille japonaise : Calandreau et al., 2011; Laurence et al., 2012 ; poule : Lindqvist and Jensen, 2009) ou encore une diminution du succès reproducteur (étourneau sansonnet : Cyr and Michael Romero, 2007).

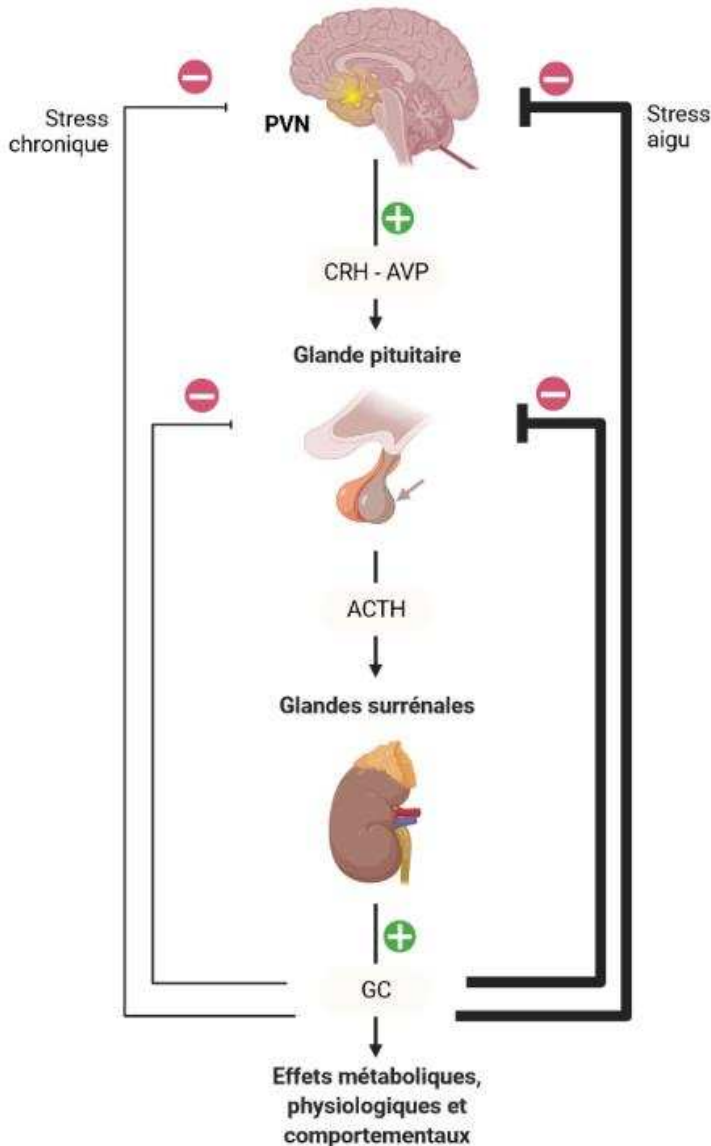


Figure 7 | Représentation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien ou axe HPA lors d'un stress chronique (à gauche) ou d'un stress aigu (à droite). Après la perception d'un stimulus négatif, le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (PVN) sécrète de l'arginine-vasopressine (AVP) et de la corticotrophine (CRH) qui stimulent la production de l'hormone adrénocorticotrope (ACTH) par la glande pituitaire antérieure. Celle-ci stimule les glandes surrénales qui libèrent des glucocorticoïdes (GC). L'augmentation des GC dans la circulation sanguine permet un rétrocontrôle négatif de cette production (via les récepteurs minéralocorticoïdes et glucocorticoïdes présents au niveau de la glande pituitaire et de structures cérébrales comme le PVN et l'hippocampe) qui est plus ou moins efficace (épaisseur du trait) selon le type de stress expérimenté. Illustration créée avec BioRender.com d'après Boonstra, 2004.

3.2.2.2. Les effets du stress maternel prénatal

L'environnement dans lequel évolue la femelle gestante ou pondeuse est changeant et est soumis à des perturbations, biotiques ou abiotiques, pouvant moduler le phénotype du futur jeune. La disponibilité alimentaire, le risque de prédation, les changements de partenaires sociaux, les densités de population élevées, le changement climatique ou les modifications anthropiques telles que les pollutions lumineuses, sonores ou chimiques sont autant de facteurs de stress pour la femelle gestante ou pondeuse (Baker et al., 2013; Dantzer et al., 2014). Lorsqu'elles sont maintenues en captivité, les femelles peuvent également être exposées à des sources de stress supplémentaires liées aux pratiques d'élevage telles que des contentions, des transports, des bruits soudains ou encore une surpopulation (Morgan and Tromborg, 2007).

Le stress maternel prénatal influence de nombreux traits phénotypiques chez le jeune. Cela inclut son développement morpho-physiologique (campagnol de Brandt (*Lasiopodomys brandtii*) : Gu et al., 2020 ; écureuil roux (*Tamiasciurus hudsonicus*) : Dantzer et al., 2013), ses comportements d'exploration ou de dispersion (mouton : Roussel et al., 2004 ; gambusie : (*Gambusia affinis*) : McGhee et al., 2021 ; marmotte à ventre jaune (*Marmota flaviventris*) : Monclús et al., 2011), sa réactivité émotionnelle (lézard vivipare (*Zootoca vivipara*) : Rozen-Rechels et al., 2018 ; poule : Janczak et al., 2007 ; caille japonaise : Guibert et al., 2010, 2011, truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) : Colson et al., 2019 ; rat : Patin et al., 2005), ses comportements sociaux, sexuels et parentaux (cochon : Jarvis et al., 2006 ; rat : Kinsley and Bridges, 1988; Schulz et al., 2011 ; macaque rhésus : Clarke and Schneider, 1993 ; campagnol roussâtre (*Clethrionomys glareolus*) : Marchlewska-Koj et al., 2003 ; souris : St-Cyr et al., 2018), ses comportements anti-prédateurs (acarien (*Phytoseiulus persimilis*) : Seiter and Schausberger, 2015 ; grillon (*Gryllus pennsylvanicus*) : Storm and Lima, 2010) ainsi que ses capacités cognitives (poule : Lindqvist et al., 2007 ; épinoche : Roche et al., 2012 ; scinque de White : Munch et al., 2018 ; rat : Lordi et al., 2000; Schulz et al., 2011). Parmi de nombreux exemples, O'Brien et ses collaborateurs ont montré chez la seiche commune (*Sepia officinalis*) que des exondations régulières des femelles augmentent l'activité nocturne de leurs jeunes et accentuent la disruptivité de leur motif corporel ce qui améliorerait leur capacité de camouflage en milieu naturel (O'Brien et al., 2017). Chez le goéland leucophée (*Larus michahellis*), les jeunes issus de femelles exposées pendant leur phase de ponte à un leurre de prédateur (*Neovison vison*) présentent une meilleure réponse anti-prédateur puisqu'ils s'abaissent plus rapidement lors de la diffusion d'un cri d'alarme spécifique (Morales et al., 2018). Les cochons d'Inde (*Cavia porcellus*) évoluant dans un environnement social instable lors de leur gestation donnent naissance à des jeunes qui présentent des altérations de leurs comportements socio-

sexuels. Les femelles expriment des comportements de parade et de jeu typiquement masculins et les mâles, des comportements qui sont normalement observés chez les très jeunes individus (e.g. repos avec contact physique ; pour revue Kaiser and Sachser, 2005). Les quelques exemples développés ici témoignent de la diversité des effets du stress maternel prénatal qui d'un point de vue adaptatif, apparaissent soit avantageux soit délétères pour le jeune. Une série d'étude chez l'épinoche (*Gasterosteus aculeatus*) traduit bien de cette diversité (**Figure 8**). Après avoir exposé des femelles à un leurre de prédateur



Figure 8 | Groupe d'épinoche (*Gasterosteus aculeatus*). L'exposition de femelles épinoche à un leurre de prédateur (i.e. brochet (*Esox lucius*)) pendant leur phase de ponte, améliore ou au contraire diminue l'expression chez leurs jeunes des comportements anti-prédateurs. © Flickr.

(brochet (*Esox lucius*)) pendant leur phase de ponte, Giesing et ses collaborateurs ont montré une augmentation de la fréquence de nage en groupe de leurs jeunes, une réponse assimilable à un comportement anti-prédateur (Giesing et al., 2011). Suite au même scénario, McGhee et ses collaborateurs ont au contraire montré une diminution de l'expression de ce comportement et ont observé un taux de survie plus faible des jeunes (McGhee et al., 2012).

Le stress maternel prénatal est considéré chez l'humain comme un facteur de risque dans de nombreuses pathologies comme la schizophrénie, la dépression ou encore l'hyperactivité. C'est probablement pour cela que les études appréciant les effets du stress maternel prénatal se sont largement intéressées aux compétences affectées dans ces pathologies telles que la réactivité émotionnelle ou encore les capacités d'apprentissage et de mémorisation (pour revue Braastad, 1998; Weinstock, 2008, 2017; Welberg and Seckl, 2001). D'abord principalement évaluées chez les rongeurs, ces compétences ont ensuite été caractérisées chez une multitude d'espèces. Un stress de la femelle gestante ou pondeuse est ainsi généralement associé à une augmentation de la réactivité émotionnelle de ses descendants (rat : Estanislau and Morato, 2005; Fride and Weinstock, 1988; Vallée et al., 1997 ; poule : Janczak et al., 2007 ; caille japonaise : Guibert et al., 2010). Pour preuve, Guibert et ses collaborateurs ont montré que des cailleaux issus de femelles exposées à toute une variété de stressseurs expriment une plus forte réactivité émotionnelle en réponse à la séparation sociale et à la nouveauté (Guibert et al., 2011). Chez la caille japonaise toujours, les femelles séparées régulièrement de leurs mâles lors de la période de reproduction produisent des jeunes plus émotifs et moins sociaux que les femelles maintenues en continu avec

leur partenaire (Le Bot et al., 2014). Comme nous l'avons souligné précédemment pour d'autres comportements, les effets du stress maternel prénatal sur la réactivité émotionnelle des jeunes ne font pas consensus. Certaines études ne montrent ainsi aucune différence entre les individus stressés et non stressés prénatalement (souris : Nishio et al., 2006) ou montrent des résultats contraires à ce qui est rapporté classiquement (rat : Cannizzaro et al., 2006 ; souris : Pallarés et al., 2007). Les mêmes divergences sont observées pour les capacités d'apprentissage et de mémorisation des jeunes. Classiquement, celles-ci sont évaluées grâce à des tests d'apprentissage spatial même si certaines études utilisent des conditionnements d'évitement passif (rat : Lordi et al., 2000), des tests de discrimination (épinouche : Roche et al., 2012) ou encore des tests de reconnaissance de l'objet (pour revue Weinstock, 2017). Le stress maternel prénatal semble généralement altérer les capacités d'apprentissage et de mémorisation des jeunes (poule : Lindqvist et al., 2007 ; rat : Markham et al., 2010; Schulz et al., 2011 ; pour revue Braastad, 1998; Weinstock, 2008). Par exemple, lors d'un test de rappel en piscine de Morris chez le rat, les jeunes issus de mères stressées passent plus de temps dans le quadrant opposé à la plateforme et la localisent plus tardivement que les jeunes issus de mères non stressées (Modir et al., 2014). Certains auteurs mettent toutefois en évidence l'absence d'effets du stress maternel prénatal sur ces capacités (rat : Vallée et al., 1997) voire même un effet facilitateur (rat : Cannizzaro et al., 2006). Fujioka et ses collaborateurs ont ainsi montré qu'une fois adulte, les rats dont les mères gestantes ont été exposées à un stress de contention (i.e. 30 minutes par jours entre le 15^{ème} et le 17^{ème} jour) présentent de meilleures performances dans un test d'évitement actif (Fujioka et al., 2001). Les différences observées entre ces études pourraient dépendre, selon Sandi & Pinelo-Nava, de l'intensité du stress à laquelle les femelles ont été exposées. La relation entre l'intensité du stress perçu *in utero* ou *in ovo* et les capacités d'apprentissage d'un individu (e.g. capacités d'apprentissage spatial notamment) suivrait, selon eux, une courbe en U inversée. Un stress modéré n'affecterait pas ou favoriserait les capacités d'apprentissage et de mémorisation, alors qu'un stress intense serait délétère (Sandi and Pinelo-Nava, 2007). Ces auteurs suggèrent également que les effets du stress pourraient dépendre du type d'apprentissage évalué. Ils seraient délétères pour les formes d'apprentissages complexes impliquant l'hippocampe (i.e. mémoire spatiale) et plus limités pour les formes d'apprentissages les plus simples (i.e. mémoire indicée mise en jeu dans les conditionnements notamment) (Sandi and Pinelo-Nava, 2007).

Une multitude de facteurs supplémentaires pourraient expliquer les divergences observées dans les études présentées dans cette partie. Cela inclut, le sexe du jeune (Braastad, 1998 ; rongeurs : Weinstock, 2007), l'âge de la femelle (marmotte à ventre jaune : Monclús et al., 2011),

la nature du stresser, sa durée ou encore sa période d'application (rat : Mychasiuk et al., 2011; Patin et al., 2004, 2005 ; cochon d'inde : Kapoor et al., 2009 ; macaque rhésus : Schneider et al., 1999). Ainsi, il est généralement admis que plus l'exposition au stress est précoce et/ou plus sa durée est longue, plus ses conséquences phénotypiques sur le jeune sont importantes (Lupien et al., 2009; Monaghan, 2008). Toutefois, même cette tendance générale ne reflète pas la complexité des effets observés. Patin et ses collaborateurs ont par exemple exposé des rates à la présence d'un chat à différentes périodes de leur gestation (i.e. 10^{ème}, 14^{ème} ou 19^{ème} jour). Ils ont montré une augmentation de l'anxiété et une diminution de l'agressivité chez les jeunes de mères stressées au 10^{ème} et au 19^{ème} jour de gestation. Les jeunes de mères stressées au 14^{ème} jour de gestation ne présentaient quant à eux aucune différence avec les jeunes témoins (Patin et al., 2005).

Les quelques exemples exposés ici témoignent de la diversité des effets du stress maternel prénatal et de la multitude de facteurs capables d'en moduler les effets. Historiquement, le stress maternel prénatal est considéré comme désavantageux pour le jeune, certains auteurs rapportant jusqu'à une diminution de leur survie (gambusie : McGhee et al., 2012 ; marmotte à ventre jaune Monclús et al., 2011) ou une augmentation de leur susceptibilité à des pathologies, telles que la dépression ou la schizophrénie (Mulder et al., 2002; Weinstock, 2008). Toutefois, le stress maternel prénatal pourrait également augmenter l'expression de comportements essentiels à l'adaptation d'un individu à son environnement (e.g. réactivité émotionnelle, comportements anti-prédateurs, capacités d'apprentissage) et pourrait donc se révéler moins désavantageux qu'il n'y paraît.

*
* *

Ainsi, nous avons vu que l'environnement prénatal est source d'une multitude de stimulations qui via l'intermédiaire de la mère, influence le développement comportemental du jeune. Largement répandus à travers les taxons, les effets maternels prénatals pourraient alors favoriser une certaine continuité entre les milieux pré- et postnatal et permettre à la mère de préparer le jeune à son environnement futur.

4. Potentiel adaptatif des effets maternels prénatals

Aujourd'hui les effets maternels prénatals sont devenus un sujet de recherche majeur et leur potentiel adaptatif notamment, fait l'objet d'un débat permanent (Marshall and Uller, 2007).

Plusieurs théories ont été proposées afin de comprendre le lien entre les conditions de développement précoces du jeune et leurs conséquences à long-terme.

Parmi elles on retrouve l'hypothèse de la « *silver spoon* » ou littéralement, l'hypothèse de la « cuillère en argent » (Monaghan, 2008). Cette théorie suggère que quel que soient ses conditions environnementales postnatales, la valeur adaptative d'un individu exposé à des conditions de développement favorables sera toujours supérieure à celle d'un individu exposé à des conditions de développement contraignantes (**Figure 9**).

Une théorie alternative est celle du « *environmental matching* » ou « *predictive adaptive response* » (Gluckman et al., 2005; Monaghan, 2008; Sheriff and Love, 2013). Celle-ci propose que les conditions de développement d'un individu façonnent son phénotype afin d'anticiper l'environnement postnatal qu'il sera susceptible de rencontrer et d'améliorer *in fine* sa valeur adaptative (**Figure 9**). En d'autres termes, selon cette hypothèse, la mère via des signaux « envoyés » *in utero* ou *in ovo* à ses jeunes en développement (**CHAPITRE I - 6**) pourrait les « informer » des conditions environnementales dans lesquelles elle évolue, influençant ainsi leur phénotype et les préparant à l'environnement qu'ils rencontreront potentiellement à la naissance ou l'éclosion (Sheriff and Love, 2013; Uller, 2008). Pour que la valeur adaptative des jeunes soit maximale, il faudrait cependant que leurs conditions environnementales postnatales correspondent à leurs conditions de développement prénatales et donc aux conditions environnementales maternelles (i.e. « *match vs mismatch* » ; **Figure 9**).

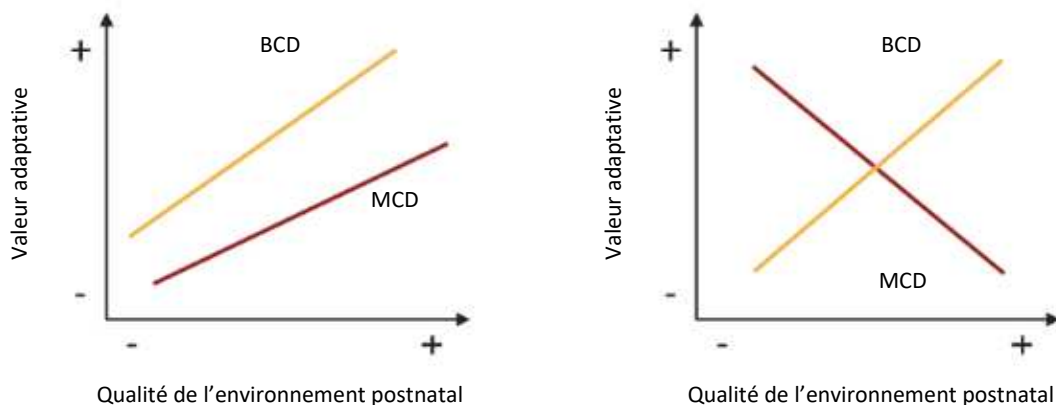


Figure 9 | Représentation des hypothèses de la « silver spoon » (à gauche) et du « environmental matching » (à droite). Les courbes oranges représentent l'évolution du succès reproducteur des individus exposés à de bonnes conditions de développement (BCD). Les courbes bordeaux représentent l'évolution du succès reproducteur des individus exposés à des conditions de développement contraignantes (MCD). D'après Monaghan, 2008.

Parmi les effets maternels supposés adaptatifs le stress de la femelle gestante ou pondeuse est certainement celui ayant reçu le plus d'attention. Les études rapportant une diminution du poids des jeunes (étourneau sansonnet : Love et al., 2005), une altération de leur réponse au stress (caille japonaise : Hayward and Wingfield, 2004) ou encore de leur comportement anti-prédateur (épinoche : McGhee et al., 2012) laissent à penser que les effets du stress maternel sont délétères, supportant ainsi l'hypothèse de la « *silver spoon* » (Monaghan, 2008).

Comme nous l'avons évoqué précédemment, certaines études montrent cependant qu'un stress vécu par la femelle au cours de sa gestation ou de sa phase de ponte permet le développement chez les jeunes d'un phénotype pouvant traduire *in fine* d'une meilleure valeur adaptative (lièvre d'Amérique (*Lepus americanus*) : Sheriff et al., 2010, 2011 ; lézard vivipare : Bestion et al., 2014 ; étourneau sansonnet : Chin et al., 2009 ; mésange charbonnière : Coslovsky and Richner, 2011). Par exemple, les jeunes écureuils roux (*Tamiasciurus hudsonicus*) ont une croissance plus rapide et des chances de survie plus élevées si leurs mères sont exposées, pendant leur gestation, à des playbacks de vocalisations territoriales (i.e. mimant un environnement social dense et contraignant) (Dantzer et al., 2013). Les jeunes grillons mis en présence de signaux chimiques provenant d'un de leur prédateur, l'araignée-loup (*Hogna helluo*), expriment plus de comportements anti-prédateurs lorsque leurs mères, gravides, étaient elles-mêmes exposées à cette araignée (Storm and Lima, 2010). De même, les daphnies (*Daphnia cucullata*) arborent des casques protecteurs plus larges lorsque leurs mères sont exposées à des kairomones mimant la présence d'un insecte prédateur (*Chaoborus avicans*) (Agrawal et al., 1999). Dans un environnement postnatal similaire à l'environnement maternel (i.e. « *match* »), les conséquences phénotypiques du stress développées ici pourraient donc se révéler adaptatives pour le jeune. En revanche, dans un environnement postnatal différent de l'environnement maternel (i.e. « *mismatch* »), les effets du stress pourraient se révéler plutôt désavantageux (Sheriff and Love, 2013). Coslovsky & Richner ont par exemple exposé des mésanges charbonnières (**Figure 10**) à des leurres et des cris de grive musicienne (*Turdus philomelos*) ou d'épervier d'Europe (*Accipiter nisus*), un de leur



Figure 10 | Jeune et adulte chez la mésange charbonnière (*Parus major*). Chez cette espèce, l'exposition des femelles à un leurre de prédateur se révèle avantageux pour le jeune (e.g. croissance et âge au premier envol) seulement si son environnement postnatal est cohérent avec celui de sa mère. © Pixabay

prédateur. Ils ont ensuite créé des conditions de « *match-mismatch* » entre les environnements pré- et postnatals de leurs jeunes en échangeant les couvées entre les traitements. Ils ont montré que la croissance des jeunes issus de mères témoins (i.e. exposées au playback de grive) n'est pas influencée par le manque de congruence des environnements pré- et postnatals. En revanche, les jeunes issus des mères stressées (i.e. exposées au playback d'épervier) et évoluant dans un environnement postnatal incohérent par rapport à l'environnement maternel se développent moins bien, plus lentement et quittent le nid plus tard que les jeunes évoluant dans un environnement cohérent (Coslovsky and Richner, 2012). Les quelques exemples développés ici soulignent le potentiel adaptatif des effets du stress maternel prénatal dans un environnement postnatal adéquat, ils supportent donc plutôt l'hypothèse du « *environmental matching* ».

Il semble important de noter qu'au sein de mêmes études, les effets du stress maternel apparaissent, selon les compétences évaluées, adaptatifs ou au contraire mal-adaptatifs (poisson demoiselle (*Pomacentrus amboinensis*) : Gagliano and McCormick, 2009 ; étourneau sansonnet : Chin et al., 2009 ; mésange charbonnière : Coslovsky and Richner, 2011). Par exemple, une série d'étude chez la mouette rieuse, montre que des injections de testostérone *in ovo* (i.e. mimant un stress de la femelle, **CHAPITRE I - 6.1**) augmentent les comportements de quémante des jeunes, facilitent leur croissance mais altèrent leur fonction immunitaire (Eising and Groothuis, 2003; Groothuis et al., 2005a, pour review 2005b).

*
* *

Les effets maternels prénatals ont un rôle fondamental sur l'ontogenèse comportementale des jeunes influençant de ce fait les interactions qu'ils développeront avec leur environnement futur. Se pose maintenant la question du rôle des effets maternels prénatals à plus long terme et notamment sur leur potentielle transmission à travers les générations.

5. Transmission à travers les générations des effets maternels prénatals

5.1. Effets multi- et trans-générationnels

Comme nous l'avons vu précédemment, les expériences vécues par la femelle lors de sa gestation ou de sa phase de ponte sont capables de façonner le phénotype de son jeune. On parle alors d'effets inter-générationnels. Ces effets maternels prénatals peuvent persister et affecter les

jeunes des générations suivantes, ils sont alors qualifiés d'effets multi- ou trans-générationnels (pour revue Burton and Metcalfe, 2014; Feeney et al., 2014; Guerrero-Bosagna et al., 2018). Dans la littérature, ces termes sont parfois utilisés de manière interchangeable alors qu'ils peuvent impliquer des processus différents. Aussi, dans le cadre de cette thèse, nous parlerons d'effets multi-générationnels pour caractériser une transmission des effets prénatals entre la femelle F0 et ses petits-enfants F2 et nous parlerons d'effets trans-générationnels pour caractériser une transmission de ces effets entre la femelle F0 et ses arrière-petits-enfants F3 (Guerrero-Bosagna et al., 2018; Skinner, 2008). Lorsqu'une femelle gestante ou pondeuse est exposée à des conditions stressantes par exemple, son jeune (F1) et les cellules germinales de celui-ci (future F2) le sont également. Les effets multi-générationnels observés sur le phénotype du jeune jusqu'à la F2 peuvent donc dépendre d'une exposition directe au stress maternel. *A contrario* les effets trans-générationnels observés sur le phénotype du jeune F3 ou sur celui des jeunes des générations suivantes ne dépendent pas d'une telle exposition (**Figure 11**).

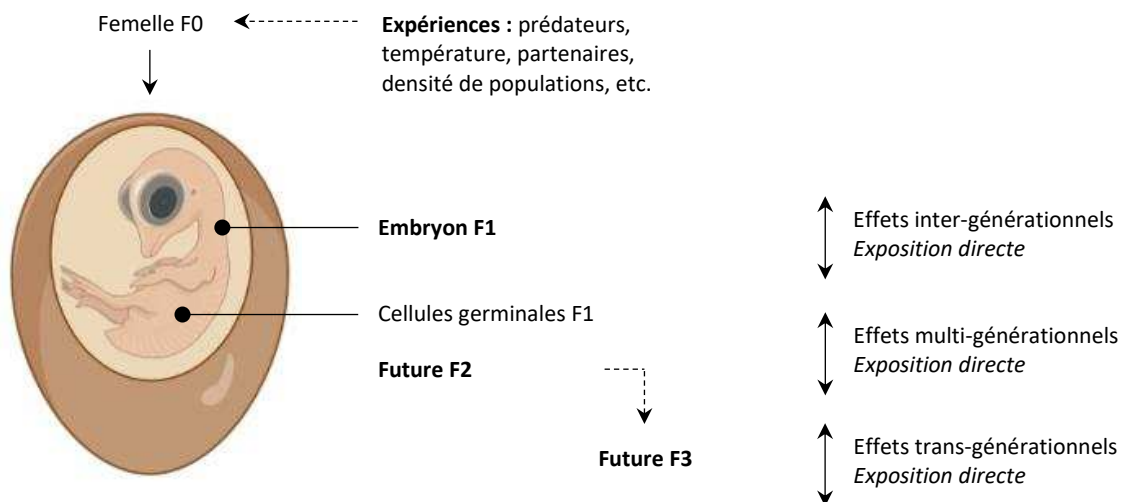


Figure 11 | Représentation des effets maternels prénatals inter-, multi- et trans-générationnels. Les effets multi-générationnels impliquent une influence directe des effets maternels prénatals (générations F1 et F2) contrairement aux effets trans-générationnels qui impliquent une influence indirecte de ces effets (générations F3 et suivantes). Illustration créée avec BioRender.com d'après Skinner, 2008 et Frésard et al., 2013.

5.2. Des invertébrés aux vertébrés

Du fait de leur temps de génération très court, la majorité des effets maternels prénatals multi- et trans-générationnels ont d'abord été mis en évidence chez les invertébrés (pour revue Perez and Lehner, 2019). Kyneb & Toft ont par exemple nourris les femelles F0 d'une petite espèce de

coléoptère polyphage (*Tachyporus hypnorum*) avec des pucerons (*Sitobion avenae*), aliment de mauvaise qualité, ou des drosophiles (*Drosophila melanogaster*), aliment de bonne qualité. Ils ont montré que les descendants F2 de femelles nourries aux pucerons présentent un taux d'éclosion plus faible que les descendants F2 des femelles nourries au drosophiles (Kyneb and Toft, 2006). De même, chez la drosophile (*Drosophila serrata*), un choc thermique non létal appliqué à la génération F0 diminue deux générations plus tard la durée de développement de leurs descendants (Magiafoglou and Hoffmann, 2003).

Les effets maternels mutli- et trans-générationnels semblent être communs à de nombreux taxons. Chez les vertébrés, les preuves de leur existence sont encore rares. Néanmoins, quelques études ont mis en évidence, suite à un stress de la femelle F0 notamment (e.g. perturbateurs endocriniens, disponibilité alimentaire, température), l'influence des effets maternels prénatals sur le phénotype de la génération F2 et au-delà, chez les mammifères (souris : Dunn and Bale, 2009, 2011 ; campagnol nordique (*microtus oeconomus*) : Bian et al., 2015 ; rat : Benyshek et al., 2006; Crews et al., 2007; Skinner et al., 2008; Wehmer et al., 1970), les oiseaux (diamant mandarin : Khan et al., 2016 ; Naguib et al., 2006), les poissons (guppy (*Poecilia reticulata*) : Le Roy et al., 2017 ; épinoche : Shama and Wegner, 2014) et les reptiles (lézard vivipare : Sorci and Clobert, 1995). L'un des exemples peut-être les plus marquants chez les mammifères concerne des femmes soumises à des restrictions alimentaires sévères au cours de leur grossesse, en raison de l'embargo nazi en vigueur en Hollande lors la Seconde Guerre mondiale. Malgré l'absence de toute restriction alimentaire lors de leur conception et développement embryonnaire, les petits-enfants de ces femmes présentaient à la naissance un indice pondéral plus élevé que les petits-enfants des femmes témoins (Painter et al., 2008). Comme dans cet exemple, la majorité des études s'intéressant aux effets maternels multi- et trans-générationnels ont évalué leur influence sur la croissance, la fécondité, le taux d'éclosion ou encore la survie des jeunes. Néanmoins, quelques études se sont intéressées à leur phénotype comportemental. Habituellement chez le rat, les femelles expriment juste avant la mise bas un comportement particulier appelé « *tail chasing* » (i.e. les femelles quittent leur nid, commencent à chasser leur queue, l'attrape puis retourne au nid avec leur queue dans la bouche) qui témoignerait de la qualité des soins maternels postpartum (e.g. récupération des petits pour les ramener au nid). Ward et ses collaborateurs ont montré que ce comportement est altéré chez les femelles F2 dont les grands-mères F0 ont été exposées à un stress de contention et de nage forcée lors de leur gestation (Ward et al., 2013). Chez la caille japonaise, Leroux et ses collaborateurs ont étudié les effets trans-générationnels de la génistéine (i.e. un contaminant environnemental) via des injections dans les œufs des femelles F0. Ils ont montré,

trois générations plus tard que ce traitement retarde la maturité sexuelle des jeunes, réduit leur masse corporelle et diminue leur réaction à la séparation sociale (Leroux et al., 2017).

Certaines études suggèrent que la direction et l’ampleur des effets multi- et trans-générationnels sont dépendants de nombreux facteurs incluant notamment le sexe des jeunes. Par exemple chez le rat, mâles et femelles F3 issus de femelles F0 exposées au cours de leur gestation à des injections de vinclozoline (i.e. fongicide, perturbateur endocrinien) présentent par rapport aux jeunes F3 témoins, des altérations de leur réactivité émotionnelle. Toutefois, les mâles F3 sont décrits comme moins anxieux que les individus témoins du même sexe tandis que les femelles F3 sont décrites comme plus anxieuses (Skinner et al., 2008). L’interaction entre différents effets maternels peut également moduler la réponse phénotypique des jeunes à travers les générations. Les daphnies (*Daphnia pulicaria*) F2 dont les grands-mères F0 ont été exposées à un régime alimentaire limité en phosphore se développent plus lentement et sont à la maturité plus petites que les daphnies F2 témoins. Toutefois, cet effet s’observe seulement chez les daphnies F2 issues des femelles F0 les plus âgées. Chez les daphnies F2 issues des femelles F0 les plus jeunes, aucun effets multi-générationnels du régime alimentaire maternel n’est observé (Goos et al., 2019). Ces résultats ne sont que peu étonnants si l’on considère, comme nous l’avons déjà souligné précédemment, la diversité des facteurs pouvant influencer les effets du stress maternel prénatal sur le phénotype des jeunes F1.

*
* *

Nous venons de voir que les effets maternels prénatals, en plus d’influencer la trajectoire développementale des jeunes F1, modulent celle des jeunes des générations suivantes. Si les effets multi-générationnels sont de plus en plus évidents, il semble aujourd’hui important d’analyser davantage les effets trans-générationnels qui témoignent d’une transmission à long terme des effets maternels. Se pose maintenant la question des mécanismes impliqués dans la transmission des effets maternels prénatals.

6. Mécanismes mis en jeu dans la transmission des effets maternels prénatals

La compréhension des effets maternels prénatals et de leur transmission à travers les générations passe notamment par la caractérisation des mécanismes qui sont mis en jeu. Cette

étude causale se focalise majoritairement sur les mécanismes impliqués dans les effets liés aux expériences vécues par la femelle lors de sa gestation ou de sa phase de ponte. De nombreux mécanismes non génétiques peuvent médier les effets maternels prénatals. Parmi eux, les hormones d'origines maternelles constituent peut-être le mécanisme le plus étudié. Toutefois, le rôle des modifications épigénétiques (i.e. modifications de l'expression du gène) dans ces effets ne cesse d'être suggéré. Dans cette partie de l'introduction, nous donnerons donc un aperçu des mécanismes impliqués dans la transmission des effets maternels inter-, multi- et trans-générationnels. Nous nous concentrerons plus particulièrement sur les mammifères et les oiseaux pour qui ces mécanismes ont bien été décrits.

6.1. Les hormones d'origine maternelle

Le transfert d'hormones de la mère à son jeune est considéré comme un facteur déterminant des effets maternels. Chez les espèces vivipares, les hormones maternelles auxquelles le jeune est exposé sont le reflet continu de l'état interne et de l'environnement de la femelle en gestation. En revanche chez les espèces ovipares, le transfert d'hormones de la mère à son jeune est limité à une période spécifique, la production de l'œuf. Les hormones maternelles auxquelles le jeune est exposé sont donc le reflet de l'état interne et de l'environnement pré et per ponte de la femelle.

6.1.1. Chez les mammifères

Chez les mammifères, les glucocorticoïdes sont considérés comme les principaux médiateurs des effets maternels peut-être parce que le stress de la femelle et la production de ces hormones qui y est associé ont largement été étudiés. Le stress de la femelle gestante provoque effectivement l'activation de l'axe HPA (**CHAPITRE I - 3.2.2.1**) et conduit à la libération de cortisol ou de corticostérone dans la circulation maternelle (Barbazanges et al., 1996; Weinstock, 2008). Si le placenta représente une barrière biochimique et structurelle pour un bon nombre de facteurs de stress d'origine maternelle, les glucocorticoïdes vont cependant pouvoir le traverser et affecter le fœtus en développement. Généralement, le passage du cortisol ou de la corticostérone à travers le placenta est régulé par une oxydoréductase, 11 β -HSD (i.e. catalyse la conversion de près de 80% de la forme active du cortisol en sa forme inactive ; pour revue Henriksen et al., 2011a). Toutefois, l'expression de cette enzyme est diminuée du fait du stress accentuant ainsi l'exposition du fœtus aux glucocorticoïdes (rat : Mairesse et al., 2007). L'augmentation dans l'organisme maternel du

cortisol ou de la corticostérone va alors provoquer des modifications structurelles et fonctionnelles majeures du cerveau fœtal (i.e. modulation de la neurogenèse, du développement de l'axe HPA) conduisant aux changements phénotypiques observés chez les jeunes stressés prénatalement (pour revue Braastad, 1998; Brunton, 2013; Harris and Seckl, 2011; Henriksen et al., 2011a; Kapoor et al., 2006; Weinstock, 2008).

Si l'implication de l'axe HPA dans la médiation des effets maternels prénatals a largement été étudié, d'autres systèmes hormonaux pourraient également être impliqués soit indépendamment, soit en interaction avec l'axe HPA. C'est notamment le cas de l'axe HPG (hypothalamo-hypophysogonadique) responsable de la production des stéroïdes sexuels (e.g. testostérone, progestérone). Cette hypothèse est soutenue par le fait que le stress maternel prénatal induit, comme mentionné précédemment (**CHAPITRE I - 3.2.2.2**), une masculinisation des jeunes femelles et une démasculinisation des jeunes mâles (e.g. Kaiser and Sachser, 2005) ce résultat suggérant une interférence du stress avec le développement de l'axe HPG. On observe également dans les réponses phénotypiques au stress maternel des différences majeures entre les mâles et les femelles (Weinstock, 2007). En outre, plusieurs études ont mis en évidence des interactions entre les axes HPG et HPA, la testostérone étant capable d'inhiber le fonctionnement de l'axe HPA (Kapoor et al., 2006) et ses concentrations amniotiques apparaissant corrélées à celles du cortisol (humain : Gitau et al., 2005; Sarkar et al., 2007).

6.1.2. Chez les oiseaux

Depuis la découverte par Schwabl (Schwabl, 1993) de la présence de stéroïdes d'origine maternelle dans le vitellus des œufs chez le canari (*Serinus canaria*) et le diamant mandarin, les hormones maternelles présentes *in ovo* sont considérées comme d'importants médiateurs des effets maternels prénatals et la littérature à leur sujet s'est considérablement développée. Avant de donner un bref aperçu de ces recherches, il nous paraissait important de présenter brièvement la composition générale de la structure qui supporte ces effets, l'œuf.

6.1.2.1. Composition de l'œuf

L'œuf se compose de différents éléments, chacun jouant un rôle essentiel dans le développement embryonnaire. La coquille et les membranes qui lui sont associées sont indispensables à la solidité et l'intégrité de l'œuf, assurent la protection de l'embryon contre les

pathogènes, favorisent les échanges gazeux et aqueux et fournissent également les apports de calcium nécessaires à la minéralisation et à la construction du squelette (Moran, 2007; Sauveur, 1988). L'albumen, élément le plus abondant de l'œuf, est principalement composé d'eau ($\approx 90\%$), de protéines (e.g. ovalbumine, ovotransferrine), de sels minéraux et de vitamines (Sauveur, 1988). On y trouve aussi des glucocorticoïdes comme la corticostérone qui serait déposée au cours de la formation de l'œuf dans l'oviducte (Rubolini et al., 2005; Saino et al., 2005). Outre son rôle dans la protection de l'embryon contre les pathogènes (Johnson, 2015), l'albumen, tout comme le vitellus, constitue une source de nutriments indispensable à la croissance embryonnaire et à la synthèse tissulaire (Johnson, 2015; Willems et al., 2014).

Le vitellus se compose majoritairement d'eau ($\approx 50\%$), de lipides ($\approx 36\%$) et de protéines ($\approx 17\%$) (Anton, 2007). Parmi ses constituants, on retrouve notamment des anticorps (e.g. immunoglobulines ; Johnson, 2015), de la corticostérone (Almasi et al., 2012; Love et al., 2008), des hormones thyroïdiennes (Ruuskanen and Hsu, 2018), des stéroïdes sexuels (i.e. testostérone, androstènedione, progestérone, œstrogènes ; Groothuis et al., 2005b) ou encore plusieurs antioxydants comme des vitamines ou des caroténoïdes qui confèrent à l'œuf sa couleur orangée (e.g. xanthophylles, zéaxanthine, lutéine ; Sauveur, 1988). Les hormones thyroïdiennes et la corticostérone sont produites respectivement par les glandes surrénales et la glande thyroïde de la femelle puis sont déposées dans le vitellus via la circulation sanguine. Les stéroïdes sexuels sont quant à eux produits au cours de la stéroïdogénèse, à l'interface entre la circulation maternelle et l'ovocyte. Ils sont synthétisés très rapidement (i.e. sept jours environ chez la caille japonaise ; Sauveur, 1988) et de façon successive dans l'ovaire par les différentes couches folliculaires entourant l'ovocyte en croissance, chaque couche folliculaire produisant un stéroïde sexuel particulier. Une fois synthétisés, les stéroïdes sexuels se retrouvent dans la circulation de la femelle ou dans le vitellus en croissance via des mécanismes de diffusion qui sont aujourd'hui encore débattus (Groothuis and Schwabl, 2008). La production des stéroïdes sexuels évolue au cours de la maturation folliculaire ce qui induit la répartition des stéroïdes sexuels en couches concentriques dans le vitellus en croissance : les couches internes sont principalement concentrées en œstrogènes, les couches intermédiaires en androgènes et les couches externes en progestérone (Hackl et al., 2003; Möstl et al., 2001). L'existence d'une telle distribution suppose ainsi d'une exposition différentielle et d'une consommation hétérogène des stéroïdes sexuels par l'embryon (Johnson, 2015).

6.1.2.2. Facteurs de variations de la composition hormonale de l'œuf

Comme nous venons de le voir, l'œuf se compose d'une multitude de constituants, tous susceptibles de médier les effets maternels prénatals. La présence des hormones thyroïdiennes dans l'œuf vient récemment d'être mise en évidence (Ruuskanen and Hsu, 2018) et celle de la corticostérone est encore délicate à quantifier (i.e. dans le vitellus du fait de réactions croisées avec les stéroïdes présents ; Quillfeldt et al., 2011; Rettenbacher et al., 2009). Ainsi, ce sont les stéroïdes sexuels présents dans le vitellus qui dans la littérature, ont reçu le plus d'attention. Leur concentration est influencée par des facteurs intrinsèques à la femelle tels que son âge (caille japonaise: Guibert et al., 2012 ; étourneau sansonnet : Pilz et al., 2003), son rang social (poule : Müller et al., 2002) ou encore sa lignée (caille japonaise : Gil and Faure, 2007; Okuliarová et al., 2014). Par exemple, les concentrations vitellines en testostérone diminuent avec l'âge de la femelle chez la caille japonaise (Guibert et al., 2012) et augmentent avec son rang hiérarchique chez le canari (Tanvez et al., 2008). D'autres facteurs comme la photopériode (canari : Schwabl, 1996) ou la qualité de l'environnement dans lequel évolue la femelle sont aussi déterminants. Dans la littérature, on observe ainsi des modulations des concentrations vitellines en stéroïdes sexuels en fonction d'une exposition parasitaire (mésange charbonnière : Basso et al., 2014; Tschirren et al., 2004), de la densité du groupe (moineau (*Passer domesticus*) : Schwabl, 1997) ; mouette rieuse



Figure 12 | Mouette rieuse (*Chroicocephalus ridibundus*). Chez cette espèce, les taux de testostérone déposés dans l'œuf dépendent de la densité de nids au sein de la colonie. Si certains auteurs rapportent une relation positive entre densité et niveaux de testostérone *in ovo*, d'autres rapportent le contraire. Ils suggèrent alors que, les oiseaux les plus agressifs déposent plus de testostérone dans leurs œufs et du fait de leur propre comportement de défense du territoire font fuir les individus présents autour de leur nid. © Pixabay.

(*Chroicocephalus ridibundus*) : Groothuis et al., 2005a ; **Figure 12**), de l'attractivité du mâle (diamant mandarin : Gil et al., 1999 ; mésange bleue : Kingma et al., 2009 ; perdrix grise (*Perdrix perdrix*) : Garcia-Fernandez et al., 2010), de la disponibilité alimentaire (goéland brun (*Larus fuscus*) : Verboven et al., 2003), de la présence de prédateurs (mésange charbonnière : Coslovsky et al., 2012), de la qualité du milieu social (caille japonaise : Guibert et al., 2010 ; moineau : Mazuc et al., 2003) ou de facteurs de stress divers et variés (caille japonaise : Guibert et al., 2011). Pour ne citer que quelques travaux, Whittingham et ses collaborateurs ont observé chez l'hirondelle bicolore, des concentrations en testostérone plus élevées dans les œufs des femelles exposées à des

interactions agressives, avant et pendant la ponte (Whittingham and Schwabl, 2002). De même, chez le paon bleu (*Pavo cristatus*), les œufs pondus par les femelles appariées avec les mâles les plus attractifs (i.e. densité élevée d’ocelles sur leur queue) se révèlent plus riches en testostérone que les œufs des femelles témoins (Loyau et al., 2007). Un autre exemple chez la caille japonaise, montre que les femelles habituées à l’homme pondent des œufs contenant proportionnellement moins de progestérone mais plus d’androgènes (testostérone et androstènedione) que les œufs des femelles non habituées (Bertin et al., 2008).

6.1.2.3. Composition hormonale de l’œuf et modulation comportementale

Plusieurs approches expérimentales ont été utilisées afin de mettre en évidence le rôle des stéroïdes sexuels dans la médiation des effets maternels prénatals. La première consiste à injecter directement dans l’œuf de la testostérone et/ou de l’androstènedione. L’augmentation de la concentration *in ovo* de ces stéroïdes est associée à des changements phénotypiques à plus ou moins long terme chez les jeunes et notamment à des modulations de leur croissance (crécérelle d’Amérique (*Falco sparverius*) : Sockman and Schwabl, 2000 ; hirondelle rustique : Saino et al., 2006), de leur comportement de quémante (mouette rieuse : Eising and Groothuis, 2003 ; gobemouche noir (*Ficedula hypoleuca*) : Ruuskanen and Laaksonen, 2013), de leur réactivité émotionnelle (gobemouche noir : Ruuskanen and Laaksonen, 2010 ; caille japonaise : Daisley et al., 2005; Okuliarová et al., 2007), de leur capacités d’apprentissage (colin de virginie : Bertin et al., 2009), de leur compétitivité (poule : Riedstra et al., 2013), de leur agressivité ou encore de leurs comportements socio-sexuels (caille japonaise : Schweitzer et al., 2013 ; moineau domestique : Partecke and Schwabl, 2008 ; faisan de Colchide (*Phasianus colchicus*) : Bonisoli-Alquati et al., 2011). Les injections d’hormones *in ovo* permettent de contrôler en partie les effets maternels prénatals et de tester, parmi l’ensemble des médiateurs supposés, l’influence d’un composé en particulier. Toutefois, leurs effets sur le phénotype du jeune se révèlent parfois contradictoires pouvant à la fois améliorer, supprimer ou n’avoir aucune influence sur un comportement donné (pour revue von Engelhardt and Groothuis, 2011; Hsu, 2016). Par exemple des cailleteaux exposés dans l’œuf à des concentrations élevées de testostérone sont selon les études, décrits comme plus émotifs (Okuliarová et al., 2007) ou moins émotifs (Daisley et al., 2005) que les cailleteaux simplement exposés à des injections de solvant. De même, l’expression des comportements de quémante par les oisillons peut être améliorée suite à des injections de testostérone *in ovo* chez la mouette rieuse (Eising and Groothuis, 2003) ou ne pas être influencée chez le goéland leucophée

(Boncoraglio et al., 2006). Ces incohérences peuvent s'expliquer par le fait que certaines études ont été réalisées en captivité et d'autres dans des conditions (semi-) naturelles, que les effets de ces injections ont été évalués à court terme chez les jeunes ou à plus long terme chez les adultes, que les types d'androgènes injectés varient selon les études (e.g. androstènedione ou testostérone et 5 α -dihydrotestostérone) et que les doses d'hormones appliquées sont parfois supra-physiologiques (pour revue Gil, 2008; Hsu, 2016). Chez le merle bleu de l'Est (*Sialia sialis*) notamment, une concentration modérée de testostérone apparaît bénéfique au développement embryonnaire alors qu'une concentration plus élevée améliore la croissance postnatale des jeunes mais altère leur réponse immunitaire (Navara et al., 2005).

Une seconde approche, offrant un contrôle plus limité mais reflétant des conditions plus naturelles, consiste à moduler l'environnement de la femelle pondeuse et à en observer parallèlement les effets sur la composition hormonale de l'œuf et sur le phénotype comportemental des jeunes. Par exemple, le fait de soumettre des mésanges charbonnières à un risque élevé de prédation pendant l'ovulation (i.e. leurre et cri d'un prédateur, *Accipiter nisus*) entraîne une réduction des niveaux de testostérone dans le vitellus de leurs œufs et provoque une diminution de la taille des jeunes et une augmentation de la vitesse de croissance de leurs ailes en comparaison au groupe contrôle (Coslovsky and Richner, 2011; Coslovsky et al., 2012). Chez la caille japonaise, les femelles exposées à des stressseurs divers et variés ou à des modifications de leur milieu social, pondent des œufs plus riches en testostérone ou qui tendent à l'être. Lorsqu'elles sont soumises à une perturbation d'origine humaine, elles pondent des œufs proportionnellement plus riches en androgènes et plus pauvres en progestérone. Ces modulations de la composition hormonale des œufs en stéroïdes sexuels sont associées à une augmentation de la réactivité émotionnelle des jeunes (Bertin et al., 2008; Guibert et al., 2010, 2011). Un autre exemple chez la poule montre qu'une élévation de la température du milieu de vie des femelles (i.e. 21°C vs 30°C) augmente la concentration de leurs œufs en testostérone, en progestérone et en œstradiol et diminue la néophobie alimentaire de leurs poussins (Bertin et al., 2013).

Les quelques exemples développés ici suggèrent donc l'implication des hormones maternelles présentes *in ovo* dans la médiation des effets maternels prénatals. Celles-ci pourraient également être impliquées dans la médiation des effets maternels multi- et trans-générationnels. Guibert et ses collaborateurs ont effectivement montré qu'un stress de la femelle pondeuse F0 est associé à la fois à une augmentation des concentrations en testostérone des œufs des femelles F0 et F1 et à une augmentation de la réactivité émotionnelle des jeunes F1 et F2 (Guibert et al., 2013).

Si la composition hormonale du vitellus peut moduler le phénotype du jeune, le poids et la proportion des différents constituants de l'œuf seraient aussi déterminants. On sait notamment qu'ils sont influencés par des caractéristiques comme l'âge de la femelle. Par exemple, les jeunes femelles pondent des œufs généralement plus petits (Sauveur, 1988) et contenant proportionnellement moins de vitellus et d'albumen que les œufs des femelles plus âgées (caille japonaise : Guibert et al., 2012). Ces effets influencent la croissance et le développement de certains comportements chez le jeune. Par exemple, le poids des poussins semblent positivement corrélé au poids de l'œuf (Christians, 2002). Respectivement chez la poule et le goéland leucopnée, le retrait expérimental de l'albumen provoque une diminution de la taille des jeunes à l'éclosion (Finkler et al., 1998) et une augmentation de leurs comportements de quémade (Bonisoli Alquati et al., 2007).

6.2. Les modifications épigénétiques

6.2.1. Quelques définitions

Proposé pour la première fois par Waddington en 1942, le terme épigénétique fait aujourd'hui référence aux changements d'expression d'un gène réversibles et héréditaires et qui n'impliquent aucune modification de la séquence ADN (Lubin et al., 2011; van Steenwyk and Mansuy, 2021). Plusieurs mécanismes moléculaires appelées modifications épigénétiques permettent de moduler l'expression d'un gène. Ils incluent entre autres, les modifications post-traductionnelles des histones, la méthylation de l'ADN et les ARN non codants. L'ensemble de ces mécanismes sont en relation étroite les uns avec les autres et forment l'épigénome.

Les modifications post-traductionnelles des histones jouent un rôle majeur dans la régulation de l'expression des gènes. Les histones sont des protéines permettant notamment la compaction de l'ADN et la formation des nucléosomes. Les nucléosomes contiennent 147 paires de bases s'enroulant autour d'un octamère composé de deux molécules d'histones H2A, H2B, H3 et H4 (**Figure 13**). L'histone de liaison H1 est quant à elle située à l'extérieur du nucléosome et permet une compaction supplémentaire de l'ADN (Norouzitallab et al., 2019). Les modifications post-traductionnelles des histones interviennent au niveau des résidus lysines de leurs extrémités N-terminales et incluent notamment méthylation, acétylation, phosphorylation, sumoylation et ubiquitination (Levenson and Sweatt, 2005). Elles permettent le remodelage de la chromatine, modulent sa condensation (i.e. hétérochromatine et euchromatine) et entraînent ainsi une

réduction ou une facilitation de la transcription (Gräff and Mansuy, 2008; Norouzitallab et al., 2019). Par exemple, l'acétylation et la phosphorylation des histones permettent généralement le relâchement de la chromatine et l'activation de la transcription. La méthylation des histones quant à elle, se décline sous plusieurs formes telles que la mono-, di- ou tri-méthylation des résidus lysines. Selon sa conformation, la méthylation des histones permet donc l'activation et la répression de la transcription (Gräff and Mansuy, 2008; Kouzarides, 2007).

La méthylation de l'ADN (**Figure 13**) est un processus dynamique qui se déroule tout au long du développement. Elle est assurée par des enzymes, les ADN méthyltransférases (e.g. DNMT) et consiste en l'ajout d'un groupement méthyl (CH_3) sur certaines bases azotées de l'ADN affectant ainsi son enroulement autour des histones, la liaison potentielle des facteurs de transcription et donc l'expression génique. La méthylation ADN peut se manifester sur l'ensemble du gène mais semble particulièrement fonctionnelle au niveau de séquences riches en dinucléotides CpG, souvent présentes au niveau des régions promotrices, les îlots CpG. Généralement, une hyperméthylation de l'ADN est associée à une diminution de l'expression des gènes tandis qu'une hypométhylation est associée à une augmentation de cette expression (Gräff and Mansuy, 2008; Norouzitallab et al., 2019; van Steenwyk and Mansuy, 2021).

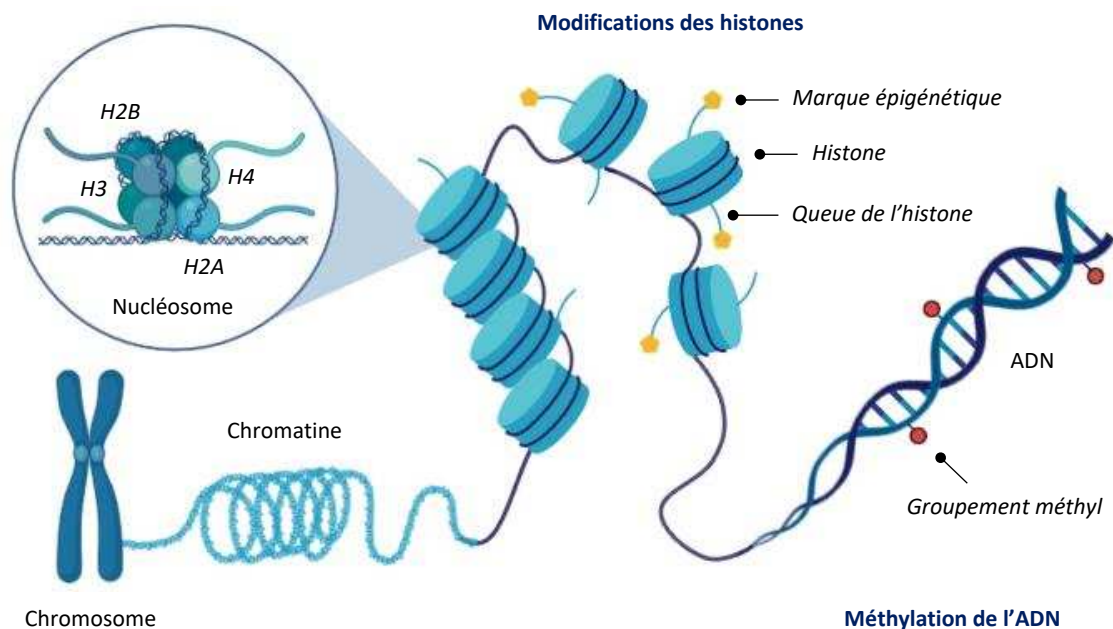


Figure 13 | Représentation des principaux mécanismes épigénétiques. Un nucléosome comprend un octamère de deux molécules d'histones H2A, H2B, H3 et H4. Les extrémités N-terminales des histones dépassent du noyau du nucléosome et interagissent avec l'ADN. Les modifications post-traductionnelles des extrémités N-terminales des histones (méthylation, acétylation, phosphorylation, etc.) permettent de moduler le degré de condensation de la chromatine et *in fine* la transcription et l'expression du gène associé. De même la méthylation de l'ADN inhibe généralement la transcription du gène via l'ajout de groupement méthyl sur différentes régions du gène et notamment sur des régions promotrices. Illustration créée avec Biorender.com d'après van Steenwyk & Mansuy, 2021.

Les ARN non codants existent sous une multitude de formes incluant notamment les longs et les petits ARN non codants. Parmi les petits ARN non codants, on retrouve les micro ARN ou miARN. Les miARN sont capables de s'apparier complètement ou de façon partielle à leur ARN messenger cible conduisant à l'inhibition de sa traduction voire même à sa dégradation (Chuang and Jones, 2007).

6.2.2. Modifications épigénétiques et effets maternels prénatals

En raison de leur capacité à réguler l'activité du génome, les mécanismes épigénétiques jouent un rôle essentiel en biologie. Leur implication est aujourd'hui largement reconnue dans diverses fonctions telles que les processus d'apprentissage ou de mémorisation, la lactation, la réponse immunitaire ou encore l'expression de certains troubles psychiatriques (pour revue Babenko et al., 2015; Blanco Rodríguez and Camprubí Sánchez, 2019; Feeney et al., 2014; Gräff and Mansuy, 2008; Jensen, 2013; Thompson et al., 2020).

Depuis peu, certains auteurs suggèrent également l'implication de ces mécanismes dans la médiation des effets maternels prénatals. Cette idée est soutenue par des études qui, après une modification de l'environnement maternel ou de l'environnement embryonnaire, révèlent non seulement des modulations du phénotype comportemental des jeunes mais également des changements de la méthylation ADN, des modifications post-traductionnelles des histones voire directement de l'expression de certains gènes. Plusieurs facteurs sont susceptibles d'affecter les processus épigénétiques au cours du développement précoce du jeune, cela inclut notamment l'exposition de la femelle gestante ou pondeuse à des perturbateurs endocriniens (rat : Anway et al., 2005, 2006), à divers facteurs de stress (souris : Benoit et al., 2015 ; rat : Mychasiuk et al., 2011 ; diamant mandarin : Bentz et al., 2021 ; poule : Nätt et al., 2009, 2012), à un enrichissement de son milieu de vie (kili des mangroves : Berbel-Filho et al., 2020) ou à des changements de la qualité de son régime alimentaire (pour revue Guo et al., 2020; Thompson et al., 2020).

Comme suggéré précédemment, les changements épigénétiques induits par ces effets maternels prénatals seraient impliqués dans la réponse phénotypique des jeunes et influenceraient notamment leur développement morphologique et leur susceptibilité aux maladies (épineche : Mommer and Bell, 2014 ; humain : Tobi et al., 2009), leurs capacités d'apprentissage et de mémorisation (poule : Lindqvist et al., 2007 ; souris : Benoit et al., 2015), leur comportement alimentaire (poule : Nätt et al., 2009), leur réponse au stress (poule : Goerlich et al., 2012), leur

niveau d'activité (rat : Mychasiuk et al., 2011 ; humain : Conradt et al., 2013) ou encore leur réactivité émotionnelle (humain : Ostlund et al., 2016) et leur niveau d'agressivité (diamant mandarin : Bentz et al., 2021). Par exemple, l'étude épidémiologique réalisée suite à la famine sévissant en Hollande lors de la Seconde Guerre mondiale (**CHAPITRE I - 5.2**) suggèrent que l'exposition *in utero* à des restrictions alimentaires sévères est à l'origine de troubles divers incluant entre autre des maladies cardio-vasculaires, de l'obésité ou une augmentation de la réponse au stress (Roseboom et al., 2006). Ces pathologies seraient associées à des processus épigénétiques puisque les individus exposés présentent, en comparaison à leurs frères et sœurs de même sexe mais non exposés, une diminution ou une augmentation de la méthylation ADN de plusieurs gènes impliqués dans la croissance et dans certaines maladies métaboliques (Heijmans et al., 2008; Tobi et al., 2009). Un autre exemple chez la souris montre que les jeunes issus de femelles exposées à un protocole de stress complexe pendant leur gestation (e.g. bruits soudains, contentions, transports ou encore isolement social) présentent des troubles de la mémoire spatiale en piscine de Morris. Ces troubles sont associés à des modifications dans l'hippocampe de ces jeunes, des niveaux d'acétylation de l'histone H3 et de l'expression de l'ADN méthyltransférase 1 (i.e. DNMT 1, catalyseur de la méthylation ADN ;Benoit et al., 2015). Bien que n'ayant pas identifié de processus épigénétiques particuliers, l'équipe de Jensen a également montré chez la poule que les modulations des capacités d'apprentissages et des comportements de recherche alimentaire observés chez les jeunes issus de femelles stressées (i.e. contention, rythme photopériodique imprévisible) sont associés à des variations de l'expression hippocampique de nombreux gènes (Goerlich et al., 2012; Lindqvist et al., 2007; Nätt et al., 2009).

Les mécanismes épigénétiques pourraient également expliquer les conséquences phénotypiques des effets maternels multi- voire trans-générationnels (pour revue Blanco Rodríguez and Camprubí Sánchez, 2019; Hanson and Skinner, 2016; Thompson et al., 2020). Récemment, Yao et ses collaborateurs ont découvert chez le rat, qu'un stress de la femelle gestante F0 mêlant contention et nage forcée, diminue significativement la durée de gestation et l'expression du comportement maternel (i.e. « *tail chasing* », **CHAPITRE I - 5.2**) de leurs filles F1 et de leurs petites filles F2. Ces changements phénotypiques semblent dépendants de l'altération de l'expression de plusieurs micro ARN observée dans le cerveau et l'utérus des femelles F2 (Yao et al., 2014). Skinner et ses collaborateurs ont quant à eux montré grâce à série d'étude chez le rat, déjà évoquée précédemment (**CHAPITRE I - 5.2**), que l'exposition des femelles gestantes F0 à la vinclozoline module les comportements de type anxieux chez les jeunes F3 et altère l'expression de plusieurs centaines de gènes dans l'hippocampe et l'amygdale de ces derniers (Skinner et al., 2008).

6.2.3. Voies de transmission des marques épigénétiques

De nombreuses hypothèses existent quant aux voies de transmission des marques épigénétiques à travers les générations (Jablonka and Raz, 2009). Parmi elles, Crews et Danchin en ont identifiés deux (Crews, 2008; Danchin et al., 2011).

La première hypothèse suppose que certaines marques épigénétiques sont transférées aux générations suivantes grâce à leur incorporation dans la lignée germinale. Plutôt que d'être effacées comme cela se produit normalement pendant la gamétogenèse et juste après la fécondation (près de 80% du génome est déméthylé après la fécondation ; lu dans Burdge et al., 2011), ces marques seraient préservées et transmises à travers les générations, perpétuant ainsi le phénotype qui leur est associé (pour revue Crews, 2008; Franklin and Mansuy, 2010; Youngson and Whitelaw, 2008). On parle ainsi d'héritabilité épigénétique trans-générationnelle (Skinner, 2011). Les exemples d'une telle transmission sont encore rares. Anway et ses collaborateurs ont néanmoins montré que l'exposition de rates gestantes à la vinclozoline, diminue la capacité spermatogénique des mâles des générations F1 à F4 et augmente leur risque d'infertilité. Ces effets sont associés à une altération des profils de méthylation ADN dans les cellules germinales des mâles, jusqu'à la troisième génération (Anway et al., 2005).

La seconde hypothèse actuellement suggérée est dépendante de l'expérience et suppose que les marques épigénétiques et le phénotype qui leur est associé sont induits *de novo* à chaque génération. L'une des études qui illustre peut-être le mieux cette hypothèse est celle de Meaney et son équipe. Comme nous l'avons évoqué précédemment (**CHAPITRE I - 2.2**), le style maternel se caractérise chez le rat par des comportements de léchage/toilettage et de postures d'allaitement particulières. Une expression importante de ces comportements induit toute une cascade moléculaire et épigénétique chez le jeune au cours de la première semaine de sa vie. Cela entraîne notamment l'augmentation dans l'hippocampe du nombre de récepteurs aux glucocorticoïdes. Le niveau d'expression de ces récepteurs est maintenu à l'âge adulte chez les femelles, diminuant ainsi leur réactivité au stress, améliorant leur comportement maternel et influençant de façon similaire le développement de leurs descendants au moins jusqu'à la cinquième génération (Meaney, 2001; Weaver et al., 2004, 2007). L'existence d'une transmission expérience-dépendante n'a été que peu montrée à l'échelle des effets maternels prénatals. Burdge et son équipe ont toutefois exposé des rates gestantes à un régime hyper-énergétique pendant quatre générations successives (F0 à F3). Ils ont montré des changements différents de la méthylation ADN de plusieurs gènes pour chaque génération de descendants. Ils supposent que si ces marques épigénétiques avaient été transmises

directement par la lignée germinale peu de variation aurait été observée entre les générations. Il présume ainsi, du moins en partie, d’une acquisition *de novo* de ces marques et du phénotype qui leur est associé (Burdge et al., 2011).

7. Les effets maternels prénatals : de nouveaux outils pour les programmes de réintroduction ?

Nous venons de voir à travers cette introduction que les effets maternels prénatals sont capables de façonner le phénotype des jeunes sur plusieurs générations. De nombreux auteurs suggèrent également leur potentiel adaptatif et leur implication dans la dynamique des populations. Ainsi, les effets maternels prénatals pourraient se révéler être des mécanismes intéressants dans les programmes de conservation et de réintroduction des espèces, façonnant le phénotype des jeunes et les préparant à leur futur environnement.

7.1. Déclin des espèces et programmes de réintroduction

On observe, depuis le début du XIX^{ème} siècle, une perte de biodiversité sans précédent (Ceballos et al., 2015). Entre 1970 et 2016 notamment, la population globale de vertébrés aurait chuté de près de 68% (WWF, 2018). Les activités anthropiques sont largement responsables de ce déclin. La pollution, la surexploitation des espèces (i.e. chasse, pêche, braconnage), la mutation des systèmes agricoles, la fragmentation des habitats, le réchauffement climatique ou encore les invasions biologiques en sont quelques exemples (Dirzo et al., 2014; Maxwell et al., 2016; Murphy and Romanuk, 2014; Ripple et al., 2019).

Du fait de l’extinction massive des espèces, des plans de gestion incluant notamment, des programmes de repeuplement ou de renforcement des populations, se sont progressivement mis en place (Griffith et al., 1989). Certains de ces programmes impliquent la capture et le transfert d’animaux sauvages d’une partie de leur aire de répartition à une autre. D’autres au contraire, impliquent la réintroduction d’animaux nés en captivité. Toutefois, ces animaux souvent nés et élevés dans ces conditions depuis plusieurs générations présentent en nature, des capacités de survie et de reproduction limitées (pour revue Fischer and Lindenmayer, 2000 ; saumon atlantique : O’Sullivan et al., 2020 ; perdrix grise : Parish and Sotherton, 2007 ; pluvier siffleur (*Charadrius melodus*) : Roche et al., 2008 ; faisan de Colchide : Brittas et al., 1992; Sage et al., 2003 ; marmotte

de l'île de Vancouver (*Marmota vancouverensis*) : Aaltonen et al., 2009). Par exemple, les tamarins lions dorés (*Leontopithecus rosalia* ; Beck et al., 1991) et les faisans de Colchide élevés en captivité (Leif, 1994) s'adaptent moins rapidement et survivent moins bien que les individus sauvages réintroduits sur les mêmes territoires (respectivement, 34% vs 67% et 7.8% vs 54%). De même, au moment de la nidification et de la couvaison, une période particulièrement sensible, les faisanes élevées en captivité sont plus prédatées (80%) que les faisanes sauvages (27%) (Hill and Robertson, 1988). De même, les perdrix grises élevées en captivité ont un temps de survie médian largement inférieur à celui des perdrix sauvages (8 vs 80 jours), elles participent moins à la reproduction (8.3% vs 60.4% des femelles) et lorsqu'elles le font, elles sont toutes prédatées avant la fin de l'incubation (Rymešová et al., 2013). Selon plusieurs études, la réussite des programmes de réintroduction impliquant des individus nés en captivité serait ainsi largement inférieure à celle des programmes impliquant des individus sauvages (13% vs 31% (Fischer and Lindenmayer, 2000) ; 38% vs 75% (Griffith et al., 1989)).

7.2. Altérations phénotypiques liées à la captivité

Le faible taux de réussite des programmes de réintroduction impliquant des populations nées en captivité semble résulter de caractéristiques qui leur sont spécifiques. En effet, les populations captives sont confrontées à des pressions sélectives très différentes de celles présentes dans le milieu naturel (Frankham et al., 1986). Ces pressions sélectives ont conduit à de nombreuses adaptations chez les populations captives. Il s'agit d'adaptations génotypiques qui sont influencées par l'intensité de la sélection, la diversité génétique, la taille efficace de la population ou encore le nombre de génération en captivité (Frankham, 2008; Keller et al., 2012) ; mais également d'adaptations phénotypiques qui sont influencées notamment par les conditions de maintien et d'élevage. Si de telles adaptations favorisent la survie des populations en captivité, elles peuvent se révéler à l'inverse désavantageuses lors de leur réintroduction en milieu naturel (e.g. augmentation de la susceptibilité aux pathogènes et aux parasites, à l'inanition ou encore à la prédation ; pour revue Madden et al., 2018; Snyder et al., 1996). La captivité peut notamment altérer certaines caractéristiques anatomiques et physiologiques essentielles à l'endurance et au comportement de vol (perdrix grise : (Putala and Hissa, 1995; Rymešová et al., 2013)), l'acquisition de comportements alimentaires adéquats (cabillaud (*Gadus morhua*) : Steingrund and Fernö, 1997 ; campagnol roussâtre : Mathews et al., 2005 ; saumon atlantique : Rodewald et al., 2011) ou encore l'expression de comportements anti-prédateurs et sociaux adaptés (saumon atlantique :

Metcalfe et al., 2003 ; perdrix rouge : Perez et al., 2010 ; Tétras des prairies d'Attwater (*Tympanuchus cupido attwateri*) : Hess et al., 2005 ; souris des dunes (*Peromyscus polionotus subgriseus*) : McPhee, 2003). Par exemple, les colins de Virginie élevés en captivité présentent en comparaison aux colins de Virginie sauvages, une vitesse et une distance de vol réduites les rendant potentiellement plus vulnérables à la prédation (Perez et al., 2002). Les turbots captifs (*Scophthalmus maximus*) peinent à reconnaître et à capturer leurs proies par rapport aux turbots sauvages (Ellis et al., 2002). De même, les perdrix grises qui passent normalement près de 50% de leur temps en vigilance, en passent seulement 4 à 5% si elles sont nées en captivité limitant ainsi leur chance de détecter les dangers et augmentant la probabilité qu'elles se fassent prédater (Rantanen et al., 2010; Watson et al., 2007).

7.3. Optimisation des conditions d'élevage en captivité

Identifier les facteurs clés pouvant favoriser les capacités de survie des individus mis en nature est complexe. Hume priorise cependant deux facteurs non exclusifs: i) l'acquisition lors d'expériences antérieures de compétences spécifiques et ii) la capacité à apprendre de nouvelles compétences et à répondre de manière flexible à un environnement complexe ; deux facteurs qui selon lui peuvent être influencés par la qualité de l'environnement captif (Hume, 1995). L'environnement captif souvent sûr et constant ne permet pas de préparer les animaux à un environnement naturel qui est dynamique, complexe et changeant. De nombreuses études ont ainsi cherché à optimiser le milieu d'élevage afin d'augmenter la qualité, notamment comportementale, des animaux réintroduits et de contrecarrer les effets potentiellement désavantageux de la captivité. En raison d'enjeux à la fois écologiques, économiques et sociétaux, une large fraction de ces études s'est intéressée aux espèces de gibier d'élevage et notamment de gibier à plumes. Comme de nombreuses espèces d'oiseaux inféodées aux milieux agricoles (Donald et al., 2001; Inger et al., 2015), les espèces de gibier telles que la perdrix grise et la perdrix rouge subissent depuis le début du XX^{ème} siècle un déclin majeur, allant jusqu'à l'extinction de leurs populations dans certaines régions (lu dans Harmange, 2019; Santilli et al., 2012). Afin de compenser ces disparitions massives et de répondre à une demande cynégétique croissante, ces espèces font l'objet de programmes d'élevage importants. Pour ne citer que quelques exemples, on parle de 51 millions de faisans, de cailles et de perdrix qui sont élevés chaque année aux États-Unis (Burden, 2013) ou encore de 12.5 et 50 millions de faisans et de perdrix qui sont élevés respectivement en France et au Royaume-Uni (lu dans Madden et al., 2020). Plusieurs facteurs liés

aux conditions d'élevage de ces oiseaux ont été identifiés comme limitant leur survie et leurs capacités d'adaptation en nature. On retrouve parmi eux, l'absence des parents, un isolement d'avec les prédateurs, la monotonie du régime alimentaire proposé, des densités d'individus non naturelles ou encore le manque de complexité de l'environnement (Gaudioso et al., 2011a; pour revue Madden et al., 2018, 2020). Afin d'améliorer la survie en nature ou du moins l'expression de comportements adaptatifs adéquats, de nombreuses études ont ainsi cherché à améliorer les conditions d'élevage des individus en se concentrant sur ces facteurs clés.

Ainsi, pour de nombreuses espèces, la présence des parents est fondamentale au développement d'un phénotype adapté (**CHAPITRE I - 2**). Par exemple, les perdrix grises élevées avec leurs parents expriment plus de comportements d'immobilité et de vigilance que les perdrix grises élevées artificiellement (Beani and Dessì-Fulgheri, 1998). Malgré les effets bénéfiques de la présence des parents, les méthodes d'élevage classiques du gibier à plumes ne permettent pas de telles pratiques. Néanmoins, dans des contextes particuliers comme la réintroduction, les jeunes peuvent être élevés en présence d'une mère adoptive, généralement une poule comme cela était parfois pratiqué avant le développement des incubateurs artificiels. Ainsi, les faisans élevés par une poule adoptive expriment moins de comportements de peur, ont une meilleure capacité à percevoir et à répondre à la présence d'un prédateur (Santilli and Bagliacca, 2019) puis une fois en nature, présentent une meilleure survie que les faisans élevés artificiellement (respectivement 90% vs 57.1% (équipés de poncho) et 35% vs 21.1% (équipés d'émetteur) ; Ferretti et al., 2012). Outre la présence des parents, l'exposition précoce des oiseaux captifs aux prédateurs semble avoir des effets bénéfiques sur leur survie en nature. Ainsi, des présentations répétées de leurre et de cris de prédateurs, en présence d'oiseaux adultes jouant le rôle de tuteurs, améliorent la survie en nature de la perdrix chukar (*Alectoris chukar*) et de la perdrix rouge (Avril, 2020; Froustey, 2019; Gaudioso et al., 2011b; Slauch et al., 1992). Dans la nature le gibier à plumes est confronté, dès son éclosion, à toute une variété d'habitats plus ou moins complexes. Afin de recréer des conditions similaires en captivité, plusieurs études ont cherché à naturaliser et complexifier le milieu d'élevage des oiseaux. Par exemple chez le faisan, un accès précoce à des perchoirs facilite le développement d'une morphologie adaptée, améliore la mémoire spatiale et favorise après la réintroduction des oiseaux, leur perchage la nuit (comportement anti-prédateur naturel de l'espèce) et leur chance de survie (Santilli and Bagliacca, 2017; Whiteside et al., 2016). L'accès à des perchoirs et à un abri diminue également les comportements de peur (i.e. durée d'immobilité tonique) de ces oiseaux (Hrabcakova et al., 2012). La complexification du milieu d'élevage passe également par la complexification du régime alimentaire. En captivité, l'aliment est disponible *ad libitum* et sa

présentation (colorimétrie et granulométrie) est souvent standardisée ne reflétant donc pas les caractéristiques d'un aliment naturel. L'imprévisibilité de l'approvisionnement alimentaire (i.e. trois heures par jours à des horaires variables) améliore la survie en nature de la perdrix grise (Homberger et al., 2014). De même, l'apport d'un régime alimentaire précoce plus complexe et plus varié (i.e. aliment standard supplémenté avec des vers de farine, des graines et des fruits) a des effets bénéfiques sur les comportements alimentaires des faisans. Ils présentent un régime alimentaire plus diversifié en nature, sont plus efficaces dans leur prise alimentaire, sont plus vigilants et survivent plus longtemps (Whiteside et al., 2015).

Les quelques exemples présentés ici illustrent de l'importance des conditions d'élevage postnatales des individus sur leurs capacités d'adaptation et de survie en nature. Malgré leur potentiel adaptatif, très peu d'études se sont intéressées aux effets prénatals dans le cadre de programmes de repeuplement ou de renforcement des populations. À notre connaissance une seule étude, celle d'Homberger et ses collaborateurs, a évalué les effets de l'imprévisibilité de l'approvisionnement alimentaire parental sur la survie en nature des jeunes perdrix grises. Ils n'ont cependant montré aucun effet bénéfique de ce traitement sur la survie de ces oiseaux en nature (Homberger et al., 2014).

8. Présentation de la thèse

Comme nous venons de le voir dans l'introduction, les effets maternels prénatals ont une influence majeure sur l'ontogenèse comportementale des jeunes individus. Les expériences vécues par la femelle lors de sa gestation ou de sa phase de ponte notamment, façonnent et orientent une multitude de compétences et de comportements chez ses descendants. Si elles sont encore rares chez les vertébrés, quelques études suggèrent également que les effets maternels prénatals influencent non seulement la trajectoire développementale des jeunes de première génération, mais également celle des jeunes des générations suivantes. Parmi ces études, beaucoup s'intéressent aux influences inter- et multi-générationnelles des effets maternels prénatals. Bien qu'indispensables, elles ne peuvent cependant exclure l'influence directe des stimulations expérimentées par la mère sur le phénotype des jeunes des générations F1 et F2. Afin de mettre en évidence l'influence indirecte des effets maternels prénatals, des études trans-générationnelles semblent donc nécessaires.

Ainsi notre premier objectif est de caractériser l'influence **inter-, multi- et trans-générationnelle des effets maternels prénatals (CHAPITRE III - ARTICLES I et II)**. Les effets inter-générationnels d'un stress chronique de la femelle ont largement été démontrés dans la littérature. Le stress apparaît donc être un modèle idéal pour caractériser l'influence des effets maternels à travers les générations. Nous avons ainsi caractérisé l'influence inter-, multi- et trans-générationnelle d'un stress chronique maternel. Nous avons étudié le phénotype des descendants F1, F2 et F3 en évaluant plus particulièrement leur développement morpho-physiologique ainsi que leur réactivité émotionnelle et leurs capacités d'apprentissage et de mémorisation, des compétences qui, comme nous l'avons vu en introduction, semblent particulièrement influencées par le stress prénatal. Notre second objectif est dans la continuité du premier, **d'identifier les facteurs potentiellement impliqués dans la médiation à travers les générations, des effets maternels prénatals**. Les hormones d'origine maternelle présentes *in ovo* et les mécanismes épigénétiques, sont deux facteurs qui sont actuellement suggérés. Nous avons donc au cours de nos expériences, analysé la composition hormonale des œufs de nos femelles F0, F1 et F2. Nous nous sommes plus spécifiquement intéressés aux stéroïdes sexuels (i.e. testostérone, progestérone, androstènedione) ; hormones dont les concentrations semblent particulièrement modulées par les effets maternels (**CHAPITRE III - ARTICLES I et II**). Nous avons également évalué, l'expression dans le cerveau des jeunes F1 et F3, de deux modifications post-traductionnelles des histones, H3K27me3 et H3K4me2 (**CHAPITRE III - ARTICLES I et II**). Afin de répondre à nos objectifs, nous nous sommes intéressés à une espèce d'oiseau nidifuge, la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*). Les oiseaux et notamment les oiseaux nidifuges, sont effectivement des modèles idéals pour l'étude à travers les générations des effets maternels prénatals. Ils offrent la possibilité de contrôler et de manipuler indépendamment les environnements pré- et postnatals, excluant ainsi les effets potentiellement confondants des soins maternels postnatals et minimisant l'influence des expériences vécues par les jeunes après leur naissance. En comparaison aux jeunes nidicoles, les jeunes nidifuges sont également extrêmement matures à l'éclosion, leurs systèmes moteurs et sensoriels étant déjà fonctionnels. On peut ainsi supposer que les effets maternels auxquels les jeunes peuvent être exposés *in ovo* auront chez ces espèces, des effets d'autant plus importants sur l'ontogenèse de leurs comportements. En outre, la caille japonaise, sous sa forme domestique, est une espèce qui atteint sa maturité sexuelle très rapidement et qui est capable de se reproduire toute l'année, facilitant ainsi l'étude des effets maternels à travers les générations. C'est également une espèce particulièrement appréciée par la recherche, son répertoire comportemental est donc bien connu et les méthodes et techniques permettant de définir ses comportements et ses caractéristiques neurophysiologiques ont déjà été validées.

Au regard de leurs influences sur le phénotype des descendants, les effets maternels prénatals pourraient se révéler déterminants pour la réussite à long terme des programmes de repeuplement et de renforcement des populations. Ainsi, notre troisième objectif est de **caractériser le potentiel adaptatif des effets maternels prénatals**. Cette partie de notre projet s'est déroulée en deux temps. Dans un premier temps, nous avons, en laboratoire et chez la caille japonaise, évalué l'influence inter- et trans-générationnelle d'un environnement maternel que nous avons souhaité plus naturel. En effet, les interactions entre un animal et son milieu impliquent une association complexe entre expériences négatives et positives. Nous avons donc fait le choix d'exposer les femelles F0 à des conditions de vie plus complexes et plus variables, mêlant à la fois des stimulations à valences émotionnelles positives et négatives. Nous avons évalué les effets d'un tel environnement maternel sur le développement morfo-physiologique des jeunes F1 et F3 ainsi que sur leur réactivité émotionnelle et leurs capacités d'apprentissage et de mémorisation (**CHAPITRE IVA**). Après avoir validé notre modèle dans des conditions particulièrement contrôlées, nous avons souhaité en tester le potentiel adaptatif en élevage et en milieu naturel en travaillant avec une espèce de gibier, phylogénétiquement proche de la caille japonaise, la perdrix rouge (*Alectoris rufa*) (**CHAPITRE IVB**). Dans un second temps, nous avons donc complexifié l'environnement de perdrix F0, mâles et femelles, les perdrix étant maintenues en couple en élevage conventionnel. Notre étude s'inscrivant dans un projet impliquant un consortium qui s'intéressait aussi aux effets de l'environnement postnatal, nous avons également complexifié l'environnement d'élevage des perdrix F1 issues de ces perdrix F0. Nous avons évalué les effets indépendants et/ou combinés de ces traitements sur le développement morphologique et la réactivité émotionnelle des perdrix F1 en élevage ainsi que sur leur survie en milieu naturel. Afin de caractériser les effets à travers les générations de ces traitements, nous avons également évalué ces compétences chez des perdrix F2 issues des perdrix F1.

Chapitre II

Méthodologie générale

Méthodologie générale

1. Modèles biologiques

1.1. Statuts phylogénétiques et conservation

La caille japonaise (*Coturnix c. japonica*) et la perdrix rouge (*Alectoris rufa*) sont deux espèces d'oiseaux nidifuges appartenant à l'ordre des galliformes. Cet ordre est composé de plus de 280 espèces réparties en cinq familles monophylétiques : les mégapodiidés, les cracidés, les numididés, les odontophoridés et les phasianidés (Crowe et al., 2006; Del Hoyo et al., 1994). La caille japonaise et la perdrix rouge appartiennent à la famille des phasianidés et à la sous-famille des perdicinés (Wang et al., 2013) qui inclut des oiseaux originaires de l'Ancien Monde, occupant une grande variété d'habitat et nichant au sol. Leur dernier ancêtre commun aurait vécu il y a 31 millions d'années (**Figure 1** ; Kumar et al., 2017). La caille japonaise appartient au genre *Coturnix* qui regroupe sept espèces ou sous-espèces. Il existe aujourd'hui encore de nombreuses controverses quant aux relations phylogénétiques existantes au sein de ce genre. Toutefois, la caille japonaise est actuellement considérée comme une sous-espèce de *Coturnix coturnix* (Wetmore, 1952), capable de s'hybrider avec une autre sous-espèce, la caille des blés (*Coturnix c. coturnix*) (Guyomarc'h, 2003). La liste rouge de l'UICN classe la caille japonaise comme une espèce « quasi menacée » (The IUCN Red List of Threatened Species, 2016) notamment parce qu'elle aurait subi un déclin de près de 80% de sa population entre 1973 et 2002 (lu dans Baer et al., 2015). La perdrix rouge quant à elle, appartient au genre *Alectoris*, comprenant sept espèces telles que la perdrix bartavelle (*Alectoris graeca*) ou la perdrix choukar (*Alectoris chukar*). On retrouve chez *Alectoris rufa*, trois sous-espèces, *Alectoris rufa rufa*, *Alectoris rufa hispanica* et *Alectoris rufa intercedens* (Del Hoyo et al., 1994). Egalement classée dans les espèces « quasi menacées » sur la liste rouge de l'UICN (The IUCN Red List of Threatened Species, 2020), la perdrix rouge aurait vu sa population décliner, selon les rapports, de 20-29% (BirdLife International 2020) à 40-45% en 10 ans (BirdLife International *in prep.*).

1.2. Caille japonaise

1.2.1. Répartition géographique et milieu de vie

La caille japonaise est une petite espèce d'oiseau terrestre (17-19cm, 90-100g) originaire de l'est de l'Asie. Son aire de répartition (**Figure 2**) s'étend de l'est de la Russie au nord de la Thaïlande,

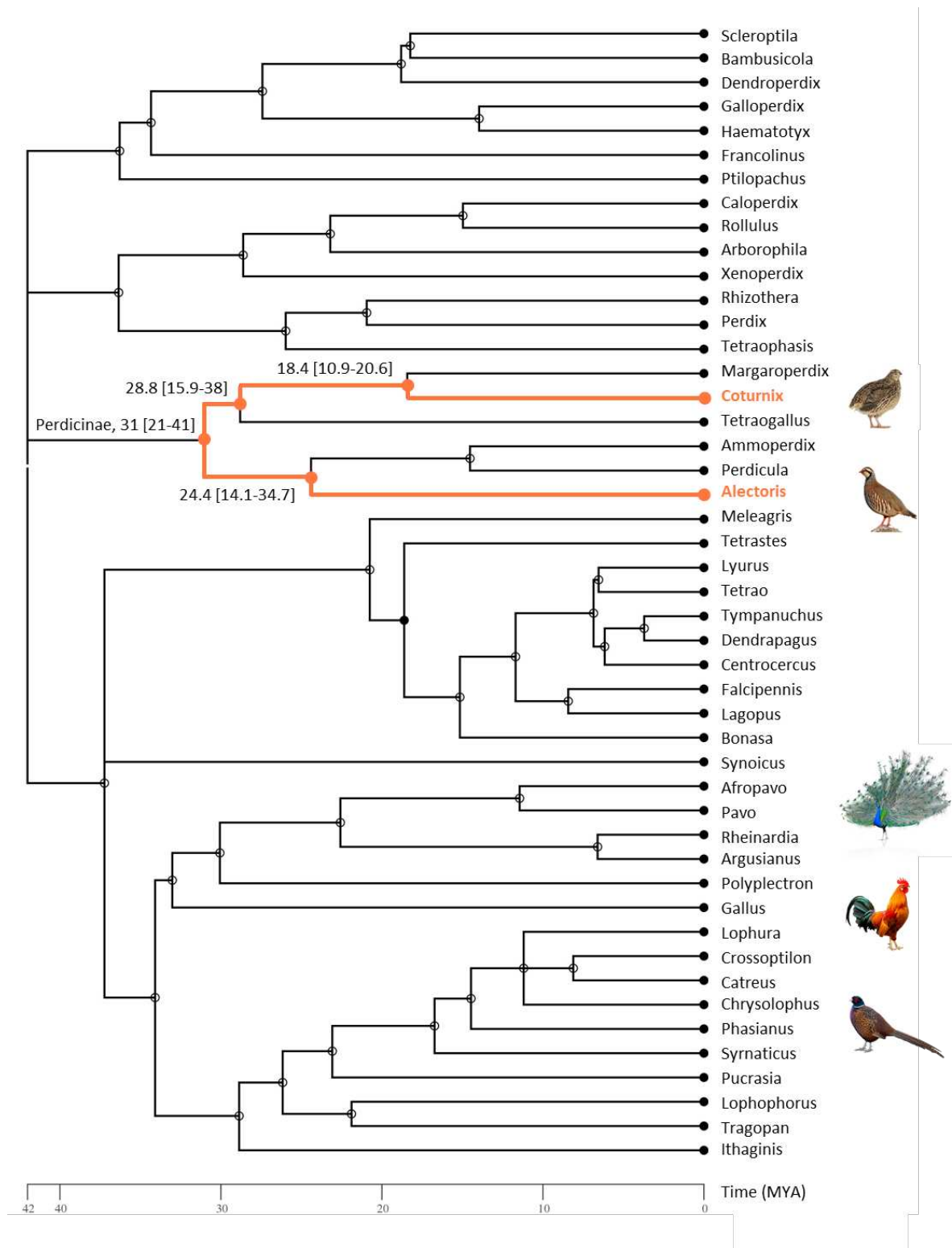


Figure 1 | Arbre phylogénétique des Phasianidés. La famille des Phasianidés est constituée de 47 genres dont le genre *Coturnix* et le genre *Alectoris* incluant la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*) et la perdrix rouge (*Alectoris rufa*) respectivement. L'arbre phylogénétique présenté ici combine plusieurs études utilisant des données de séquences moléculaires (TimeTree ; Kumar et al., 2017). Les dates de divergence des différents clades sont indiquées en millions d'années (MYA) avec un intervalle de confiance, entre crochets, de 95%.

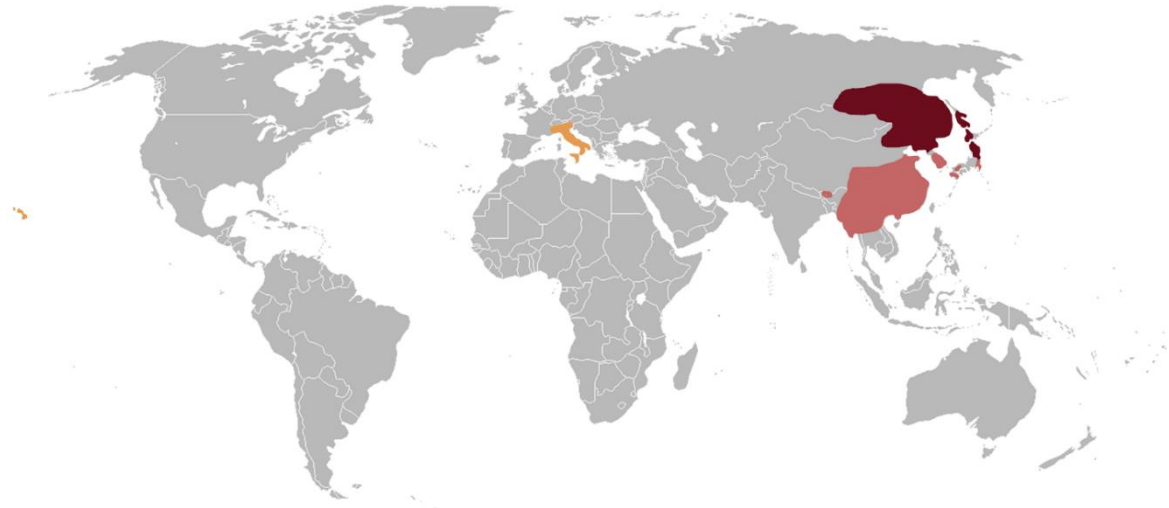


Figure 2 | Aire de répartition de la caille japonaise. En rouge foncé, son aire de reproduction. En rouge clair, son aire d'hivernage. En orange, les aires où l'espèce a été introduite. D'après BirdLife International 2016.

en passant par la Corée du Nord, la Corée du Sud, le Japon, le nord de la Mongolie et le nord-est de la Chine (Del Hoyo et al., 1994). Cette espèce est également présente à Hawaï, où des individus domestiqués ont été introduits au XX^{ème} siècle (Baer et al., 2015; Wetherbee, 1961). Les cailles japonaises migrent de façon saisonnière pour rejoindre leur aire d'hivernage, comprenant le sud de la Chine, le Vietnam, le Laos, le Cambodge, la Birmanie ou encore le nord-est de l'Inde (Hoffmann 1988, Del Hoyo, 1994). Cette espèce occupe essentiellement des milieux ouverts tels que des prairies, des terres cultivées ou des steppes herbeuses (Del Hoyo et al., 1994) dans lesquelles elle se nourrit de graines, de baies, de jeunes pousses ainsi que de petits invertébrés (Wetherbee, 1961).

1.2.2. Domestication

Les premières traces écrites évoquant l'apprivoisement de la caille, remontent à l'époque gréco-romaine. Ainsi, au IV^{ème} siècle avant J.-C., Platon évoque le fait que « les chasseurs approvisionnent les éleveurs de cailles » (Chandezon and Lumineau, 2020). Les cailles décrites par les Grecs et les Romains sont certainement des cailles des blés. Il semblerait, qu'à cette époque, elles étaient principalement considérées comme des animaux de compagnie et d'apparat (Chandezon and Lumineau, 2020). L'élevage de la caille japonaise aurait débuté en Chine, où des oiseaux sauvages étaient maintenus en captivité, dès 770 avant J.-C. pour la qualité de leur chant, puis vers 600 après J.-C. pour les combats et le divertissement (Chang et al., 2005; Lukanov, 2019). Au XI^{ème} siècle, la caille japonaise aurait été introduite et domestiquée au Japon (lu dans Mills, 1997)

avant d'être dans les années 1940, sélectionnée pour sa chair et ses œufs (lu dans Mills, 1997). Sa domestication s'est accompagnée de modifications morpho-physiologiques et comportementales (**Figure 3** ; Chang et al., 2009). Les cailles domestiques présentent notamment des masses plus élevées, avec des lignées de chair pouvant peser jusqu'à 600g à l'âge adulte (Baer et al., 2015). Leurs capacités de ponte ont également été modifiées. Elles sont passées de 12 œufs pondus par an chez les cailles sauvages à plus de 280 chez les individus domestiqués, ces derniers pouvant



Figure 3 | Cailles japonaise mâles, sauvage (à gauche), domestique (au milieu) et hybride de première génération (à droite). © Chang et al., 2009.

effectivement pondre en continu toute l'année (lu dans Chang et al., 2009). Les comportements migratoires ainsi que les comportements de construction du nid et de couvain apparaissent particulièrement altérés par la domestication (Derégnaucourt et al., 2005). Il en est de même pour les comportements agonistiques puisque les mâles domestiqués sont décrits comme plus agressifs que leurs congénères sauvages (Chang et al., 2009). En Europe, à partir des années 1970, des cailles japonaises domestiques ont été massivement introduites en nature. Ces pratiques, mises en place pour lutter contre le déclin de la caille des blés et pour répondre à la demande cynégétique, sont aujourd'hui interdites. La capacité de la caille japonaise domestique à s'hybrider avec la caille des blés a effectivement soulevé de nombreuses inquiétudes quant à l'avenir des populations naturelles (e.g. pollution génétique, altération des comportements et notamment du comportement de migration ; lu dans Derégnaucourt et al., 2005; Smith et al., 2018). Si elle est aujourd'hui majoritairement élevée pour sa chair et ses œufs, la caille japonaise a également été adoptée, depuis les années 1950, par la recherche, notamment en génétique, en neurobiologie ou encore en éthologie (Huss et al., 2008). Son développement rapide, sa maturité précoce et sa facilité d'élevage en font effectivement un modèle biologique idéal.

1.2.3. Morphologie

A l'éclosion, les cailleteaux pèsent entre 6 et 8g et présentent un duvet cryptique rayé brun clair. Trois à quatre semaines plus tard, un dimorphisme sexuel apparaît, les mâles sont légèrement plus légers que les femelles et présentent des plumes brun orangé au niveau du plastron. Les

femelles arborent quant à elles des plumes beiges mouchetées de noir. La caille japonaise présente un développement très rapide, les jeunes atteignent ainsi leur maturité sexuelle vers l'âge de six semaines (Baer et al., 2015).

1.2.4. Système socio-sexuel

La caille japonaise ayant été peu observée en milieu naturel, nous présenterons ci-après les comportements, très similaires, de la caille japonaise domestique et de la caille des blés.

La caille est une espèce monogame temporaire, mâles et femelles restant en couple au moins jusqu'à la couvaison des œufs (Mills, 1997; Wetherbee, 1961). Elle présente une reproduction saisonnière (Del Hoyo et al., 1994). Les mâles, de retour de leurs aires d'hivernage, arrivent les premiers sur les zones de reproduction. Ils s'agrègent en petits groupes d'individus et établissent des foyers de chant sans limites territoriales distinctes (Guyomarc'h, 2003). Les femelles, à leur arrivée, vont être attirées par les chants des mâles et vont y répondre en émettant des cris d'appel (Orcutt, Jr. and Orcutt, 1976). Mâle et femelle, après un rapprochement préférentiel, vont produire des comportements de parades sexuelles spécifiques (Lumineau et al., 2005) permettant la formation du couple. Une fois apparié, le couple s'éloigne des foyers de chant et occupe un domaine vital journalier (Guyomarc'h, 2003). Sans être territoriaux, les deux partenaires évitent tout de même les contacts avec d'autres congénères. Tout au long de la phase de nidification, mâle et femelle maintiennent une forte proximité spatiale, répondent exclusivement aux sollicitations vocales de leur partenaire et synchronisent également leurs activités (Le Bot et al., 2014; Orcutt, Jr.



Figure 4 | Nid et œufs de caille japonaise. Lors de la construction du nid, les femelles choisiraient le substrat adéquat par rapport au pattern caractéristique de leur œuf, afin de camoufler au mieux leur couvée (Lovell et al., 2013). © G. Colombo.

and Orcutt, 1976). La femelle s'occupe seule de la construction du nid (**Figure 4**). Tout d'abord formé d'une simple dépression à même le sol, elle l'enrichit ensuite en ajoutant, au cours de la phase de ponte, divers éléments végétaux (Orcutt, Jr. and Orcutt, 1976). Entre 5 et 12 œufs sont pondus (**Figure 4**), au rythme d'un œuf par jour (Guyomarc'h, 2003), puis couvés par la femelle pendant 17 jours (Orcutt, Jr. and Orcutt, 1976; Saint-Jalme, 1990). Au cours de la couvaison, le mâle reste à proximité de la femelle, qu'il rejoint occasionnellement lors des périodes d'alimentation ou d'entretien du nid. À la fin de

l'incubation, la femelle commence à repousser son partenaire puis finit par le chasser définitivement (Orcutt, Jr. and Orcutt, 1976). Quelques heures après leur éclosion, les cailleaux sont capables de se déplacer et de s'alimenter seuls. Les jeunes restent cependant dépendants de la femelle qui oriente leurs comportements alimentaires, les protège des prédateurs et maintient la cohésion de la couvée (Orcutt, Jr. and Orcutt, 1976). La femelle réchauffe également ses cailleaux, ces derniers étant incapables de se thermoréguler seuls avant l'âge de 11 jours environ. Elle adopte pour cela une posture caractéristique qui permet d'ailleurs de définir la qualité des soins maternels apportés (Pittet, 2012). À l'âge de 11 jours, les cailleaux, notamment sous l'influence de la femelle (Aigueperse, 2017; Pittet, 2012), s'émancipent et se dispersent progressivement (Orcutt, Jr. and Orcutt, 1976).

1.3. Perdrix rouge

1.3.1. Répartition géographique et milieu de vie

La perdrix rouge est une espèce endémique du sud-ouest de l'Europe. Son aire de répartition (**Figure 5**) s'étend sur une majeure partie du bassin méditerranéen, de l'Espagne au nord-ouest de l'Italie, en passant par le Portugal, la France, la Corse et l'île d'Elbe. Elle a également été introduite dans les îles atlantiques à partir du XV^{ème} siècle (Açores, Canaries et Madère), au Royaume-Uni au XVIII^{ème} siècle (Cramp and Simmons, 1980) et également, mais avec moins de réussite, aux Etats-Unis, en Nouvelle-Zélande et en Europe centrale (Cramp and Simmons, 1980; Del Hoyo et al., 1994).

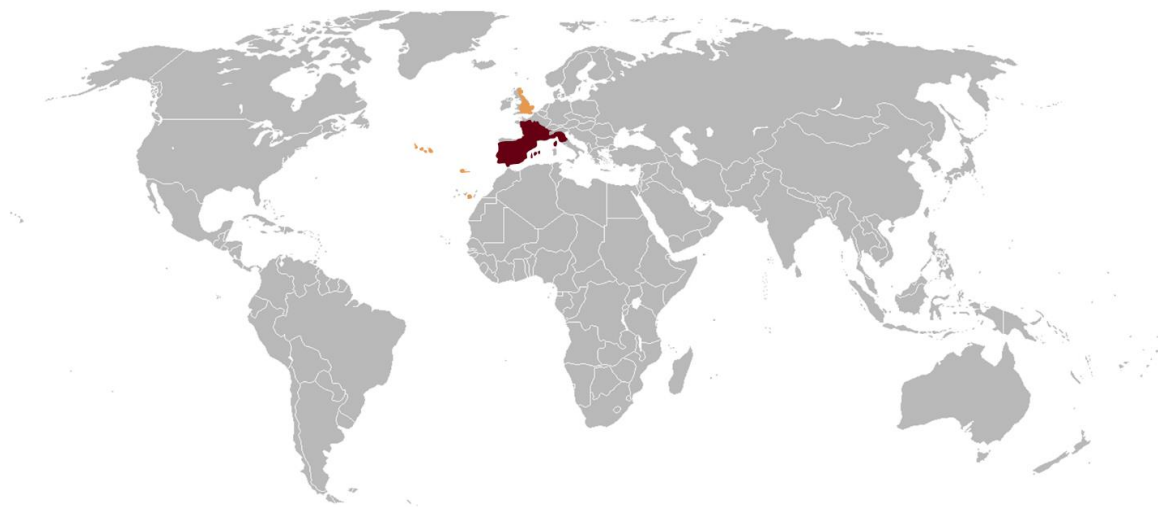


Figure 5 | Aire de répartition de la perdrix rouge. En rouge foncé son aire de répartition naturelle. En orange, les aires où l'espèce a été introduite. D'après BirdLife International 2020.

La perdrix rouge occupe préférentiellement des milieux ouverts et agricoles tels que les plaines céréalières et viticoles (Vargas et al., 2006). On la retrouve également dans des milieux présentant une végétation de faible hauteur comme les landes ou les garrigues (Cramp and Simmons, 1980). Les jeunes s’y nourrissent presque exclusivement de petits arthropodes avant de passer progressivement à un régime plus opportuniste, les adultes se nourrissant de feuilles, de graines variées et d’invertébrés (Bro and Ponce-Boutin, 2004; Del Hoyo et al., 1994).

1.3.2. Domestication

La perdrix rouge est une espèce emblématique de petit gibier et comme la majorité des galliformes, son histoire est intimement liée à celle de l’être humain. Dès l’antiquité, entre le VI^{ème} et la fin du IV^{ème} siècle avant J.-C., la perdrix était associée à toute une symbolique, notamment lors des rites funéraires (**Figure 6** ; Masseti, 2020). Elle était aussi employée à la chasse, comme leurre afin d’attirer et piéger les individus de la même espèce (Masseti, 2020). Depuis longtemps la perdrix est donc appréciée à la chasse. De ce fait, elle est aujourd’hui, en France, l’une des espèces les plus prélevées avec un tableau estimé à environ 1.3 millions d’individus lors du dernier recensement, réalisé en 2013-2014 (Aubry et al., 2016). La même tendance s’observe partout en Europe et notamment en Espagne avec 3.3 à 3.5 millions d’oiseaux prélevés chaque année depuis 2000 (lu dans Díaz-Fernández et al., 2012). Afin de pallier au déclin des populations sauvages et de maintenir une forte pression de chasse, des millions de perdrix rouges sont, depuis les années 1970, élevées en captivité puis mises en nature (Cramp and Simmons, 1980). Cela concernerait chaque année, 10



Figure 6 | Perdrix peinte sur l’un des murs de la tombe étrusque du Triclinium. Datant de 475 avant J.-C., cette représentation pourrait être celle d’une perdrix rouge ou d’une perdrix bartavelle (Masseti, 2020).

millions de perdrix au Royaume-Uni (Madden and Sage, 2020), cinq millions en France (lu dans Madden et al., 2020) et entre trois et six millions en Espagne (lu dans Caro et al., 2014; Delibes-Mateos et al., 2015). La domestication de la perdrix rouge s’est accompagnée de changements multiples, à la fois génotypiques et phénotypiques. Afin d’augmenter sa productivité en captivité, la perdrix rouge a notamment été hybridée, dans les années 1950-1960, avec la perdrix choukar, espèce considérée comme la plus productive du genre *Alectoris*. Si aujourd’hui cette pratique est interdite,

on constate une introgression généralisée des gènes de choukar dans le génome de la perdrix rouge sur l'ensemble de son aire de répartition (Barbanera et al., 2010; Ricci, 2019). L'hybridation affectant le phénotype et le succès reproducteur des individus et pouvant constituer une menace pour les populations naturelles (Campo et al., 2015; Casas et al., 2012), des programmes de « purification » ont récemment été mis en place, en France notamment (programme Alectoris Rufa Certifié ; Ricci, 2019). Parallèlement, la domestication a favorisé les capacités de production de la perdrix rouge. Alors que les perdrix sauvages pondraient en moyenne une douzaine d'œufs par saison (Del Hoyo et al., 1994), les perdrix domestiques, bien qu'ayant conservé une reproduction saisonnière, en pondraient jusqu'à une cinquantaine (Mourão et al., 2010). Cette augmentation de la productivité serait liée à la fois à l'allongement de la période de ponte (28 à 35 jours chez la perdrix sauvage contre 105 à 111 chez la perdrix captive (Mourão et al., 2010) mais également à l'absence, en élevage, du comportement de couvaie stoppant ainsi la production des œufs (Gaudioso et al., 2002). Comme souligné en introduction (**CHAPITRE I - 7**), la domestication de la perdrix rouge s'est également accompagnée de modifications comportementales importantes et notamment d'une altération de sa réponse anti-prédateur (Gaudioso et al., 2011a; Sánchez-García et al., 2016).

1.3.3. Morphologie

À l'éclosion, les jeunes perdrix pèsent environ 13g et présentent un duvet cryptique rayé brun clair (**Figure 7A**). Leur croissance est rapide, les juvéniles atteignant quasiment leur taille adulte vers l'âge de 120 jours (lu dans Nadal et al., 2018). Les perdrix présentent alors un plumage vert olive-brun clair avec les plumes du flanc barrées de noir, de blanc et d'orangé. La poitrine et le ventre sont gris-brun et la gorge est cernée par une bavette mouchetée de noir caractéristique de l'espèce (**Figure 7B**) (Cramp and Simmons, 1980; Del Hoyo et al., 1994). Le sexe des oiseaux, notamment chez les juvéniles, n'est pas simple à déterminer. La perdrix rouge présente effectivement un faible dimorphisme sexuel. Les mâles sont un peu plus lourds que les femelles (480 et 410g respectivement ; Del Hoyo et al., 1994) et présentent un ergot sur chaque tarse contrairement aux femelles qui n'en possèdent généralement pas (**Figure 7C et 7D**).

La perdrix rouge présente, en particulier chez les mâles (Pérez-Rodríguez, 2008), une coloration rouge orangé très marquée au niveau du bec, de l'anneau péri-oculaire et des tarses (**Figure 7B et 7C**). Ces ornements, principalement composés de pigments caroténoïdes sont d'ailleurs, comme la bavette de plumes noires, considérés comme des indicateurs de l'état de santé et de la condition

physique de l'individu. Ils pourraient participer, comme chez de nombreuses espèces, aux processus de sélection inter- et intra-sexuels (Mougeot et al., 2009; Pérez-Rodríguez and Viñuela, 2008; Pérez-Rodríguez et al., 2013a, 2013b). Chez la perdrix rouge, la maturité sexuelle est atteinte au printemps suivant l'éclosion (Del Hoyo et al., 1994).



Figure 7 | Jeune, plumage et dimorphisme sexuel chez la perdrix rouge. (A) Jeune perdrix âgée d'un jour. (B) Bavette noire et pigmentation du bec et de l'anneau péri-oculaire. (C) Entourés par un cercle en pointillés, les ergots présents sur les tarsi d'une perdrix mâle. (D) Couple de perdrix rouge avec à gauche, le mâle, plus trapu, et à droite, la femelle. © M. Charrier.

1.3.4. Système socio-sexuel

La perdrix rouge est une espèce sédentaire qui, pendant la majeure partie de l'année, présente un comportement grégaire. Elle évolue effectivement en compagnie de 10 à 40 individus (Cramp and Simmons, 1980) composée des parents, des jeunes de l'année et parfois d'adultes célibataires (Green, 1983). La perdrix rouge est majoritairement monogame (Cramp and Simmons, 1980) et présente une reproduction saisonnière. À la fin de l'hiver, la compagnie se sépare et les couples commencent à se former. Les observations décrivant la formation des couples sont aujourd'hui encore incomplètes. Toutefois au début du printemps, les mâles, après avoir établi leur territoire, attirent les femelles grâce à leurs vocalisations. Mâles et femelles s'apparieraient ensuite grâce à

des comportements de parades sexuelles spécifiques (Goodwin, 1953, 1958). Une fois le couple formé, le mâle construit plusieurs nids en creusant une cuvette à même le sol (**Figure 8A**) qu'il agrémente de petits végétaux (Cramp and Simmons, 1980; Goodwin, 1953). La femelle choisit l'un des nids, y ajoute à son tour de l'herbe et des plumes, puis y pond un œuf toutes les 36 heures environ (Cramp and Simmons, 1980). Chez la perdrix rouge, il n'est pas rare d'observer une double nidification (Casas et al., 2009; Ricci, 1983; Spanó and Csermely, 1985). Les femelles effectuent alors deux pontes, dans des nids différents. La première est incubée par le mâle et la seconde par la femelle. Une douzaine d'œufs sont pondus par nid et sont couvés pendant 23 jours environ (Del Hoyo et al., 1994). Si le nid est détruit, la femelle peut produire une ponte de remplacement de cinq à huit œufs, appelée ponte de recoquetage. Après l'éclosion, les poussins, nidifuges, quittent rapidement le nid. Les parents s'occupent tous les deux des soins aux jeunes, les soins parentaux étant similaires à ceux décrits chez la caille japonaise (**Figure 8B** ; Goodwin, 1953). Dans le cas des doubles nidifications, mâle et femelle élèvent dans un premier temps leurs jeunes séparément puis tous se rejoignent au bout de quelques semaines (Cramp and Simmons, 1980). Les compagnies ainsi formées restent ensemble jusqu'au début de la saison de reproduction suivante.



Figure 8 | Œufs et jeunes chez la perdrix rouge. (A) Nid de perdrix rouge constitué d'une simple dépression à même le sol et agrémenté de plumes et de végétation au moment de l'incubation. © M. Charrier. (B) Femelle réchauffant ses jeunes âgés d'une quinzaine de jours. © N. Froustey.

2. Protocoles expérimentaux

Toutes nos expérimentations se sont déroulées sur plusieurs générations. De la F0 à la F3 chez la caille japonaise et de la F0 à la F2 chez la perdrix rouge. Dans les paragraphes ci-après, nous détaillerons les paradigmes généraux, les conditions de maintenance des animaux ainsi que les tests comportementaux et les analyses neurobiologiques et physiologiques, nous ayant permis de

caractériser nos oiseaux. Les protocoles spécifiques à chaque expérience sont détaillés dans les chapitres correspondants (**CHAPITRE III, IVA et IVB**). Le Comité Rennais d'Éthique en matière d'Expérimentation Animale a préalablement validé toutes les procédures réalisées.

2.1. Caille japonaise

2.1.1. Origine des animaux

Les oiseaux F0 étudiés sont issus d'une souche de chair et proviennent d'un élevage industriel (Les cailles de Chanteloup, Corps-Nuds, Ille-et-Vilaine). À leur arrivée au laboratoire, vers l'âge de cinq semaines, chaque individu est identifié grâce à une bague alaire numérotée. Les oiseaux F1, F2 puis F3 sont tous issus de nos oiseaux F0 et nés au laboratoire, comme détaillé plus loin.

2.1.2. Paradigme expérimental

Deux expériences composent notre travail chez la caille japonaise, l'expérience « STRESS PRÉNATAL » (**CHAPITRE III**) et l'expérience « COMPLEXE et VARIABLE » (**CHAPITRE IVA**). Pour chacune d'entre elles, nous avons modifié les conditions de vie des femelles F0 et caractérisé l'influence de ces différents traitements sur les descendants des générations F1, F2 et F3. Le paradigme expérimental que nous avons utilisé, identique pour nos deux expériences, est détaillé dans la figure ci-après (**Figure 9**). Il est important de préciser qu'avant le début de chacune de nos expériences, nous avons pesé, mesuré et caractérisé les comportements de nos femelles F0, afin de s'assurer de l'homogénéité pré-traitement de nos groupes expérimentaux.

2.1.3. Production des cailles F1, F2 et F3

2.1.3.1. Accouplement

Afin de produire la génération F1, nous avons fait s'accoupler au laboratoire nos mâles et femelles F0. Les mâles F0, contrairement aux femelles, ne sont pas exposés aux traitements prénatals que ce soit lors de l'expérience « STRESS PRÉNATAL » ou de l'expérience « COMPLEXE et VARIABLE ». Chaque mâle F0 rencontre deux femelles « contrôles » et deux femelles exposées au traitement. Les mâles sont préalablement installés dans des cages individuelles, à l'extérieur de leur

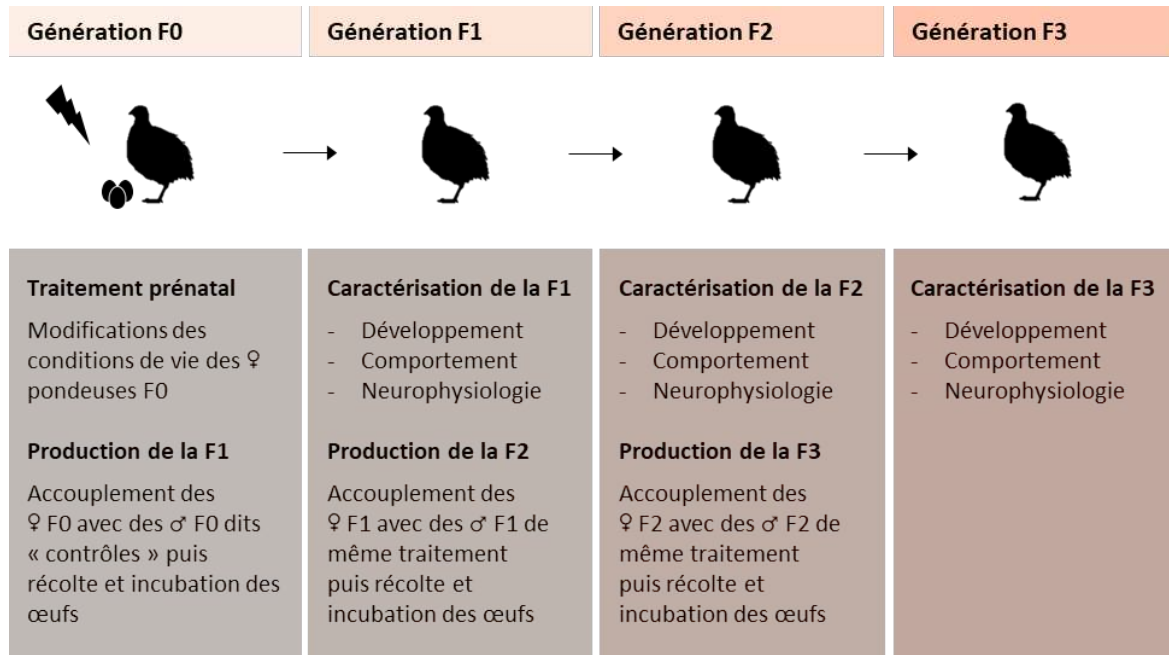


Figure 9 | Paradigme expérimental utilisé lors des expériences menées chez la caille japonaise. Nous avons, pour les expériences « STRESS PRÉNATAL » et « COMPLEXE et VARIABLE », modifié les conditions de vie des femelles F0 puis caractérisé l’effet de ces traitements sur les descendants F1, F2 et F3. Les protocoles relatifs à chaque expérience sont détaillés dans les chapitres correspondants (CHAPITRE III et IVA). Les détails concernant la production des générations F1, F2 et F3 sont expliqués ci-après CHAPITRE II - 2.1.3) tout comme les techniques utilisées pour caractériser les oiseaux CHAPITRE II - 3).

pièce d’élevage, puis les femelles sont introduites dans leur cage. Les oiseaux sont laissés ensemble jusqu’à l’observation d’une copulation, se traduisant généralement par l’émission d’une vocalisation spécifique (Guyomarc’h and Guyomarc’h, 1996). La caille est pendant une semaine environ, capable de stocker le sperme dans des tubules spécifiques de son oviducte (Birkhead and Fletcher, 1994), les accouplements n’ont donc lieu pas lieu quotidiennement mais tous les deux jours et majoritairement dans la matinée, lors du pic journalier d’activité sexuelle des mâles (Ottinger et al., 1982). Pour produire les générations F2 et F3, le même protocole est utilisé. Toutefois, chaque mâle F1 et chaque mâle F2 rencontrent respectivement une seule femelle F1 ou F2 de même traitement.

2.1.3.2. Récolte des œufs

Les œufs des générations F0 sont récoltés sept jours après le début du traitement, afin de s’assurer de son effet sur la composition hormonale du vitellus (i.e. le temps de formation du vitellus est de sept jours chez la caille ; Sauveur, 1988). Les œufs des générations F1 et F2 sont récoltés quelques jours après le début des accouplements. Chaque période de récolte s’étend sur

16 jours environ. Quotidiennement, les œufs sont collectés, pesés et marqués individuellement (identité de la femelle, traitement et date). Ils sont ensuite entreposés, jusqu'à leur incubation, à l'abri de la lumière et à des températures n'excédant pas $16 \pm 1^\circ\text{C}$, afin d'induire la suspension de l'embryogénèse (Pokhrel et al., 2021). Un œuf par femelle est également collecté et congelé pour l'analyse, *a posteriori*, de sa composition hormonale (**CHAPITRE II - 3.4.2**). Pour les générations F0, il s'agit d'un œuf pondu au milieu de la période de traitement. Pour les générations F1, F2 et F3, il s'agit d'un œuf pondu juste avant la mise en incubation. Nous avons fait le choix de collecter un œuf par femelle seulement, car contrairement à ce qui est observé chez plusieurs espèces (e.g. Groothuis et al., 2005a), la composition hormonale des œufs de la caille japonaise reste stable selon l'ordre de ponte (Hackl et al., 2003).

2.1.3.3. Incubation

Les œufs sont mis à incuber artificiellement (Brinsea Ova-Easy Advance 380) pendant 17 jours (Orcutt, Jr. and Orcutt, 1976). Les 14 premiers jours, la température est maintenue à 37°C et l'humidité à 45%. Une rotation automatique des œufs de 45° est également programmée toutes les 30 minutes. Le 15^{ème} jour d'incubation, la rotation automatique est stoppée et l'humidité augmentée à 65% afin de favoriser l'éclosion. Les œufs non fécondés et les morts embryonnaires sont relevés et retirés après mirage.

2.1.4. Maintenance des cailles F1, F2 et F3

Les conditions de maintenance décrites ci-après sont identiques pour toutes les générations étudiées. Le jour de l'éclosion, les cailleaux sont pesés et identifiés selon l'identité de leur mère, grâce à une bague colorée et numérotée, placée sur un tarse. Ils sont ensuite répartis en groupe de huit individus de même traitement mais de mères différentes. Tous les cailleaux sont maintenus dans une même salle expérimentale, sur copeaux, en cage à lapin (100 x 35 x 42cm), munies de lampes chauffantes ($38 \pm 1^\circ\text{C}$, coupées deux semaines après l'éclosion des cailleaux). La température ambiante est maintenue à $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Vers l'âge de 45 jours, les jeunes cailles sont sexées et nouvellement identifiées par la pose d'une bague alaire. Elles sont ensuite installées en fonction de leur sexe et de leur traitement, en logettes individuelles (35 x 25 x 21cm), dans des batteries collectives. Chaque logette est équipée de carrés de gazon artificiel permettant d'améliorer le confort des oiseaux. Les contacts entre individus qu'ils soient auditifs, visuels ou

tactiles sont possibles. La température ambiante est maintenue à $18 \pm 1^\circ\text{C}$. Indépendamment de l'âge des oiseaux, l'éclairage artificiel est réglé sur une photopériode LD 12:12. L'eau et la nourriture sont disponibles *ad libitum*. L'aliment pour les cailleteaux, consiste en un mélange adapté de céréales sous forme de semoule (VOLAILLE DÉMARRAGE MDC, Terrena). Celui-ci est remplacé progressivement au cours du développement des oiseaux, par un mélange de céréales se présentant sous la forme de granulés (DINDONNEAUX/PINTADEAUX CROISSANCE PIC'O GRAIN, Terrena).

2.2. Perdrix rouge

2.2.1. Origine des animaux

Les expériences réalisées chez la perdrix rouge se déroulent dans deux élevages industriels : Gen'Ethic, Chanverrie, Vendée et Avilande, Saint-Malo-du-Bois, Vendée. Dans le premier, sont maintenus les adultes F0 et F1 et dans le second, les jeunes F1 et F2. Les perdrix étudiées appartiennent toutes à la souche P88 (notamment sélectionnée pour sa production d'œuf et de jeunes) et sont maintenues dans des conditions classiquement rencontrées en élevage (**CHAPITRE II - 2.2.3 et 2.2.5**). La génération F0 est issue d'une sélection pédigrée, la généalogie de chaque individu est donc connue. Les perdrix F1 et F2 sont issues de la génération F0, comme détaillé ci-après.

2.2.2. Paradigme expérimental

Le traitement réalisé chez la perdrix implique à la fois une modification des conditions de vie des adultes F0 (traitement prénatal) et une modification des conditions de vie des jeunes F1 (traitement postnatal) (**CHAPITRE IVB**). Nous avons caractérisé l'influence de ces traitements pré- et postnatal sur les comportements et les capacités d'adaptation en nature des générations F1 et F2. Le paradigme expérimental utilisé lors de cette expérience est détaillé ci-après (**Figure 10**). Que cela soit pour la mise en place des traitements pré- et postnatal ou pour la caractérisation des individus, nous avons adapté nos protocoles aux conditions et pratiques d'élevage en vigueur dans les structures accueillant cette étude. Il est important de préciser qu'avant le début de notre étude chez la perdrix rouge, nous avons mesuré la masse corporelle et caractérisé la réactivité

émotionnelle de nos couples F0, afin de s'assurer de l'homogénéité pré-traitement de nos groupes expérimentaux.

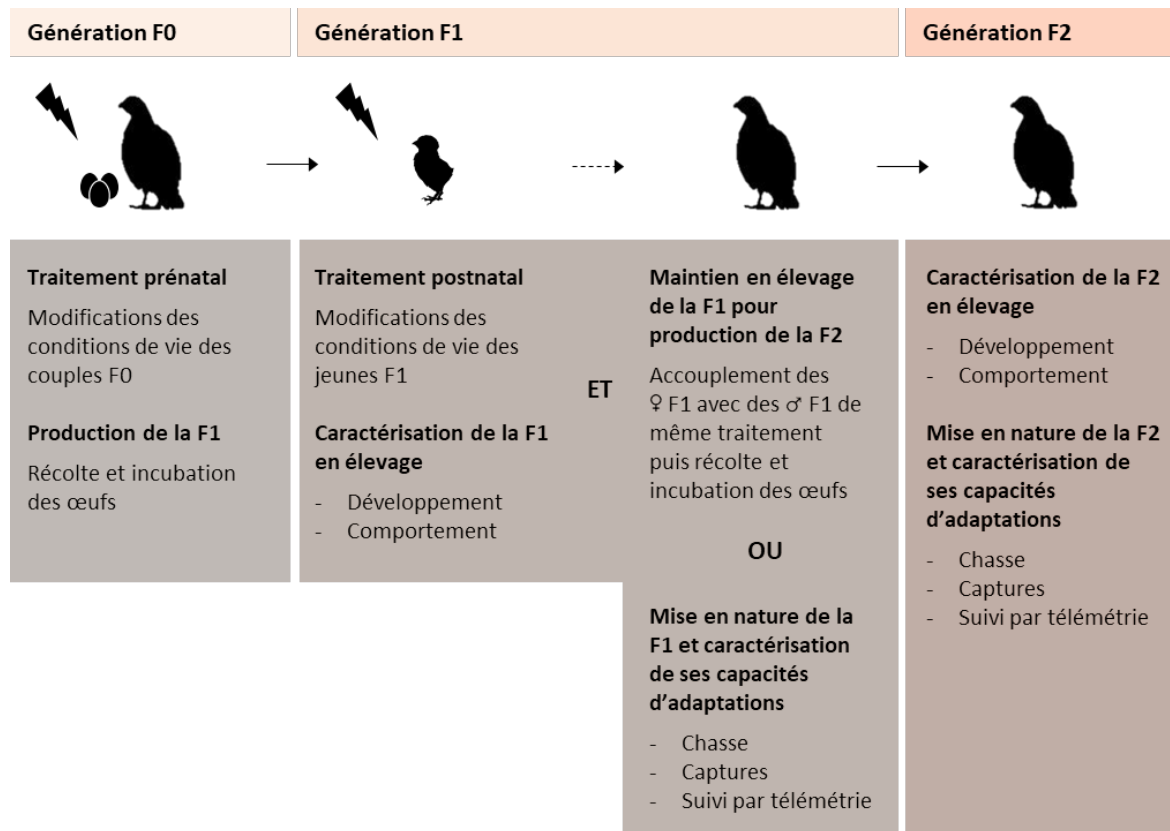


Figure 10 | Paradigme expérimental utilisé lors de l'expérience menée chez la perdrix rouge. En élevage, les perdrix rouges sont maintenues en couple. Nous avons donc, pour la génération F0, modifié les conditions d'élevage des femelles et des mâles (traitement prénatal). Nous avons également modifié les conditions de vie des perdrix F1 (traitement postnatal) et avons caractérisé l'influence de ces différents traitements sur le comportement en élevage et la survie en nature des générations F1 et F2. Les protocoles relatifs au traitements pré- et postnatal sont détaillés dans le chapitre correspondant (**CHAPITRE IVB**). Les détails concernant la production des générations F1 et F2 sont expliqués ci-après (**CHAPITRE II - 2.2.4**) tout comme le sont les techniques utilisées pour caractériser les oiseaux (**CHAPITRE II - 3**).

2.2.3. Maintenance des couples de perdrix F0 et F1

Les perdrix F0, âgées de neuf mois environ, sont appariées puis installées en parquets de reproduction extérieurs. Chaque couple dispose d'une cage (80 x 40 x 35cm) ouverte sur le ciel mais ne permettant pas les contacts visuels avec les couples voisins (parois latérales opaques). Les contacts auditifs au sein du parquet de reproduction sont toutefois possibles. Tous les individus sont nourris avec un aliment complet pour petite volaille sous forme de granulés (GIBIANE REPRO SUPER TOP, Sanders). L'eau et la nourriture sont disponibles *ad libitum*. Les oiseaux, installés en

extérieur, sont soumis aux conditions météorologiques. La photopériode naturelle est complétée d'un éclairage artificiel du mois de janvier au mois d'avril afin d'obtenir une photophase d'environ 14h stimulant ainsi la ponte des femelles. Au cours de la saison, les oiseaux sont ainsi éclairés entre 45 minutes et six heures par nuit grâce à une ampoule installée au-dessus de leur cage.

Afin de produire la génération de perdrix F2, 240 couples de perdrix de la génération F1 sont vers l'âge de six mois environ, transférés de leur volière d'élevage vers le parquet de reproduction. Elles sont alors maintenues dans des conditions standards comme celles décrites précédemment pour les perdrix de la génération F0.

2.2.4. Production des perdrix F1 et F2

2.2.4.1. Accouplement

Contrairement aux cailles japonaises, les perdrix mâles et femelles qui étaient maintenues en couple, pouvaient s'accoupler quotidiennement. La production des générations F1 et F2 n'a donc nécessité aucune mise en contact supplémentaire.

2.2.4.2. Récolte des œufs

La procédure de récolte des œufs de perdrix est similaire à celle décrite chez la caille (**CHAPITRE II - 2.1.3.2**). Un œuf par femelle F0 est également collecté au milieu de la période de traitement, puis congelé, pour l'analyse *a posteriori*, de sa composition hormonale. Pour la génération F1, cet œuf est collecté seulement après l'éclosion des jeunes de la génération F2 du fait de la pandémie de Covid-19.

2.2.4.3. Incubation

Les œufs sont mis à incuber artificiellement dans un couvoir industriel (Gibovendée, Chanverrie, Vendée) pendant 25 jours. Les 21 premiers jours, la température est maintenue à 37.7°C et l'humidité à 45%. Une rotation automatique des œufs de 45° est également programmée toutes les heures. Le 21^{ème} jour d'incubation, tous les œufs sont mirés automatiquement. Les œufs

fécondés sont répartis en paniers à éclosion selon l'identité de la femelle pondeuse, puis sont transférés en éclosoir. Les conditions de température et d'humidité sont maintenues et la rotation automatique est stoppée.

2.2.5. Maintenance des jeunes perdrix F1 et F2

Le jour de l'éclosion, les poussins sont identifiés grâce à une bague alaire numérotée puis pesés individuellement. Ils sont ensuite répartis, en fonction de leur traitement, dans quatre bâtiments différents (30m²). Chaque bâtiment est équipé d'un chauffage (1800W, coupé cinq semaines après l'éclosion des perdreaux) et d'une ventilation automatique. Du copeau et/ou de la paille légèrement broyée se trouvent au sol. Les premiers jours de vie, la luminosité du bâtiment est limitée. Seule une zone centrale, au niveau du chauffage, est éclairée jour et nuit, afin de limiter les déplacements des jeunes et leur éloignement de la source de chaleur. Une fois les perdreaux âgés de quatre semaines, cette veilleuse est éteinte et le bâtiment est ouvert sur un auvent (20m²) donnant sur l'extérieur. Cet apport de lumière naturelle est complété avec un léger éclairage artificiel dans le bâtiment (définitivement coupé à huit semaines). À six semaines, l'auvent est ouvert, ce qui permet aux oiseaux d'accéder à une volière extérieure (250m²). Les parois des volières sont équipées de brise-vue afin de limiter les contacts avec les volières voisines. Des rangs de maïs ou de culture à gibier sont présents, afin de fournir un léger couvert aux oiseaux.

L'eau et l'alimentation sont disponibles *ad libitum* à l'intérieur du bâtiment et de l'auvent. La composition et la présentation de l'aliment complet fournit aux perdreaux, évolue en fonction de leur âge (éclosion: GIBIANE 1ER ÂGE LASA, à 7 jours environ: GIBIANE 1ER ÂGE, à 21 jours environ: GIBIANE TRANSITION LASA, à 45 jours environ: GIBIANE 2ÈME ÂGE, Sanders). En complément, des mangeoires contenant du blé sont installées en volière afin d'habituer progressivement les oiseaux à cette céréale. Des agrainoirs contenant du blé sont effectivement présents sur les territoires de chasse afin de supplémer les perdrix mises en nature. Un plan de prophylaxie standard est également suivi.

2.2.6. Mise en nature des perdrix F1 et F2


À l'âge de 13 semaines, soit trois semaines avant l'ouverture de la chasse, 1200 perdrix F1 (été 2019) et 1200 perdrix F2 (été 2020) sont mises en nature afin de caractériser l'influence de nos

traitements sur leurs capacités d'adaptation. Toutes sont préalablement re-baguées sur un tarse (la mention GibAdapt est inscrite sur les nouvelles bagues pour une identification rapide de nos perdrix sur le terrain).

Les perdrix sont mises en nature sur trois territoires différents (400 par génération et par territoire), le premier en Vendée, à Bretignolles-sur-Mer (collaboration avec la Fédération Départementale des Chasseurs (FDC) de Vendée et la Société De Chasse (SDC) de Bretignolles-sur-Mer), le second dans la Drôme, à Menglon (collaboration avec les FDC de la Drôme et de l'Ardèche et l'Association Communale de Chasse Agréée (ACCA) de Menglon) et le troisième dans le Gard, à Montagnac (collaboration avec l'IMPCF). Les caractéristiques de ces différents territoires sont détaillées dans un tableau en annexe (**ANNEXE I**). Une fois sur site, les perdrix sont installées, par groupe de 10 à 18 individus de même traitement, dans des volières ou parquets de pré-lâcher, répartis sur l'ensemble du territoire (**ANNEXE II**). Elles sont maintenues ainsi pendant quatre jours. L'eau et la nourriture (50% de blé, 50% de l'aliment proposé en élevage) sont disponibles *ad libitum*. Une fois cette période d'acclimatation passée, les parquets sont ouverts afin de libérer les oiseaux. Deux perdrix, si possible des mâles, sont toutefois maintenus quatre jours supplémentaires, en volières ou parquets de pré-lâcher, afin d'appeler les oiseaux libérés et de les sédentariser. Elles sont ensuite libérées à leur tour. A proximité de chaque parquet ou volière de pré-lâchers, des abreuvoirs et des agrainoirs sont installés et régulièrement approvisionnés, par les bénévoles sur place, afin de fixer les oiseaux sur le territoire et de faciliter la transition entre l'élevage et le milieu naturel.


3. Caractérisation des oiseaux


Afin de caractériser le plus finement possible l'influence de nos traitements sur les cailles et perdrix des générations F0, F1, F2 et F3, nous avons utilisé différentes méthodes: un suivi morpho-physiologique, une caractérisation comportementale, un suivi en milieu naturel ainsi que des analyses physiologiques et neurobiologiques. Toutes ces méthodes n'ont pas été appliquées à l'ensemble des générations, des expériences ou des modèles étudiés (**Tableau 2** présenté à la toute fin de ce chapitre).

Tous les tests comportementaux et méthodes utilisés, pour caractériser nos cailles japonaises et nos perdrix rouges sont respectivement précédés dans les paragraphes suivants, des icônes  et



3.1. Suivi morpho-physiologique

 Les cailles F0 sont pesées après leur traitement (balance Precia Molen, d = 0.1g). La largeur de l'ouverture de leur fente cloacal, indicateur de développement sexuel (Guyomarc'h and Guyomarc'h, 1994), et la largeur de leur bande lipidique, indicateur d'engraissement (Saint-Jalme, 1990), sont également mesurées grâce à un pied à coulisse électronique (Mitutoyo®, Japan). Les cailles F1, F2 et F3 sont pesées régulièrement, de leur éclosion jusqu'à l'âge de 35 jours. À partir de 15-28 jours, la largeur de leur fente cloacale est également mesurée.

 Les perdrix F0 sont pesées après leur traitement, grâce à un dynamomètre électronique (Kern, d = 10g). Les perdrix F1 et F2 sont quant à elles pesées (balance Precia Molen, d = 0.1g) le jour de l'éclosion. Quatre cent perdrix F2 sont également pesées juste avant leur départ sur les territoires de mise en nature.

3.2. Caractérisation comportementale

3.2.1. Méthode d'observation et répertoire comportemental

Nous avons utilisé, lors de nos tests comportementaux, deux méthodes d'observation classiquement utilisées et validées en éthologie (Altmann, 1974) : i) le focal animal sampling qui consiste à noter tous les comportements produits par un individu pour une durée déterminée et ii) le scan animal sampling qui permet de mesurer la position ou le comportement exprimé par un individu à un instant t, cette observation étant répétée plusieurs fois avec un pas de temps déterminé. Le répertoire comportemental disponible ci-après, regroupe les comportements que nous avons mesuré lors de nos expériences (**Tableau 1**).

3.2.2. Réactivité émotionnelle

La réactivité émotionnelle peut être définie comme la prédisposition d'un individu à « percevoir et réagir à des situations potentiellement anxiogènes » (Boissy, 1995). Elle peut ainsi moduler la capacité d'un individu à faire face à différents challenges environnementaux. La réactivité émotionnelle est souvent qualifiée de « complexe » et de « multidimensionnelle » (Mignon-Grasteau et al., 2003; Ramos and Mormède, 1997). Afin de la caractériser le plus finement possible,

Tableau 1 | Répertoire comportemental utilisé lors de nos expériences chez la caille japonaise et la perdrix rouge. Les fréquences d'émission de chaque comportement sont relevées ainsi que leur durée pour les comportements grisés

CATÉGORIE	COMPORTEMENTS	DESCRIPTION
OBSERVATION	Basse	L'animal observe son environnement le corps abaissé, le cou tendu et parallèle au sol. Ce comportement est souvent associé à une réaction de peur
	Moyenne	L'animal observe son environnement dans une posture moyenne
	Haute	L'animal observe son environnement dressé sur ses tarsi, cou tendu. Ce comportement est souvent associé à une réaction de peur
	Observe un élément	L'animal observe un élément particulier présent dans son environnement (sol, paroi, abreuvoir, mangeoire, etc.)
LOCOMOTION	Marche	L'animal se déplace avec une allure et une posture moyenne
	Marche basse	L'animal se déplace plutôt lentement, le corps près du sol, le plumage parfois gonflé. Ce comportement est souvent associé à une réaction de peur
	Marche haute	L'animal se déplace dressé sur ses tarsi. Ce comportement est souvent associé à une réaction de peur
	Court	L'animal se déplace très rapidement. Ce comportement est souvent associé à une réaction de peur
	Saute	L'animal saute, les ailes déployées ou non. Ce comportement est souvent associé à une réaction de peur
	Volète	L'animal est dressé sur ses tarsi et bat des ailes
EXPLORATION	Explore un élément	L'animal picore un élément présent dans son environnement (sol, paroi, abreuvoir, mangeoire, etc.)
CONFORT	Se toilette	L'animal se lisse les plumes à l'aide de son bec
	S'ébroue	L'animal gonfle son plumage et le secoue
	Se gratte	L'animal gratte une partie de son corps grâce à ses pattes
	S'étire	L'animal étend ses ailes ou ses pattes vers l'arrière (généralement aile et patte du même côté, en simultané)
	Gratte le sol	L'animal gratte le sol grâce à ses pattes (comportement qui peut précéder le bain de poussière)
	Bain de poussière	L'animal s'ébroue le ventre contre le sol, picore le substrat, voire se roule dedans
	Repos	L'animal est en position couchée, les yeux ouverts ou fermés ou bien debout, les yeux fermés voire la tête rentrée sous l'aile
ALIMENTATION	Alimentation	L'animal se nourrit ou boit
VOCALISATION	Vocalise	L'animal émet des cris, généralement des cris d'appels dans le contexte de nos tests
PEUR	Se gonfle	L'animal gonfle ses plumes rapidement
	Posture peur	L'animal a les plumes gonflées (notamment vers l'arrière de son corps), son corps est basculé vers l'avant. L'animal peut rester statique ou se déplacer
	Immobilité	L'animal se fige, immobile, pendant plusieurs secondes voire plusieurs minutes
	Évite ou s'éloigne	L'animal est immobile et détourne la tête d'un stimulus ou se déplace lentement / rapidement en contournant ce stimulus
	Saute en série	L'animal effectue une série de petits bonds, les ailes le long du corps
	Halète	L'animal a le bec ouvert et respire rapidement
	S'abaisse	L'animal s'abaisse rapidement puis revient à sa posture initiale
STÉRÉOTYPIE	Pacing	L'animal effectue des allers/retours rapides le long d'une paroi ou effectue des mouvements de tête répétés, horizontaux ou verticaux Ce comportement peut être combiné avec des observations hautes, des sauts ou le passage de la tête de la caille à travers les barreaux

nous avons utilisé une série de tests comportementaux bien connus chez les galliformes (Forkman et al., 2007) et évaluant plusieurs de ses composantes. Chacun des tests comportementaux, a pour objectif d'exposer nos oiseaux à des situations et des challenges, potentiellement rencontrés dans leur environnement, qu'il soit captif ou naturel. Chez la caille japonaise, tous les tests comportementaux sont réalisés individuellement. Chez la perdrix rouge, certains tests sont réalisés collectivement du fait des contraintes d'élevage

3.2.2.1. Immobilité tonique




L'immobilité tonique est un comportement anti-prédateur, se traduisant par un état catatonique dont l'induction et la durée apparaissent positivement corrélées au niveau de peur de l'animal (Jones, 1986). Afin d'induire ce comportement, chaque individu est placé sur le dos dans un support en forme de U, tête penchée vers le sol. L'oiseau est maintenu cinq secondes dans cette position. L'induction est réussie si l'oiseau conserve cette position pendant 10 secondes. Si l'oiseau se relève avant ce délai, une nouvelle induction est initiée, le nombre maximal d'induction étant de cinq. Pour chaque individu, le nombre d'induction et la durée d'immobilité tonique sont relevés. Le même test est utilisé pour la caille japonaise et la perdrix rouge. Toutefois chez des espèces comme le faisan ou la perdrix grise, la durée d'immobilité tonique semble plus longue que chez la caille (Nowaczewski et al., 2012). Nous avons donc considéré une durée maximale d'immobilité standard de 300 secondes pour la caille japonaise et de 480 secondes pour la perdrix rouge.

3.2.2.2. Emergence




Le test d'émergence, mis en place chez la caille, mesure la capacité d'un individu à quitter un environnement sombre et restreint pour rejoindre un environnement inconnu, plus vaste, et lumineux. Il reflète à la fois la réactivité émotionnelle des individus mais également leur réponse à la séparation sociale (Forkman et al., 2007), puisqu'ils sont, lors de ce test, séparés de leurs congénères. Chaque caille est d'abord placée dans une petite boîte de départ (18 x 18 x 18cm) pendant une minute. La latence du premier cri d'appel et le nombre total de cris d'appel émis sont ici relevés. La boîte est ensuite ouverte sur un dispositif plus grand (56 x 60 x 35cm), éclairé par un spot lumineux et présentant des copeaux de bois au sol et une paroi vitrée permettant les observations. Les latences d'émergence de la tête et du corps, positivement corrélées à la réactivité


émotionnelle de l'animal (Mills and Faure, 1986) sont relevées. Si au bout de cinq minutes, la caille n'entre pas dans le dispositif, le test est stoppé et une latence maximale de 300 secondes lui est attribuée. Si la caille entre dans le dispositif, la latence du premier cri d'appel, le nombre de cris d'appel produit et tous les comportements émis sont notés pendant trois minutes (**Tableau 1**).

 Chez la perdrix rouge, nous avons profité des changements d'environnement tels que les passages sous l'auvent ou en volière, pour réaliser nos tests d'émergence. Les trappes donnant accès aux auvents ou aux volières sont ouvertes. Les oiseaux peuvent donc pénétrer dans l'un ou l'autre des milieux librement. Des caméras, placées face ou au-dessus des trappes permettent l'analyse *a posteriori* du test. Sur une période de 20 minutes, les latences d'émergence ainsi que le nombre de perdrix ayant pénétré dans le nouvel environnement sont relevés. Une latence maximale de 1200 secondes est donnée aux oiseaux qui n'ont pas émergé. Ce test est réalisé deux fois : le premier, le jour de l'ouverture des trappes et le second, trois jours plus tard.

3.2.2.3. Bruit soudain


 Ce test, réalisé à la suite du test d'émergence, permet de mesurer la réponse des oiseaux suite à la diffusion d'un bruit soudain. Une fois l'oiseau observé dans le dispositif d'émergence, un bruit blanc est diffusé (65 dB) pendant cinq secondes. La latence du premier cri d'appel, le nombre total de cris d'appels émis ainsi que tous les comportements (**Tableau 1**) produits par l'oiseau sont notés pendant une minute. Les oiseaux qui n'ont pas réalisé le test d'émergence (i.e. oiseaux qui n'ont pas émergé de la boîte de départ) ne passent pas le test du bruit soudain.


3.2.2.4. Openfield

 Le test d'openfield consiste à exposer de manière soudaine et involontaire un individu à un environnement inconnu, ouvert et lumineux. Il implique également la séparation de l'individu d'avec ses congénères. Il permet donc d'évaluer la réactivité émotionnelle de l'oiseau et sa réaction à la séparation sociale (Forkman et al., 2007). Le dispositif utilisé est une arène octogonale (Ø 100cm) entourée de rideaux permettant d'homogénéiser le milieu et d'empêcher la fuite des oiseaux. Un miroir sans tain est présent sur l'un des côtés de l'arène afin de faciliter les observations. Au début du test, chaque individu est déposé, dans l'obscurité, au milieu de l'arène.


La lumière est ensuite allumée et l'oiseau est observé pendant cinq minutes. Tous les comportements produits par l'oiseau sont notés (**Tableau 1**).

3.2.2.5. Réaction à la présence d'un prédateur

 L'objectif ici est de caractériser les comportements des oiseaux en contexte de prédation. Chez la caille japonaise, ce test se déroule dans le même dispositif que le test d'openfield. Les oiseaux sont déposés au centre de l'arène et observés pendant une minute. Un cri de buse est ensuite diffusé (75 dB) pendant 13 secondes grâce à deux haut-parleurs placés de part et d'autre de l'arène. Deux minutes plus tard, le cri de buse est de nouveau diffusé avec, cette fois-ci, le passage, en simultané d'un leurre de rapace, au-dessus de l'arène. La latence des oiseaux à émettre un comportement de peur au cours de la diffusion est noté avec une latence maximum de 13 secondes. Les comportements de peur (i.e. observation haute (OH), fuite (F), immobilité (I)) émis par les oiseaux sont également relevés pendant toute la diffusion et codés selon i) 0 = absence de comportement de peur, ii) 1 = OH, iii) 2 = OH + F ou I, iv) 3 = OH + F + I ; ceci permettant d'obtenir un score d'intensité de réponse.


 La réaction des perdrix à la présence d'un prédateur est testée collectivement grâce à un cri de buse diffusé (90 dB) pendant 31 secondes (i.e. durée de la stimulation auditive). Pour la génération F1, ce test est réalisé en volière. Pour la génération F2, nous avons choisi de tester les oiseaux plus précocement ainsi, les perdrix sont testées une première fois en bâtiment puis une seconde fois en volière. Deux à trois caméras, fixées dans les bâtiments et les volières, permettent l'analyse *a posteriori* de la réaction des oiseaux. La latence des oiseaux à émettre un comportement de peur au cours de la diffusion est noté avec une latence maximum de 31 secondes. Les comportements de peur (i.e. observation haute (OH), fuite (F), immobilité (I)) émis par les oiseaux sont également relevés pendant toute la diffusion et codés selon les mêmes critères que pour notre test chez la caille japonaise.

3.2.2.6. Nouvel objet


 Afin de tester la néophobie de nos cailles face à un nouvel objet, un petit pot en terre cuite est introduit dans leur cage de vie. Pour éviter qu'un individu n'influence son voisin, nous avons

24h auparavant, équipé chaque logette individuelle d'une cloison en carton. Les latences d'approche et/ou d'exploration et tous les comportements orientés vers l'objet (e.g. observation, exploration, évitement) sont relevés pendant six minutes par l'expérimentateur installé à 1.50 m de la batterie. Les autres comportements produits par l'oiseau sont également notés (**Tableau 1**).

3.2.2.7. Nouvel aliment

 Nous avons testé la néophobie alimentaire de nos cailles en leur proposant dans leur mangeoire habituelle des lentilles corail. De nouveau, pour éviter les influences entre voisins, chaque logette individuelle est équipée d'une cloison en carton 24h avant le test. Tous les oiseaux sont mis à jeun 1h30 avant le début du test. Leurs mangeoires, nouvellement remplies, avec de la lentille corail, sont ensuite replacées sur les batteries collectives. Des caméras, placées face aux batteries, nous permettent de relever *a posteriori* la latence d'approche de la mangeoire, la latence à manger et le temps passé par les oiseaux à manger. Les comportements orientés vers l'aliment (observation, exploration sans manger) ainsi que tous les autres comportements émis par les cailles sont également notés et ce pendant six minutes (**Tableau 1**).

3.2.3. Capacités d'apprentissage

 Les capacités d'apprentissages permettent aux individus de mémoriser des informations importantes de leur environnement physique et social (e.g. localisation de sources de nourriture, d'eau, reconnaissance des congénères). Nous avons caractérisé, chez nos oiseaux, plusieurs de ces capacités, grâce à des tests permettant d'évaluer des compétences et des formes de mémoires simples (i.e. conditionnement, mémoire indicée) ou plus complexes (i.e. mémoire spatiale) (Lormant et al., 2021).

Les conditions d'élevage limitant la mise en place de ces protocoles chez la perdrix rouge, nous avons seulement évalué ces capacités d'apprentissage chez la caille japonaise. Au cours de l'expérience « STRESS PRÉNATAL », nous avons utilisé un test d'apprentissage spatial et un test de préférence de place conditionnée. Par la suite, lors de l'expérience « COMPLEXE et VARIABLE », nous nous sommes orientés vers un test d'apprentissage spatial-indicé, celui-ci permettant d'explorer en une seule procédure, l'utilisation de deux formes de mémoire différentes (i.e.

mémoire spatiale vs mémoire indicée) par les oiseaux. Ces tests ont été réalisés successivement sur les femelles puis les mâles.

3.2.3.1. Apprentissage spatial

Ce test, précédemment validé chez la caille japonaise (Lormant et al., 2018, 2020), nous a permis d'évaluer les capacités d'apprentissage spatial de nos oiseaux. Ces capacités mobilisent la mémoire spatiale, une forme de mémoire au contenu mental assez riche, basée sur la formation d'une représentation des informations ou indices spatiaux de l'environnement et impliquant l'hippocampe (Lormant et al., 2018). Le dispositif (**Figure 11**) utilisé est une arène décagonale dans laquelle sont disposés huit pots en terre cuite. Des rideaux blancs entourent le dispositif. Des formes géométriques noires sont disposées sur ces rideaux afin d'aider les oiseaux à s'orienter. Avant de débiter ce test, toutes nos cailles sont habituées aux pots en terre cuite présents dans l'arène et aux vers de farine utilisés, ici, comme récompense. Trois fois par jour, pendant six jours, des vers de farine sont placés dans les pots installés dans les cages de vie de nos oiseaux.

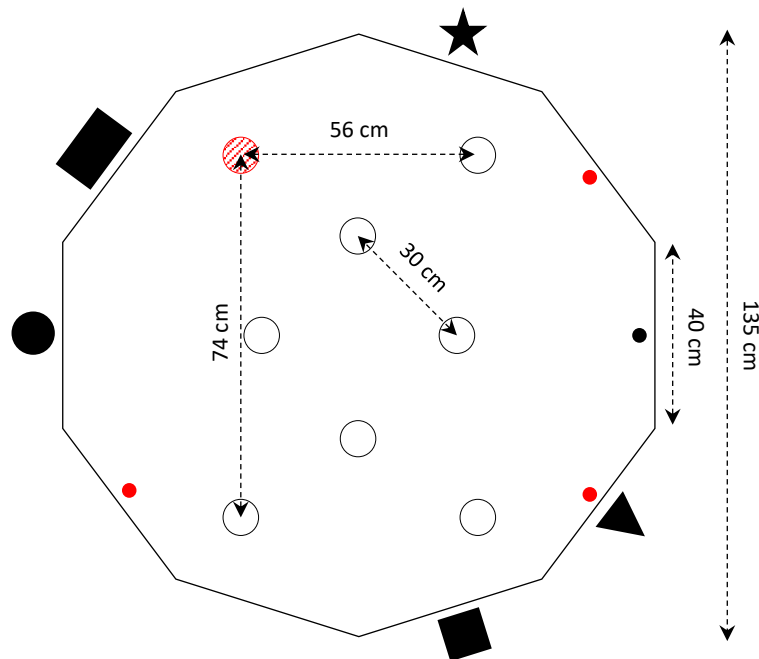


Figure 11 | Représentation schématique du dispositif utilisé dans le test d'apprentissage spatial. Les cercles représentent les pots contenant chacun un ver de farine pendant la phase de familiarisation. Le cercle rouge représente le seul pot (= pot cible) contenant des vers de farine pendant la phase d'apprentissage. Les points rouges correspondent aux trois entrées utilisées lors de la phase d'apprentissage et le point noir correspond à l'entrée utilisée lors du test de rappel. Les formes géométriques noires représentent les indices disposés sur les rideaux de l'arène afin d'aider les oiseaux à s'orienter.

Le test d'apprentissage spatial se compose d'une phase de familiarisation, d'une phase d'apprentissage et d'une phase de test. Pour chacune des phases présentées ci-après, nos oiseaux sont préalablement mis à jeun pendant une heure.

Familiarisation: Une fois par jour, pendant trois jours, les oiseaux sont placés individuellement au centre de l'arène. Un ver de farine est ajouté dans chacun des huit pots, tous opaques et identiques. La session est stoppée une fois les huit pots visités et les huit vers mangés ou après une durée maximale de 10 minutes. La latence de premier pas et le nombre de pots différents visités sont relevés. Les oiseaux qui visitent moins de cinq pots le dernier jour de la phase de familiarisation, n'accèdent pas à la phase suivante.

Apprentissage: Lors de la phase d'apprentissage, seul l'un des pots, toujours situé au même emplacement, est récompensé avec trois à quatre vers de farine. Comme tous les pots présents dans l'arène sont identiques et que les vers de farine ne sont pas visibles, les oiseaux doivent apprendre l'emplacement (mémoire spatiale) du pot cible pour retrouver la récompense. Pour cela, ils sont placés, trois fois par jour, pendant 12 jours consécutifs, dans l'arène, chaque fois à un point d'entrée différent (trois entrées possibles). Chaque session est stoppée une fois les vers mangés ou après une durée maximale de cinq minutes. Si les cailles ne trouvent pas les vers, le pot récompensé est renversé et les vers déposés au sol. Les cailles sont laissées dans l'arène jusqu'à ce que les vers soient mangés. Le nombre de pots visités avant le pot cible (i.e. nombre d'erreurs) est relevé.

Rappel: Le jour suivant la phase d'apprentissage, chaque caille est placée au niveau d'un nouveau point d'entrée et est libre d'explorer l'arène pendant trois minutes. Le pot qui est habituellement récompensé est cette fois-ci vide. Ce test permet de s'assurer que les cailles ont bien appris l'emplacement du pot cible, et qu'elles ne se dirigent pas vers la récompense grâce à la vue ou à l'odeur des vers. Le nombre d'erreurs réalisées par les cailles avant de visiter le pot cible est noté. Que ce soit lors de la phase d'apprentissage ou lors du test de rappel, un nombre d'erreurs maximal de huit est donné si les cailles ne visitent pas le pot cible.

3.2.3.2. Préférence de place conditionnée

Le test de préférence de place conditionnée nous a permis d'évaluer, la capacité de nos oiseaux à former une association simple entre un stimulus environnemental et une récompense alimentaire (Mathur et al., 2011; Tzschentke, 2007). Cette forme de mémoire, impliquant l'amygdale (White and McDonald, 1993), est considérée comme plus simple que la mémoire spatiale. Le dispositif (80

x 32 x 38cm) utilisé lors de ce test (**Figure 12**) est composé de deux compartiments, séparés par une cloison amovible. Les murs de chaque compartiment sont recouverts de bandes verticales ou horizontales, vertes et jaunes. À l'extrémité de chaque compartiment est disposé un pot en terre cuite dans lequel peuvent être déposés des vers de farine.

Le test se divise en trois phases, une phase de familiarisation, une phase d'apprentissage et une phase de rappel. La durée de la phase d'apprentissage étant dépendante de la réponse des animaux lors de la phase de rappel, celle-ci a pu être modulée selon les sexes et les générations. Une heure avant chaque passage, les cailles sont mises à jeun.

Familiarisation: Les cailles sont déposées au milieu du dispositif et libres de l'explorer pendant 10 minutes. Cette phase nous permet de tester la préférence initiale de nos oiseaux pour l'un ou l'autre des côtés. Les oiseaux qui passent plus de temps dans un compartiment sont, lors de la phase d'apprentissage, récompensés dans l'autre compartiment.

Apprentissage: Lors de cette phase, le dispositif est scindé en deux compartiments grâce à la cloison amovible. Pendant trois à cinq jours consécutifs, les cailles sont exposées à deux sessions d'apprentissage par jour. Pour chaque session d'apprentissage, les cailles passent successivement dans les deux compartiments. Elles sont d'abord placées pendant trois minutes dans le premier compartiment dont le pot est récompensé avec trois à quatre vers de farine. Environ deux heures plus tard, elles sont placées pendant trois minutes également dans le second compartiment dont

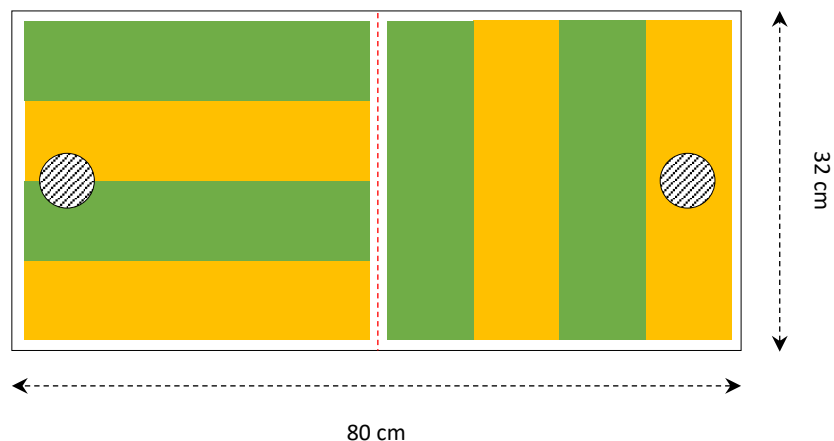


Figure 12 | Représentation schématique de l'appareil utilisé dans le test de préférence de place conditionnée. Le dispositif se compose de deux compartiments séparés par une cloison centrale amovible représentée par la ligne pointillée rouge. Les murs du premier compartiment sont recouverts de bandes horizontales vertes et jaunes tandis que les murs du second sont recouverts de bandes verticales vertes et jaunes. Les cercles représentent les pots pouvant contenir les vers de farine.

le pot n'est pas récompensé. L'ordre de passage dans le compartiment récompensé et non récompensé est randomisé entre nos oiseaux.

Rappel: Le lendemain du dernier jour d'apprentissage, les cailles sont placées dans le dispositif (sans la cloison amovible) et libres d'explorer l'ensemble des compartiments pendant trois minutes. Les pots présents dans chaque compartiment ne sont pas récompensés. La latence et le nombre de visites de chaque pot ainsi que le temps passé dans les deux compartiments sont notés.

3.2.3.3. Apprentissage spatial - indicé

Au regard des résultats obtenus lors des tests d'apprentissage de l'expérience « STRESS PRÉNATAL », nous avons, lors de l'expérience « COMPLEXE et VARIABLE », fait le choix d'utiliser un autre test, le test d'apprentissage spatial-indicé. Ce test permet à la fois de caractériser les capacités d'apprentissage de nos oiseaux mais également les stratégies d'apprentissage qu'ils utilisent pour s'orienter dans leur environnement. Ce test se déroule dans le même dispositif que le test d'apprentissage spatial. Cependant, les oiseaux, pour s'orienter et retrouver la récompense, ont la possibilité, dans ce test, d'utiliser i) des indices distaux et donc leur mémoire spatiale (mémoire hippocampo-dépendante) ou ii) un indice proximal et donc leur mémoire indicée (mémoire plus simple, hippocampo-indépendante) (Ferreira et al., 2020; Lormant et al., 2018, 2021). Avant de débiter ce test, toutes nos cailles sont habituées aux pots en terre cuite présents dans l'arène et aux vers de farine utilisés ici comme récompense. Trois fois par jour pendant six jours, des vers de farine sont placés dans les pots en terre cuite installés directement dans les cages de vie de nos oiseaux.

Le test d'apprentissage spatial-indicé se compose lui aussi d'une phase de familiarisation, d'une phase d'apprentissage et d'une phase de rappel. La durée de chaque phase étant dépendante des comportements des animaux, celle-ci pouvait être modifiée selon les générations et les sexes étudiés. Pour chacune des phases présentées ci-après, nos oiseaux sont mis à jeun, au préalable pendant une heure.

Familiarisation: Une fois par jour, pendant cinq jours, les oiseaux sont placés individuellement au centre de l'arène. Quatre des huit pots présents dans l'arène sont de couleur blanche, les quatre autres sont de couleur noire. Un ver de farine est ajouté dans chacun des huit pots. Une session est stoppée une fois les huit pots visités et les huit vers mangés ou après une durée maximum de 10 minutes. La latence de premier pas, la latence de visite du premier pot et le nombre de pots

différents visités sont relevés. Les oiseaux qui visitent moins de cinq pots le dernier jour de familiarisation n'accèdent pas à la phase suivante.

Apprentissage: Lors de la phase d'apprentissage (**Figure 13**), sept des huit pots sont de couleur blanche. Le huitième, le pot cible, est de couleur noire et toujours localisé au même endroit. Seul ce pot est récompensé avec trois à quatre vers de farine. Pour apprendre à retrouver les vers, les oiseaux peuvent donc utiliser deux formes de mémoire : leur mémoire spatiale, basée sur l'emplacement du pot et/ou leur mémoire « indicée » basée sur la couleur du pot cible. Deux fois par jour, pendant trois à quatre jours, les oiseaux sont placés dans l'arène, chaque fois à un point d'entrée différent (trois entrées possibles). Chaque session est stoppée une fois les vers mangés ou après une durée maximale de cinq minutes. Si les cailles ne trouvent pas les vers, le pot récompensé est renversé et les vers déposés au sol. Les cailles sont laissées dans l'arène jusqu'à ce que les vers soient mangés. Le nombre de pots visités avant le pot cible (i.e. nombre d'erreurs) sont relevés.

Rappel: La phase de rappel se compose de deux tests (**Figure 13**). Les oiseaux sont premièrement soumis au test spatial. Lors de ce test, les huit pots présents dans l'arène sont tous identiques et blancs. Lors du test spatial, le seul moyen pour les cailles de retrouver le pot cible est donc d'utiliser leur mémoire spatiale en s'orientant grâce aux indices distaux présents dans l'arène (formes

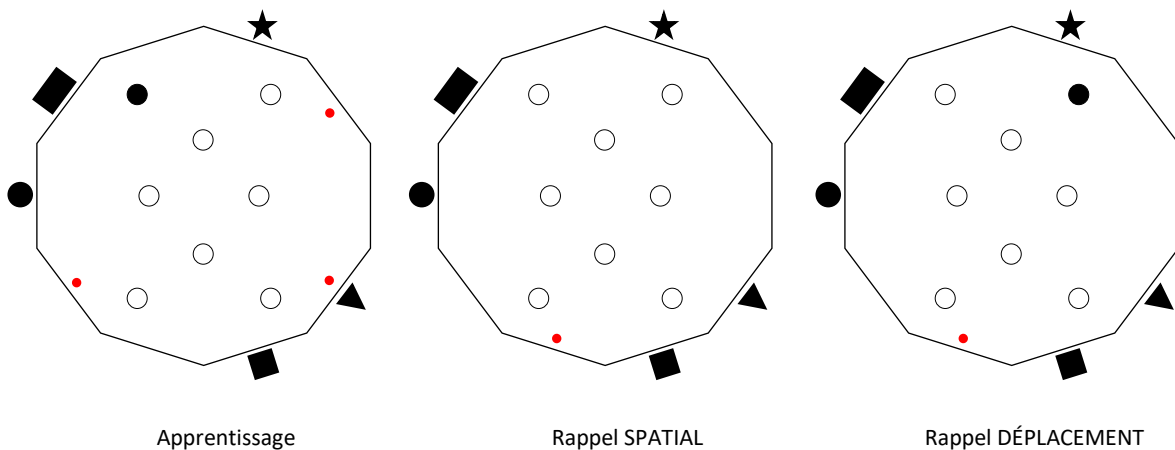


Figure 13 | Représentation schématique du dispositif utilisé lors des différentes phases du test d'apprentissage spatial-indicé. Les cercles représentent les huit pots disposés dans l'arène. Lors de la phase d'apprentissage, le seul pot récompensé avec des vers de farine est le pot noir. Les formes géométriques noires autour du dispositif représentent les indices distaux disposés sur les rideaux de l'arène afin d'aider les oiseaux à s'orienter. Lors du test SPATIAL, les oiseaux peuvent retrouver l'emplacement du pot précédemment récompensé grâce à l'utilisation des indices distaux. Lors du test de DÉPLACEMENT, le pot noir précédemment récompensé est déplacé. Les oiseaux peuvent soit utiliser les indices distaux et visiter le pot blanc positionné à l'emplacement du pot récompensé lors de la phase d'apprentissage (mémoire spatiale), soit utiliser l'indice proximale et donc suivre le pot noir nouvellement positionné (mémoire indicée). Les points rouges correspondent aux points d'entrée des oiseaux.

géométriques disposées sur les rideaux). Les oiseaux sont ensuite soumis à un second test, le test de déplacement, où le pot noir est présent mais à un nouvel emplacement. Lors de ce test, les cailles peuvent utiliser leur mémoire spatiale et visiter l'emplacement du pot cible utilisé pendant l'apprentissage, ou utiliser leur mémoire indiquée, basée sur la couleur du pot en visitant le pot noir nouvellement positionné. Lors des deux tests, la caille est introduite dans l'arène par un nouveau point d'entrée et est libre d'explorer le dispositif pendant une minute. Le pot, habituellement récompensé, est ici vide, afin de s'assurer que les cailles ne s'orientent pas grâce à la vue ou à l'odeur des vers. Le nombre de pots différents visités par les cailles avant les pots d'intérêt (i.e. nombre d'erreurs) sont relevés. Que ce soit lors de la phase d'apprentissage ou lors des tests de rappel, un nombre d'erreurs maximal de huit, est donné si les cailles ne visitent pas le pot cible.

3.3. Suivi en milieu naturel



Les perdrix F1 et F2 mises en nature à l'âge de 13 semaines, dans la Drôme, dans le Gard et en Vendée sont suivies sur le terrain sur une période de six mois afin d'évaluer leur survie. Trois méthodes de suivi ont été mises en œuvre, grâce aux techniciens et stagiaires des fédérations de chasse et de l'IMPCF, aux chasseurs et aux bénévoles sur place : un suivi des prélèvements réalisés à la chasse, des procédures de captures effectuées six mois après la mise en nature des oiseaux sur l'ensemble des territoires et un suivi par télémétrie sur une période de six mois dans le Gard.

3.3.1. Prélèvements à la chasse

En 2019 (génération F1) et 2020 (génération F2), la chasse a ouvert environ trois semaines après la mise en nature des oiseaux. Pendant toute la saison de chasse, les chasseurs nous transmettent à chaque prélèvement réalisé, le numéro de bague de l'oiseau (i.e. GAxxx) ainsi que des informations concernant le lieu et la date de prélèvement.

3.3.2. Captures au printemps n+1

Six mois après la mise en nature des oiseaux, une campagne de capture est organisée afin d'estimer le nombre de perdrix encore présentes sur les territoires. Pour cela, des cages pièges sont installées à proximité des parquets et des volières de pré-lâcher. Un appelant (perdrix mâle adulte)

est placé dans chaque parquet ou volière de pré-lâcher, afin d'attirer les perdrix présentes sur le secteur, grâce à ses vocalisations. De la nourriture est également disposée autour et dans la cage piège afin d'appâter les perdrix. Les cages pièges sont recouvertes de végétation afin de protéger les oiseaux capturés et de limiter au maximum leur stress. Chaque cage piège est visitée deux fois par jour, le matin et l'après-midi. Lors des captures, le numéro de bague de l'oiseau, la date et le lieu de capture sont relevés. L'état général de l'oiseau, son sexe, sa masse et la longueur de son aile pliée sont également relevés.

3.3.3. Suivi par télémétrie


Pendant six mois, un de suivi par télémétrie, réalisé par les techniciens et stagiaires de l'IMPCF est mis en place sur le territoire de Montagnac (Gard). Chaque année, avant leur installation en parquet ou volières de pré-lâcher, 60 perdrix sont équipées avec des émetteurs VHF (**Figure 14** ; F1: BIOTRACK - PIP Ag357, 5g ; F2: HOLOHIL - RI-2B, 6g). La masse corporelle et la longueur de l'aile pliée des oiseaux sont mesurées au moment de la pose de l'émetteur afin d'évaluer la condition physique des perdrix équipées. Chaque émetteur produit un signal électromagnétique individuel qui est ensuite capté grâce à une antenne directionnelle Yagi (BIOTRACK 150 MHz). Ce signal est alors transmis à un récepteur SIKA qui va le filtrer et l'amplifier afin qu'il soit audible pour l'expérimentateur. Chaque perdrix est localisée de façon bi-hebdomadaire par triangulation, la position d'un individu correspondant au point d'intersection entre deux à trois directions données par l'antenne Yagi. Une autre méthode, celle du homing-in (White and Garrott, 2012) est utilisée pour aller au contact des oiseaux. Le signal croissant de l'émetteur est alors suivi jusqu'à l'observation de la perdrix. À chaque localisation, la position des individus est relevée. Si un individu est retrouvé mort, la position de son cadavre, sa date de mort estimée ainsi que les causes de sa mort (collision, maladie, inanition, prédation et type de prédateur) sont notées.




Figure 14 | Perdrix équipée d'un émetteur. La masse d'un collier émetteur représente entre 1% et 1.5% de la masse de la perdrix au moment où elle est équipée. © M. Charrier.


3.4. Analyse des œufs

3.4.1. Taux de fertilisation et d'éclosion

 Une fois les éclosions terminées, le nombre d'œufs éclos est noté et les œufs non éclos sont ouverts afin de déterminer s'ils sont fécondés ou non. En cumulant ces données, avec celles récoltées lors des mirages, nous pouvons ainsi calculer les taux de fécondation ($(\text{Nombre d'œufs fécondés} / \text{Nombre d'œufs mis en incubation}) \times 100$) et d'éclosion ($(\text{Nombre d'œufs éclos} / \text{Nombre d'œufs fécondés}) \times 100$) de nos œufs.

 Pour les perdrix, cela a été possible uniquement pour l'éclosion des poussins F1. Celle des poussins F2 ayant eu lieu pendant la pandémie de Covid-19, notre présence au sein du couvoir était limitée.

3.4.2. Analyse de la composition hormonale des œufs

 L'analyse de la composition hormonale des œufs a été réalisée en collaboration avec Rupert Palme, de l'Université Vétérinaire de Vienne.


Les œufs conservés au congélateur pour l'analyse de leur composition hormonale sont pesés. Les masses respectives de la coquille, du vitellus et de l'albumen sont également mesurées. Lors de la décongélation de l'œuf, le vitellus forme une boule compacte alors que l'albumen se liquéfie rapidement. Une fois la coquille retirée et pesée, le vitellus est donc séparé de l'albumen et pesé à son tour. La masse de l'albumen est quant à elle obtenue en soustrayant, de la masse totale de l'œuf, les masses de la coquille et du vitellus.

Les principaux stéroïdes sexuels présents dans les œufs sont ensuite extraits et dosés. Nous nous sommes particulièrement intéressés à la progestérone et à deux androgènes, l'androsténédione et la testostérone. La répartition des hormones stéroïdiennes variant entre les différentes couches du vitellus (Hackl et al., 2003), ce dernier est entièrement placé dans un tube à essai puis dilué dans de l'eau distillée (10ml d'eau distillée par gramme de vitellus). Les échantillons ainsi obtenus sont passés au vortex afin de les homogénéiser au maximum puis sont placés toute la nuit à 4°C. Le lendemain, après avoir à nouveau passé les tubes à essais au vortex, 1ml de chaque solution est prélevé puis ajouté dans de nouveaux tubes contenant 4ml de méthanol. Les échantillons sont ensuite mis sous agitation pendant 30 minutes puis placés à -20°C, toute la nuit,

pour permettre la précipitation des lipides. Le lendemain, les échantillons sont centrifugés à -10°C pendant 10 minutes (2500 rotations par minutes (rpm)) puis 5 μL du surnageant sont prélevés. Ces derniers prélèvements sont ensuite stockés à -20°C , jusqu'au moment de leur envoi à l'Université Vétérinaire de Vienne, pour la suite de l'analyse. Une fois à Vienne, 10 μL de surnageant sont prélevés, séchés sous azote à 60°C , dissous dans 500 μL de solution tampon, puis à nouveau dissous dans une solution tampon, à raison de 5 μL de solution par microlitre d'extrait. 10 μL de cette nouvelle solution sont utilisés pour les dosages des androgènes. Pour le dosage de la progestérone, une nouvelle dilution est réalisée (10 μL de solution par microlitre d'extrait), avant de prélever 10 μL de la dernière solution obtenue.

Les dosages des hormones stéroïdiennes sont ensuite réalisés grâce à des tests immuno-enzymatiques (EIA). Brièvement, cela consiste à mettre en compétition pour un même anticorps, le composé à doser et un complexe spécifique biotinylé. Un conjugué streptavidine-peroxydase nouvellement ajouté, se fixe au complexe biotinylé et permet après l'ajout d'un substrat chromogène de colorer l'échantillon et d'en quantifier la concentration. Ainsi, plus la coloration prise par l'échantillon est intense, plus la concentration du complexe enzymatique est importante et celle du composé à doser, faible. Une mesure de la densité optique permet finalement de déterminer la concentration du composé à doser grâce à l'utilisation d'une courbe étalon. La description complète des anticorps utilisés et de la méthode de validation de l'EIA employée est détaillée dans les articles suivants (Möstl et al., 2001; Palme and Möstl, 1993; Schwarzenberger et al., 1996). Chacun des dosages est validé grâce au calcul d'un coefficient de variation, la différence de concentration entre les répliques d'un même extrait ne devant pas excéder les 20%.

3.5. Analyse de la corticostérone plasmatique


 Ce travail a été réalisé en collaboration avec Frédéric Angelier et l'équipe du pôle d'Analyse Biologique du Centre d'Études Biologiques de Chizé (C.E.B.C.).

Afin d'analyser les concentrations plasmatiques en corticostérone chez nos oiseaux, deux prélèvements sanguins par caille sont réalisés. Le premier prélèvement permet d'évaluer le taux basal en corticostérone (Angelier et al., 2010). Pour cela, chaque caille est transportée dans une pièce sombre et calme où le prélèvement sanguin est réalisé à partir de la veine alaire (seringue héparinée d'1ml - 25g*5/8 ; 0.5*16mm), en quelques secondes (deux minutes maximum par oiseau afin de limiter les effets du stress aigu de la prise de sang sur les taux de corticostérone). Suite à ce

premier prélèvement, les caillies sont restreintes dans un coin d'une cage similaire à leur cage de vie pendant 15 minutes. Un second prélèvement, suivant le protocole décrit ci-avant, est ensuite réalisé à partir de la seconde veine alaire, afin d'évaluer le taux de corticostérone à la suite d'un stress aigu (Cockrem, 2013; Wingfield et al., 1992). Une fois collectés, les échantillons sanguins sont centrifugés à 4°C pendant 10 minutes (4000 rpm) afin de séparer les globules rouges du plasma (surnageant qui contient les hormones d'intérêt). Les échantillons de plasma, une fois prélevés, sont stockés à -20°C jusqu'à leur envoi pour analyse au C.E.B.C.

Les concentrations plasmatiques de la corticostérone sont mesurées par dosage radioimmunologique (RIA) (Lormée et al., 2003). Après dilution dans un tampon phosphate salin (PBS), 50µL de plasma sont mis en solution dans 3 mL d'éther, afin d'extraire la corticostérone. Cette solution est vortexée, centrifugée à 4°C pendant 5 minutes (2000 rpm) puis placée dans un bain à -30°C pendant 30 minutes. Le surnageant, contenant les hormones d'intérêt, est séparé du culot puis mis à évaporer dans un bain chauffant à 38°C, pendant 1 heure. La corticostérone, toujours présente sous forme solide, est mise en dilution dans du tampon PBS, avant d'être dosée. 100µL de ³H-corticostérone (corticostérone marquée au tritium) et 100 µL de l'échantillon à doser sont mis en compétition, avec 100µL d'un anticorps spécifique (Amersham Pharmacia Biotech-France), à 4°C pendant 12 heures. Une fois l'équilibre de compétition atteint, l'ensemble des complexes antigènes-anticorps est séparé des fractions libres de corticostérone et ³H-corticostérone par adsorption, sur charbon Dextran à 0°C, pendant 10 minutes. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 4°C pendant 15 minutes (4000 rpm). Après centrifugation, les complexes corticostérone-anticorps et ³H-corticostérone-anticorps sont, après l'ajout de scintillant (1mL de scintillant pour 500µL de surnageant), comptés grâce à un compteur de scintillation liquide. Les complexes ³H-corticostérone-anticorps émettent des photons fluorescents, avec une intensité proportionnelle à la quantité de radioactivité émise par le ³H présent. La concentration en corticostérone de l'échantillon, inversement proportionnelle à l'intensité du signal fluorescent, est ensuite obtenue grâce à une courbe d'étalonnage.

3.6. Analyse de marqueurs épigénétiques au sein du cerveau

 Ce travail a été réalisé en collaboration avec l'équipe Comportement, Neurobiologie, Adaptation du Centre INRAE-Val-de-Loire. Les marques épigénétiques pouvant facilement être modulées par les expériences vécues par les individus, nous avons fait le choix d'effectuer ces analyses sur un échantillons d'oiseaux n'ayant pas participé aux tests d'apprentissage.

Pour réaliser les analyses neurobiologiques, les caillies sont anesthésiées via une injection intrapéritonéale de pentobarbital puis perfusées par voie intracardiaque via le ventricule gauche avec 80mL d'une solution de nitrite de sodium à 1% - PBS. Une perfusion de 300mL de paraformaldéhyde à 4%, dilué dans un tampon PBS 0.1 M, contenant 15% (v/v) d'acide picrique saturé est ensuite réalisée. Les cerveaux, une fois prélevés, sont post-fixés toute la nuit dans du paraformaldéhyde. Ils sont ensuite plongés dans une solution de sucrose (cryoprotecteur) à 20% - azide de sodium à 0.1% dans un tampon PBS 0.1M, avant d'être congelés 30 secondes dans un bain d'isopentane à -50°C. Des sections frontales flottantes sont coupées sur un cryostat (NX70, MM France, Brignais, France), à une épaisseur de 30 µm, puis sont stockées dans une solution saline tamponnée au tris (TBS) 0,025M - azide de sodium 0.1%, pH 7,4 (TBSA). Ces sections sont ensuite rincées dans du TBS, pendant cinq minutes, puis placées sous agitation douce (30 minutes à température ambiante) dans une solution de borohydrure de sodium à 0.1% - TBS. Après quatre bains de TBS, les sections sont pré-incubées (une heure à température ambiante) dans une solution de TBSA-T (0.3% de Triton) - 1% albumine de sérum bovin (BSA), afin d'augmenter la perméabilité de la membrane plasmique. Les sections sont ensuite incubées (48 heures à 4°C) dans une solution de TBSTA - 1% BSA avec un anticorps primaire anti-H3K27me3 de lapin 1:500 (Millipore, Molsheim, France) ou un anticorps primaire anti-H3K4me2 de lapin 1:1000 (Abcam, Cambridge, UK). Les sections sont alors rincées deux fois, pendant cinq minutes, dans une solution de TBS – 0.3% Triton (TBS-T) puis à nouveau rincées deux fois, pendant cinq minutes, dans du TBS. Les sections sont incubées (deux heures à température ambiante) dans une solution de TBS - 0,3% saponine – 0.1% BSA avec un anticorps secondaire 1:2000 (Donkey anti-rabbit-488; Jackson Immunoresearch, Peterborough, UK). Après quatre rinçages dans du TBS, les sections sont plongées dans un colorant Hoechst (coloration nucléaire, Hoechst 33258, 2µg/mL dans de l'eau distillée, Invitrogen, Cergy Pontoise, France), pendant deux minutes puis sont à nouveau rincées quatre fois, dans du TBS. Les sections sont finalement montées sur des lames de verre puis, une fois séchées, sont recouvertes de Fluoromount-G (Southern Biotech, Birmingham, USA). Les lames sont conservées à 4°C dans l'obscurité jusqu'au moment des analyses.

Le nombre de cellules exprimant H3K27me3 ou H3K4me2 est compté à l'aide d'un microscope à fluorescence (Axioskope 2, Zeiss, Allemagne; x20), associé à un logiciel d'analyse de comptage cellulaire (analyse d'image informatisée, Mercator, Explora Nova, La Rochelle, France). Les comptages sont réalisés dans l'hippocampe, dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus et dans les sous-noyaux de l'arcopallium/amygdale que sont l'amygdaloïde intermédiaire, médian, dorsal, postérieur et le noyau taeniae. Chaque région est identifiée via l'atlas stéréotaxique du

cerveau du poussin (Kuenzel and Masson, 1988; Reiner et al., 2004) et l'atlas du cerveau de la caille (Baylé et al., 1974). La densité de cellules exprimant H3K27me3 et H3K4me2 est moyennée (nombre total de cellules positives divisé par la surface totale de la région comptée) pour obtenir une seule valeur par région cérébrale.

Tableau 2 | Tableau récapitulatif des tests et méthodes utilisés pour caractériser les individus des générations F0, F1, F2 et F3 lors de nos expériences chez la caille japonaise et la perdrix rouge. En orange, les analyses présentées dans ce manuscrit ; en rose, les tests réalisés mais non présentés dans ce manuscrit ; en vert, les prélèvements réalisés mais en attente d'analyse du fait de la pandémie de Covid-19.

	CAILLE JAPONAISE								PERDRIX ROUGE									
	« STRESS PRÉNATAL »				« COMPLEXE et VARIABLE »				« STRESS PRÉNATAL »				« COMPLEXE et VARIABLE »					
	F0	F1	F2	F3	F0	F1	F2	F3	F0	F1	F2	F3	F0	F1	F2	F3		
	♀	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
SUIVI MORPHO-PHYSIOLOGIQUE	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
RÉACTIVITÉ ÉMOTIONNELLE																		
Immobilité tonique	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
Emergence	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓			✓	✓	
Bruit Soudain									✓	✓	✓	✓	✓					
Openfield									✓	✓	✓	✓						
Réaction à un prédateur									✓	✓	✓	✓				✓	✓	
Nouvel Objet		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
Nouvel Aliment		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
CAPACITÉS COGNITIVES																		
Apprentissage Spatial		✓	✓	✓			✓	✓										
Apprentissage Spatial-Indicé								✓	✓	✓	✓	✓	✓					
Préférence de Place Conditionnée		✓	✓	✓	✓	✓	✓					✓	✓					
HORMONES VITELLINES	✓	✓		✓				DK			DK		DK		DK		DK	
CORTICOSTÉRONE PLASMATIQUE		✓	✓	✓	✓	✓	✓	DK	DK	DK	DK	DK	DK	DK		DK	DK	
MARQUEURS ÉPIGÉNÉTIQUES		✓				✓		DK	DK	DK	DK	DK	DK					
SUIVI EN MILIEU NATUREL																		
Chasse																✓	✓	
Captures																✓	✓	
Télémetrie																✓	✓	

Chapitre III

Stress

Synthèse du chapitre

Problématique

Comme détaillé dans l'introduction, le stress maternel prénatal a chez de nombreuses espèces, des conséquences majeures sur le phénotype des individus. Le stress chronique notamment, expérimenté par la femelle gestante ou pondeuse, est considéré comme un facteur capable de façonner le développement morpho-physiologique, comportemental et cognitif des jeunes, ce qui influencerait *in fine* leurs capacités d'adaptation. Plusieurs études ont récemment montré que les effets maternels prénatals n'influençaient pas seulement la première génération de descendants, mais qu'ils pouvaient également moduler le phénotype des générations suivantes (i.e. effets multi- et trans-générationnels). Si les mécanismes sous tendant ces effets sont aujourd'hui encore largement indéterminés, plusieurs processus sont cependant envisagés. Cela concerne, chez les oiseaux, les hormones d'origine maternelle présentes *in ovo* ou encore certains mécanismes épigénétiques. Dans ce chapitre, notre objectif est donc i) de mettre en évidence les effets à long terme d'un stress maternel prénatal sur l'expression de comportements essentiels à l'adaptation des descendants et ii) d'identifier les mécanismes potentiellement impliqués dans ces effets.

Méthode et résultats

Afin de répondre à cet objectif, nous avons exposé des femelles pondeuses F0 de cailles japonaises à une procédure de stress chronique qui brièvement, consistait pendant 24 jours en l'application quotidienne, imprévisible et incontrôlable, de quatre à cinq stressseurs différents. Après avoir fait se reproduire ces femelles avec des mâles témoins, nous avons caractérisé leurs descendant :

① Dans un premier temps (**Article I**), nous avons évalué la réactivité émotionnelle des descendants de la génération F1 puis leurs capacités d'apprentissage via un test d'apprentissage spatial et un test de préférence de place conditionnée (**CHAPITRE II**). Nous avons également mesuré les niveaux de corticostérone plasmatique des jeunes F1, au niveau basal et suite à un stress aigu (**CHAPITRE II**). Nous avons ensuite analysé l'expression de deux marques épigénétiques connues pour être affectées par le stress, la triméthylation d'H3K27 (H3K27me3, marqueur de transcription silencieuse) et la diméthylation d'H3K4 (H3K4me2, marqueur de transcription active). Nous avons plus précisément évalué l'expression de ces marqueurs dans des structures cérébrales impliquées

dans les comportements de peur et les capacités d'apprentissage chez l'oiseau : les sous-noyaux de l'arcopallium / amygdale, le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus et l'hippocampe (**CHAPITRE II**). Enfin, nous avons analysé la composition en stéroïdes sexuels des œufs produits par les femelles F0 (**CHAPITRE II**), celle-ci étant supposément affectée par l'expérience stressante des femelles, et étant l'un des mécanismes potentiellement impliqués dans les effets maternels prénatals. Cette première étude montre ainsi que :

- Les jeunes F1 stressés prénatalement expriment une plus forte réactivité émotionnelle mais des capacités d'apprentissage similaires aux jeunes F1 issus de femelles non stressées.
- Les concentrations en corticostérone plasmatique sont similaires entre les jeunes F1 issus de femelles stressées et non stressées, que ce soit au niveau basal ou après un stress aigu. *Ces résultats ne seront pas présentés dans l'article ci-après.*
- Les jeunes F1 stressés présentent en comparaison aux jeunes F1 issus de femelles non stressées, une surexpression d'H3K27me3 dans l'hippocampe, le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus et le noyau dorsal de l'amygdale. En revanche, aucune différence d'expression d'H3K4me2 n'est observée au sein des régions cérébrales étudiées.
- Enfin, les effets observés chez les jeunes F1 pourraient être médiés par la composition hormonale des œufs des femelles F0. En effet, les œufs des femelles F0 stressées présentent des concentrations en testostérone inférieures à celles des œufs des femelles F0 non stressées. Ils sont également proportionnellement plus pauvres en androgènes et plus riches en progestérone.

② Dans un second temps (**Article II**), nous avons souhaité évaluer les effets du stress maternel prénatal à travers les générations. Nous avons, pour cela, évalué la réactivité émotionnelle des descendants des générations F2 (effets mutli-générationnels) et F3 (effets trans-générationnels), et avons caractérisé leurs capacités d'apprentissage grâce à un test de préférence de place conditionnée. Nous avons à nouveau mesuré les concentrations en corticostérone plasmatique des jeunes, au niveau basal et suite à un stress aigu. Nous avons également évalué la composition hormonale des œufs des femelles F1 et F2 ainsi que l'expression, chez la génération F3, d'H3K27me3 et H3K4me2, dans les structures cérébrales précédemment mentionnées. Cette seconde étude montre ainsi que :

- Les jeunes F2 stressés, présentent une réactivité émotionnelle et plus spécifiquement, une néophobie plus élevée que les jeunes F2 non stressés. Cet effet s'observe également chez les jeunes F3 stressés, mais seulement chez les femelles.
- Les concentrations en corticostérone plasmatique sont similaires entre les jeunes F2 et F3 issus de femelles stressées et non stressées, que ce soit au niveau basal ou après un stress aigu. *Ces résultats ne seront pas présentés dans l'article ci-après.*
- L'expression d'H3K27me3 et d'H3K4me2 est similaire entre les jeunes F3 stressés et non stressés. Toutefois, H3K4me2 tend à être sous-exprimé dans le noyau taeniae de l'amygdale des jeunes F3 stressés.
- Les œufs des femelles F1 stressées contiennent moins d'albumen et sont plus pauvres en androgènes que les œufs des femelles F1 non stressées. Les œufs des femelles F2 stressées contiennent quant à eux plus de vitellus et sont plus riches en androgènes que les œufs des femelles F2 stressées.

Conclusion

Dans ce premier chapitre, nous avons montré que le stress maternel prénatal influence la réactivité émotionnelle des jeunes de première génération. Ces effets apparaissent multi- et trans-générationnels puisque les jeunes F2 et les jeunes femelles F3 issus des femelles F0 stressées, présentent, sans avoir eux-mêmes été exposés au stress, des comportements néophobes plus élevés que leurs congénères issus de femelles F0 non stressées. Les marques épigénétiques étudiées, pourraient en partie, être à l'origine des effets inter-générationnels observés. Si aucune relation causale n'a été établie, nous avons montré, chez la génération F1, une surexpression d'H3K27me3 dans des structures cérébrales impliquées dans le contrôle des réponses émotionnelles. Ce résultat ne se retrouvant pas chez la génération F3, H3K27me3 et H3K4me2 pourraient ne pas être impliqués dans les effets trans-générationnels observés. Les hormones maternelles présentes *in ovo* pourraient quant à elle médier les effets du stress maternel à travers les générations puisque leurs concentrations diffèrent entre les lots stressés et non stressés en F0 mais également en F1 et en F2.

Article I

PRENATAL MATERNAL STRESS IS ASSOCIATED WITH BEHAVIOURAL AND EPIGENETIC CHANGES IN JAPANESE QUAIL

Marion Charrier ^{1,2,3}, Sophie Lumineau ¹, Marion Georgelin ², Maryse Meurisse ², Rupert Palme ⁴, Frédéric Angelier ⁵, Fabien Cornilleau ², Paul Constantin ², Vincent Coustham ^{6,7}, Céline Nicolle ¹, Aline Bertin ², Anne-Sophie Darmailacq ⁸, Ludovic Dickel ⁸, Daniel Guémené ^{3,6}, Ludovic Calandreau ^{2,†}, Cécilia Houdelier ^{1,†}

¹ Univ Rennes, CNRS, Normandie Univ, EthoS (Éthologie animale et humaine) - UMR 6552, Rennes, France

² CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, 37380, Nouzilly, France

³ SYSAAF, Centre INRAE Val de Loire, 37380 Nouzilly, France

⁴ Department of Biomedical Sciences, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria

⁵ Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, CNRS-ULR, UMR 7372, 79360 Villiers en Bois, France

⁶ INRAE, Université de Tours, BOA, 37380, Nouzilly, France

⁷ Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, INRAE, NUMEA, 64310, Saint-Pée-sur-Nivelle, France

⁸ Normandie University, UNICAEN, University of Rennes, CNRS, EthoS (Éthologie animale et humaine) - UMR 6552, F-14000 Caen, France

† Co-last authorship.

Abstract. Prenatal maternal stress (PMS) influences many facets of offspring's phenotype including morphology, behaviour and cognitive abilities. Recent research suggested that PMS also induced epigenetic modifications. In the present study, we analysed, in the Japanese quail, the effects of PMS on the emotional reactivity and cognitive abilities of the F1 offspring. We also investigated in the hippocampus, the paraventricular hypothalamic nucleus and subnuclei of the arcopallium/amygdala the level of two histone post-translational modifications, H3K4me2 and H3K27me3, known to be impacted by stress. We found that PMS does not affect F1 quail's learning abilities but increases their emotional reactivity. Moreover, we demonstrated that PMS induced an increased density of H3K27me3 positive cells, in the hippocampus, paraventricular hypothalamic nucleus and dorsal nucleus of the amygdala, but not variations of H3K4me2. As these brain regions are involved in the control of vertebrates' emotional responses, the effect of PMS on the epigenetic mark H3K27me3 could possibly be a mechanism involved in the behavioural effects we observed in F1 quail.

Keywords. Prenatal maternal stress, histone post-translational marks, emotional reactivity, learning abilities, precocial bird

Article soumis dans Psychoneuroendocrinology

Introduction

In many species including mammals (Weinstock, 2008), birds (Henriksen et al., 2011) as well as fish (Colson et al., 2019), lizards (Ensminger et al., 2018) and invertebrates (O'Brien et al., 2017), maternal stress during pregnancy or egg formation (i.e. prenatal maternal stress hereafter PMS), affects the development, adaptation and survival of the offspring by its long-lasting influence on their behaviour and cognitive abilities. Pioneering studies indicated that PMS can also modulate gene expression through epigenetic modifications (Mychasiuk et al., 2011; Nätt et al., 2009). Epigenetic modifications correspond to the molecular processes involved in the regulation of gene expression without alteration of DNA sequence. It includes DNA methylation, noncoding RNAs as well as histone post-translational modification. Severe PMS induces a dramatic decrease of DNA methylation in rodents' hippocampus and frontal cortex and changes of hippocampal levels of histone H3 acetylation and DNA methyltransferase 1 (Benoit et al., 2015; Mychasiuk et al., 2011). Similarly, hundreds of genes were expressed differently in the hypothalamus (especially) of zebra finches from testosterone-injected eggs (mimicking PMS) (Bentz et al., 2021). Recently, authors suggested that influences of PMS on epigenetic marks could be implicated in offspring behavioural changes including more hypotonia and lethargy (Conradt et al., 2013), modulations of locomotor activity (Mychasiuk et al., 2011), greater fearfulness (Ostlund et al., 2016), poorer spatial learning abilities (Benoit et al., 2015) or different foraging strategies and more aggressive behaviour (Bentz et al., 2021; Nätt et al., 2009). Birds, especially precocial birds are ideal animal models to study and understand these phenomena. Precocial birds' offspring's first stages of development occur *in ovo*, out of the female, and the young can survive without a mother's presence after hatching. This makes peri- and postnatal environments easier to control in birds compared to mammals. In the current study, we thus investigated the influence of a prenatal maternal stress on Japanese quail's (*Coturnix coturnix japonica*) F1 offspring's behavioural phenotype and brain epigenetic marks. Prenatally stressed chicks usually present a stunted growth related to modulation of the yolk composition of the eggs from which they hatched (Guibert et al., 2010). In order to ensure the effectiveness of our stress procedure we first analysed the egg production and hormonal content of both F0 S and NS quail and followed the development of F1 chicks. Second, we assessed F1 offspring's emotional reactivity (i.e. the predisposition of an individual to perceive and react to potentially stressful event (Boissy, 1995)) and evaluated their learning capacities. Finally, we assessed, by immunohistochemistry, the impact of PMS on two histone marks, H3K27me3 and H3K4me2 involved in silent and active chromatin, respectively (Kouzarides, 2007). We focused on these marks because, in rodents, acute and chronic stress leads to dynamic changes in histone H3

methylation (Hunter et al., 2009). We evaluated the levels of H3K27me3 and H3K4me2 in the paraventricular hypothalamic nucleus, the different subnuclei of the amygdala as well as in the hippocampus of F1 offspring because these brain regions have important roles in the control of emotional responses and learning and memory processes (Lormant et al., 2020a; Phillips, 1964; Saint-Dizier et al., 2009), both traits we evaluated in the F1 offspring. We hypothesised that PMS would influence the emotional reactivity and the learning abilities of the F1 offspring. Given the impact of PMS on epigenetic marks, we also supposed that it would modify the levels of H3K27me3 and H3K4me2 in the brain structures studied.

Methods

Parental generation

Housing and chronic stress procedure

This experimentation took place in the facilities of the EthoS laboratory (Rennes, France). Thirty-two 5-month old F0 females Japanese quail (from the commercial farm, Les Cailles de Chanteloup, France) were placed individually in battery cages (35 x 24.5 x 18 cm) in two similar rooms according to their group ($18 \pm 1^\circ\text{C}$, 12h:12h light-dark cycle). These subjects were randomly allotted to one of two groups: 16 in the non-stressed group (NS) and 16 in the stressed group (S). The chronic stress procedure (CSP) applied to S F0 females has been described previously and validated for juvenile quail (Calandreau et al., 2011; Laurence et al., 2012). Briefly, S F0 females were exposed to four or five stressors a day for 24 days. Types and numbers of stressors varied randomly from day to day and could occur at anytime during the light or the dark phase. Stressors included broadcasting sudden noises or predator calls, water and air sprays, restraint, food restrictions, social instability or ambulation on a cart. See the supplementary information (SI) with **Table S1** for further details.

Mating

During the CSP, S and NS F0 quail were mated with control males (N = 16). These males were raised under the same conditions as the NS F0 females and were not exposed to the CSP. Two sexually mature males were always paired with the same four F0 females (two S, two NS) alternately at each mating session.

Egg incubation and hormonal assays

Laid fertilised eggs were collected during a 16 days period, starting eight days after the beginning of the CSP to ensure that PMS had had an effect (e.g. yolk formation occurs in seven days in quail). Eggs ($N_{NS} = 188$, $N_S = 182$) were identified individually and stored at $16 \pm 1^\circ\text{C}$ until incubation (incubator: Brinsea Ova-Easy Advance 380). The first 14 days of incubation, eggs were maintained at 37.7°C , with a relative humidity of 45%, while automatically rotated 45° , every 30 minutes. From day 15 to day 17, humidity was increased to 70% and rotation was stopped to favour hatching. Half way through the CSP, one egg was collected per female for steroid analyses (**Figure 1**). Eggs and their different component were weighted and levels of yolk testosterone, androstenedione and progesterone were evaluated at the University of Veterinary Medicine of Vienna, using the enzyme immunoassays previously described in (Möstl et al., 2001) and (Hackl et al., 2003).

Offspring*Housing and development*

At hatching (similar fertilisation rates and hatching success for both groups, SI, **Table S2**) F1 chicks were identified individually by numbered and coloured leg rings according to their prenatal treatment.

Until post-hatching day (phd) 30, F1 chicks were housed in groups of eight. Thus, 10 groups of F1 NS chicks ($N_{NS} = 80$) and 10 groups of F1 S chicks ($N_S = 80$) were formed and placed in collective cages (100 x 70 x 62 cm) equipped each with one heater ($38 \pm 1^\circ\text{C}$, removed on phd 15). On phd 30, the sex of the chicks was determined by plumage (similar sex-ratio; $N_{NS-\text{♀}} = 41$, $N_{NS-\text{♂}} = 39$, $N_{S-\text{♀}} = 32$, $N_{S-\text{♂}} = 48$; Chi-squared test, $\chi^2 = 2.040$, $p = 0.153$). Then, 32 birds per treatment and per sex were randomly selected from each group and family. They were wing banded and reallocated to collective batteries. Males and females from both groups were placed in different rooms ($18 \pm 1^\circ\text{C}$, 12h:12h light-dark cycle).

From hatching to phd 35, F1 chicks were weighted individually each week. Their sexual development was assessed once a week from phd 15 to phd 35 by measuring the length of their cloacal vent (**Figure 1**).

Emotional reactivity

Classical ethological tests devised for poultry were used to assess several dimensions of the emotional reactivity (Mignon-Grasteau et al., 2003) of F1 chicks: an emergence test and a novel object test assessing sociality and fearfulness expressed by quail in the presence of a novel environment or a novel object (**Figure 1**). Each test took place between 08-12h and 13-18h.

Emergence test (phd 10-12; N_{NS} = 80, N_S = 80): Subjects were placed individually in a dark starting box (18 x 18 x 18 cm) which was opened after one minute. To evaluate the reactivity of F1 quail to social separation, the experimenter recorded latency of emission of their first rally call and number of rally calls they produced. The emission of rally call is considered to be positively correlated with the motivation to join conspecifics (Formanek et al., 2008). After the door had been opened, F1 quail were allowed five minutes to leave the starting box and go into a novel illuminated cage (60 x 56 x 35 cm). The experimenter, not visible for the quail, recorded latency of emergence of the quail's head which is positively correlated with its fear level (Jones, 1996).

Novel object test (phd 31; N_{NS} = 64, N_S = 64): Each individual home cage was equipped with an opaque partition (to prevent neighbours from seeing the novel object before being tested). The novel object was an unfamiliar terracotta cup (6 x 7 cm), which was placed at the entrance of the cage. During a six-minute period, the experimenter, placed 1.50 meter from the test battery, noted occurrences of fear reactions of F1 quail in the presence of this object (fear postures, alertness, jumping, avoiding, immobility, pacing).

Cognitive abilities

Two procedures were used to evaluate learning abilities of F1 S and NS quail: a spatial learning test and a conditioned place preference (CPP) test (**Figure 1**). These procedures involve different learning abilities and brain regions that can be affected by stress (Sandi and Pinelo-Nava, 2007). As the learning procedure is time consuming and tedious (many different sessions required for each subject), we focused on a sample of F1 females quail randomly selected in each family (N_{NS} = 16, N_S = 16). For both the spatial learning and the CPP tests, testing took place between 08-12 h and 13-20h.

Spatial learning test (phd 32-54): The spatial learning test (Lormant et al., 2020b), enabled us to assess the spatial skills and memory of F1 S and NS females quail, two traits that are functionally

linked to the hippocampus (Lormant et al., 2020a). Briefly, this test took place in a decagonal arena surrounded by curtains to prevent bird's escape. Black visual cues (i.e. different geometric forms) were placed on the curtain to allow bird's orientation. Eight identical cups were placed in the arena (SI, **Figure S1**). Before the spatial learning test, bird were familiarise with the cups and mealworms (*Tenebrio molitor* used here as a reward). After the novel object test, cups were let in quail's home cage. Two mealworms were then deposited in the cups, for seven days, three times per day.

The spatial learning test included three phases. The first one was a *familiarisation* phase with all the cups baited with mealworms. A session ended once all the worms had been eaten or after 10 minutes. During each session, we recorded the first step latency and numbers of different cups visited. After three familiarisation sessions, only F1 quail that had visited at least five different cups were tested in the next phase. The second phase was a *training* phase in which only one cup, always in the same position, was baited with mealworms (reward-paired cup). F1 quail were given three training sessions per day for 12 consecutive days. Training sessions ended when quail had eaten mealworms or after five minutes. For each session, the numbers of different cups visited before the reward cup (i.e. number of errors) were recorded. The third phase occurred on the day following the last spatial training session when F1 quail were given a *probe test*. Here, the "usual" reward cup was empty to ensure that quail did learn the location of the target cup and did not find it by smelling or seeing food. During the test, the numbers of errors made by quail before finding the reward cup were recorded. During both the training phase and the probe test a maximum score of eight was given for the number of errors if the quail did not find the reward cup.

CPP test (phd 61-68): This task allows the evaluation of a simple form of motivational memory, the ability to form an association between an environmental stimuli and a food reward (mealworms) (White and Mcdonald, 1993). The apparatus consisted of a wooden box (80 x 32 x 38 cm) with two compartments (40 x 32 x 38 cm) covered with different patterns (i.e. vertical vs. horizontal green and yellow bands) and separated by a removable wall. Identical cups were placed in each compartments (SI, **Figure S2**).

First, F1 quail were left to familiarise with the apparatus for 10 minutes and then trained during two sessions per day for five consecutive days. F1 quail were exposed to the two compartments during each training session. They were placed during three minutes in the first compartment and two hours later, in the other compartment. One of the compartments had its cup filled with mealworms (reward-paired compartment) while the other compartment had an empty cup (reward unpaired-compartment). The day following this training phase, F1 quail were submitted to a probe

test. For three minutes, they were allowed to explore freely both compartments where both cups were present but both without mealworms. Latency to visit cups and time spent in each compartment were recorded.

H3K27me3 and H3K4me2 immunochemistry

To evaluate the influence of PMS on brain epigenetic marks, we assessed by immunohistochemistry the density of H3K27me3 and H3K4me2 (**Figure 1**) in key brain structures for emotional reactivity, learning and memory abilities (Lormant et al., 2020a; Phillips, 1964; Saint-Dizier et al., 2009). In order to minimise the number of birds collected, we focused on a sample of F1 females (phd 75; $N_{NS} = 9$, $N_S = 7$) selected within the different families. All these females had passed the emotional reactivity tests but their learning abilities were not assessed. Nine NS and seven S F1 females were lethally anaesthetised by intraperitoneal injection of pentobarbital, their brains were removed and frozen until immunohistochemistry. Once the immunochemistry procedure was done, the number of H3K27me3 or H3K4me2 positive cells was counted in the paraventricular hypothalamic nucleus (PVN), the hippocampus (Hp) and the amygdala (nucleus taeniae (TnA), as well as intermediate (IA), medial (MA), dorsal (DA), and posterior amygdaloid (PoA)). Densities of H3K27me3 or H3K4me2 positive cells were averaged (total number of positive cells divided by the total area of the counted region) to obtain a single value per brain region. See the SI for further details.

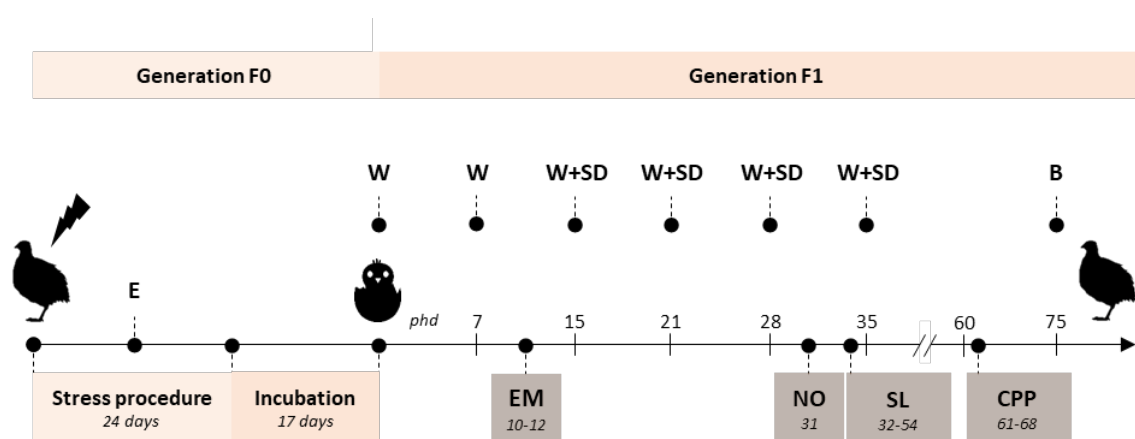


Figure 1 | Schedule of the experimentation. E = collection of one egg per F0 female for hormonal analysis; phd = post-hatching day; W = weighing; SD = measuring sexual development; EM = emergence test; NO = novel object test; SL = spatial learning test; CPP = conditioned-place preference test and B = brain collection from F1 female for H3K27me3 and H3K4me2 immunochemistry.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using the software R v.3.6.2 (R Core Team, 2019). Model assumptions were checked by i) visual inspection of residual and fitted value plots (package RVAideMemoire (Hervé, 2021)) and ii) evaluation of overdispersion if necessary (package AER (Kleiber and Zeileis, 2020)). When data or residuals did not respect the conditions of application of the model, non-parametric tests were used or data were transformed with the log (+1) or the square root function.

Morpho-physiological data were square root-transformed and analysed using a linear mixed model (LMM). The fixed factors included were stress effect (NS or S), sex, age and their interactions. Quail's identities were added as a random factor.

Due to a relatively small sample size, all data related to the analysis of F0 eggs and the immunohistochemistry of H3K27me3 and H3K4me2 were analysed using a Fisher-Pitman permutation test with the stress effect as factor.

For the analysis of behavioural data, latencies of head emergence were log+1-transformed and analysed using a linear model (LM). Latencies of rally call in the emergence test were processed with a generalised linear model (GLM) with gamma error structure. The numbers of rally calls in the emergence test and the numbers of fear behaviours recorded during the novel object test were analysed using a GLM with a quasi-poisson error structure. For all analyses of emotional reactivity data, stress effect, sex and their interactions were used as fixed factors.

For the spatial learning test, latencies of the first step during the familiarisation phase were first log+1 transformed and then analysed with a LMM and numbers of visits to the cups visited were analysed with a generalised linear mixed model (GLMM) with a poisson structure error and a square root link. Numbers of errors before finding the reward-paired cup during the training phase (means of the three sessions per day) were log+1 transformed and analysed using a LMM. For both the familiarisation and training phases, stress effect, day and their interactions were used as fixed factor. Quail's identity was added as a random factor. Due to the small number of individuals tested in the probe test, data were analysed using a Fisher-Pitman permutation test with treatment effect as a factor. For the familiarisation phase, two F1 S and one F1 NS quail were removed from the analysis because they never visited a cup. During the last six days of training, one S and two F1 NS quail did not reach the training threshold of at least 70% visits to the reward-paired cup (means of the three sessions per day) so they were removed from the training phase (in addition to the

subjects that did not meet the threshold of five cups) and the probe test analysis. Data for one F1 S quail was also removed from the analysis for the probe test because of technical problems. The numbers of quail included for the spatial learning test analyses were: familiarisation: $N_{NS} = 15$, $N_S = 14$; training: $N_{NS} = 10$, $N_S = 10$ and probe test: $N_{NS} = 10$, $N_S = 9$. For the CPP test, the latencies to reach both cups were analysed using a GLMM with a gamma error structure. Time spent by quail in each compartment of the arena were analysed using a LMM. Stress effect, compartment and their interactions were used as fixed factors. Quail's identity was added as a random factor.

For LM(M) and GLM(M), all statistical analyses were conducted with the lme4 (Bates et al., 2015), nlme (Pinheiro et al., 2020) and car packages (Fox and Weisberg, 2019). Fisher-Pitman permutation tests were performed using the coin package (Hothorn et al., 2006). When interactions were significant, all analyses were followed by multiple comparisons (package emmeans (Lenth et al., 2020)) with a Tukey correction if necessary. Results of sex effect will be presented only if there was an interaction with stress effect.

Results and discussion

Validation of the PMS procedure

In order to ensure the effectiveness of our stress procedure we analysed the egg production and hormonal content of F0 quail and followed the development of F1 chicks. We could not evidence any significant differences between our groups concerning the numbers of eggs laid or the mass of different egg components (SI, **Table S2**). However, as expected our chronic stress procedure induced a modulation of the yolk hormonal content. Testosterone concentrations were lower in F0 S eggs than in F0 NS eggs (mean \pm SEM, NS: 97.0 ng/yolk \pm 8.2, S: 71.0 ng/yolk \pm 7.9; Fisher-Pitman permutation, $Z = 2.139$, $p = 0.027$). F0 S eggs were also proportionally poorer in androgens (mean \pm SEM, NS: 12.1% \pm 2.4, S: 6.8% \pm 0.5; Fisher-Pitman permutation, $Z = 2.059$, $p = 0.006$) and richer in progesterone (mean \pm SEM, NS: 87.9% \pm 2.4, S: 93.2% \pm 0.5; Fisher-Pitman permutation, $Z = -2.059$, $p = 0.005$). Okuliarová and colleagues reported similar results (Okuliarová et al., 2010). As previously reported (Gu et al., 2020; Guibert et al., 2010), PMS influenced growth of F1 chicks (LMM, effect of stress x age: $X^2 = 21.096$, $p = 7.769e-4$; SI, **Table S3**). On phd 7, F1 S chicks' growth was stunted compared to that of F1 NS chicks ($p = 0.033$). PMS also tended to delay F1 chick's sexual development (LMM, effect of stress x age: $X^2 = 7.749$, $p = 0.0514$; SI, Table S2). Altogether, these results validate the PMS procedure.

Effects of PMS on the emotional reactivity and cognitive abilities of F1 quail

In the emergence test, F1 S quail's rally call latencies were higher than those of F1 NS quail (mean \pm SEM, NS: 18.6s \pm 2.9, S: 27.5s \pm 3.2; GLM gamma, effect of stress: $X^2 = 4.350$, $p = 0.037$). F1 S quail also produced fewer rally calls than F1 NS quail (mean \pm SEM, NS: 19.4 \pm 2.0, S: 13.7 \pm 1.8; GLM quasi-poisson, effect of stress: $F_{(1,156)} = 5.503$, $p = 0.020$). Both these results indicate that F1 S quail are less sensitive to social separation than F1 NS quail. F1 S quail's head emergence latencies were higher than those of F1 NS quail (mean \pm SEM, NS: 20.68s \pm 4.1, S: 34.6s \pm 7.2; LM, effect of stress: $F_{(1,156)} = 4.056$, $p = 0.046$) suggesting that F1 S quail are more fearful than F1 NS quail (Mills and Faure, 1986). Results from the novel object test support these findings. When an unfamiliar object was placed in their home cage, F1 S quail expressed more fear behaviours than did F1 NS quail (mean \pm SEM, NS: 7.0 \pm 1.0, S: 10.5 \pm 1.4; GLM quasi-poisson, effect of stress: $F_{(1,124)} = 4.086$, $p = 0.045$). All these results indicate that F1 S quail's emotional reactivity is greater than that of F1 NS quail. This is consistent with other studies showing that PMS can increase fear and depressive or anxiety-like behaviours of the offspring (Guibert et al., 2011; Weinstock, 2008).

During the familiarisation phase of the spatial learning test, first step latencies decreased over days (**Figure 2A**; LMM, effect of day: $X^2 = 39.644$, $p = 2.463e-9$; SI, **Table S4**). In addition, numbers of different cups visited increased from day to day (**Figure 2B**; GLMM poisson, effect of day: $X^2 = 15.847$, $p = 3.622e-4$; SI, **Table S4**), confirming that quail became familiarised with the task and the arena. Interestingly, irrespective of the day, F1 S females' first step latencies were higher than those of F1 NS females (**Figure 2A**; LMM, effect of stress: $X^2 = 5.720$, $p = 0.017$; SI, **Table S4**). Numbers of visits to the different cups also differed between F1 S and NS females (**Figure 2B**; GLMM poisson, effect of stress x day: $X^2 = 9.349$, $p = 0.009$; SI, **Table S4**). On the first day of familiarisation, F1 S females visited significantly less different cups than did F1 NS females (**Figure 2B**; $p = 0.018$). These findings support the idea that F1 S females present a greater emotional reactivity, which influenced their abilities to explore and to become familiarised with the arena (Guibert et al., 2011; Lormant et al., 2020b). Over the 12 consecutive days of training, numbers of errors made both by F1 S and by NS females decreased (**Figure 2C**; LMM, effect of day: $X^2 = 61.306$, $p = 5.300e-9$; SI, **Table S4**). This demonstrates that birds memorised progressively the location of the rewarded cup. Finally, we compared F1 S and NS female's performances in a probe test. As assumed from the results for training, we could not evidence any differences between F1 S and NS females concerning numbers of errors made during the probe test (**Figure 2C**; mean \pm SEM, NS: 2.5 \pm 1.0, S: 2.8 \pm 1.0; Fisher-Pitman permutation, $Z = -0.017$, $p = 1$). The spatial learning abilities of our quail thus do not seem to have been affected by PMS. This is rather surprising because it is generally reported that PMS

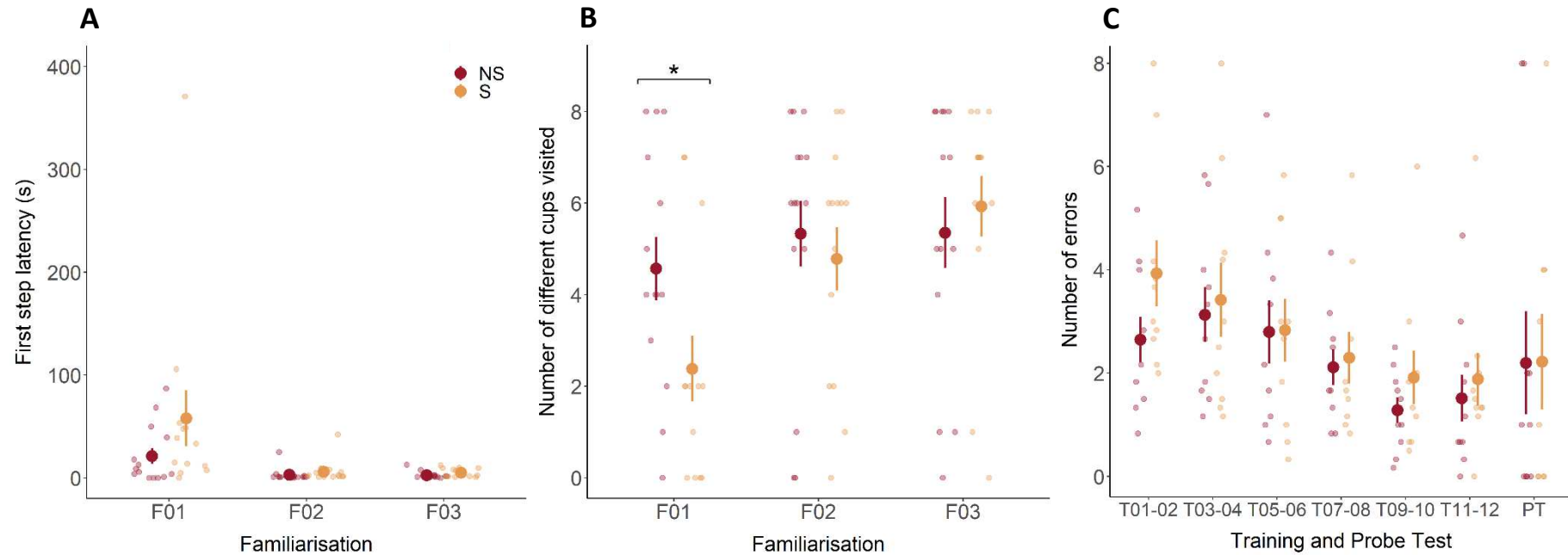


Figure 2 | Spatial learning test. (A) Latency to take first step (s) and (B) Numbers of visits to the different cups by F1 S and NS females during the familiarisation phase ($N_{NS} = 15$, $N_S = 14$). (C) Numbers of errors made by F1 S and NS females before finding the reward-paired cup, during training (data over blocks of 2 days) ($N_{NS} = 10$, $N_S = 10$) and during the probe test (PT; $N_{NS} = 10$, $N_S = 9$). Dots represent individual means for each day or group of days. Trend curves are linear regressions. * $p < 0.05$. See the SI, Table S3.

has negative effects on the spatial skills and the development or functioning of the hippocampus, the brain region supporting these abilities (Gué et al., 2004; Modir et al., 2014). However, some authors suggest that PMS did not always affect these abilities negatively and could even have a facilitating effect. Sandi and Pinelo-Nava (Sandi and Pinelo-Nava, 2007), based on an inverse U-shape model, suggest a non-linear relationship between stress intensity and hippocampal-dependant tasks. Moderate stress would not affect or could even promote learning and memory abilities, whereas very intense stress would be deleterious (Sandi and Pinelo-Nava, 2007).

During the probe test of the CPP test, we found that times spent in the reward-paired and -unpaired compartments were related to PMS (**Figure 3**; LMM, effect of stress x compartment: $X^2 = 4.818$, $p = 0.028$; SI, **Table S5**). Specifically, times spent by F1 S females in the two compartments were similar ($p = 0.999$) whereas F1 NS females spent significantly more time in the reward-paired compartment than in the reward-unpaired compartment ($p = 0.025$). Contrary to F1 S females, F1 NS females developed a preference for one place since they spent more time in the compartment of the arena where they received mealworms. When only times spent by the subjects in the

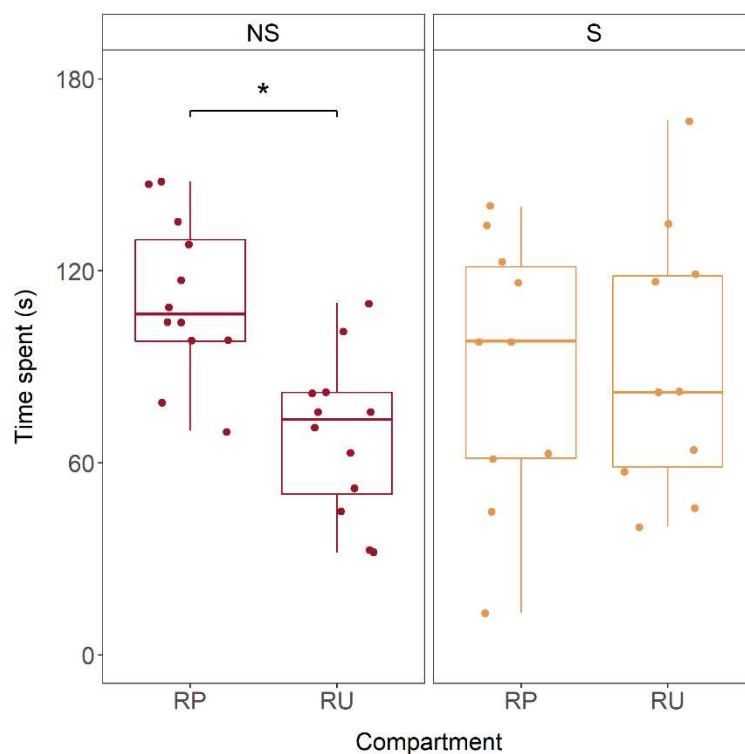


Figure 3 | Conditioned place preference test ($N_{NS} = 12$, $N_S = 10$). Times spent (s) in both the reward-paired (RP) and the reward-unpaired (RU) compartment. * $p < 0.05$. See the SI, Table S4.

different compartments are taken into consideration, as authors usually do (Tzschentke, 2007), this could indicate that F1 S females had poorer learning abilities than NS females.

However, we found that irrespective of treatment, F1 quail visited the cup in the reward-paired compartment more quickly than the cup in the reward-unpaired compartment (**Figure 4**; GLMM gamma, effect of compartment: $X^2 = 12.953$, $p = 3.194e-4$; effect of stress: $X^2 = 0.021$, $p = 0.884$; effect of stress x compartment: $X^2 = 0.085$, $p = 0.770$; SI, **Table S5**). This result underlines the fact that, regardless of time spent in either compartment of the arena, both F1 S and NS females learnt to associate an environmental cue with a food reward. However, although F1 NS females remain close to the rewarded cup, F1 S females seem to be more flexible since they spent similar times in both compartments of the arena. As previously described for rodents (Aleksandrov et al., 2001), this difference between our groups of quail may be linked to PMS-related coping strategies. If this is the case, it suggests that F1 NS females would have a more passive strategy whereas F1 S females would have a more active strategy. Although this hypothesis needs to be investigated further, our results highlight that coping styles could be fundamental in understanding differences in cognitive performances (Sih and Del Giudice, 2012).

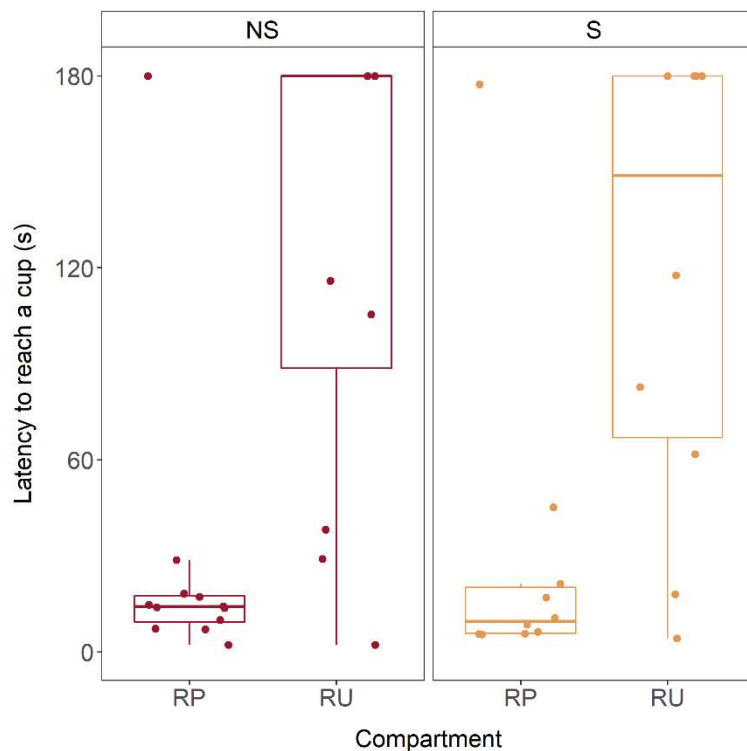


Figure 4 | Conditioned place preference test ($N_{NS} = 12$, $N_S = 10$). Latencies to visit the cup placed in both the reward-paired (RP) and the reward-unpaired (RU) compartment. See the SI, Table S4.

Effects of PMS on the histone post-translational marks in F1 quail's brain

To gain insights into the mechanisms underlying the long-term effect of PMS, we performed a microscopy analysis of two epigenetic marks, H3K4me2 and H3K27me3. Epigenetic marks are known to contribute to the regulation of gene expression and their reprogramming have the potential to promote homeostatic and physiological responses either immediately, at a later stage of development and sometimes across generations (Mirbahai and Chipman, 2014). We investigated both H3K4me2 and H3K27me3 marks by density analysis. We could not observe any significant differences between groups for H3K4me2 in any of the brain structures we studied (**Figure 5**; Fisher-Pitman permutation, $p > 0.05$). However, the density of H3K27me3 positive cells (**Figure 5B and C**) was significantly higher in F1 S females than in F1 NS females in the hippocampus (Fisher-Pitman permutation, $Z = -2.242$, $p = 0.020$), the paraventricular hypothalamic nucleus (Fisher-Pitman permutation, $Z = -2.106$, $p = 0.025$) and the dorsal amygdala (Fisher-Pitman permutation, $Z = -2.239$, $p = 0.022$). Interestingly, PMS did not influence the active mark H3K4me2 but has a specific effect on the repressive mark H3K27me3 (Kouzarides, 2007). Moreover, the density of H3K27me3 positive cells was higher in key brain structures involved in the emotional response and cognition of birds (Lormant et al., 2020a; Phillips, 1964; Saint-Dizier et al., 2009). Although causal relationships cannot be made here, this result interestingly mirrors the behavioural differences we evidenced between F1 S and NS quail. We actually showed that F1 S quail presented a higher emotional reactivity since they were more fearful when exposed to a novel environment or a novel object. In addition, although PMS induced no detrimental effects on learning abilities, our findings from both the spatial learning and the CPP tests confirm that it did affect quail's emotional reactivity. F1 S females took longer to become accustomed to the spatial arena and presented a different coping strategy in the CPP test. Birds' and mammals' fear reactions involve the amygdala and its related nuclei (Phillips, 1964; Saint-Dizier et al., 2009). The higher density of H3K27me3 positive cells in the PVN and the dorsal nucleus of the amygdala of F1 S females, could be associated with their greater emotional reactivity. The same hypothesis could be made for the higher density of H3K27me3 positive cells in the hippocampus of F1 S females. The hippocampus is well known for its involvement in spatial memory (Lormant et al., 2020a) but, it also appears to play an important role in the regulation of stress responses and in the expression of fear and anxiety-related behaviours (Revest et al., 2009). In line with this, recent studies evidenced that hippocampus markers of plasticity in quail were modulated significantly by their emotional reactivity (Gualtieri et al., 2019; Lormant et al., 2020b). H3K27me3 is a mark generally implicated in silent chromatin (Kouzarides, 2007). An increased density of H3K27me3 positive cells could therefore induce silence associated

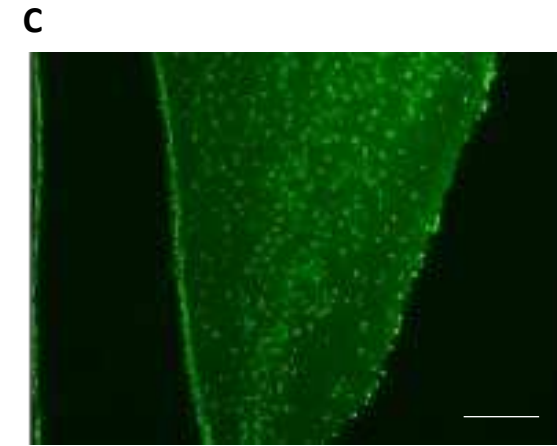
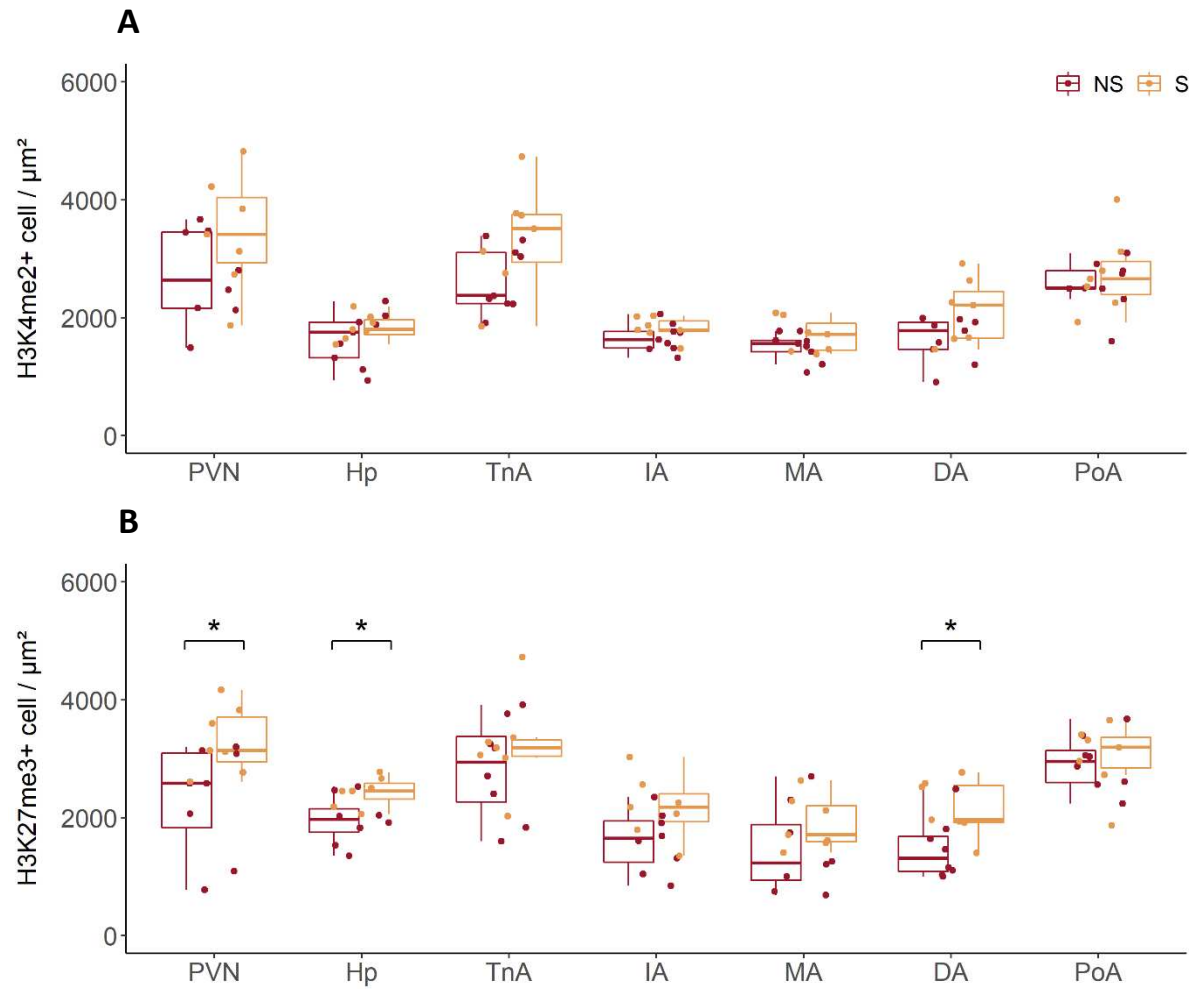


Figure 5 | Effects of PMS on H3K4me2 and H3K27me3. Density / μm^2 of (A) H3K4me2 and (B) H3K27me3 positive cells in: PVN = paraventricular hypothalamic nucleus; Hp = the hippocampus and subnuclei of the arcopallium/amygdala: TnA =nucleus taeniae; IA = intermediate; MA = medial; DA = dorsal and PoA = posterior amygdaloid of NS ($N_{\text{H3K4me2}} = 9$, $N_{\text{H3K27me3}} = 8$) and S ($N_{\text{H3K4me2}} = 7$, $N_{\text{H3K27me3}} = 7$) F1 quail. * $p < 0.05$. (C) Illustration of fluorescent H3K27me3 positive cells in the hippocampus ©PIC. Scale bar: 500 μm .

genes in F1 S quail's brain. Although this hypothesis needs further investigation, we suggest that F1 S quail's behavioural changes may be associated with altered H3K27me3 signal and gene expression levels. In line with this idea, Tsankova et al., showed that a chronic social defeat induces downregulation of Bdnf transcripts (i.e. Bdnf III and Bdnf IV) in the hippocampus and increased H3K27 dimethylation at their corresponding promoters (Tsankova et al., 2006). Although our data suggest that epigenetic marks may be involved in the behavioural differences observed in F1 quail, it is also possible that these differences depend of a direct hormonal regulation (e.g. involvement of the HPA axis). Regardless of these hypothesis, the effects of PMS observed in F1 quails could be mediated by maternal androgens. Indeed, we showed that eggs from F0 S females contain less testosterone than eggs from F0 NS females. While the effects of maternal androgens on offspring's behaviour have been widely demonstrated (Groothuis et al., 2005), their effects on epigenetic marks have been demonstrated more recently. For example, Bentz et al. showed that zebra finches from testosterone-injected eggs presented more aggressive behaviours than control males, and had several differentially expressed genes that were also differentially methylated. Their findings suggest that *in ovo* testosterone may induce epigenetic modifications that could influence aggression behaviour (Bentz et al., 2021).

In our study, we demonstrated that PMS can influence both birds offspring's emotional behaviours and specific epigenetic marks in their brain. Thus, PMS could play a fundamental role in shaping epigenome and phenotype, which could in turn influence individuals' adaptive capacities. These results raise new questions especially concerning the transmission of such effects to following generations.

Ethical note

All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed. All procedures performed in studies involving animals were in accordance with the ethical standards of the departmental direction of veterinary services (Ille-et-Vilaine, France, permit number 005283) and were realised in accordance with the European Communities Council Directive 2010/63/EU. The breeding procedure and tests were approved by the regional ethics committee.

Funding and disclosure

This research was supported by the French National Agency (PRESTO'Cog ANR-13-BSV7-0002-02) and the GibAdapt Consortium (Members: InterproChasse, SYSAAF, INRAE, Université de Rennes 1, IMPCF). This work has benefited from the facilities and expertise of the "Plateforme d'imagerie Cellulaire" (PIC) of the UMR-PRC. The authors declare that they do not have any conflicts of interest (financial or otherwise) related to the data presented in this manuscript.

Author contributions

L.C., C.H., S.L. and M.C. designed the study; M.C. performed the behavioural experiments and analysed the data; L.C., P.C., M.G., M.M. and V.C. worked on the brain epigenome analysis; R.P., F.A., C.H., S.L. and M.C. worked on the physiological analysis; L.C., C.H. and M.C., wrote the manuscript; all authors discussed the manuscript.

Acknowledgment

The authors thanks Ann Cloarec and Christiane Rössler for the improvement of the writing of the manuscript and Sonja Hartl for the steroid analysis.

References

- Aleksandrov, A.A., Polyakova, O.N., and Batuev, A.S. (2001). The Effects of Prenatal Stress on Learning in Rats in a Morris Maze. *Neurosci Behav Physiol* 31, 71–74.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., and Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67, 1–48.
- Benoit, J.D., Rakic, P., and Frick, K.M. (2015). Prenatal stress induces spatial memory deficits and epigenetic changes in the hippocampus indicative of heterochromatin formation and reduced gene expression. *Behavioural Brain Research* 281, 1–8.
- Bentz, A.B., Niederhuth, C.E., Carruth, L.L., and Navara, K.J. (2021). Prenatal testosterone triggers long-term behavioral changes in male zebra finches: unravelling the neurogenomic mechanisms. *BMC Genomics* 22, 158.

- Boissy, A. (1995). Fear and Fearfulness in Animals. *The Quarterly Review of Biology* 70, 165–191.
- Calandreau, L., Bertin, A., Boissy, A., Arnould, C., Constantin, P., Desmedt, A., Guémené, D., Nowak, R., and Leterrier, C. (2011). Effect of one week of stress on emotional reactivity and learning and memory performances in Japanese quail. *Behavioural Brain Research* 217, 104–110.
- Colson, V., Cousture, M., Damasceno, D., Valotaire, C., Nguyen, T., Cam, A.L., and Bobe, J. (2019). Maternal temperature exposure impairs emotional and cognitive responses and triggers dysregulation of neurodevelopment genes in fish. *PeerJ* 7, e6338.
- Conradt, E., Lester, B.M., Appleton, A.A., Armstrong, D.A., and Marsit, C.J. (2013). The roles of DNA methylation of *NR3C1* and *11 β -HSD2* and exposure to maternal mood disorder in utero on newborn neurobehavior. *Epigenetics* 8, 1321–1329.
- Ensminger, D.C., Langkilde, T., Owen, D.A.S., MacLeod, K.J., and Sheriff, M.J. (2018). Maternal stress alters the phenotype of the mother, her eggs and her offspring in a wild-caught lizard. *Journal of Animal Ecology* 87, 1685–1697.
- Formanek, L., Houdelier, C., Lumineau, S., Bertin, A., and Richard-Yris, M.-A. (2008). Maternal Epigenetic Transmission of Social Motivation in Birds. *Ethology* 114, 817–826.
- Fox, J., and Weisberg, S. (2019). *An {R} Companion to Applied Regression*.
- Groothuis, T.G.G., Müller, W., von Engelhardt, N., Carere, C., and Eising, C. (2005). Maternal hormones as a tool to adjust offspring phenotype in avian species. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29, 329–352.
- Gu, C., Liu, Y., Huang, Y., Yang, S., Wang, A., Yin, B., and Wei, W. (2020). Effects of predator-induced stress during pregnancy on reproductive output and offspring quality in Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*). *Eur J Wildl Res* 66, 14.
- Gualtieri, F., Armstrong, E.A., Longmoor, G.K., D'Eath, R.B., Sandilands, V., Boswell, T., and Smulders, T.V. (2019). Unpredictable Chronic Mild Stress Suppresses the Incorporation of New Neurons at the Caudal Pole of the Chicken Hippocampal Formation. *Sci Rep* 9, 7129.
- Gué, M., Bravard, A., Meunier, J., Veyrier, R., Gaillet, S., Recasens, M., and Maurice, T. (2004). Sex differences in learning deficits induced by prenatal stress in juvenile rats. *Behavioural Brain Research* 150, 149–157.
- Guibert, F., Richard-Yris, M.-A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Guémené, D., Bertin, A., Möstl, E., and Houdelier, C. (2010). Social Instability in Laying Quail: Consequences on Yolk Steroids and Offspring's Phenotype. *PLoS ONE* 5, e14069.
- Guibert, F., Richard-Yris, M.-A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Bertin, A., Petton, C., Möstl, E., and Houdelier, C. (2011). Unpredictable mild stressors on laying females influence the composition of Japanese quail eggs and offspring's phenotype. *Applied Animal Behaviour Science* 132, 51–60.
- Hackl, R., Bromundt, V., Daisley, J., Kotrschal, K., and Möstl, E. (2003). Distribution and origin of steroid hormones in the yolk of Japanese quail eggs (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 173, 327–331.
- Henriksen, R., Rettenbacher, S., and Groothuis, T.G.G. (2011). Prenatal stress in birds: Pathways, effects, function and perspectives. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 35, 1484–1501.

- Hervé, M. (2021). *RVAideMemoire: Testing and Plotting Procedures for Biostatistics*.
- Hothorn, T., Hornik, K., van de Wiel, M.A., and Zeileis, A. (2006). A Lego System for Conditional Inference. *The American Statistician* *60*, 257–263.
- Hunter, R.G., McCarthy, K.J., Milne, T.A., Pfaff, D.W., and McEwen, B.S. (2009). Regulation of hippocampal H3 histone methylation by acute and chronic stress. *Proc Natl Acad Sci USA* *106*, 20912–20917.
- Jones, R.B. (1996). Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives. *Worlds Poult. Sci. J.* *52*, 131–174.
- Kleiber, C., and Zeileis, A. (2020). *AER: Applied Econometrics with R*.
- Kouzarides, T. (2007). Chromatin Modifications and Their Function. *Cell* *128*, 693–705.
- Laurence, A., Houdelier, C., Petton, C., Calandreau, L., Arnould, C., Favreau-Peigné, A., Leterrier, C., Boissy, A., Richard-Yris, M.-A., and Lumineau, S. (2012). Japanese Quail's Genetic Background Modulates Effects of Chronic Stress on Emotional Reactivity but Not Spatial Learning. *PLoS ONE* *7*, e47475.
- Lenth, R., Buerkner, P., Herve, M., Love, J., Riebl, H., and Singmann, H. (2020). *emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means*.
- Lormant, F., Cornilleau, F., Constantin, P., Meurisse, M., Lansade, L., Leterrier, C., Lévy, F., and Calandreau, L. (2020a). Research Note: Role of the hippocampus in spatial memory in Japanese quail. *Poultry Science* *99*, 61–66.
- Lormant, F., Ferreira, V.H.B., Meurisse, M., Lemarchand, J., Constantin, P., Morisse, M., Cornilleau, F., Parias, C., Chaillou, E., Bertin, A., et al. (2020b). Emotionality modulates the impact of chronic stress on memory and neurogenesis in birds. *Scientific Reports* *10*, 14620.
- Mignon-Grasteau, S., Roussot, O., Delaby, C., Faure, J.M., Mills, A., Leterrier, C., Guéméné, D., Constantin, P., Mills, M., Lepape, G., et al. (2003). Factorial correspondence analysis of fear-related behaviour traits in Japanese quail. *Behavioural Processes* *61*, 69–75.
- Mills, A.D., and Faure, J.-M. (1986). The estimation of fear in domestic quail: correlations between various methods and measures. *Biology of Behaviour* *11*, 235–243.
- Mirbahai, L., and Chipman, J.K. (2014). Epigenetic memory of environmental organisms: A reflection of lifetime stressor exposures. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* *764–765*, 10–17.
- Modir, F., Elahdadi Salmani, M., Goudarzi, I., Lashkarboluki, T., and Abrari, K. (2014). Prenatal stress decreases spatial learning and memory retrieval of the adult male offspring of rats. *Physiology & Behavior* *129*, 104–109.
- Möstl, E., Spendier, H., and Kotrschal, K. (2001). Concentration of immunoreactive progesterone and androgens in the yolk of hens' eggs (*Gallus domesticus*). *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* *88*, 62–65.
- Mychasiuk, R., Ilnytskyy, S., Kovalchuk, O., Kolb, B., and Gibb, R. (2011). Intensity matters: brain, behaviour and the epigenome of prenatally stressed rats. *Neuroscience* *180*, 105–110.

- Nätt, D., Lindqvist, N., Stranneheim, H., Lundeberg, J., Torjesen, P.A., and Jensen, P. (2009). Inheritance of Acquired Behaviour Adaptations and Brain Gene Expression in Chickens. *PLoS ONE* 4, e6405.
- O'Brien, C.E., Jozet-Alves, C., Mezrai, N., Bellanger, C., Darmaillacq, A.-S., and Dickel, L. (2017). Maternal and Embryonic Stress Influence Offspring Behavior in the Cuttlefish *Sepia officinalis*. *Front. Physiol.* 8, 981.
- Okuliarová, M., Sárníková, B., Rettenbacher, S., Skrobánek, P., and Zeman, M. (2010). Yolk testosterone and corticosterone in hierarchical follicles and laid eggs of Japanese quail exposed to long-term restraint stress. *Gen Comp Endocrinol* 165, 91–96.
- Ostlund, B.D., Conradt, E., Crowell, S.E., Tyrka, A.R., Marsit, C.J., and Lester, B.M. (2016). Prenatal Stress, Fearfulness, and the Epigenome: Exploratory Analysis of Sex Differences in DNA Methylation of the Glucocorticoid Receptor Gene. *Front Behav Neurosci* 10, 147.
- Phillips, R.E. (1964). "Wildness" in the Mallard duck: Effects of brain lesions and stimulation on "escape behavior" and reproduction. *Journal of Comparative Neurology* 122, 139–155.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., and R Core Team (2020). *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*.
- Revest, J.-M., Dupret, D., Koehl, M., Funk-Reiter, C., Grosjean, N., Piazza, P.-V., and Abrous, D.N. (2009). Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Molecular Psychiatry* 14, 959–967.
- Saint-Dizier, H., Constantin, P., Davies, D.C., Leterrier, C., Lévy, F., and Richard, S. (2009). Subdivisions of the arcopallium/posterior pallial amygdala complex are differentially involved in the control of fear behaviour in the Japanese quail. *Brain Research Bulletin* 79, 288–295.
- Sandi, C., and Pinelo-Nava, M.T. (2007). Stress and Memory: Behavioral Effects and Neurobiological Mechanisms. *Neural Plasticity* 2007, 1–20.
- Sih, A., and Del Giudice, M. (2012). Linking behavioural syndromes and cognition: a behavioural ecology perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 367, 2762–2772.
- Tsankova, N.M., Berton, O., Renthal, W., Kumar, A., Neve, R.L., and Nestler, E.J. (2006). Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat Neurosci* 9, 519–525.
- Tzschentke, T.M. (2007). Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade. *Addict Biol* 12, 227–462.
- Weinstock, M. (2008). The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 32, 1073–1086.
- White, N., and McDonald, R. (1993). Acquisition of a spatial conditioned place preference is impaired by amygdala lesions and improved by fornix lesions. *Behavioural Brain Research* 55, 269–281.

Supporting information

Chronic Stress Procedure

S F0 quails were repeatedly exposed to aversive events (**Table S1**) four to five times a day for 24 days. The stressors could occur during the light or the dark phase and were randomly applied to reduce the possibility of familiarisation. Four stressors were used individually: a metallic stick banged on the cage rods (thrice in 30 minutes), air or water jet (twice in 30 minutes), a physical restraint (30 minutes). The seven other stressors were used on the entire battery: transparent devices placed on the feeders to delay food access (2 hours), air flows with ventilators (30 minutes), a flag agitated around the battery simultaneously with the diffusion of a hawk's cry (thrice in 30 minutes), unexpected sounds (several times in 30 minutes), introduction of a quail from the same battery in the home cage of another quail (30 minutes) or an overcrowding (by placing the 16 quails in the same cage (60 x 42.5 x 12 cm)) sometimes with a trolley transport. When stressors were used, the experimenter (MC) was dressed with a green combination, white gloves, a hairnet and a mask, otherwise she was dressed with a white gown. When an aversive event was applied to S F0 quails, the experimenter then had a positive contact with NS F0 quails (addition of food or woodchips in the home cage).

Table S1 | Chronic stress procedure applied to F0 females. Summary table of the different stressors used during the chronic stress protocol.

	DESCRIPTION	DURATION
ENVIRONMENTAL DISTURBANCE		
Unexpected sounds	Speakers on the ground, facing the battery. 80 dB diffusion of various noises (fire alarm, horn, metallic noises, alarm clock)	30 minutes Broadcasting of several sequences of noises of variable duration interspersed with silences.
Air flow	Medium speed ventilators installed in front of the battery	30 minutes
Water or air jet	Via a sprayer or a straw	3 times over 30 minutes
Metallic stick	Stick passed laterally on the bars of the cages	3 times over 30 minutes
Restraint	Quail restrained by a wooden wall in a corner of its cage.	30 minutes
Predator sounds	Flag waved above and below the cages while a hawk call is broadcast at 80 dB through a loudspeaker placed in front of the battery	3 times over 30 minutes
FOOD DISTURBANCE		
Food frustration	Transparent board placed on the feeders before the breeding room is lit. The quails, during their morning peak of activity, see the food but cannot consume it	2 hours
SOCIAL DISTURBANCE		
Overcrowding	Quails placed in the same transport cage (78 x 43 x 13 cm). Overcrowding can be simultaneous with transport on a cart	30 minutes
Intrusion	Quail of the same battery but of a different level introduced in the cage of another female. Each quail is once resident and once intruder	30 minutes

H3K27me3 and H3K4me2 immunochemistry of F1 females quails

To evaluate the influence of PMS on brain epigenetic marks, we assessed by immunohistochemistry the density of H3K27me3 and H3K4me2 in key brain structures for emotional reactivity, learning and memory abilities (Lormant et al., 2020a; Phillips, 1964; Saint-Dizier et al., 2009). In order to minimise the number of birds collected, we focused on a sample of F1 females selected within the different families. All these females had passed the emotional reactivity tests but their learning abilities were not assessed. Subjects were lethally anaesthetised by intraperitoneal injection of pentobarbital, perfused transcardially via the left ventricle with 80 mL 1% sodium nitrite in phosphate-buffered saline, followed by 300mL of ice-cold 4% paraformaldehyde solution in 0.1M phosphate buffer containing 15% (v/v) saturated picric acid.

After perfusion, brains were removed from the skull, post-fixed overnight in the same fixative and cryoprotected in a 20% sucrose-0.1% sodium azide solution in 0.1M phosphate buffer. Then they were frozen 30 seconds in a bath of -50°C isopentane. Frontal free-floating sections were cut on a cryostat (NX70, MM France, Brignais, France) at a thickness of 30 µm and stored in 0.025M Tris Buffer Saline (TBS)-0.1% sodium azide, pH 7.4 (TBSA). Sections were rinsed in TBS for five minutes and treated in 0.1% sodium borohydride in TBS under gentle agitation (30 minutes at room temperature). After four baths in TBS, sections were pre-incubated (one hour at room temperature) in TBSA-T (0.3% Triton)-1% Bovine Serum Albumin (BSA) to increase the permeability of plasma membrane. Sections were then incubated (48 hour at 4°C) in 1:500 rabbit anti-H3K27me3 primary antibody (Millipore, Molsheim, France) or in 1:1000 rabbit anti-H3K4me2 primary antibody (Abcam, Cambridge, UK) in TBSTA-1% BSA. Sections were rinsed twice in TBS-0.3% Triton (TBS-T) for five minutes and twice in TBS for five minutes. Then, sections were incubated (two hours at room temperature) in 1:2000 secondary antibody (Donkey anti-rabbit-488; Jackson ImmunoResearch, Peterborough, UK) in 0.3% TBS-saponin-0.1% BSA. After four rinses in TBS, sections were immersed in Hoechst (nuclear staining, Hoechst 33258, 2µg/mL in distilled water, Invitrogen, Cergy Pontoise, France) for two minutes and rinsed in TBS four times. Finally, sections were mounted on gelatin-coated glass slides, allowed to dry and covered-slipped using Fluoromount-G (Southern Biotech, Birmingham, USA). The slides were stored at 4°C in the dark until analysis.

The H3K27me3 or H3K4me2 positive cells were counted using a fluorescence microscope (Axioskope 2; Zeiss, Germany) with a magnification of 20X associated with a cell-count analysis software (computerized image analysis; Mercator; Explora Nova, La Rochelle, France) through a camera. H3K27me3 and H3K4me2 positive cells were counted in the hippocampus, the

paraventricular nucleus of the hypothalamus and in the following subnuclei of the arcopallium/amygdala: intermediate, medial, dorsal, posterior amygdaloid and nucleus taeniae. The brain regions were identified by referring to the stereotaxic atlas of chick brain (Kuenzel and Masson, 1988), its revised nomenclature (Reiner et al., 2004) and the quail brain atlas (Baylé et al., 1974). Densities of H3K27me3 or H3K4me2 positive cells were averaged (total number of positive cells divided by the total area of the counted region) to obtain a single value per brain region.

References

Baylé, J.D., Ramade, F., Oliver, J., 1974. Stereotaxic topography of the brain of the quail (*Coturnix coturnix japonica*). *J. Physiol. (Paris)* 68, 219–241.

Kuenzel, W.J., Masson, M., 1988. *A Stereotaxic Atlas of the Brain of the Chick (Gallus Domesticus)*. Johns Hopkins University Press.

Lormant, F., Cornilleau, F., Constantin, P., Meurisse, M., Lansade, L., Leterrier, C., Lévy, F., Calandreau, L., 2020. Research Note: Role of the hippocampus in spatial memory in Japanese quail. *Poultry Science* 99, 61–66. <https://doi.org/10.3382/ps/pez507>

Phillips, R.E., 1964. “Wildness” in the Mallard duck: Effects of brain lesions and stimulation on “escape behavior” and reproduction. *Journal of Comparative Neurology* 122, 139–155. <https://doi.org/10.1002/cne.901220202>

Reiner, A., Perkel, D.J., Bruce, L.L., Butler, A.B., Csillag, A., Kuenzel, W., Medina, L., Paxinos, G., Shimizu, T., Striedter, G., Wild, M., Ball, G.F., Durand, S., Gütürkün, O., Lee, D.W., Mello, C.V., Powers, A., White, S.A., Hough, G., Kubikova, L., Smulders, T.V., Wada, K., Dugas-Ford, J., Husband, S., Yamamoto, K., Yu, J., Siang, C., Jarvis, E.D., 2004. Revised nomenclature for avian telencephalon and some related brainstem nuclei. *J. Comp. Neurol.* 473, 377–414. <https://doi.org/10.1002/cne.20118>

Saint-Dizier, H., Constantin, P., Davies, D.C., Leterrier, C., Lévy, F., Richard, S., 2009. Subdivisions of the arcopallium/posterior pallial amygdala complex are differentially involved in the control of fear behaviour in the Japanese quail. *Brain Research Bulletin* 79, 288–295. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2009.03.004>

Table S2 | Characteristics of F0 NS and S females' eggs. Number (mean \pm SEM) of eggs laid per female in each group for the 16 days they were collected ($N_{NS} = 16$, $N_S = 16$). Mass, component values and hormonal levels were calculated for one egg per female ($N_{NS} = 15$, $N_S = 16$). All data in the table are expressed as mean values (\pm SEM). Significant results are in bold : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, # $0.05 < p < 0.10$.

	NS	S	p-value
Number	13.1 \pm 1.1	13.7 \pm 0.4	0.714
Fertilisation rate (%)	88.0 \pm 5.5	84.2 \pm 4.8	0.628
Hatching rate (%)	68.7 \pm 6.5	78.5 \pm 5.0	0.245
Mass (g)	13.3 \pm 0.3	13.3 \pm 0.3	0.094
Shell mass (g)	1.2 \pm 0.04	1.1 \pm 0.03	0.325
Yolk mass (g)	4.4 \pm 0.1	4.3 \pm 0.1	0.727
Albumen mass (g)	7.3 \pm 0.2	7.4 \pm 0.2	0.761
Androstenedione (ng/yolk)	383.7 \pm 38.2	294.8 \pm 25.7	0.060 #
Testosterone (ng/yolk)	97.0 \pm 8.2	71.0 \pm 7.9	0.027 *
Progesterone (ng/yolk)	4388.0 \pm 14.8	5255.2 \pm 386.9	0.139
Androgene proportion (%)	12.1 \pm 2.4	6.8 \pm 0.5	0.006 **
Progesterone proportion (%)	87.9 \pm 2.4	93.2 \pm 0.5	0.005 **

Table S3 | Physio-morphological characteristics of F1 chicks. Mass (g) of F1 NS and S chicks from hatching (day 1) to 5 weeks-old (day 35). From day 1 to day 21: N_{NS} = 80, N_S = 80; day 28: N_{NS} = 79, N_S = 80; day 35: N_{NS} = 77, N_S = 80. Cloacal vent length (mm) of F1 NS and S chicks from 2 weeks-old (day 15) to 5 weeks-old (day 35). From day 15 to day 21: N_{NS} = 80, N_S = 80; from day 28 to day 35: N_{NS} = 79, N_S = 80. phd = post hatching day. All data in the table are expressed as mean values (\pm SEM). Significant results are in bold : * p < 0.05.

	NS	S	p-value
Mass (g)			
phd 1	10.0 \pm 0.1	10.0 \pm 0.1	0.913
phd 7	47.2 \pm 0.6	44.6 \pm 0.6	0.033 *
phd 15	126.3 \pm 1.1	123.5 \pm 1.2	0.179
phd 21	182.3 \pm 1.5	179.6 \pm 1.7	0.316
phd 28	241.7 \pm 2.0	239.4 \pm 2.3	0.430
phd 35	268.3 \pm 2.3	272.0 \pm 2.5	0.128
Cloacal vent (mm)			
phd 15	5.3 \pm 0.08	5.3 \pm 0.08	0.564
phd 21	5.5 \pm 0.06	5.2 \pm 0.07	0.014 *
phd 28	6.7 \pm 0.08	6.6 \pm 0.07	0.261
phd 35	7.2 \pm 0.08	7.2 \pm 0.08	0.918

Table S4 | Spatial learning test. Results of statistical analyses (generalised linear or linear mixed models). Significant results are in bold : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

	χ^2	df	p-value
Familiarisation			
<i>First step latency (s)</i>			
Stress	5.720	1	0.017 *
Days	39.644	2	2.46e-09 ***
Stress * Days	1.552	2	0.460
<i>Number of different cups visited</i>			
Stress	0.628	1	0.428
Days	15.847	2	3.622e-04 ***
Stress * Days	9.349	2	0.009 **
Training			
<i>Number of errors</i>			
Stress	0.604	1	0.437
Days	61.306	11	5.30e-09 ***
Stress * Days	10.976	11	0.445

Table S5 | Conditioned place preference test. Results of statistical analyses (generalised linear or linear mixed models). Significant results are in bold : * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

	χ^2	df	p-value
Time spent			
Groups	0.000	1	1.000
Compartment	4.958	1	0.026 *
Groups * Compartment	4.818	1	0.028 *
Latency to reach cup			
Groups	0.021	1	0.884
Compartment	12.953	1	3.194e-04 ***
Groups * Compartment	0.085	1	0.771

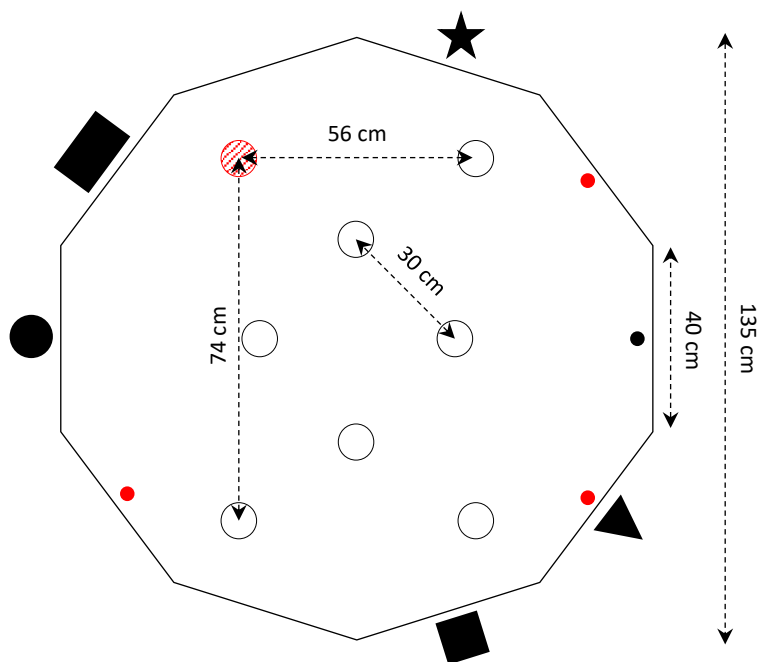


Figure S1 | Schematic representation of the device used in the spatial learning test. The 8 circles represent the 8 cups, each containing 1 mealworm during the familiarisation phase. The red circle represents the only cup (= rewarded cup) containing mealworms during the training phase. The red dots correspond to the 3 possible entrances for the training phase and the black dot correspond to the entrance for the probe test.

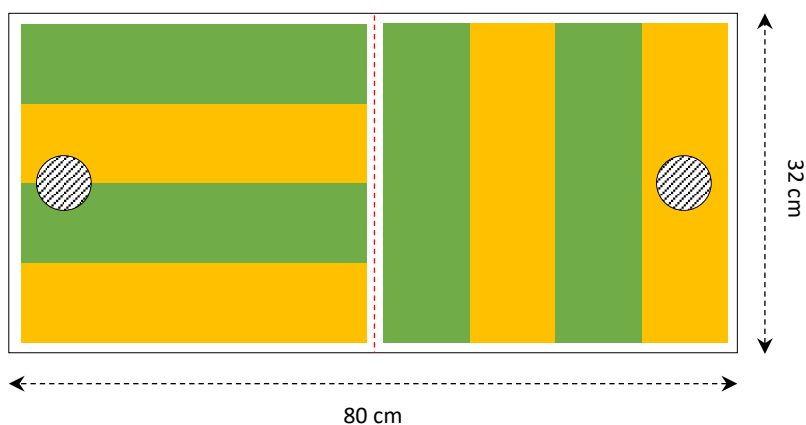


Figure S2 | Schematic representation of the device used in the conditioned place preference test. The apparatus could be divided into 2 chambers by means of a removable wall represented by the red dotted line. Walls of the first side were covered by horizontal green and yellow stripes while walls of the other side were covered by vertical green and yellow stripes. The 2 circles represent the cups which could contain mealworms.

Article II

WHEN ANCESTORS TRANSMIT THEIR STRESS: PRENATAL MATERNAL STRESS TRANSMISSION ACROSS GENERATIONS IN A PRECOICIAL BIRD

Marion Charrier ^{1,2,3}, Sophie Lumineau ¹, Isabelle George ¹, Maryse Meurisse ², Marion Georgelin ², Rupert Palme ⁴, Frédéric Angelier ⁵, Vincent Coustham ^{6,7}, Céline Nicolle ¹, Aline Bertin ², Anne-Sophie Darmaillacq ⁸, Ludovic Dickel ⁸, Daniel Guémené ^{3,6}, Ludovic Calandreau ^{2,†}, Cécilia Houdelier ^{1,†}

¹ Univ Rennes, CNRS, Normandie Univ, EthoS (Éthologie animale et humaine) - UMR 6552, Rennes, France

² CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, 37380, Nouzilly, France

³ SYSAAF, Centre INRAE Val de Loire, 37380 Nouzilly, France

⁴ Department of Biomedical Sciences, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria

⁵ Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, CNRS-ULR, UMR 7372, 79360 Villiers en Bois, France

⁶ INRAE, Université de Tours, BOA, 37380, Nouzilly, France

⁷ Université de Pau et des Pays de l'Adour, E2S UPPA, INRAE, NUMEA, 64310, Saint-Pée-sur-Nivelle, France

⁸ Normandie University, UNICAEN, University of Rennes, CNRS, EthoS (Éthologie animale et humaine) - UMR 6552, F-14000 Caen, France

† Co-last authorship.

Abstract. Prenatal maternal stress induces life-long effects in offspring. Accumulating evidence suggests that these effects can be transmitted across several generations. Although multigenerational transmission (from F0 to F2) of maternal effects has been demonstrated in different species, trans-generational transmission (from F0 to F3) has been explored less while it could be a powerful mechanism in the adaptation and evolution of populations. We showed previously that prenatal maternal stress of Japanese quail increased F1 offspring's emotional reactivity and affected some histone post-translational expressions in their brain. The present study investigates the transmission of these behavioural changes at the multi- and trans-generational levels and evaluates histone post-translational modifications (H3K27me3 and H3K4me2) in the F3 generation. Our results show that, as for F1 quail, prenatal maternal stress increased emotional reactivity of both F2 and F3 quail offspring. However, the expression of histone post-translational modifications was not affected by prenatal experience in the F3 generation. Although the mechanisms involved in this transmission still needs to be explored, our results demonstrate a multi- and transgenerational behavioural effect of prenatal maternal stress in birds.

Keywords. Prenatal maternal stress, trans-generational effects, emotional reactivity, precocial bird

Article en préparation pour Journal of Experimental Biology

Introduction

Maternal stress of birds during egg formation (i.e. prenatal maternal stress: PMS) has long been considered as an essential factor in shaping offspring phenotype. PMS can influence offspring's morphological and physiological development (Chin et al., 2009; Coslovsky and Richner, 2011; Hayward and Wingfield, 2004; Saino et al., 2005; Zimmer et al., 2013) as well as a wide range of their behavioural and cognitive traits (Guibert et al., 2010, 2011; Janczak et al., 2007; Lindqvist et al., 2007; Nätt et al., 2009). Accumulating evidence suggests that the effects of PMS on phenotypic plasticity can influence offspring fitness and drive their ability to cope with their subsequent environment (Crino and Breuner, 2015; Groothuis et al., 2005; Henriksen et al., 2011; Sheriff and Love, 2013). Both positive and negative consequences of PMS have been reported. PMS enhances cautious behaviour (Chin et al., 2009; Guibert et al., 2010, 2011) and social competition competence (Eising and Groothuis, 2003), but also alters learning or reproduction capacities (Guibert et al., 2013; Lindqvist et al., 2007).

Whatever its adaptive or maladaptive effects PMS appears to be a powerful non genetic tool influencing population variations and evolution. Indeed, PMS effects can persist beyond the F1 offspring and induce phenotypical changes across generations. Multi-generational effects of PMS (from F0 females to F2 offspring) have been evidenced in a broad range of taxa (Guerrero-Bosagna et al., 2018; Matthews and Phillips, 2012; Perez and Lehner, 2019). For example, corticosterone-treatment or stress procedure of laying female birds affects weight gain or emotional reactivity respectively of zebra finches (*Taeniopygia guttata*) and Japanese quail (*Coturnix c. japonica*) F2 offspring (Guibert et al., 2013; Khan et al., 2016). Multi-generational effects of PMS, observed in both the F1 and F2 generations, could be linked either to effective transmission across generations (by potential reprogramming of the germ-line) or to direct exposure of F1 embryo and F2 germ-line to the modified *in ovo* environment (Skinner, 2008). Contrary to F1 and F2 generations, the F3 generation is not directly exposed to F0 females, therefore, phenotypical changes found in this generation are a consequence of an indirect transgenerational mechanism (Skinner, 2008). To our knowledge, this transgenerational transmission of prenatal effects is poorly documented in the literature. However, Leroux and his colleagues studied the influence of genistein, an environmental contaminant, through injections into Japanese quail F0 eggs. After three generations without any additional injections, they showed that this genistein treatment delayed F3 females' sexual maturity and influenced F3 offspring's body mass and reaction to social isolation (Leroux et al., 2017). In this context, we questioned PMS trans-generational effects to advance our knowledge of nongenetic transmission processes.

Previously, we showed that PMS increased Japanese quail's fearfulness and modulated slightly the cognitive abilities of F1 chicks (Charrier et al., submitted). To determine the transmission of these effects to subsequent generations, we analysed the behavioural development of F2 and F3 offspring to assess the multi- and trans-generational influences of PMS. We evaluated the quail's emotional reactivity in challenging situations and we characterised their learning skills using a conditioned place preference task, which evaluates an individual's ability to form an association between an environmental stimulus and a food reward (Tzschentke, 2007). We hypothesised that the effects of PMS previously evidenced on the emotional reactivity of the F1 offspring would be observed in the subsequent F2 and F3 generations (Charrier et al., submitted). However, we assumed that the effects of PMS on the learning skills of F2 and F3 offspring would be less significant because these abilities were only slightly modified in the F1 generation (Charrier et al., submitted). Prenatal stress effects have recently been associated with epigenetic changes (Cao-Lei et al., 2016; Stankiewicz et al., 2013). Briefly, epigenetic changes are molecular mechanisms that influence gene expression without altering the DNA sequence. They include micro RNA, DNA methylation, or histone modifications (Lubin et al., 2011; van Steenwyk and Mansuy, 2021). Previously, we studied the effect of PMS on specific epigenetic marks in F1 offspring's brains, the tri-methylation of the histone H3 at lysine 27 (H3K27me3) and the di-methylation of the histone H3 at lysine 4 (H3K4me2). We choose to study both H3K27 and H3K4 because a study of rats reported an effect of acute or chronic stress on their expression (Hunter et al., 2009). Although PMS did not affect H3K4me2, we showed that it increased significantly the number of cells expressing H3K27me3 in the hippocampus, the paraventricular hypothalamic nucleus (PVN) and dorsal amygdala (Charrier et al., submitted), these brain structures being involved in emotional reactivity (Lowndes and Davies, 1995; Perez et al., 2020; Revest et al., 2009; Saint-Dizier et al., 2009). To test the hypothesis that the trans-generational effects of PMS could be mediated by these epigenetic processes, we investigated both H3K27me3 and H3K4me2 marks in F3 offspring's brains. We focused our analysis on the hippocampus, the PVN, the dorsal amygdala and other amygdala nuclei involved in birds' emotional reactivity: the nucleus taeniae and the intermediate, medial, and posterior amygdaloid (Perez et al., 2020; Saint-Dizier et al., 2009). As yolk hormones are powerful maternal effects mediators and potential candidates for the transmission of trans-generational influence of PMS (Goerlich et al., 2012; Groothuis et al., 2005), we analysed the hormonal composition of F1 and F2 eggs, eggs from which F2 and F3 chicks hatched.

Methods

Animals and experimental design

Chicks studied here are the F2 and F3 offspring of F0 founder females. For a previous study (Charrier et al., submitted), F0 females had been either exposed or not to a chronic stress procedure (non-stressed group: NS, $N_{NS} = 16$; stressed group: S, $N_S = 16$) previously validated for juvenile quail (Calandreau et al., 2011; Laurence et al., 2014). S F0 females were exposed during their laying period to repeated aversive events (i.e. physical restraint, food deprivation, sudden noise, etc.) four to five times a day over a period of 24 days. This chronic stress procedure was never applied to the subsequent generations (i.e. F1, F2 and F3).

In order to produce the F1 generation, both groups of F0 females were mated with males ($N = 16$) unexposed to the stress procedure. Each male was mated with two F0 NS and two F0 S females. F0 NS and S eggs were collected and incubated artificially (Brinsea Ova-Easy Advance 380) for 17 days (Orcutt, Jr. and Orcutt, 1976). During the first 14 days of incubation eggs were maintained at 37.7°C, with a relative humidity of 45%, while automatically rotated 45° every 30 minutes. For the last three days of incubation, humidity was increased to 70% and rotation was stopped to favour hatching of F1 chicks. Two more generations were then produced: F1 NS females were mated with F1 NS males ($N_{NS-pairs} = 12$) and F1 S females were mated with F1 S males ($N_{S-pairs} = 11$). Chicks from these F1 pairs constituted the F2 generation. The same mirrored mating plan was used to produce the F3 generation: F2 NS females were mated with F2 NS males ($N_{NS-pairs} = 13$) and F2 S females were mated with a F2 S males ($N_{S-pairs} = 16$). Chicks from these F2 pairs constituted the F3 generation.

When they hatched, F2 ($N_{NS} = 99$ and $N_S = 71$) and F3 ($N_{NS} = 38$ and $N_S = 55$) chicks were identified individually using numbered and coloured leg rings. Until post hatching day (phd) 30 chicks were housed in collective cages (100 x 70 x 62 cm) each equipped with a heater ($38 \pm 1^\circ\text{C}$, removed on phd 15). On phd 30, the sex of the chicks was determined by their plumage. Then F2 ($N_{NS-\varphi} = 32$, $N_{NS-\sigma} = 32$ and $N_{S-\varphi} = 32$, $N_{S-\sigma} = 32$) and F3 ($N_{NS-\varphi} = 16$, $N_{NS-\sigma} = 19$ and $N_{S-\varphi} = 22$, $N_{S-\sigma} = 29$) quail were wing banded and reallocated to collective batteries. Males and females from both groups were placed in different rooms ($18 \pm 1^\circ\text{C}$). Food and water were available ad libitum and the light-dark cycle was always 12h:12h. F2 and F3 chicks were weighed at hatching, and then on phd 21, when they reached sexual maturation.

Analyses of F1 and F2 eggs

Before incubation, we collected one egg per female ($N_{F2-NS} = 12$, $N_{F2-S} = 10$ and $N_{F3-NS} = 12$, $N_{F3-S} = 16$) for steroid analyses. Eggs and their different components were weighed and levels of yolk testosterone, androstenedione and progesterone were evaluated at the University of Veterinary Medicine of Vienna, using the enzyme immunoassays previously described by Möstl et al. (2001) and Hackl et al. (2003).

Emotional reactivity of F2 and F3 quails

The emotional reactivity of quail was assessed using classical ethological tests devised for poultry (Forkman et al., 2007; Mills and Faure, 1986): a tonic immobility test evaluated fearfulness, an emergence test assessed fearfulness and quail's reactivity to social isolation, and a novel object test, as often reported, evaluated another aspect of fearfulness: neophobia. As this last test was applied in their home cage, it was not impacted by social isolation.

Tonic immobility test (F2: phd 9, $N_{NS} = 67$, $N_S = 70$ and F3: phd 10, $N_{NS} = 37$, $N_S = 51$): Each chick was placed on a U-shaped device, on its back, its head hanging down. Chicks were maintained in this position for five seconds and then gently released. If a subject was still immobile after 10 seconds, the duration of immobility was noted, otherwise, if it escaped, another induction was attempted. If tonic immobility could not be induced after five attempts, a maximum score of five was given for the number of inductions and zero was recorded for the duration (in seconds). When a subject had not stood up after five minutes, the test was stopped and a maximum score of 300 seconds was recorded.

Emergence test (F2: phd 15, $N_{NS} = 67$, $N_S = 70$ and F3: phd 16, $N_{NS} = 37$, $N_S = 51$): Quail were placed individually in a dark starting box (18 x 18 x 18 cm) for one minute. To evaluate the reactivity of quail to social isolation, the experimenter recorded latency of emission of their first rally call and the number of rally calls they produced. After one minute, the door was opened and a subject was allowed five minutes to leave the starting box and enter into a novel, lightened cage (60 x 56 x 35 cm). The experimenter, not visible by the subjects, recorded the emergence latencies of a quail's head, feet and all its body as they are correlated positively with fear level (Jones, 1996). If a quail had not left the starting box after the five minutes period, that test was stopped and a maximum score of 300 seconds was recorded. When a quail entered the novel cage, the experimenter recorded, during a three minutes period, the latency of emission of the quail's first rally call and the

number of rally calls produced. The experimenter also noted all behaviours of the quail: locomotion, observation, comfort and fear behaviours as well as stereotypies (pacing) and device observations or explorations.

Novel object test (F2: phd 57, $N_{NS} = 64$, $N_S = 64$ and F3: phd 36-37, $N_{NS} = 35$, $N_S = 51$): Each individual home cage was equipped with an opaque partition (to prevent neighbours from seeing the novel object before being tested). The novel object was an unfamiliar terracotta cup (6 x 7 cm), which was placed at the entrance of the cage. During a six-minute period, the experimenter, placed 1.50 meter from the battery, noted latencies to approach the novel object and all behaviours expressed by the quail: locomotion, observation, comfort and fear behaviours as well as behaviours directed towards the object, stereotypies (pacing) and observation and exploration of home cage.

Learning abilities of F2 and F3 quail

As learning procedures are time consuming and tedious (many different sessions for each subject), we focused on a sample of F2 and F3 quail and tested females and males separately (F2 females (phd 84-88): $N_{NS} = 11$ and $N_S = 11$; F2 males (phd 90-94): $N_{NS} = 16$ and $N_S = 16$; F3 females (phd 42-46): $N_{NS-\text{♀}} = 11$ and $N_{S-\text{♀}} = 14$; F3 males (phd 342-346): $N_{NS-\text{♂}} = 16$ and, $N_{S-\text{♂}} = 16$). The apparatus used for the conditioned place preference (CPP) test was a wooden box (80 x 32 x 38 cm); a removable wall covered with different patterns (i.e. vertical vs horizontal green and yellow bands) could separate this box into two compartments (40 x 32 x 38 cm). One of these compartments contained a cup, which was always filled with food (mealworms (*Tenebrio molitor*), reward-paired compartment), while the second compartment contained a similar but empty cup (reward-unpaired compartment). Quail were first familiarised with the apparatus during a 10-minute session and then trained during two sessions a day for three consecutive days. During each training session, a quail were exposed to the two compartments successively. A quail was placed first for three minutes in a first compartment with the cup containing mealworms. Then, two hours later, it was placed, for the same duration, in the other compartment with an empty cup. The first compartment a quail visited (reward-paired or -unpaired compartment) was counterbalanced between sessions and days. The day following the training phase, quail were submitted to a probe test. For three minutes, they were allowed to explore freely both compartments where both cups were present but neither contained mealworms. Latencies to visit both cups and times spent in each compartment were recorded.

H3K27me3 and H3K4me2 immunochemistry of F3 females

To examine the influence of PMS on brain epigenetic mechanisms, we assessed by immunohistochemistry the expression of H3K27me3 and H3K4me2 in different regions of quail's brains (phd 190, N_{NS} = 7, N_S = 9). In order to minimise the number of brains collected, we focused our study on the F3 females. Seven NS and nine S females (from different mothers and who did not participate in the learning tests) were deeply anaesthetised by intraperitoneal injection of pentobarbital, perfused transcardially via the left ventricle with 80 mL 1% sodium nitrite in phosphate-buffered saline, followed by 300mL of ice-cold 4% paraformaldehyde solution in 0.1M phosphate buffer containing 15% (v/v) saturated picric acid.

After perfusion, brains were removed from the skull, post-fixed overnight in the same fixative and cryoprotected in a 20% sucrose-0.1% sodium azide solution in 0.1M phosphate buffer. Then they were frozen 30 seconds in a bath of -50°C isopentane. Frontal free-floating sections were cut on a cryostat (NX70, MM France, Brignais, France) at a thickness of 30 µm and stored in 0.025M Tris Buffer Saline (TBS)-0.1% sodium azide, pH 7.4 (TBSA). First, sections were rinsed in TBS for five minutes and treated in 0.1% sodium borohydride in TBS under gentle agitation (30 minutes at room temperature). After four baths in TBS, sections were pre-incubated (one hour at room temperature) in TBSA-T (0.3% Triton)-1% Bovine Serum Albumin (BSA) to increase the permeability of plasma membrane. Sections were then incubated (48 hour at 4°C) in 1:500 rabbit anti-H3K27me3 primary antibody (Millipore, Molsheim, France) or in 1:1000 rabbit anti-H3K4me2 primary antibody (Abcam, Cambridge, UK) in TBSTA-1% BSA. Sections were rinsed twice in TBS-0.3% Triton (TBS-T) for five minutes and twice in TBS for five minutes. Then, sections were incubated (two hours at room temperature) in 1:2000 secondary antibody (Donkey anti-rabbit-488; Jackson ImmunoResearch, Peterborough, UK) in 0.3% TBS-saponin-0.1% BSA. After four rinses in TBS, sections were immersed in Hoechst (nuclear staining, Hoechst 33258, 2µg/mL in distilled water, Invitrogen, Cergy Pontoise, France) for two minutes and rinsed in TBS four times. Finally sections were mounted on gelatin-coated glass slides, allowed to dry and covered-slipped using Fluoromount-G (Southern Biotech, Birmingham, USA). The slides were stored at 4°C in the dark until analysis. The number of H3K27me3 and H3K4me2 positive cells were counted under a fluorescence microscope (Axioskope 2; Zeiss, Germany) with a magnification of 20X associated with a cell count analysis software (computerized image analysis; Mercator; Explora Nova, La Rochelle, France) through a camera.

H3K27me3 and H3K4me2 positive cells were counted in the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN), the hippocampus (Hp) and in the following subnuclei of the

arcopallium/amygdala: nucleus taeniae (TnA), intermediate (IA), medial (MA), dorsal (DA), and posterior amygdaloid (PoA). The brain regions were identified in accordance with the stereotaxic atlas of the chick brain (Kuenzel and Masson, 1988), its revised nomenclature (Reiner et al., 2004) and the quail brain atlas (Baylé et al., 1974). The densities of H3K27me3 and H3K4me2 positive cells were averaged (total number of positive cells divided by the total area of the counted region) to obtain a single value per brain region. Due to problems with brain sections and immunohistochemistry, the brain structures of interest could not be analysed in all the females studied (supporting information (SI), **Table S9** for further details).

Statistical analyses

Statistical analyses were computed using R v.3.6.2 software (R Core Team, 2019). Due to our relatively small sample size, all data related to the F1 and F2 eggs and the F3 females' immunochemistry were analysed using Fisher-Pitman permutation tests (package coin (Hothorn et al., 2006)) with the stress effect (NS, S) as factor.

As the body mass residuals were not normally distributed, they were first log transformed and analysed using a linear mixed model (LMM). Stress effect, sex, day and their interactions were used as fixed factors. Quail's identities were added as a random factor.

To characterise the global emotional reactivity of both the F2 and F3 generation subjects, we ran Principal Component Analyses (PCA). To perform PCAs, we used all the data from the tonic immobility, the emergence and the novel object tests. Some behaviours were rarely observed. Therefore, for each test, we grouped them into broad categories, such as fear (jumping, freezing, low and high observation, fear postures), observation, exploration or comfort (preening, stretching, dust bathing, resting) behaviours. Then to select the variables to be included in the PCA, we used the VIF or Variance Inflation Factor (package usdm (Naimi et al., 2014)). VIF is a measure of the amount of multicollinearity. A large VIF on an independent variable indicates a highly collinear relationship to the other variables. We selected variables presenting a VIF lower than a predefined threshold of 5. For both the F2 and F3 generations, only the latency of feet emergence in the emergence test was removed from the analysis. We run PCA (package FactoMineR (Lê et al., 2008)) with the selected variables (centered and reduced automatically). Individuals included in the PCA all passed the tonic immobility and the emergence tests but not necessarily the novel object test. All missing data were therefore automatically substituted by the mean value of each variable. For

each PCA, we extracted the principal components by examining visually Cattell's scree-plot (Budaev, 2010). To interpret PCAs we selected variables with positive or negative loadings >0.5 (Budaev, 2010). Individual's factorial scores were analysed on the selected component using a linear model (LM). Stress effect, sex and their interactions were used as fixed factors.

Data from the CPP tests were analysed using LMM. Latency data for reaching the reward-paired and the reward-unpaired cups were first log transformed. Stress effect, sex, compartment (reward-paired, reward-unpaired) and their interactions were used as fixed factors. Quail's identities were added as a random factor.

Model assumptions were checked by visual inspection of residual and fitted value plots (package RVAideMemoire, Hervé, 2021). For LM and LMM, statistical analyses were computed using the nlme (Pinheiro et al., 2020) and car (Fox and Weisberg, 2019) packages. Residuals were tested using the RVAideMemoire package (Hervé, 2021). When interactions were significant, all analyses were followed by multiple comparisons (package emmeans, Lenth et al., 2020). α was set at 0.05 for all analyses.

Results

Characteristics of F1 and F2 females' eggs

F2 NS and S chicks developed in eggs with different compositions. Eggs of F1 S females contained less albumen than those of F1 NS females (Fisher-Pitman permutation, $Z = 2.392$, $p = 0.014$; SI, **Table S1**). Moreover, yolks of F1 S eggs contained lower androgens (androstenedione + testosterone) concentrations than did yolks of F1 NS eggs (**Figure 1**; Fisher-Pitman permutation, $Z = 1.952$, $p = 0.049$).

Egg characteristics differed also for the F2 generation. F2 S yolks contained higher androgens concentrations (ng/yolk) than F2 NS eggs (**Figure 1**; Fisher-Pitman permutation, $Z = -1.976$, $p = 0.042$). This result could be linked to the weight of the yolk, which is bigger for the F2 S eggs than for the F2 NS eggs (Fisher-Pitman permutation, $Z = -2.094$, $p = 0.034$; supporting information, Table S1). We could not evidence any other significant differences for either of the F1 and F2 generation egg groups ($p > 0.05$; SI, **Table S1**).

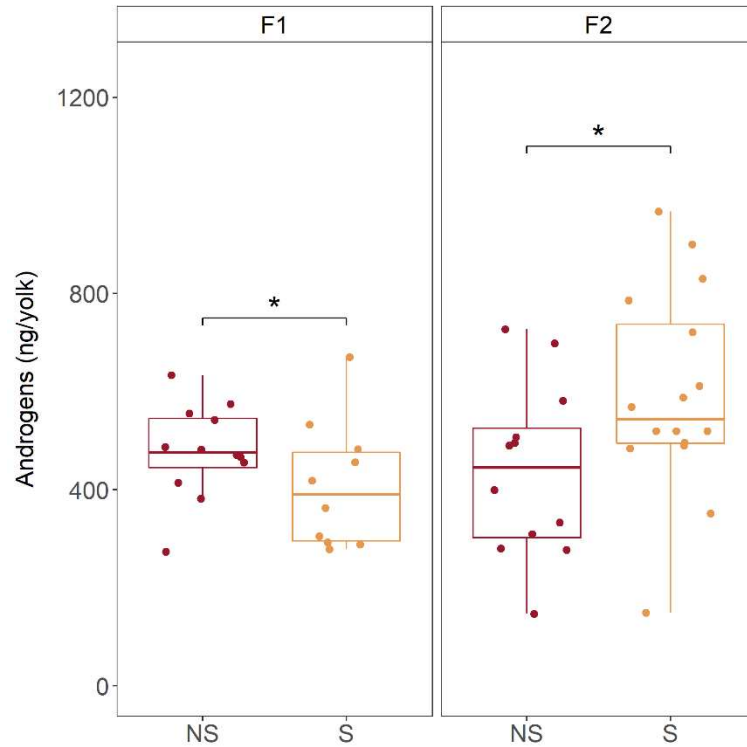


Figure 1 | Androgen concentrations (ng/yolk) in F1 and F2 eggs of NS and S females. Androgen concentrations were assessed for one egg per female (F1: $N_{NS} = 12$, $N_S = 10$; F2: $N_{NS} = 12$, $N_S = 16$) by cumulating testosterone and androstenedione concentrations. * $p < 0.05$. See SI, Table S1.

Growth of F2 and F3 offspring

Between hatching (phd1) and the beginning of sexual maturation (phd21), we could not evidenced any significant differences in growth between F2 S and NS males. However F2 S females were lighter than F2 NS females (LMM, effect of stress x sex: $X^2 = 6.932$, $p = 0.008$; males: $p = 0.201$; females: $p = 0.016$; SI, **Table S2** and **Table S3**). We could not evidence any significant differences in growth between the F3 S and NS subjects (SI, **Table S2** and **Table S3**; $p > 0.05$).

Emotional reactivity of F2 and F3 offspring

Analysis of F2 subjects' behaviours by PCA revealed two components explaining 28.71% of the overall variance. The first component (16.48% of the total variance) is represented by variables assessed during the novel object test and illustrates neophobia. It discriminated individuals

expressing longer latencies to approach the cup and more stereotypical behaviours of individuals expressing more cup observations and explorations as well as more median observations postures and home cage observations. Here, F2 S quail had lower factorial scores, indicating that they were more neophobic than F2 NS quail (**Figure 2**; LM, effect of stress: $F_{(1,133)} = 10.761$, $p = 0.001$; SI, **Table S4** and **Table S6**). The second component (12.23% of the overall variance) is represented by variables recorded during the emergence tests and mainly illustrates a subject's reaction to social isolation. It differentiated individuals presenting longer latencies to emit a rally call from individuals expressing more fear reactions and producing more rally calls. We could not evidence any significant differences between F2 NS and S quail's factorial scores for this component (**Figure 2**; LM, effect of stress: $F_{(1,133)} = 0.076$, $p = 0.784$; SI, **Table S4** and **Table S6**).

PCA analysis of F3 subjects' behaviours revealed three components explaining 35.98% of the overall variance. The first component (15.44% of the total variance) is represented by variables assessed during the emergence tests and illustrates especially a quail's reaction to social isolation. It differentiated individuals presenting high latencies to emit rally calls from individuals expressing more stereotypical behaviours and producing more rally calls.

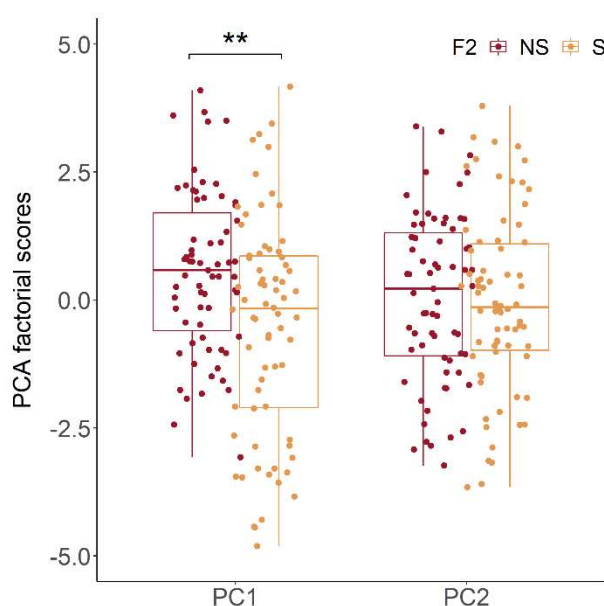


Figure 2 | Factorial scores of individuals for the F2 PCA. PC1 represents the first component of the F2 PCA and illustrates neophobia. Lower scores indicate higher neophobia and vice versa. PC2 represents the second component of the F2 PCA and mainly illustrates reaction to social isolation. Lower scores indicate higher reaction to social isolation and vice versa. ** $p = 0.001$. See SI, **Table S4** and **S6**.

It also identified individuals taking longer to emerge completely from the starting box. We could not evidence any significant differences between F3 NS and S quail's factorial scores for this component (**Figure 3A**; LM, effect of stress: $F_{(1,84)} = 1.559$, $p = 0.215$; SI, **Table S5** and **Table S6**). The second component (10.92% of the total variance) is represented by variables assessed during the novel object test and illustrates again neophobia. It discriminated individuals expressing longer latencies to approach the cup from individuals presenting more frequently the median observation posture and cup observations and explorations. We observed an interaction between stress and sex (**Figure 3A** and **B**; LM, effect of stress x sex: $F_{(1,84)} = 5.280$, $p = 0.024$; SI, **Table S5** and **Table S6**). These factorial scores were lower for F3 S females than for F3 NS females indicating that F3 S females were more neophobic (**Figure 3B**; $p = 0.014$). However a similar difference could not be evidenced between F3 NS and S males (**Figure 3B**; $p = 0.527$). The third component (9.62% of the total variance) is represented by variables measured during the emergence tests and mainly illustrates exploration. It identified individuals presenting median observation postures and occurrences of device observations and explorations more frequently. We could not evidence any

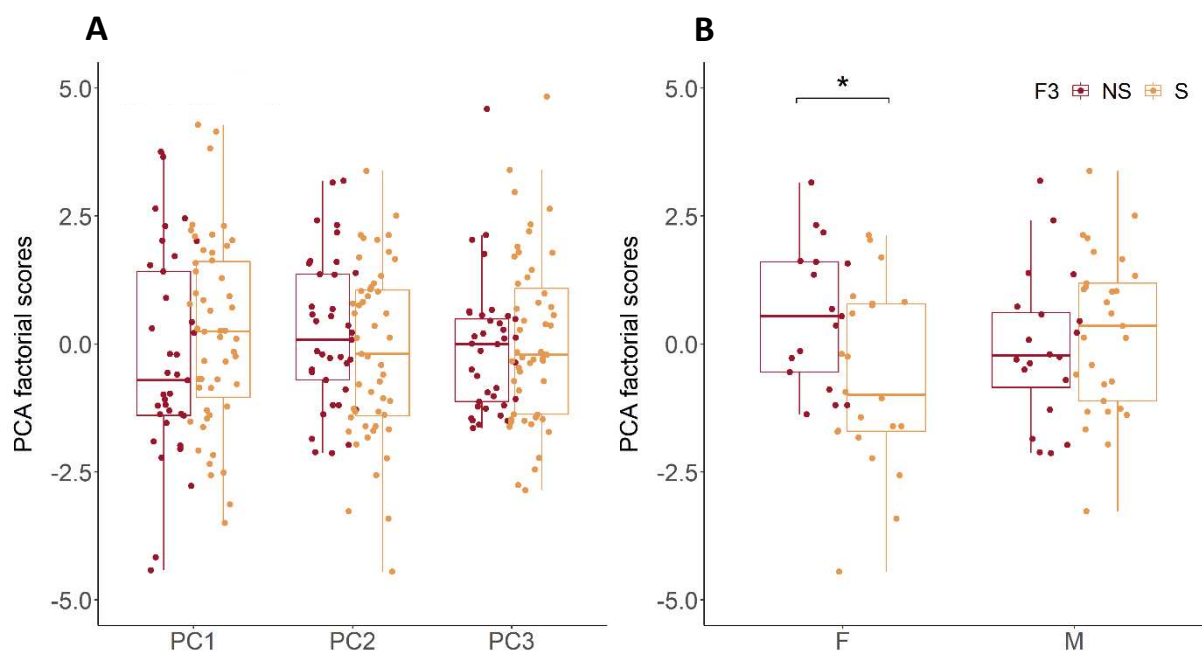


Figure 3 | Factorial scores of individuals for the F3 PCA. A: PC1 represents the first component of the F3 PCA and mainly illustrates reaction to social isolation. Lower scores indicate greater reaction to social isolation and vice versa. PC2 represents the second component of the F3 PCA and illustrates neophobia. Lower scores indicate greater neophobia and vice versa. PC3 represents the third component of the F3 PCA and illustrates exploration. Higher scores indicate more frequent exploration behaviours and vice versa. A significant interaction between the stress and the sex effects was found for PC2 and is represented in **B**. **B:** Factorial scores of F3 NS and S females (F) and males (M) for PC2. * $p < 0.05$. See SI, **Tables S5** and **S6**.

significant differences between F3 NS and S quail's factorial scores for this component (**Figure 3A**; LM, effect of stress: $F_{(1,84)} = 0.213$, $p = 0.645$; SI, **Table S5** and **Table S6**).

Learning abilities of F2 and F3 offspring

All groups assessed by the CPP test showed a preference for the reward-paired compartment, which is evidenced either by latencies to reach the cup or by the time spent in that compartment. Thus, both S and NS F2 males, F2 females and F3 males visited first the cup which was in the reward-paired compartment (LMM, effect of compartment: F2 S and NS females: $X^2 = 5.623$, $p = 0.017$; F2 S and NS males: $X^2 = 6.175$, $p = 0.013$; F3 S and NS males: $X^2 = 11.822$, $p = 5.85e-04$; SI, **Table S7** and **Table S8**). Both S and NS F3 females spent more time in the reward-paired compartment than in the reward-unpaired compartment (LMM, effect of compartment: $X^2 = 8.579$, $p = 0.003$; SI, **Table S7** and **Table S8**). Interestingly, concerning time spent in a compartment, we found, for F3 males, a significant interaction between stress and compartment effects (LMM, effect of stress x compartment: $X^2 = 19.163$, $p = 1.200e-05$; SI, **Table S7** and **Table S8**). Contrary to F3 NS males ($p = 0.309$), F3 S males spent more time in the reward-paired compartment than in the reward-unpaired compartment ($p < 0.001$). They also spent more time than F3 NS males in the reward-paired compartment ($p = 0.023$).

Expression of H3K27me3 and H3K4me2 in F3 female's brain

We could not evidence any significant differences between F3 NS and S females concerning the expression of H3K27me3 or H3K4me2 ($p > 0.05$; SI, **Table S9**). However, in the TnA, H3K4me2 levels tended to be lower in F3 S females than in F3 NS females (means \pm SEM, NS: 5136.0 ± 277.9 positive cells/ μm^2 , S: 4060.0 ± 350.7 positive cells/ μm^2 ; Fisher-Pitman permutation, $Z = 1.889$, $p = 0.056$; SI, **Table S9**).

Discussion

Our study evidenced significant multi- and trans-generational effects of PMS on Japanese quail offspring's emotional reactivity. Both F2 and F3 S offspring appeared more emotive than NS offspring. Growth of F2 S females appeared delayed and S offspring emotional reactivity, especially

their neophobia appeared to have been influenced by PMS. Our findings revealed that S offspring, in presence of a novel object, were less likely to approach it. They also expressed more stereotypical behaviours compared to NS offspring that observed and explored more a novel object. Similar multi-generational effects of PMS have been reported previously, showing that F2 stressed quail offspring expressed greater fearfulness in a novel environment (Guibert et al., 2013). Interestingly, the effects of PMS we observed for the F2 offspring were also evidenced in the subsequent generation. F3 S females, just as F2 S offspring, expressed more neophobic behaviours in the presence of a novel object. They approached it more slowly and explored it less than did F3 NS females. These findings provide evidence for a trans-generational effect of PMS on quail's behaviour. Very few studies have investigated trans-generational effects of stress on behaviour of F3 generation offspring and beyond (Matthews and Phillips, 2012), information is thus extremely limited. Most evidence for these effects currently comes from studies of mammals following exposure of the F0 generation to endocrine disruptors or variable diets (Skinner et al., 2008). To the best of our knowledge, only one study concerning birds had previously shown maternal transgenerational effects on offspring behaviour. Japanese quail F0 eggs injected genistein influenced F3 females' sexual maturity and F3 offspring's body mass and emotional reactivity (Leroux et al., 2017).

In contrast to their emotional reactivity, the learning abilities of the F2 and F3 offspring did not seem to be affected by PMS. The CPP tests showed that males and females of the F2 and F3 generations learned to associate a compartment (with a specific pattern) of the device with a food reward. This result is not surprising as PMS did not modify F1 generation offspring's learning abilities evaluated by a CPP test (Charrier et al., submitted). Learning does not manifest the same way for all of our groups, sex and generations: quail spent more time and / or visited the cup in the reward-paired compartment quicker than the cup in the reward-unpaired compartment. These differences may indicate different coping styles or strategies. For example, F3 S males, unlike F3 NS males, stayed longer close to the cup in the reward-paired compartment but both groups learned the task and reached the reward-paired cup significantly faster than the reward-unpaired cup. Similarly, prenatally stressed rats tested in a Morris water maze, spent more time in the platform quadrant during the platform removal test than did non stressed rats. According to the authors, this behaviour would not reflect a better retention of prenatally stressed rats but rather a perseverant response strategy (Szuran et al., 1994).

Interestingly, our results suggest that PMS effects on emotional reactivity are transmitted to the F2 and F3 generations in a sex-specific manner. Only the growth of F2 females was influenced

by PMS and, while F2 S males and females exhibited a greater neophobia, these effects persisted only in females in the F3 generation. The mechanisms involved in these sex-specific effects remain to be determined, but many studies have already described such transgenerational sex-specific effects (Benyshek et al., 2006; Franklin et al., 2010). For instance, a maternal high-fat diet during pregnancy increased the body size of both F2 male and female mice, but these effects were evidenced only for F3 females (Dunn and Bale, 2009, 2011). Also, embryonic exposure of rats to vinclozolin, an endocrine disruptor, lead either to a decrease or an increase of anxiety-like behaviours of F3 males or females, respectively (Skinner et al., 2008).

In order to explain these transgenerational effects of PMS and to highlight the possible involvement of epigenetic modifications in the behavioural effects we observed, we assessed the levels of H3K27me3 and H3K4me2 in F3 females in the paraventricular hypothalamic nucleus, the hippocampus and different nuclei of the arcopallium/amygdala, brain regions known to be involved in birds' neophobia and fearfulness (Perez et al., 2020; Revest et al., 2009). We found that the density of cells expressing H3K4me2 in the TnA tended to be lower in F3 S females than in F3 NS females. This result is only a strong tendency and requires further investigations. However, this nucleus of the amygdala complex has been shown to be involved in neophobia (Perez et al., 2020) one of the main transgenerational behavioural effects of PMS we observed in quail. Contrary to what we observed previously in F1 offspring born from stressed mothers, H3K27me3 was not significantly impacted in F3 offspring's brains. These findings may indicate that this epigenetic mark may be more engaged in inter-generational than trans-generational effects of PMS and further studies are still necessary to unravel epigenetic mechanisms that are involved in the transgenerational effect of PMS.

Another non-exclusive transmission pathway could explain the transgenerational effects of PMS. Birds' maternal hormones (androgens, progesterone) are known to influence offspring development, brain and behaviour (Groothuis et al., 2005). Steroid hormones deposited in the eggs thus could be good candidates to explain the behavioural multi- and trans-generational effects of PMS we observed. Our findings could support this hypothesis. S F1 females' eggs contained less albumen and had lower yolk androgens levels than those of NS F1 females. S F2 females' eggs contained more vitellus and had higher yolk androgens levels than those of NS F1 females. Surprisingly, egg contents differed between S F1 and F2 females, but both groups were correlated to greater emotional reactivity of S F2 and F3 offspring. No consensus exists regarding the effects of androgens on offspring behaviour. Some studies found that an increase in testosterone concentrations *in ovo* lead to a more pronounced emotional reactivity (Guibert et al., 2011;

Okuliarová et al., 2007). Others showed the opposite: chicks from testosterone injected eggs were less neophobic and fearful than the control (Bertin et al., 2015). Hormone-mediated maternal effects are intriguing and complex and still deserve further research. Discrepancies among studies may be related to a multitude of factors including the dose-response relationship of a given hormone (Groothuis and Schwabl, 2008), interactions between various hormonal and/or non-hormonal constituents (Groothuis et al., 2020; Hegyi and Schwabl, 2010) or even the embryo itself that could be not, merely a passive responder, but could play an active role in dealing with maternal hormones (Groothuis et al., 2020).

Interestingly, neither offspring's general fearfulness nor their reactions following social isolation and exposition to a novel environment were influenced by PMS. The transgenerational effects of PMS seem to be very specific and limited to object neophobia. S offspring of both the F2 and F3 generations reacted in the same way by expressing more neophobia or at least less neophilia when facing a novel object. Recently, neophobia has been studied, in a wide range of taxa, focusing on its adaptive value (Greggor et al., 2015). Generally, displaying neophobia is considered as a balance encompassing the benefits to avoid unnecessary risks (e.g. encountering predators) and the costs due to missed opportunities (e.g. discovering new resources). Neophobia has been reported to be correlated with the expression of behavioural innovation (Greenberg, 2003), to play a fundamental role in the ability to cope with new environments and resources (Greenberg and Mettke-Hofmann, 2001) and to have implications for fitness (Ferrari et al., 2015). Our findings thus suggest that PMS could play a role in modulating, across generations, the capacity of birds to adapt to and survive in their living conditions.

Overall, our findings provide evidence that PMS can influence individuals' phenotype across generations. More specifically PMS seems to affect a specific dimension of quail's emotional reactivity: neophobia. Further research will be necessary to identify the mechanisms that are responsible for the transgenerational effects of PMS on neophobia. Our findings highlight the possible role of PMS in modulating, across generations, birds' capacities to survive.

References

Baylé, J.D., Ramade, F., and Oliver, J. (1974). Stereotaxic topography of the brain of the quail (*Coturnix coturnix japonica*). *J. Physiol. (Paris)* 68, 219–241.

- Benyshek, D.C., Johnston, C.S., and Martin, J.F. (2006). Glucose metabolism is altered in the adequately-nourished grand-offspring (F3 generation) of rats malnourished during gestation and perinatal life. *Diabetologia* 49, 1117–1119.
- Bertin, A., Arnould, C., Moussu, C., Meurisse, M., Constantin, P., Leterrier, C., and Calandreau, L. (2015). Artificially Increased Yolk Hormone Levels and Neophobia in Domestic Chicks. *Animals* 5, 1220–1232.
- Budaev, S.V. (2010). Using Principal Components and Factor Analysis in Animal Behaviour Research: Caveats and Guidelines. *Ethology* 116, 472–480.
- Calandreau, L., Bertin, A., Boissy, A., Arnould, C., Constantin, P., Desmedt, A., Guémené, D., Nowak, R., and Leterrier, C. (2011). Effect of one week of stress on emotional reactivity and learning and memory performances in Japanese quail. *Behavioural Brain Research* 217, 104–110.
- Cao-Lei, L., Laplante, D.P., and King, S. (2016). Prenatal Maternal Stress and Epigenetics: Review of the Human Research. *Curr Mol Bio Rep* 2, 16–25.
- Charrier, M., Lumineau, S., Georgelin, M., Meurisse, M., Palme, R., Angelier, F., Cornilleau, F., Constantin, P., Coustahm, V., Nicolle, C., Bertin, A., Darmaillacq, A.S., Dickel, L., Guémené, D., Calandreau, L., Houdelier, C. (2021). Prenatal maternal stress is associated with behavioural and epigenetic changes in Japanese quail. *Submitted in Psychoneuroendocrinology*.
- Chin, E.H., Love, O.P., Verspoor, J.J., Williams, T.D., Rowley, K., and Burness, G. (2009). Juveniles exposed to embryonic corticosterone have enhanced flight performance. *Proc. R. Soc. B* 276, 499–505.
- Coslovsky, M., and Richner, H. (2011). Predation risk affects offspring growth via maternal effects: Maternal effects due to predation risk. *Functional Ecology* 25, 878–888.
- Crino, O.L., and Breuner, C.W. (2015). Developmental stress: evidence for positive phenotypic and fitness effects in birds. *J Ornithol* 156, 389–398.
- Dunn, G.A., and Bale, T.L. (2009). Maternal High-Fat Diet Promotes Body Length Increases and Insulin Insensitivity in Second-Generation Mice. *Endocrinology* 150, 4999–5009.
- Dunn, G.A., and Bale, T.L. (2011). Maternal High-Fat Diet Effects on Third-Generation Female Body Size via the Paternal Lineage. *Endocrinology* 152, 2228–2236.
- Eising, C.M., and Groothuis, T.G.G. (2003). Yolk androgens and begging behaviour in black-headed gull chicks: an experimental field study. *Animal Behaviour* 66, 1027–1034.
- Ferrari, M.C.O., McCormick, M.I., Meekan, M.G., and Chivers, D.P. (2015). Background level of risk and the survival of predator-naïve prey: can neophobia compensate for predator naivety in juvenile coral reef fishes? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 282, 20142197.
- Forkman, B., Boissy, A., Meunier-Salaün, M.-C., Canali, E., and Jones, R.B. (2007). A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology & Behavior* 92, 340–374.
- Fox, J., and Weisberg, S. (2019). *An {R} Companion to Applied Regression*.

- Franklin, T.B., Russig, H., Weiss, I.C., Gräff, J., Linder, N., Michalon, A., Vizi, S., and Mansuy, I.M. (2010). Epigenetic Transmission of the Impact of Early Stress Across Generations. *Biological Psychiatry* 68, 408–415.
- Goerlich, V.C., Nätt, D., Elfving, M., Macdonald, B., and Jensen, P. (2012). Transgenerational effects of early experience on behavioral, hormonal and gene expression responses to acute stress in the precocial chicken. *Hormones and Behavior* 61, 711–718.
- Greenberg, R. (2003). The Role of Neophobia and Neophilia in the Development of Innovative Behaviour of Birds. In *Animal Innovation*, S.M. Reader, and K.N. Laland, eds. (Oxford University Press), pp. 175–196.
- Greenberg, R., and Mettke-hofmann, C. (2001). Ecological Aspects of Neophobia and neophilia in birds. In *Current Ornithology*, Volume 16, V. Nolan, and C.F. Thompson, eds. (Boston, MA: Springer US), pp. 119–178.
- Greggor, A.L., Thornton, A., and Clayton, N.S. (2015). Neophobia is not only avoidance: improving neophobia tests by combining cognition and ecology. *Current Opinion in Behavioral Sciences* 6, 82–89.
- Groothuis, Ton.G.G., and Schwabl, H. (2008). Hormone-mediated maternal effects in birds: mechanisms matter but what do we know of them? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 363, 1647–1661.
- Groothuis, T.G., Kumar, N., and Hsu, B.-Y. (2020). Explaining discrepancies in the study of maternal effects: the role of context and embryo. *Current Opinion in Behavioral Sciences* 36, 185–192.
- Groothuis, T.G.G., Müller, W., von Engelhardt, N., Carere, C., and Eising, C. (2005). Maternal hormones as a tool to adjust offspring phenotype in avian species. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29, 329–352.
- Guerrero-Bosagna, C., Morisson, M., Liaubet, L., Rodenburg, T.B., de Haas, E.N., Košťál, L., and Pitel, F. (2018). Transgenerational epigenetic inheritance in birds. *Environmental Epigenetics* 4.
- Guibert, F., Richard-Yris, M.-A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Guémené, D., Bertin, A., Möstl, E., and Houdelier, C. (2010). Social Instability in Laying Quail: Consequences on Yolk Steroids and Offspring's Phenotype. *PLoS ONE* 5, e14069.
- Guibert, F., Richard-Yris, M.-A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Bertin, A., Petton, C., Möstl, E., and Houdelier, C. (2011). Unpredictable mild stressors on laying females influence the composition of Japanese quail eggs and offspring's phenotype. *Applied Animal Behaviour Science* 132, 51–60.
- Guibert, F., Lumineau, S., Kotrschal, K., Möstl, E., Richard-Yris, M.-A., and Houdelier, C. (2013). Trans-generational effects of prenatal stress in quail. *Proc. R. Soc. B* 280, 20122368.
- Hackl, R., Bromundt, V., Daisley, J., Kotrschal, K., and Möstl, E. (2003). Distribution and origin of steroid hormones in the yolk of Japanese quail eggs (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 173, 327–331.
- Hayward, L.S., and Wingfield, J.C. (2004). Maternal corticosterone is transferred to avian yolk and may alter offspring growth and adult phenotype. *General and Comparative Endocrinology* 135, 365–371.

- Hegyí, G., and Schwabl, H. (2010). Do different yolk androgens exert similar effects on the morphology or behaviour of Japanese quail hatchlings *Coturnix japonica*? *Journal of Avian Biology* 41, 258–265.
- Henriksen, R., Rettenbacher, S., and Groothuis, T.G.G. (2011). Prenatal stress in birds: Pathways, effects, function and perspectives. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 35, 1484–1501.
- Hervé, M. (2021). *RVAideMemoire: Testing and Plotting Procedures for Biostatistics*.
- Hothorn, T., Hornik, K., van de Wiel, M.A., and Zeileis, A. (2006). A Lego System for Conditional Inference. *The American Statistician* 60, 257–263.
- Hunter, R.G., McCarthy, K.J., Milne, T.A., Pfaff, D.W., and McEwen, B.S. (2009). Regulation of hippocampal H3 histone methylation by acute and chronic stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 106, 20912–20917.
- Janczak, A.M., Torjesen, P., Palme, R., and Bakken, M. (2007). Effects of stress in hens on the behaviour of their offspring. *Applied Animal Behaviour Science* 107, 66–77.
- Jones, R.B. (1996). Fear and adaptability in poultry: insights, implications and imperatives. *Worlds Poult. Sci. J.* 52, 131–174.
- Khan, N., Peters, R.A., Richardson, E., and Robert, K.A. (2016). Maternal corticosterone exposure has transgenerational effects on grand-offspring. *Biol. Lett.* 12, 20160627.
- Kuenzel, W.J., and Masson, M. (1988). *A Stereotaxic Atlas of the Brain of the Chick (Gallus Domesticus)* (Johns Hopkins University Press).
- Laurence, A., Lumineau, S., Calandreau, L., Arnould, C., Leterrier, C., Boissy, A., and Houdelier, C. (2014). Short- and Long-Term Effects of Unpredictable Repeated Negative Stimuli on Japanese Quail's Fear of Humans. *PLoS ONE* 9, e93259.
- Lê, S., Josse, J., and Husson, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software* 25, 18.
- Lenth, R., Buerkner, P., Herve, M., Love, J., Riebl, H., and Singmann, H. (2020). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means.
- Leroux, S., Gourichon, D., Leterrier, C., Labrune, Y., Coustham, V., Rivière, S., Zerjal, T., Coville, J.-L., Morisson, M., Minvielle, F., et al. (2017). Embryonic environment and transgenerational effects in quail. *Genet Sel Evol* 49, 14.
- Lindqvist, C., Janczak, A.M., Nätt, D., Baranowska, I., Lindqvist, N., Wichman, A., Lundeberg, J., Lindberg, J., Torjesen, P.A., and Jensen, P. (2007). Transmission of Stress-Induced Learning Impairment and Associated Brain Gene Expression from Parents to Offspring in Chickens. *PLoS ONE* 2, e364.
- Lowndes, M., and Davies, D.C. (1995). The effect of archistriatal lesions on “open field” and fear/avoidance behaviour in the domestic chick. *Behav Brain Res* 72, 25–32.
- Lubin, F.D., Gupta, S., Parrish, R.R., Grissom, N.M., and Davis, R.L. (2011). Epigenetic Mechanisms: Critical Contributors to Long-Term Memory Formation. *Neuroscientist* 17, 616–632.

- Matthews, S.G., and Phillips, D.I. (2012). Transgenerational inheritance of stress pathology. *Experimental Neurology* 233, 95–101.
- Mills, A.D., and Faure, J.-M. (1986). The estimation of fear in domestic quail: correlations between various methods and measures. *Biology of Behaviour* 11, 235–243.
- Möstl, E., Spendier, H., and Kotrschal, K. (2001). Concentration of immunoreactive progesterone and androgens in the yolk of hens' eggs (*Gallus domesticus*). *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 88, 62–65.
- Naimi, B., Hamm, N.A.S., Groen, T.A., Skidmore, A.K., and Toxopeus, A.G. (2014). Where is positional uncertainty a problem for species distribution modelling? *Ecography* 37, 191–203.
- Nätt, D., Lindqvist, N., Stranneheim, H., Lundeborg, J., Torjesen, P.A., and Jensen, P. (2009). Inheritance of Acquired Behaviour Adaptations and Brain Gene Expression in Chickens. *PLoS ONE* 4, e6405.
- Okuliarová, M., Škrobánek, P., and Zeman, M. (2007). Effect of Increasing Yolk Testosterone Levels on Early Behaviour in Japanese Quail Hatchlings. *Acta Vet. Brno* 76, 325–331.
- Orcutt, Jr., F.S., and Orcutt, A.B. (1976). Nesting and Parental Behavior in Domestic Common Quail. *The Auk* 93, 135–141.
- Perez, M.F., and Lehner, B. (2019). Intergenerational and transgenerational epigenetic inheritance in animals. *Nat Cell Biol* 21, 143–151.
- Perez, E.C., Meurisse, M., Hervé, L., Georgelin, M., Constantin, P., Cornilleau, F., Love, S.A., Lévy, F., Calandreau, L., and Bertin, A. (2020). Object and food novelty induce distinct patterns of c-fos immunoreactivity in amygdala and striatum in domestic male chicks (*Gallus gallus domesticus*). *Behavioural Brain Research* 381, 112453.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., and R Core Team (2020). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models.
- Reiner, A., Perkel, D.J., Bruce, L.L., Butler, A.B., Csillag, A., Kuenzel, W., Medina, L., Paxinos, G., Shimizu, T., Striedter, G., et al. (2004). Revised nomenclature for avian telencephalon and some related brainstem nuclei. *J. Comp. Neurol.* 473, 377–414.
- Revest, J.-M., Dupret, D., Koehl, M., Funk-Reiter, C., Grosjean, N., Piazza, P.-V., and Abrous, D.N. (2009). Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Molecular Psychiatry* 14, 959–967.
- Saino, N., Romano, M., Ferrari, R.P., Martinelli, R., and Møller, A.P. (2005). Stressed mothers lay eggs with high corticosterone levels which produce low-quality offspring. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology* 303A, 998–1006.
- Saint-Dizier, H., Constantin, P., Davies, D.C., Leterrier, C., Lévy, F., and Richard, S. (2009). Subdivisions of the arcopallium/posterior pallial amygdala complex are differentially involved in the control of fear behaviour in the Japanese quail. *Brain Research Bulletin* 79, 288–295.
- Sheriff, M.J., and Love, O.P. (2013). Determining the adaptive potential of maternal stress. *Ecology Letters* 16, 271–280.

Skinner, M.K. (2008). What is an epigenetic transgenerational phenotype? F3 or F2. *Reprod Toxicol* 25, 2–6.

Skinner, M.K., Anway, M.D., Savenkova, M.I., Gore, A.C., and Crews, D. (2008). Transgenerational Epigenetic Programming of the Brain Transcriptome and Anxiety Behavior. *PLoS ONE* 3, e3745.

Stankiewicz, A.M., Swiergiel, A.H., and Lisowski, P. (2013). Epigenetics of stress adaptations in the brain. *Brain Research Bulletin* 98, 76–92.

van Steenwyk, G., and Mansuy, I.M. (2021). Epigenetics and the Impact of Early-Life Stress Across Generations. In *Stress: Genetics, Epigenetics and Genomics*, (Elsevier), pp. 297–307.

Szuran, T., Zimmermann, E., and Welzl, H. (1994). Water maze performance and hippocampal weight of prenatally stressed rats. *Behavioural Brain Research* 65, 153–155.

Tzschentke, T.M. (2007). Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade. *Addict Biol* 12, 227–462.

Zimmer, C., Boogert, N.J., and Spencer, K.A. (2013). Developmental programming: Cumulative effects of increased pre-hatching corticosterone levels and post-hatching unpredictable food availability on physiology and behaviour in adulthood. *Hormones and Behavior* 64, 494–500.

Supporting information

Table S1 | Eggs characteristics of F1 and F2 females eggs. Masses and hormonal concentrations were measured for one egg per female (F1: N_{NS} = 12, N_S = 10; F2: N_{NS} = 12, N_S = 16). All data in the table are expressed as mean values (\pm SEM). For F2 generation eggs, androgen concentrations are presented in both ng/yolk and ng/g. Significant results are in bold : * $p < 0.05$, # $0.05 < p < 0.10$.

	NS	S	p-value
F1			
Egg mass (g)	13.2 \pm 0.3	12.3 \pm 0.5	0.095 #
Shell mass (g)	1.2 \pm 0.04	1.2 \pm 0.04	0.607
Yolk mass (g)	4.2 \pm 0.1	4.4 \pm 0.2	0.292
Albumen mass (g)	7.4 \pm 0.2	6.2 \pm 0.3	0.014 *
Androgens (ng/yolk)	477.9 \pm 27.4	408.6 \pm 40.7	0.049 *
Progesterone (ng/yolk)	3083.6 \pm 227.2	3034.2 \pm 308.4	0.890
F2			
Egg mass (g)	12.3 \pm 0.5	12.8 \pm 0.4	0.472
Shell mass (g)	1.07 \pm 0.04	1.07 \pm 0.02	0.930
Yolk mass (g)	3.8 \pm 0.1	4.3 \pm 0.2	0.034 *
Albumen mass (g)	6.9 \pm 0.3	6.9 \pm 0.2	0.973
Androgens (ng/yolk)	437.1 \pm 51.3	593.8 \pm 52.0	0.042 *
Androgens (ng/g)	111.8 \pm 9.6	142.05 \pm 14.7	0.097 #
Progesterone (ng/yolk)	5440.2 \pm 777.4	6262.5 \pm 806.1	0.476
Progesterone (ng/g)	1422.9 \pm 188.1	1476.1 \pm 199.1	0.851

Table S2 | Morphological characteristics of F2 and F3 chicks. Mass (g) of F2 and F3 NS and S chicks from hatching (day 1; F2: N_{NS} = 96, N_S = 70; F3: N_{NS} = 36, N_S = 52) to 3 weeks-old (day 21; F2: N_{NS} = 99, N_S = 70; F3: N_{NS} = 36, N_S = 51). phd = post hatching day. All data in the table are expressed as mean values (\pm SEM).

Sexe	NS		S	
	♀	♂	♀	♂
F2				
phd 1	9.5 \pm 0.1	9.3 \pm 0.1	9.1 \pm 0.2	9.3 \pm 0.1
phd 21	179.3 \pm 2.3	170.5 \pm 1.7	174.1 \pm 2.6	177.9 \pm 2.9
F3				
phd 1	9.4 \pm 0.1	9.3 \pm 0.2	9.3 \pm 0.1	9.6 \pm 0.2
phd 21	174.9 \pm 2.6	167.8 \pm 3.8	176.3 \pm 3.3	163.6 \pm 3.5

Table S3 | Statistical analyses of the morphological data. Results of the linear mixed models. Significant results are in bold : ** p < 0.01, *** p < 0.001, # 0.05 < p < 0.1.

	F2			F3		
	X ²	df	p-value	X ²	df	p-value
Stress	0.566	1	0.452	0.002	1	0.963
Sexe	1.029	1	0.310	2.939	1	0.086
Day	126166.4	1	< 2.2e-16 ***	53469.4	1	< 2.2e-16 ***
Stress*Sexe	6.932	1	0.008 **	0.003	1	0.955
Stress*Day	3.269	1	0.070 #	0.767	1	0.381
Sexe*Day	1.310	1	0.252	9.084	1	0.002 **

Table S4 | Results of the principal components analysis (PCA) of F2 quails ($N_{NS} = 67$, $N_S = 70$). Loadings of the behavioural variables used for F2 PCA (TI = Tonic Immobility test, EM = EMergence test and NO = Novel Object test) and percentage of variance explained for each principal component (PC) selected using the Cattell's scree-plot. Loadings > 0.5 are in bold. Positive and negative loadings of variables explaining PC1 are in dark and light orange, respectively. Positive and negative loadings of variables explaining PC2 are in dark and light yellow, respectively.

PC	F2	
	PC1	PC2
TI Number of induction	0,20	0,16
TI Duration	-0,09	0,24
EM Head emergence latency	-0,06	0,38
EM Full emergence latency	-0,11	0,44
EM Rally calls latency (Box)	-0,11	0,64
EM Number of rally calls (Box)	0,09	-0,81
EM Rally calls latency (Device)	-0,22	0,58
EM Number of rally calls (Device)	0,27	-0,65
EM Median observations	-0,21	0,00
EM Device observations	0,39	0,16
EM Device explorations	0,32	0,12
EM Pacing	-0,05	-0,12
EM Fear behaviours	-0,06	-0,66
EM Comfort behaviours	-0,05	0,09
NO Approach latency	-0,70	-0,02
NO Median observation	0,71	-0,01
NO Home cage observations	0,54	0,03
NO Home cage explorations	0,18	0,12
NO Pacing	-0,72	-0,10
NO Fear behaviours	-0,39	-0,18
NO Comfort behaviours	0,42	0,06
NO Object observations	0,72	0,11
NO Object explorations	0,77	0,09
Eigenvalue	3.79	2.81
% Variance explained	16.48	12.23

Table S5 | Results of the principal components analysis (PCA) of F3 quails ($N_{NS} = 37$, $N_S = 51$). Loadings of the behavioural variables used for F3 PCA (TI = Tonic Immobility test, EM = EMergence test and NO = Novel Object test) and percentage of variance explained for each principal component (PC) selected using the Cattell's scree-plot. Loadings > 0.5 are in bold. . Positive and negative loadings of variables explaining PC1 are in dark and light orange, respectively. Positive and negative loadings of variables explaining PC2 are in dark and light yellow, respectively. Positive loadings of variables explaining PC3 are in green.

PC	F3		
	PC1	PC2	PC3
TI Number of induction	-0.05	0.03	0.46
TI Duration	0.31	0.07	-0.24
EM Rally calls latency (Box)	0.73	-0.12	-0.01
EM Number of rally calls (Box)	-0.83	0.05	-0.05
EM Rally calls latency (Device)	0.61	-0.29	-0.37
EM Number of rally calls (Device)	-0.75	0.31	0.04
EM Head emergence latency	0.46	0.24	-0.21
EM Full emergence latency	0.57	0.21	-0.25
EM Median observations	0.31	0.15	0.58
EM Device observations	0.28	-0.04	0.60
EM Device explorations	0.10	-0.12	0.63
EM Pacing	-0.57	0.26	-0.17
EM Fear behaviours	-0.13	-0.20	-0.16
EM Comfort behaviours	-0.10	0.21	0.46
NO Approach latency	-0.21	-0.53	-0.04
NO Median observation	-0.12	0.61	-0.09
NO Home cage observations	0.20	0.48	-0.19
NO Home cage explorations	-0.03	-0.07	-0.28
NO Pacing	-0.18	-0.14	-0.08
NO Fear behaviours	-0.01	-0.37	0.30
NO Object observations	0.07	0.73	0.00
NO Object explorations	0.26	0.64	0.09
NO Comfort behaviours	0.15	0.19	0.34
Eigenvalue	3.55	2.51	2.21
% Variance explained	15.44	10.92	9.62

Table S6 | Statistical analyses of factorial scores for F2 and F3 quails PCA. Results of the linear mixed models are given for each principal component (PC). Significant results are in bold : * p < 0.05, ** p < 0.01, # 0.05 < p < 0.1.

	F2			F3		
	f-value	df	p-value	f-value	df	p-value
PC1						
Stress	10.761	1	0.001 **	1.559	1	0.215
Sexe	0.438	1	0.509	0.584	1	0.447
Stress*Sexe	0.096	1	0.757	1.205	1	0.275
PC2						
Stress	0.076	1	0.784	1.472	1	0.228
Sexe	0.580	1	0.448	0.586	1	0.446
Stress*Sexe	0.091	1	0.763	5.281	1	0.024 *
PC3						
Stress	-	-	-	0.213	1	0.645
Sexe	-	-	-	3.793	1	0.054 #
Stress*Sexe	-	-	-	0.308	1	0.580

Table S7 | Performances of F2 and F3 quails in the conditioned place preference test. Time spent (s) in both the reward-paired and the reward-unpaired compartments and latency to reach the cups (s) placed in the reward-paired and the reward-unpaired compartments during the probe test of the conditioned place preference test. F2: $N_{NS-\varphi} = 11$, $N_{NS-\sigma} = 16$ and $N_{S-\varphi} = 11$, $N_{S-\sigma} = 16$; F3: $N_{NS-\varphi} = 11$, $N_{NS-\sigma} = 16$ and $N_{S-\varphi} = 14$, $N_{S-\sigma} = 16$. All data in the table are expressed as mean values (\pm SEM).

Generation	F2		F3	
	NS	S	NS	S
Females				
Time spent (s)				
Reward-paired	82.91 \pm 15.17	112.00 \pm 39.00	107.18 \pm 15.16	115.43 \pm 14.53
Reward-unpaired	97.09 \pm 15.53	68.00 \pm 39.00	72.82 \pm 15.16	64.57 \pm 14.53
Latency to reach the cups (s)				
Reward-paired	41.10 \pm 19.89	50.54 \pm 22.94	43.64 \pm 17.78	36.29 \pm 15.44
Reward-unpaired	46.51 \pm 12.36	99.36 \pm 24.72	47.18 \pm 19.95	81.86 \pm 21.50
Males				
Time spent (s)				
Reward-paired	121.29 \pm 10.87	114.44 \pm 9.20	99.13 \pm 8.30	132.23 \pm 6.32
Reward-unpaired	58.71 \pm 10.87	65.56 \pm 9.20	80.87 \pm 8.30	47.77 \pm 6.32
Latency to reach the cups (s)				
Reward-paired	16.86 \pm 4.26	26.63 \pm 8.41	10.13 \pm 2.57	7.62 \pm 2.42
Reward-unpaired	61.93 \pm 18.39	66.31 \pm 17.26	19.33 \pm 4.58	29.08 \pm 12.76

Table S8 | Statistical analyses of the conditioned place preference data. Results of the linear mixed models. Significant results are in bold : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Generation	F2			F3		
	X ²	df	p-value	X ²	df	p-value
Females						
Time spent						
Stress	0.000	1	1.000	0.000	1	1.000
Compartment	0.943	1	0.331	8.579	1	0.003 **
Stress*Compartment	3.590	1	0.058	0.302	1	0.582
Latency to reach the cups						
Stress	0.192	1	0.661	0.089	1	0.765
Compartment	5.623	1	0.017 *	1.409	1	0.235
Stress*Compartment	0.148	1	0.700	0.505	1	0.477
Males						
Time spent						
Stress	0.000	1	1.000	0.000	1	1.000
Compartment	30.69	1	3.026e-08 ***	42.216	1	8.172e-11 ***
Stress*Compartment	0.469	1	0.493	19.163	1	1.200e-05 ***
Latency to reach the cups						
Stress	0.195	1	0.659	0.061	1	0.804
Compartment	6.175	1	0.013 *	11.822	1	5.85e-04 ***
Stress*Compartment	0.011	1	0.915	1.467	1	0.226

Table S9 | Density/ μm^2 of H3K27me3 and H3K4me2 positive cells in the paraventricular hypothalamic nucleus (PVN), the hippocampus (Hp) and subnuclei of the arcopallium/amygdala: nucleus taeniae (TnA), intermediate (IA), medial (MA), dorsal (DA) and posterior amygdaloid (PoA) of F3 NS and S females. # 0.05 < p < 0.1.

	NS	S	p-value
H3K27me3			
PVN	4479.9 ± 346.2	4302.7 ± 157.4	0.925
Hp	2503.4 ± 162.7	2414.0 ± 157.4	0.902
TnA	4590.3 ± 606.1	4761.5 ± 730.5	0.771
IA	2332.5 ± 440.5	2457.2 ± 359.6	0.829
MA	2442.4 ± 463.7	2833.4 ± 398.2	0.514
DA	2085.5 ± 363.9	2391.0 ± 420.7	0.629
PoA	4140.5 ± 801.5	3279.1 ± 393.5	0.400
H3K4me2			
PVN	4383.4 ± 296.6	3930.1 ± 198.7	0.188
Hp	3231.2 ± 278.4	2951.0 ± 91.25	0.292
TnA	5136.0 ± 277.9	4060.0 ± 350.7	0.056 #
IA	3097.8 ± 235.8	3299.0 ± 126.9	0.422
MA	3446.4 ± 413.2	3522.5 ± 224.0	0.860
DA	3316.2 ± 210.1	3245.0 ± 160.1	0.777
PoA	4260.0 ± 373.5	3855.4 ± 310.0	0.409

Chapitre IV

Complexité et variabilité

Problématique générale

Le chapitre précédent était consacré à l'analyse des effets d'un stress chronique maternel sur le phénotype comportemental des descendants sur plusieurs générations. De telles études fondamentales trouvent également écho dans le contexte actuel des perturbations anthropiques subies par les espèces dans leur milieu naturel. Le stress maternel semble ainsi un modèle idéal pour comprendre comment des expériences négatives peuvent moduler, à travers les générations, le phénotype des jeunes et leurs capacités d'adaptation. Néanmoins, les interactions entre un animal et son milieu ne se limitent pas seulement à des expériences négatives. Elles impliquent une association complexe entre expériences négatives et positives qui mènent à l'expression d'émotions à valences diverses ayant, d'un point de vue évolutif, des fonctions adaptives majeures (Barrett et al., 2007). Pour une compréhension plus large des processus d'interaction animal/milieu, il convient donc de prendre en compte l'ensemble des expériences potentiellement rencontrées par un individu dans son environnement. Au-delà de sa complexité, l'hétérogénéité ou la variabilité du milieu semble également essentiel à l'expression par l'animal de comportements plus naturels. Complexité et variabilité environnementales sont ainsi associées dans la littérature, à l'amélioration de la flexibilité comportementale des animaux (réponse anti-prédateur : Braithwaite and Salvanes, 2005; Salvanes et al., 2007 ; performances alimentaires : Braithwaite and Salvanes, 2005 ; comportement social : Salvanes and Braithwaite, 2005; Salvanes et al., 2007 ; réactivité émotionnelle : Brantsæter et al., 2016; capacités cognitives : Kotrschal and Taborsky, 2010) voire même à l'amélioration de leur capacité de survie (Homberger, 2014; Hyvärinen and Rodewald, 2013). En ce sens, l'analyse des effets maternels prénatals en lien avec la complexité et la variabilité de l'environnement apparaît être un autre axe de recherche fondamentale : d'une part pour comprendre son rôle dans l'expression de comportements adaptatifs et d'autre part, pour son application éventuelle dans le cadre de programme de conservation. Dans ce chapitre, notre objectif est donc double :

- ① D'une part (**CHAPITRE IVA**), nous avons analysé sur notre modèle de laboratoire, la caille japonaise les effets à travers les générations, d'un environnement maternel à la fois plus complexe et plus variable.
- ② D'autre part (**CHAPITRE IVB**), nous avons appliqué notre procédure de complexification du milieu sur un modèle de gibier d'élevage, la perdrix rouge, afin d'analyser son impact sur la capacité de survie des individus mis en nature. En effet, afin de pallier au déclin des populations de gibier à plume et de répondre à la demande cynégétique, plusieurs millions d'oiseaux d'élevage sont mis

en nature chaque année en France. Une fois réintroduits, ces oiseaux souffrent toutefois d'une mortalité bien plus élevée que leurs congénères sauvages : mortalité qui semble majoritairement associée à des altérations comportementales liées à la captivité (i.e. comportements anti-prédateurs, comportements alimentaires ; **CHAPITRE I - 7**). Les influences maternelles (et plus généralement parentales) prénatales, de par leur rôle fondamental dans la construction phénotypique des jeunes, pourraient donc être un outil majeur favorisant la survie des oiseaux d'élevage en nature.

Chapitre IV

Complexité et variabilité

Partie A

Problématique

Afin d'analyser les effets sur les descendants d'un environnement maternel complexe et variable, nous avons exposé des femelles F0 de cailles japonaises à différentes stimulations potentiellement rencontrées en milieu naturel et qui permettent d'encourager l'expression de comportements essentiels aux galliformes : comportements d'exploration et de recherche alimentaire (Dawkins, 1989; Greenberg, 2003; pour revue Madden et al., 2018), comportements de confort (Bertin et al., 2018; Widowski and Duncan, 2000) et comportements anti-prédateur (pour revue Madden et al., 2018). Lors du chapitre précédent (**CHAPITRE III**), nous avons mis en évidence les effets à la fois inter-, multi- et trans-générationnels des influences maternelles prénatales. Aussi, dans cette étude, nous avons choisi de nous focaliser uniquement sur les deux générations d'intérêt que sont la génération F1 (i.e. effets inter-générationnels) et la génération F3 (i.e. effets trans-générationnels). Nous avons plus particulièrement caractérisé les effets de la complexification de l'environnement maternel sur le développement morfo-physiologique des descendants F1 et F3 mais également sur leur réactivité émotionnelle et leurs capacités d'apprentissage, deux compétences particulièrement sensibles aux effets maternels (**CHAPITRE I et III**). Nous supposons que le fait de prodiguer aux femelles F0 un environnement complexe et variable va à travers les générations, diminuer la réactivité émotionnelle des jeunes ou du moins moduler leur réponse selon les conditions, et améliorer leurs capacités d'apprentissage et de mémorisation.

Méthodologie

*Dans la section méthodologie de ce chapitre, nous détaillerons seulement la procédure expérimentale appliquée aux cailles de la génération F0, l'organisation générale de l'expérience ainsi que les analyses statistiques réalisées. Les conditions de maintenance et de production des cailles F1 et F3 ainsi que les détails des tests comportementaux effectués sont présentés dans le chapitre méthodologie générale (**CHAPITRE II**).*

Génération F0

Complexification de l'environnement maternel

À leur arrivée au laboratoire à l'âge de cinq mois, les cailles japonaises (F0), mâles et femelles

($N_{\varphi} = 32$, $N_{\sigma} = 16$) sont installés individuellement sur litière, en cage à rongeurs (77 x 48 x 42 cm), dans des pièces différentes selon leur sexe ($18 \pm 1^{\circ}\text{C}$, LD 12:12). L'eau et l'aliment (i.e. blé et granulés DINDONNEAUX/PINTADEAUX CROISSANCE PIC'O GRAIN, Terrena) sont disponibles *ad libitum*. Huit cages sont installées dans une même pièce rendant ainsi les contacts visuels et auditifs entre individus possibles.

Les femelles F0 sont réparties en deux groupes. Le premier groupe est maintenu dans des conditions témoins (EC : Groupe Environnement Contrôle, $N_{\text{EC}} = 16$) alors que le second est exposé à une procédure dite « complexe et variable » (ECV : Groupe Environnement Complexe et Variable, $N_{\text{ECV}} = 16$). Les cages des femelles ECV sont agrémentées d'un abri (**Figure 1A**), leur permettant de se percher, de se cacher et donc si elles le souhaitent de se soustraire à un événement potentiellement stressant et d'exercer un certain contrôle sur leur environnement (Guesdon et al., 2011). L'abri étant présent en permanence dans la cage des femelles ECV, nous avons également ajouté une cloison dans la cage des femelles EC. Celle-ci, cependant, ne leur permettait pas de se soustraire aux événements extérieurs. Pendant 30 jours, les femelles ECV sont exposées, de façon aléatoire, à une à trois stimulations quotidiennes répertoriées dans la liste ci-après. Les femelles ECV et EC sont exposées de façon équivalente à la présence et aux interventions humaines. Dès que l'expérimentateur visite ou ouvre la cage des femelles ECV, il en fait de même avec les femelles EC.

Il est important de noter que quatre femelles ECV sont entrées en mue avant le début du protocole complexe et variable. Une femelle EC est également morte en milieu de protocole. De ce fait, les œufs de ces femelles n'ont pas été récoltés et leur phénotype n'a pas été caractérisé. Toutes les autres femelles ont été conservées pour la suite de l'expérience ($N_{\text{EC}} = 15$, $N_{\text{ECV}} = 12$).

Diversification alimentaire

Lorsqu'ils sont confrontés à un nouvel aliment ou au changement de l'une des propriétés sensorielles de leur aliment habituel (e.g. couleur, forme, odeur), les oiseaux expriment une forte néophobie alimentaire (Jones, 1987). Cela se traduit par une réduction de la consommation alimentaire, altérant la croissance de l'animal, son bien-être (Jones, 1986a; Murphy, 1977), voire même dans un contexte de réintroduction, ses capacités d'adaptation au milieu naturel (pour revue Madden et al., 2018; Whiteside et al., 2015). L'aliment proposé aux animaux en élevage est très souvent standardisé et monotone, ne reflétant pas la diversité et la richesse alimentaire rencontrées en milieu naturel. Afin de diversifier l'aliment proposé aux femelles ECV sans pour

autant en modifier l'apport nutritionnel (vecteur lui aussi d'influences maternelles prénatales), nous avons fait le choix de faire varier la granulométrie et la colorimétrie de leur aliment habituel (**Figure 1B**). Ainsi, le granulé des femelles ECV est grossièrement mixé afin d'obtenir différentes formes d'items alimentaires allant de la semoule au granulé. À partir de la deuxième semaine de traitement, l'aliment des femelles ECV est également coloré (colorants alimentaires Vahiné) dans une gamme de couleurs présentes en milieu naturel (noir, vert, rouge-orangé et jaune) et perçues par la caille japonaise (pour revue Mills, 1997; Smith et al., 2002). Afin de limiter les biais liés aux effets potentiels de ces colorants sur la composition des œufs, nous avons ajouté la même quantité de colorants dans l'aliment des femelles ECV et dans l'abreuvoir des femelles EC. Pour que la couleur de l'eau ne suscite pas un refus de consommation des femelles EC, tous les abreuvoirs sont recouverts d'un tissu opaque. De plus, des vers de farine vivants (*Tenebrio molitor*), aliments particulièrement appétants et stimulants pour les oiseaux, sont régulièrement proposés aux femelles ECV (Bruce et al., 2003; Moe et al., 2013). Afin de limiter les différences d'apports nutritionnels entre nos femelles, des vers de farine sont également proposés aux femelles EC. Ils sont néanmoins découpés en petits morceaux et mélangés à l'aliment des femelles EC diminuant ainsi leur appétence.

Stimulation des comportements d'exploration et de recherche alimentaire

Les gallinacées passent la majeure partie de leur temps à explorer leur environnement, notamment pour se nourrir (Dawkins, 1989). Ils préféreraient même selon certaines études, chercher leur nourriture plutôt que de l'obtenir facilement (i.e. *contrafreeloading* ; Inglis et al., 1997; Jensen et al., 2002). Ainsi, afin de stimuler l'expression des comportements d'exploration et de recherche alimentaire des femelles ECV, différents matériaux tels que des carrés de gazon artificiel (i.e. astroturf) ou de carton alvéolé, du journal et de la paille sont ajoutés dans leurs cages de vie. Des vers de farine et/ou de la nourriture directement prélevée dans leurs mangeoires sont également déposés et/ou dissimulés sur et/ou dans ces items (**Figure 1C, 1D et 1E**). Ces stimulations diverses ont été proposées aux femelles ECV, 17 fois au cours du traitement.

Stimulation des comportements de confort

Le comportement de bain de poussière, bien que souvent contraint par les pratiques d'élevage, est essentiel pour de nombreuses espèces d'oiseaux. Il permet l'entretien du plumage et

favoriserait selon certains auteurs, l'expression d'un état émotionnel positif (Bertin et al., 2018; Widowski and Duncan, 2000). Bien que la litière de copeaux de bois présente dans la cage de nos animaux leur permette d'exprimer ce comportement, un bac contenant du sable, substrat stimulant l'expression des comportements de repos, de confort et de bain de poussière (Hesham H. Mohammed et al., 2017) est proposé quatre fois au cours du traitement aux femelles ECV (**Figure 1F**).

Simulations d'attaques de prédateurs

Afin d'exposer les femelles ECV à des expériences négatives, nous avons simulé différentes attaques de prédateurs. Lors de la phase diurne (08:00-20:00), des cris de buses (*Buteo buteo*) sont diffusés (65 dB) en simultanée ou non avec le passage, grâce à un système de poulie, d'un leurre de rapace (*Falco tinnunculus*) au-dessus des cages des femelles ECV (**Figure 1G**). Ces simulations d'attaque ont eu lieu huit fois au cours du traitement, dont cinq fois avec le leurre. Lors de la phase nocturne (20:00-22:00), ce sont des cris de renards (*Vulpes vulpes*) qui sont diffusés (65 dB). Ces simulations d'attaque ont eu lieu six fois au cours du traitement. La diffusion d'un cri de prédateur (CP) est toujours suivie par la diffusion de trilles de vigilance ou de cris de fuite de caille japonaise (CJ) afin de renforcer négativement les femelles ECV (Griffin et al., 2000). Chaque séquence est ainsi constituée de 15 secondes de CP + 15 secondes de cris de CJ + 15 secondes de silence + 15 secondes de CP+ 15 secondes de CJ. Les cris de cailles japonaises constituant ces différentes séquences proviennent toujours d'individus différents.

Caractérisation phénotypique des femelles de la génération F0

Afin d'évaluer les effets de notre protocole et d'en valider son efficacité, nous avons caractérisé l'état corporel et la réactivité émotionnelle des femelles F0 EC et ECV ($N_{EC} = 15$ et $N_{ECV} = 12$). Nous avons dans un premier temps mesuré leur **masse corporelle**. Nous avons ensuite évalué leur état physiologique reproducteur en mesurant la largeur de leur **fente cloacale** puis leur état d'engraissement en mesurant la largeur de leur **bande lipidique** sous ailaire. Nous avons également analysé le **taux de fécondation** et le **taux d'éclosion** de leurs œufs. Dans un second temps, nous avons caractérisé leur réactivité émotionnelle grâce aux tests d'**immobilité tonique**, du **nouvel objet** et du **nouvel aliment**.

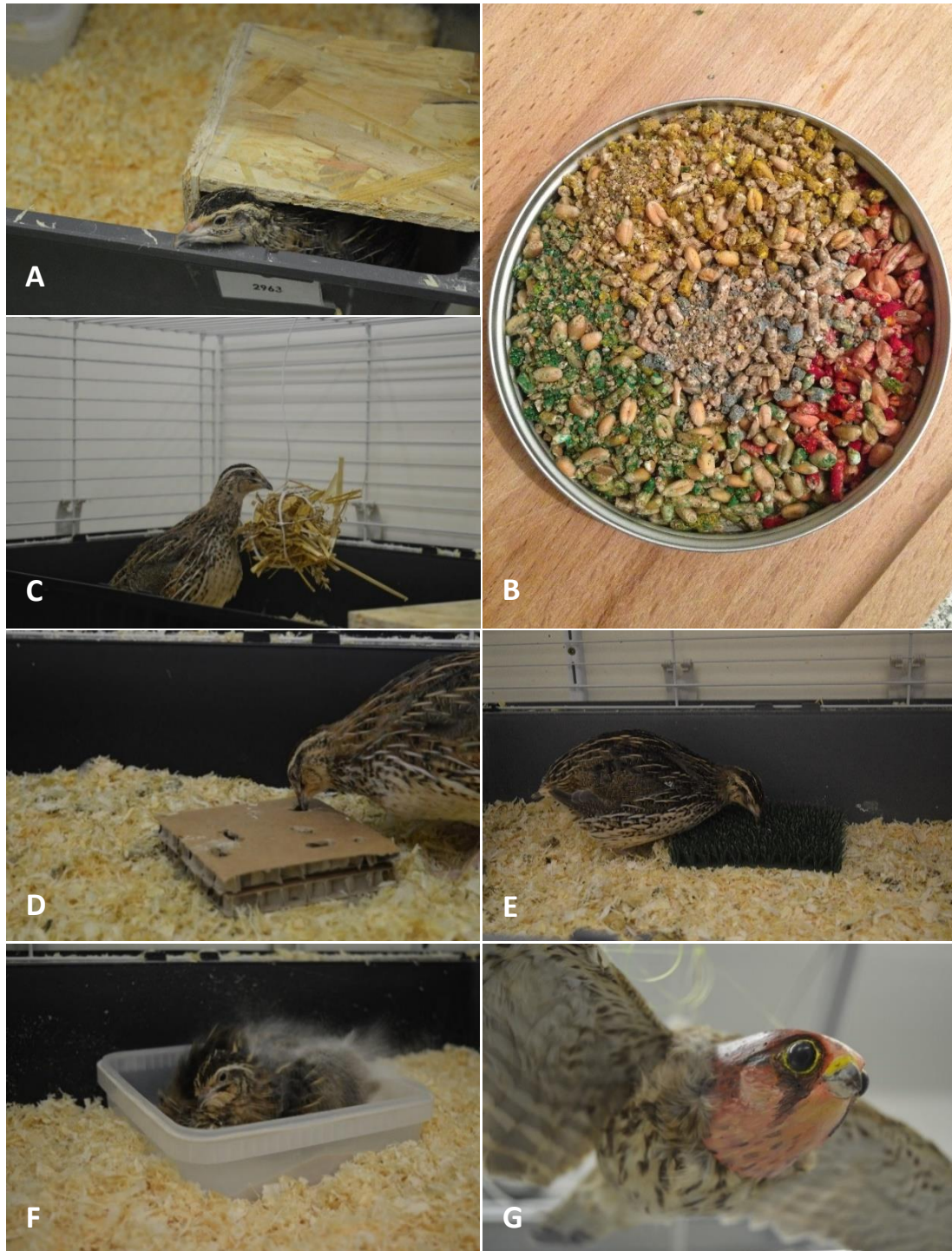


Figure 1 | Stimulations utilisées lors de l'expérience « COMPLEXE et VARIABLE » chez la caille japonaise. (A) Abri. (B) Modifications de la granulométrie et de la colorimétrie de l'aliment. (C, D et E) Boule de paille, carton alvéolé et carré de gazon artificiel dans et/ou sur lesquels sont déposés et dissimulés des vers de farine et de l'aliment. (F) Bac de sable permettant aux cailles d'exprimer le comportement de confort qu'est le bain de poussière. (G) Leurre de rapace utilisé lors des stimulations d'attaques de prédateurs. © M. Charrier.

Génération F1 et F3

Afin d'évaluer les effets inter- (F0 à F1) et trans-générationnels (F0 à F3) du traitement complexe et variable auquel ont été exposées les femelles F0, nous n'avons appliqué aucun traitement particulier à leurs descendants. Les cailleaux F1 et F3 des lignées EC et ECV sont élevés de façon similaire, en batterie, dans des conditions standards, comme décrites précédemment (**CHAPITRE II**).

Caractérisation phénotypique de la génération F1

Afin d'apprécier les effets de la complexification de l'environnement maternel sur les cailles de la génération F1, nous avons caractérisé leur développement morphologique, leur réactivité émotionnelle et leurs capacités d'apprentissage et de mémorisation. Nous avons plus précisément mesuré la **masse corporelle** (jours post-éclosion (jpe) 1, 7, 12, 17, 24 et 31 ; $N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 87$) et la largeur de la **fente cloacale** (jpe 24 et 31 ; $N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 87$) des jeunes F1 tout au long de leur développement. Nous avons également caractérisé différentes dimensions de leur réactivité émotionnelle grâce aux tests d'**immobilité tonique** (jpe 12 ; $N_{EC} = 73$, $N_{ECV} = 87$), d'**émergence** et de **bruit soudain** (jpe 20 à 21 ; $N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 87$), d'**openfield** (jpe 22 à 23 ; $N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 87$), de **réaction à la présence d'un prédateur** (jpe 27 à 28 ; $N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 87$), du **nouvel objet** et du **nouvel aliment** (jpe 33 et 35 ; $N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 87$). Finalement, grâce à un test d'**apprentissage spatial-indicé** nous avons évalué leurs capacités d'apprentissage et de mémorisation. Afin de caractériser ces compétences chez un maximum d'individu et du fait des différences observées entre sexe lors des tests d'apprentissage réalisés précédemment, nous avons fait le choix d'évaluer femelles et mâles séparément. Nous avons tout d'abord caractérisé les capacités d'apprentissage et de mémorisation des femelles (jpe 38 à 47 ; $N_{EC} = 18$, $N_{ECV} = 24$) puis celles des mâles (jpe 73 à 81 ; $N_{EC} = 22$, $N_{ECV} = 24$).

Caractérisation phénotypique de la génération F3

Le phénotype des cailles de la génération F3 est évalué de façon similaire à celui de la génération F1. Toutefois en raison de la pandémie de Covid-19, le suivi morpho-physiologique des oiseaux a dû être arrêté. Nous avons seulement pu mesurer la **masse corporelle** des cailles F3 leur jour de leur éclosion ($N_{EC} = 75$, $N_{ECV} = 63$). Nous avons caractérisé leur réactivité émotionnelle grâce

aux tests d'**immobilité tonique** (jpe 10 ; $N_{EC} = 69$, $N_{ECV} = 63$), d'**émergence** (jpe 15 à 18 ; $N_{EC} = 63$, $N_{ECV} = 61$) et du **bruit soudain** (jpe 15 à 18 ; $N_{EC} = 63$, $N_{ECV} = 61$). Les tests d'openfield et de réaction à la présence d'un prédateur ont dû être annulés et les tests du **nouvel objet** et du **nouvel aliment**, ont dû être réalisés sur un nombre d'oiseaux plus limité et repoussés par rapport au calendrier de la génération F1 (jpe 116 à 119 ; $N_{EC} = 32$, $N_{ECV} = 30$). Nous avons également évalué les capacités d'apprentissage et de mémorisation des cailles F3 grâce au test d'**apprentissage spatial-indicé**. Trop peu de femelles F3 EC et ECV ont cependant réussi à passer la phase de familiarisation, seuls les résultats des mâles (jpe 319 à 327; $N_{EC} = 16$, $N_{ECV} = 11$) sont donc présentés dans ce manuscrit.

Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du logiciel R v.3.6.2 (R Core Team, 2019). Les hypothèses de chaque modèle sont vérifiées par i) l'inspection visuelle des données ou des résidus (package RVAideMemoire, Hervé, 2021) et ii) l'évaluation de la dispersion des données (package AER, Kleiber and Zeileis, 2020). Lorsque les données ou les résidus ne respectent pas les conditions d'application des modèles, soit les données sont transformées (i.e. fonction log (+1), racine carrée), soit des tests par permutation (basés sur 10000 répétitions) sont utilisés.

Génération F0

Du fait la taille limitée de notre échantillon, toutes les données relatives aux femelles F0 sont analysées grâce à un test de test de permutation de Fisher-Pitman. Pour chacun des tests réalisés, le traitement des femelles F0 (EC et ECV) est ajouté en facteur fixe.

Génération F1 et F3

La masse corporelle et à la fente cloacale des cailles F1 sont analysées avec un modèle linéaire mixte (LMM). Une transformation préalable via la fonction racine carrée est réalisée pour les données relatives à la masse corporelle. La masse corporelle des cailles F3 est analysée grâce à un modèle linéaire mixte par permutation (LMM permutation). Le traitement (EC et ECV), le sexe, l'âge (pour la génération F1 seulement) des oiseaux et leurs interactions sont ajoutés en facteurs fixes. L'identité des oiseaux est ajoutée en facteur aléatoire.

Le nombre d'induction et la durée d'immobilité du test d'immobilité tonique sont analysées respectivement grâce à un modèle linéaire généralisé (GLM) avec une structure d'erreur de poisson et un LM. Les données de durée d'immobilité sont préalablement transformées avec la fonction log pour la génération F1 et la fonction log+1 pour la génération F3. Lors du test d'émergence, le nombre de cris d'appel produits par les oiseaux est analysé avec un GLM quasi-poisson. Les latences d'émission du premier cri d'appel sont analysées grâce à un LM permutation pour la génération F1 dans la boîte de départ et grâce à un LM avec transformation des données log+1 préalable pour le reste des données. La latence d'émergence des oiseaux est analysé avec un LM permutation pour la génération F1 et un LM avec transformation des données log+1 pour la génération F3. La première réaction des oiseaux lors du test du bruit soudain est analysé avec un GLM binomial. Lors du test de réaction à la présence d'un prédateur, la latence à produire une réponse de peur et l'intensité de la réponse de peur émise par les oiseaux sont analysées avec respectivement un LM permutation et un GLM poisson. Les latences d'approche et d'exploration du nouvel objet ou du nouvel aliment sont analysées grâce à un LM avec une transformation log préalable des données ; exception faite pour la latence d'exploration du nouvel aliment qui à la génération F1 est analysée avec un LM permutation. Le temps passé par les oiseaux à consommer le nouvel aliment est quant à lui analysé avec LM dont les données ont au préalable été transformées avec la fonction racine carrée. L'ensemble des autres comportements relevés lors des tests d'émergence, de bruit soudain, d'openfield, du nouvel objet et du nouvel aliment sont analysés avec des GLM quasi-poisson. Pour chacun des modèles évoqués précédemment, le traitement et le sexe des oiseaux sont ajoutés en facteurs fixes.

Pour le test d'apprentissage spatial indicé, la latence de premier pas lors de la phase de familiarisation est à la génération analysé grâce à un LMM avec transformation log+1 des données. À la génération F3, cette même variable est analysée grâce à une LMM permutation. Le nombre de pots différents visités est analysé grâce un modèle linéaire mixte généralisé (GLMM) avec une structure d'erreur de poisson. La latence de visite du premier pot des mâles F1 est quant à elle analysée grâce à un LMM avec une transformation log des données. Plusieurs oiseaux n'ont pas visité le minimum de cinq pots requis pour passer à la phase d'apprentissage (génération F1 : $N_{EC-\varphi} = 5$, $N_{ECV-\varphi} = 4$, $N_{EC-\sigma} = 2$, $N_{ECV-\sigma} = 0$; génération F3, $N_{EC-\sigma} = 2$, $N_{ECV-\sigma} = 0$). Lors de la phase d'apprentissage, le nombre d'erreurs réalisées par les oiseaux est moyenné sur les deux passages quotidiens puis analysé grâce à un LMM par permutation pour les mâles F1. Cette même variable est analysée grâce à un LMM avec transformation préalable des données via la fonction racine carrée pour les femelles F1, et la fonction log+1 pour les mâles F3. Pour chacun des modèles

évoqués précédemment le traitement, le jour de test et leur interaction sont ajoutés en facteurs fixes. L'identité des oiseaux est ajoutée en facteur aléatoire. Le nombre d'erreurs réalisées lors du test spatial est analysé grâce à un test de permutation de Fisher-Pitman avec le traitement des oiseaux en facteur fixe. Lors du test de déplacement, cette même variable est analysée avec un GLMM de poisson sauf pour les femelles F1 où un GLMM négative binomial est utilisé. Lors de ce test, le traitement, la stratégie des oiseaux (spatiale et indicée) et leur interaction sont ajoutés en facteurs fixes. L'identité de oiseaux est ajoutée en facteur aléatoire.

Les LM(M) et GLM(M) sont réalisés grâce aux packages lme4 (Bates et al., 2015), nlme (Pinheiro et al., 2020) et car (Fox and Weisberg, 2019). Les LM(M) par permutation sont réalisés grâce au package pgirmess (Giraudoux et al., 2021) et les tests de permutation de Fisher-Pitman grâce au package coin (Hothorn et al., 2006). Lorsque des interactions sont significatives, les analyses sont suivies de comparaisons multiples avec correction de Tukey (package emmeans, Lenth et al., 2020). Les effets du facteur sexe ne seront présentés qu'en cas d'interaction avec les effets du traitement.

Résultats

Effets d'un environnement complexe et variable sur le phénotype des femelles F0

Effets sur les caractéristiques morpho-physiologiques

Si l'état physiologique reproducteur des femelles F0 est similaire entre nos groupes (moyenne \pm ES de la fente cloacale, EC: 12.28mm \pm 0.58, ECV: 11.58mm \pm 0.57 ; Fisher-Pitman permutation, $Z = 0.840$, $p = 0.408$), les femelles F0 ECV présentent en revanche une masse corporelle et un état d'engraissement plus faible que les femelles F0 EC (**Figure 2A et 2B**; Fisher-Pitman permutation, $Z = 2.13$, $p = 0.030$ et $Z = 2.521$, $p = 0.009$, respectivement). Les taux de fécondation (moyenne \pm ES, EC: 48.79% \pm 8.09, ECV: 59.60% \pm 9.18 ; Fisher-Pitman permutation, $Z = 0.869$, $p = 0.392$) et d'éclosion des œufs des femelles F0 (moyenne \pm ES, EC: 76.20% \pm 6.36, ECV: 62.91% \pm 9.47 ; Fisher-Pitman permutation, $Z = 1.155$, $p = 0.261$) sont similaires entre nos groupes.

Effets sur la réactivité émotionnelle

Lors du test d'immobilité tonique, ni le nombre d'induction (moyenne \pm ES, EC: 1.92 \pm 0.34, ECV: 1.87 \pm 0.32 ; Fisher-Pitman permutation, $Z = -0.109$, $p = 1$), ni la durée d'immobilité (moyenne \pm ES,

EC: $63.92s \pm 16.48$, ECV: $80.13s \pm 20.02$; Fisher-Pitman permutation, $Z = 0.612$, $p = 0.567$) ne diffèrent entre les femelles F0 EC et ECV.

En revanche, lors du test du nouvel objet, les femelles F0 ECV expriment moins de comportements de peur puisqu'elles font moins de pas en marche basse (**Figure 2C**; Fisher-Pitman permutation, $Z = 2.348$, $p = 0.014$) et moins de comportements stéréotypés que les femelles F0 EC (i.e. *pacing* ; **Figure 2D** ; Fisher-Pitman permutation, $Z = 1.965$, $p = 0.049$).

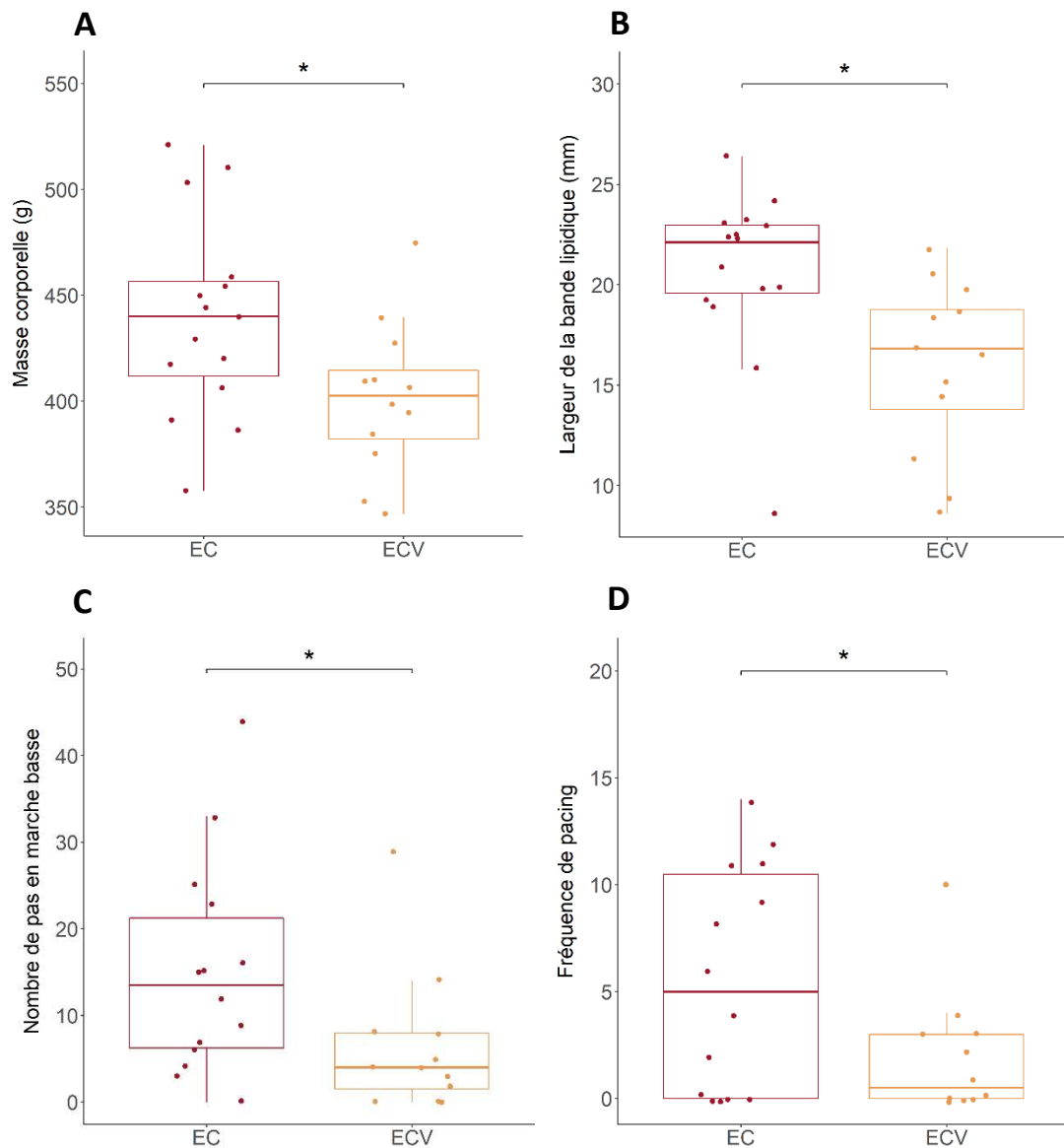


Figure 2 | Influence de la procédure complexe et variable sur la condition morpho-physiologique et la réactivité émotionnelle des femelles F0 EC et ECV ($N_{EC} = 15$ et $N_{ECV} = 12$). (A) Masse corporelle (g) et (B) largeur de la bande lipidique(mm). (C) Nombre de pas en marche basse et (D) fréquence du comportement de *pacing* lors du test du nouvel objet. * $p < 0.05$.

Lors du test du nouvel aliment, les femelles F0 ECV tendent à consommer plus rapidement la lentille corail que les femelles F0 EC (moyenne \pm ES, EC: 166.60s \pm 39.99, ECV: 57.75s \pm 29.61 ; Fisher-Pitman permutation, Z = 1.967, p = 0.054). Elles produisent également moins de comportements stéréotypés que les femelles F0 EC (i.e. *pacing* ; fréquence *pacing* (**Figure 3** ; Fisher-Pitman permutation, Z = 2.591, p = 0.003) et durée *pacing* (moyenne \pm ES: EC = 42.20s \pm 14.21, ECV: 0.00s \pm 0.00 ; Fisher-Pitman permutation : Z = 2.385, p = 0.005).

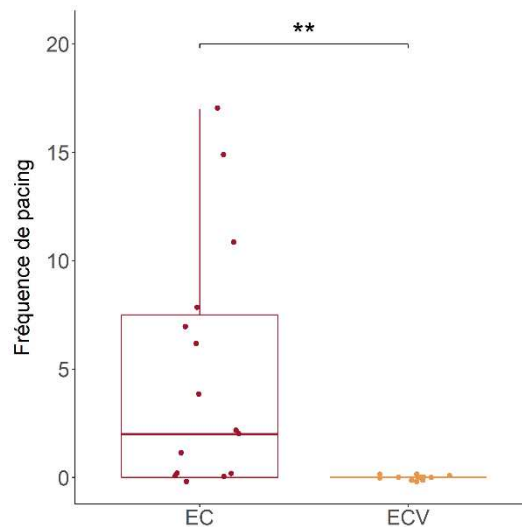


Figure 3 | Fréquence du comportement de pacing des femelles F0 EC et ECV ($N_{EC} = 15$ et $N_{ECV} = 12$) lors du test du nouvel aliment. ** p < 0.01.

Bilan et validation du protocole

L'exposition des femelles F0 à un environnement à la fois complexe et variable a diminué leur masse corporelle et leur niveau d'engraissement. Cet effet pourrait traduire d'un niveau d'activité plus élevé et d'une dépense énergétique plus importante des femelles ECV du fait des différentes stimulations auxquelles elles ont été exposées (Braithwaite and Salvanes, 2005). Nous avons également montré une diminution de la réactivité émotionnelle et plus particulièrement de la néophobie des femelles ECV. Un tel effet a déjà été rapporté, les auteurs suggérant que la présence constante de stimuli nouveaux modère la réactivité émotionnelle à la nouveauté des individus (Braithwaite and Salvanes, 2005; Brantsæter et al., 2016; Salvanes and Braithwaite, 2005; Tarou and Bashaw, 2007).

Effets inter-générationnels d'un environnement maternel complexe et variable : étude la génération F1

Effets sur le développement morpho-physiologique

Si les cailleteaux F1 EC et ECV présentent une masse corporelle similaire (Figure 4A et Tableau 1; LMM, $p > 0.05$), leur développement sexuel diffère (Figure 4B et Tableau 1; LMM, effet traitement x âge: $X^2 = 7.263$, $p = 0.007$). À l'âge de quatre semaines (jpe 31), les cailleteaux F1 ECV sont plus développés sexuellement que les cailleteaux F1 EC ($p = 5.0e-04$).

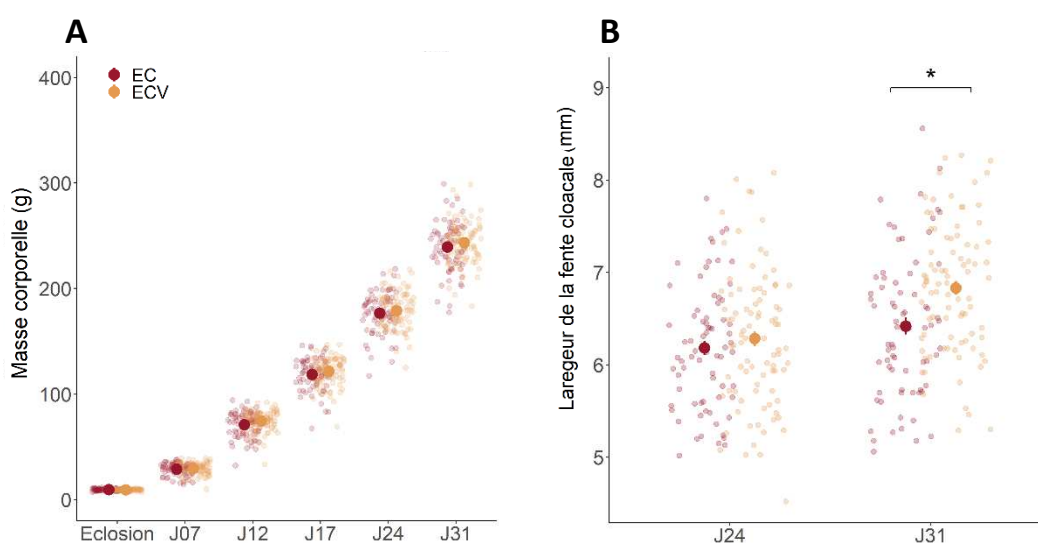


Figure 4 | Développement morpho-physiologique des cailleteaux F1 EC et ECV ($N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 87$). Moyenne \pm ES de (A) la masse corporelle(g) et (B) la largeur de la fente cloacale (mm) des cailleteaux F1 au cours de leur développement. * $p < 0.05$.

Tableau 1 | Analyse statistique de la croissance et du développement sexuel des cailleteaux F1. Résultats des modèles linéaires mixtes. Les résultats significatifs sont en gras (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, # $0.05 < p < 0.1$).

	Masse corporelle			Largeur de la fente cloacale		
	X^2	df	p-value	X^2	df	p-value
Traitement	1.303	1	0.254	6.252	1	0.012 *
Âge	151130.483	1	< 2e-16 ***	46.929	1	7.36e-12 **
Sexe	3.464	1	0.063 #	1.219	1	0.269
Traitement x Âge	9.471	5	0.092 #	7.263	1	0.007 **
Traitement x Sexe	0.175	1	0.675	0.384	1	0.535
Âge x Sexe	18.140	5	0.0028 **	1.020	1	0.312

Effets sur la réactivité émotionnelle

Test de l'immobilité tonique

Lors du test d'immobilité tonique, les caillles F1 EC et ECV présentent un nombre d'induction similaire (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES, EC: 1.50 ± 0.08 , ECV: 1.37 ± 0.08 ; GLM, effet traitement: $X^2 = 0.173$, $p = 0.677$) et une durée d'immobilité équivalente (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES, EC: $31.84s \pm 2.77$, ECV: 49.05 ± 6.09 ; LM, effet traitement: $F_{(1,152)} = 2.700$, $p = 0.102$).

Test d'émergence

Lors du test d'émergence, le comportement vocal dans la boîte de départ diffère peu entre les caillles F1 EC et ECV. La latence d'émission du premier cri d'appel est homogène entre nos groupes (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES, EC: $12.25s \pm 2.36$, ECV: $10.53s \pm 1.99$; LM permutation, effet traitement: $p = 0.579$). Les caillles F1 ECV tendent toutefois à produire plus de cris d'appel que les caillles F1 EC (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES, EC: 25.72 ± 2.35 , ECV: 32.66 ± 2.43 ; GLM quasi-poisson, effet traitement: $F_{(1,153)} = 3.448$, $p = 0.065$). À l'ouverture de la boîte de départ, la latence d'émergence des caillles F1 ne diffère pas entre les groupes (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES, EC: $13.08s \pm 2.86$, ECV: $20.57s \pm 5.41$; LM permutation, effet traitement: $p = 0.264$). Cependant, une fois dans le dispositif, les caillles F1 ECV produisent plus de comportements d'exploration que les caillles F1 EC (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES, EC: 2.17 ± 0.31 , ECV: 3.65 ± 0.39 ; GLM quasi-poisson, effet traitement: $F_{(1,153)} = 9.028$, $p = 0.003$). Elles émettent également leur premier cri d'appel plus rapidement que les caillles F1 EC (**Figure 5**) LM, effet traitement: $F_{(1,153)} = 7.680$, $p = 0.006$) et tendent à produire plus de cris (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES, EC: 66.15 ± 5.49 , ECV: 82.66 ± 5.49 ; GLM quasi-poisson, effet traitement: $F_{(1,153)} = 3.190$, $p = 0.076$). Les autres comportements relevés ne diffèrent pas significativement entre les groupes ($p > 0.05$).

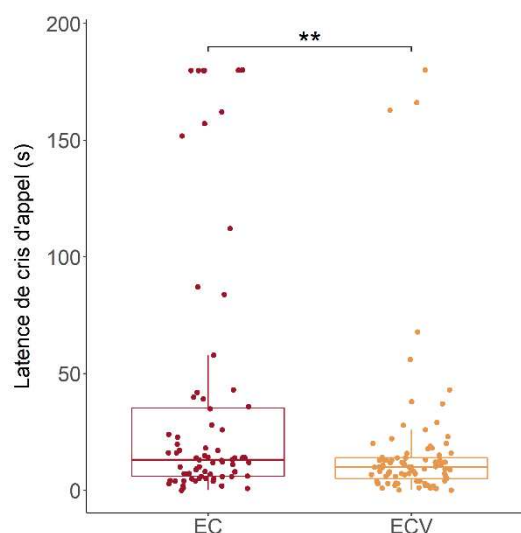


Figure 5 | Latence d'émission du premier cri d'appel (s) des caillles F1 EC et ECV ($N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 85$) lors du test d'émergence. ** $p < 0.01$.

Test du bruit soudain

Lors de la diffusion du bruit soudain (i.e. bruit blanc) dans la cage d'émergence, la première réaction des cailles est similaire, les cailles F1 ECV émettant autant de comportements de peur que les cailles F1 EC (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES, EC: 0.36 ± 0.06 , ECV: 0.29 ± 0.05 ; GLM binomial, effet traitement: $\chi^2 = 0.864$, $p = 0.325$). Toutefois après la diffusion du bruit, les cailles F1 ECV font moins de pas en marche basse (**Figure 6A** et **Tableau 2** ; GLM quasi-poisson, effet traitement: $F_{(1,153)} = 16.488$, $p = 7.791e-05$) et produisent moins de comportements de peur que les cailles F1 EC (**Figure 6B** et **Tableau 2** ; GLM quasi-poisson, effet traitement: $F_{(1,153)} = 5.215$, $p = 0.024$). Les autres comportements relevés ne diffèrent pas significativement entre les groupes ($p > 0.05$).

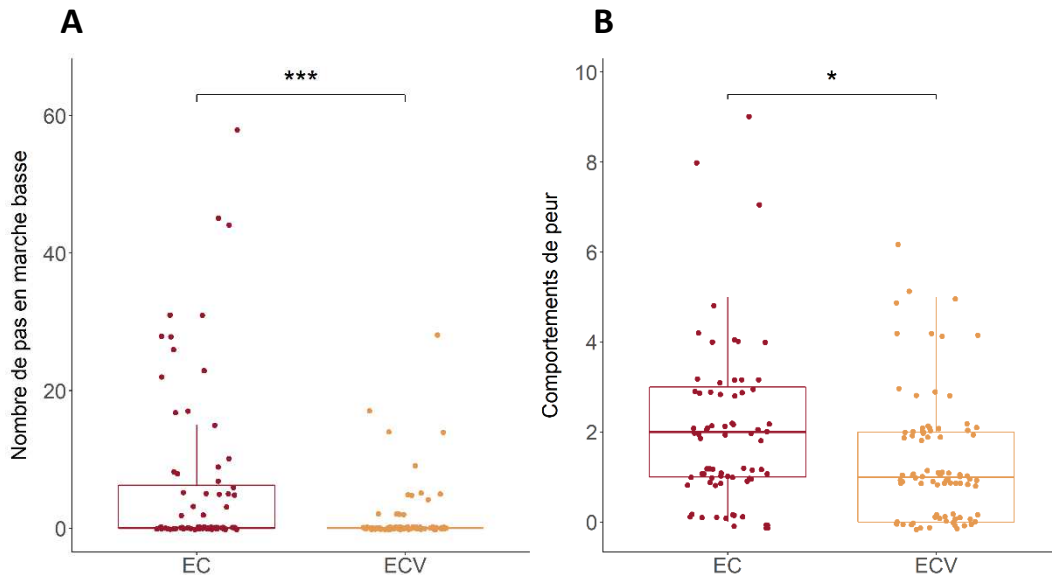


Figure 6 | Comportements des cailles F1 EC et ECV ($N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 85$) lors du test du bruit soudain. (A) Nombre de pas en marche basse et (B) fréquence des comportements de peur. * $p < 0.05$, * $p < 0.001$.**

Test de l'Openfield

Placées dans un openfield, les cailles F1 ECV produisent moins d'observations basses que les cailles F1 EC (**Figure 7A** et **Tableau 2**; GLM quasi-poisson, effet traitement: $F_{(1,155)} = 8.810$, $p = 0.003$). Chez les mâles en particulier, les cailles F1 ECV présentent plus de comportements d'exploration que les cailles F1 EC (**Figure 7B** et **Tableau 2** ; GLM quasi-poisson, effet traitement x sexe: $F_{(1,155)} =$

5.962, $p = 0.016$; mâles: $p = 0.004$). Les autres comportements relevés ne diffèrent pas significativement entre les groupes ($p > 0.05$).

Test de réactivité à la présence d'un prédateur

Lors de la diffusion seule du cri de buse, les cailles F1 ECV produisent une réponse de peur plus rapidement que les cailles F1 EC (**Figure 7C** et **Tableau 2** ; LM permutation, effet traitement: $p = 0.011$). L'intensité de la réponse de peur (i.e. nombre de comportements de peur différents produits par l'oiseau) des cailles F1 ECV tend également à être supérieure (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES, EC: 0.80 ± 0.08 , ECV: 1.11 ± 0.12 ; GLM poisson, effet traitement: $X^2 = 2.959$, $p = 0.085$). Lors de

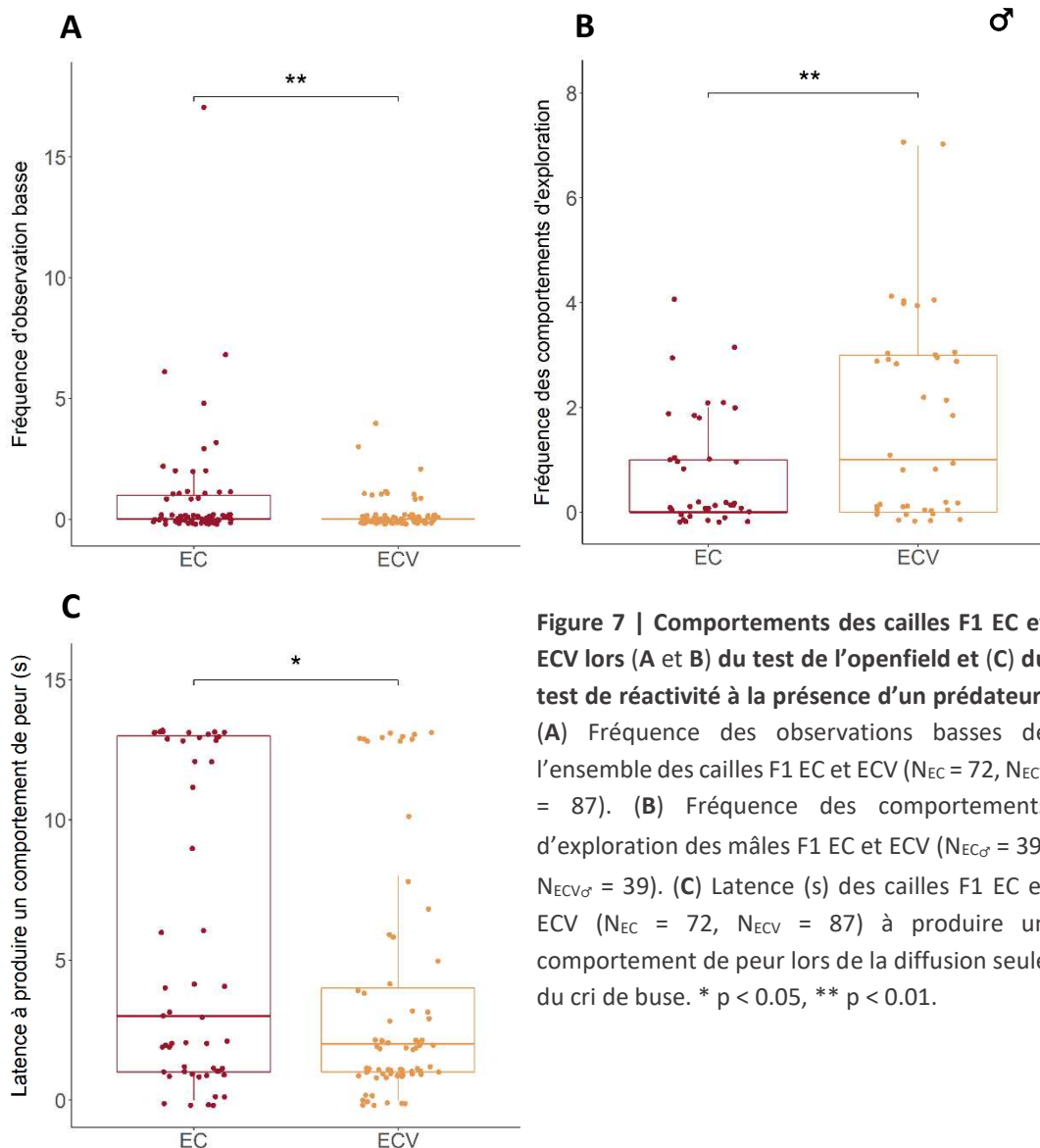


Figure 7 | Comportements des cailles F1 EC et ECV lors (A et B) du test de l'openfield et (C) du test de réactivité à la présence d'un prédateur. (A) Fréquence des observations basses de l'ensemble des cailles F1 EC et ECV ($N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 87$). (B) Fréquence des comportements d'exploration des mâles F1 EC et ECV ($N_{EC\sigma} = 39$, $N_{ECV\sigma} = 39$). (C) Latence (s) des cailles F1 EC et ECV ($N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 87$) à produire un comportement de peur lors de la diffusion seule du cri de buse. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

la diffusion du cri de buse et du passage du leurre en simultané, les mâles F1 ECV produisent une réponse de peur plus rapidement que les mâles F1 EC (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES mâles, EC: $5.65s \pm 0.86$, ECV: $2.68s \pm 0.54$; LM permutation, effet traitement \times sexe: $p = 0.020$). L'intensité de la réponse de nos oiseaux est cependant homogène entre les groupes (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES, EC: 1.00 ± 0.09 , ECV: 1.23 ± 0.07 ; GLM poisson, effet traitement: $X^2 = 1.624$, $p = 0.202$).

Test du nouvel objet

Contrairement aux tests précédents où l'on a pu observer un effet de la complexification de l'environnement maternel chez les mâles, ce sont les femelles qui diff rent dans le test du nouvel objet. En effet, les femelles F1 ECV explorent plus rapidement l'objet nouveau que les femelles F1 EC (**Figure 8A** et **Tableau 2** ; LM, effet traitement \times sexe: $F_{(1,154)} = 4.270$, $p = 0.040$; femelles: $p = 0.009$). Face à cet objet, elles expriment également moins de comportements stéréotypés (i.e *spacing* ; **Figure 8B** et **Tableau 2** ; GLM quasi-poisson, effet traitement \times sexe: $F_{(1,155)} = 3.982$, $p = 0.048$; femelles: $p = 0.002$) et produisent moins de comportements de peur (**Figure 8C** et **Tableau 2** ; GLM quasi-poisson, effet traitement \times sexe: $F_{(1,155)} = 12947$, $p = 4.305e-04$; femelles: $p < 0.0001$). Les autres comportements relevés ne diff rent pas significativement entre les groupes ($p > 0.05$).

Test du nouvel aliment

Lorsque de la lentille corail est ajouté dans la mangeoire habituelle des cailles F1, les cailles F1 ECV en consomment plus rapidement (**Figure 8D** et **Tableau 2**; LM permutation, effet traitement: $p = 0.046$) et tendent également à en consommer plus longtemps que les cailles F1 EC (**Tableau 2** ; moyenne \pm ES, EC: $18.15s \pm 2.53$, ECV: $23.33s \pm 2.83$; LM, effet traitement: $F_{(1,154)} = 3.483$, $p = 0.064$). Les autres comportements relevés ne diff rent pas significativement entre nos groupes ($p > 0.05$).

Bilan des effets du traitement maternel sur la réactivité emotionnelle des cailles F1

Les cailles F1 ECV issues de mères exposées à une complexification de leur environnement, présentent un développement sexuel plus rapide que les cailles F1 EC. Globalement, les cailles F1 ECV expriment plus de comportements d'exploration et moins de comportements de peur en milieu nouveau. Les cailles F1 ECV et notamment les femelles, apparaissent moins néophobes

lorsqu'un objet ou un aliment inconnu est introduit dans leur environnement familial. Les cailles F1 ECV et notamment les mâles, produisent une réponse de peur plus rapidement que les cailles F1 EC lorsqu'elles sont exposées à un prédateur. Certaines caractéristiques émotionnelles n'ont cependant pas été affectées. C'est notamment le cas de l'immobilité tonique ou de la réponse immédiate au bruit soudain, même si lors de ce test, les cailles F1 ECV semblent revenir à un état moins anxieux plus rapidement. Enfin, les cailles F1 ECV semblent aussi plus sensibles à la séparation sociale avec des latences de cris d'appel plus faibles que les cailles F1 EC.

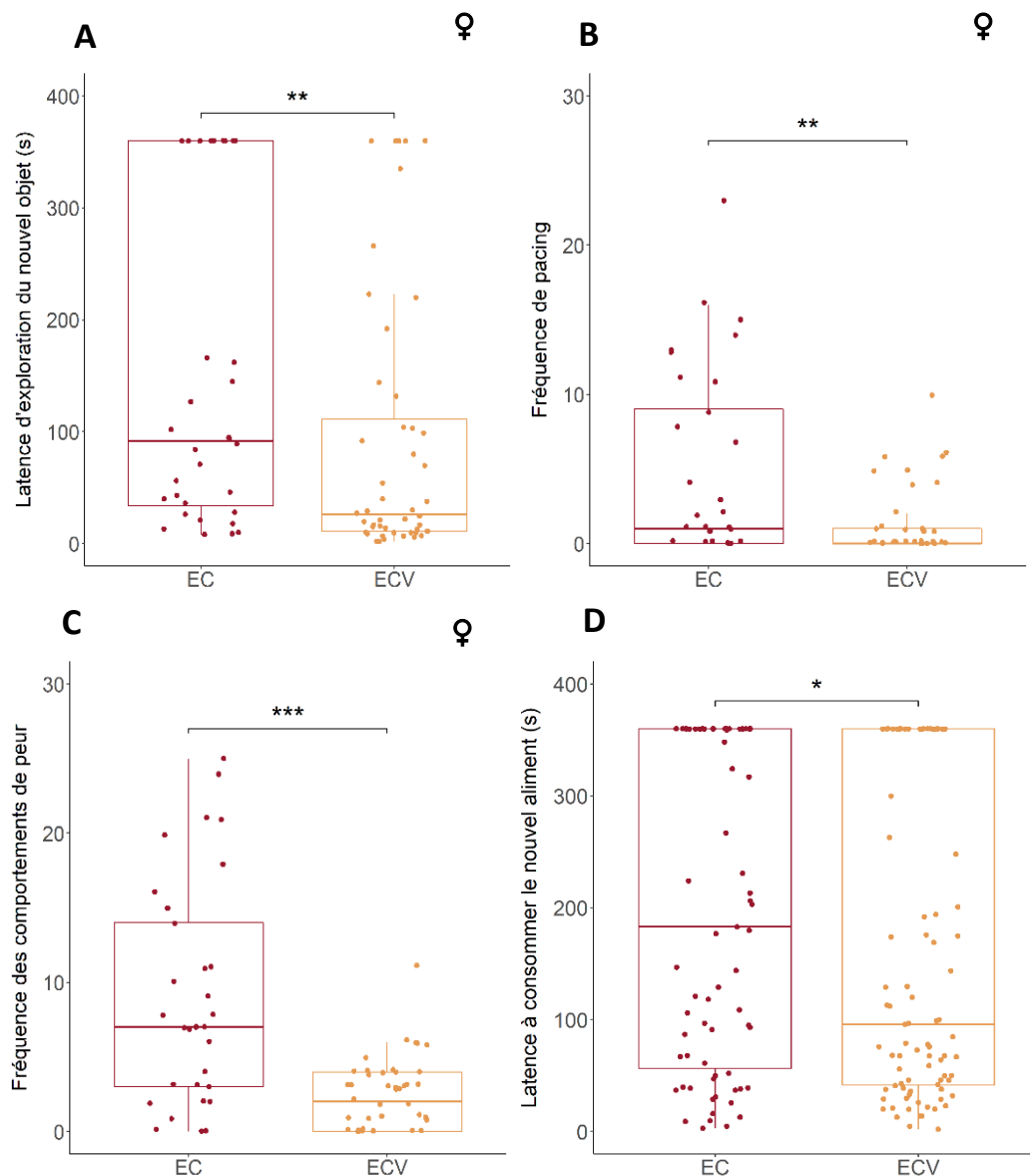


Figure 8 | Comportements des cailles F1 lors des tests du nouvel objet et du nouvel aliment. (A) Latence d'exploration (s) du nouvel objet, (B) fréquence du comportement de *pacing* et (C) fréquence des comportements de peur produits par les femelles F1 EC et ECV ($N_{EC♀} = 33$, $N_{ECV♀} = 48$) lors du test du nouvel objet. (D) Latence à consommer la lentille corail (s) par les cailles F1 EC et ECV ($N_{EC} = 72$, $N_{ECV} = 87$) lors du test du nouvel aliment. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Effets sur les capacités d'apprentissage et de mémorisation

Les capacités d'apprentissage et de mémorisation de nos oiseaux sont évaluées grâce à un test d'apprentissage spatial-indicé. Pour rappel, ce test se découpe en trois phases successives : i) la phase de familiarisation durant laquelle tous les pots sont récompensés, ii) la phase d'apprentissage durant laquelle seul le pot cible est récompensé (1 pot noir parmi 7 pots blancs, le pot cible est toujours localisé au même emplacement) et iii) la phase de rappel qui se compose de deux tests: un test spatial - tous les pots sont blancs et l'oiseau doit utiliser sa mémoire spatiale pour retrouver le pot cible- et un test de déplacement - un pot noir est présent mais à un nouvel emplacement. Pour s'orienter, les cailles peuvent utiliser leur mémoire spatiale ; elles visiteront dans ce cas le pot présent à l'emplacement du pot cible lors l'apprentissage (i.e. pot spatial) ou leur mémoire indicée ; elles suivront dans ce cas l'indice de couleur et visiteront le pot noir (i.e. pot indicé) nouvellement positionné.

Capacités d'apprentissage et de mémorisation des femelles

Familiarisation (jpe 38 à 42 ; $N_{EC} = 18$, $N_{ECV} = 24$) : Lors de la phase de familiarisation, la latence du premier pas effectué par les oiseaux diffère entre les groupes (**Figure 9A** et **Tableau 3**; LMM,

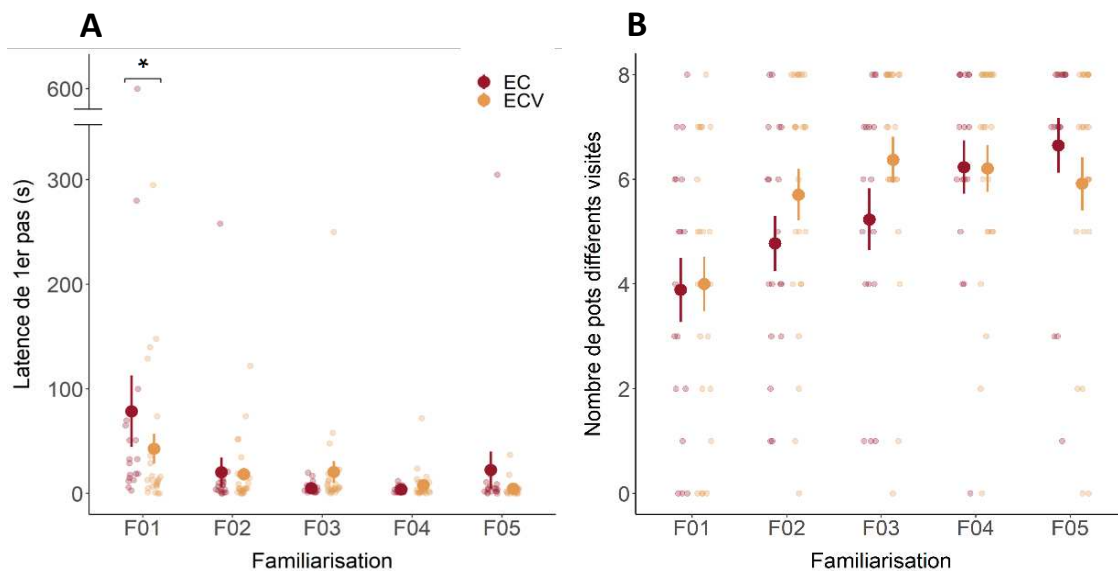


Figure 9 | Performances des femelles F1 ($N_{EC}= 18$, $N_{ECV}= 24$) lors de la phase de familiarisation du test d'apprentissage spatial-indicé. (A) Moyenne \pm ES de la latence de premier pas (s) et (B) nombre de pots différents visités par les femelles F1 lors des cinq jours de la phase de familiarisation (F01 à F05). * $p < 0.05$.

effet traitement x jour: $X^2 = 10.198$, $p = 0.037$). Le premier jour, les femelles F1 ECV ont effectivement une latence de premier pas inférieure à celle des femelles F1 EC ($p = 0.041$). Cette différence ne s'observe pas les quatre jours suivants ($p > 0.05$). On observe également que le nombre de pots visités et donc le nombre de vers mangés augmente au fil des jours (**Figure 9B** et **Tableau 3**; GLMM poisson, effet jour: $X^2 = 3.856$, $p = 2.862e-05$) de façon similaire pour les femelles F1 EC et ECV (**Tableau 3** ; $p > 0.05$).

Apprentissage (jpe 43 à 46, $N_{EC} = 13$, $N_{ECV} = 20$) : Le nombre d'erreurs réalisées avant de visiter le pot cible (i.e. nombre de pots différents visités avant le pot cible) par les femelles F1 EC et ECV diminue significativement au cours de la phase d'apprentissage (**Figure 10A** et **Tableau 3**; LMM, effet jour: $X^2 = 67.867$, $p = 1.22e-14$). Cependant, ce nombre d'erreurs ne diffère pas entre nos groupes (**Figure 10A** et **Tableau 3**; LMM, $p > 0.05$).

Tests de rappel (jpe 47 ; $N_{EC} = 13$, $N_{ECV} = 20$) : Les résultats des tests confirment l'absence d'effet du traitement observé lors de la phase d'apprentissage. Lors du test spatial, où tous les pots sont de couleurs blanches, les femelles F1 EC et ECV font un nombre d'erreurs similaire avant de visiter le pot cible (moyenne \pm ES, EC: 3.23 ± 0.96 , ECV: 4.75 ± 0.79 ; Fisher-Pitman permutation, $Z = -1.203$,

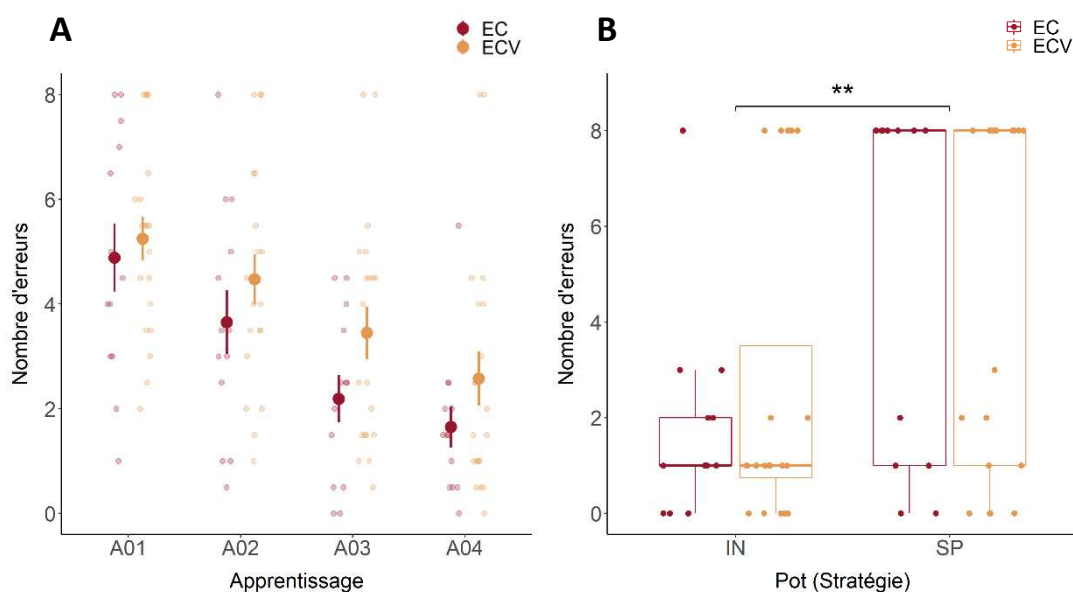


Figure 10 | Performances des femelles F1 lors de la phase d'apprentissage ($N_{EC} = 13$, $N_{ECV} = 20$) et du test de déplacement ($N_{EC} = 13$, $N_{ECV} = 20$) du test d'apprentissage spatial-indiqué. (A) Moyenne \pm ES par jour (cumul des deux passages) du nombre d'erreurs réalisées par les femelles F1 avant de visiter le pot cible lors de la phase d'apprentissage (A01 à A04). Les points en transparence représentent la moyenne des deux passages par jour et par individu. (B) Nombre d'erreurs réalisé par les femelles F1 avant de visiter le pot indicé (IN) et le pot spatial (SP) lors du test de déplacement. ** $p < 0.01$.

$p = 0.250$). Lors du test de déplacement on constate, indépendamment de leur traitement, que les femelles F1 se dirigent préférentiellement vers le pot indicé. Elles font significativement moins d'erreurs avant de visiter le pot coloré déplacé que le pot spatial (**Figure 10B** ; GLMM négative binomial, effet traitement: $X^2 = 0.217$, $p = 0.642$; effet stratégie: $X^2 = 9.204$, $p = 0.002$, effet traitement x stratégie: $X^2 = 0.722$, $p = 0.396$).

Capacités d'apprentissage et de mémorisation des mâles

Familiarisation (jpe 73 à 77 ; $N_{EC} = 22$, $N_{ECV} = 24$) : Si la latence du premier pas effectué par les mâles F1 semble comme pour les femelles, influencée par leur traitement (**Figure 11A** et **Tableau 3**; LMM, effet traitement x jour: $x^2 = 10.392$, $p = 0.034$), les comparaisons multiples ne révèlent

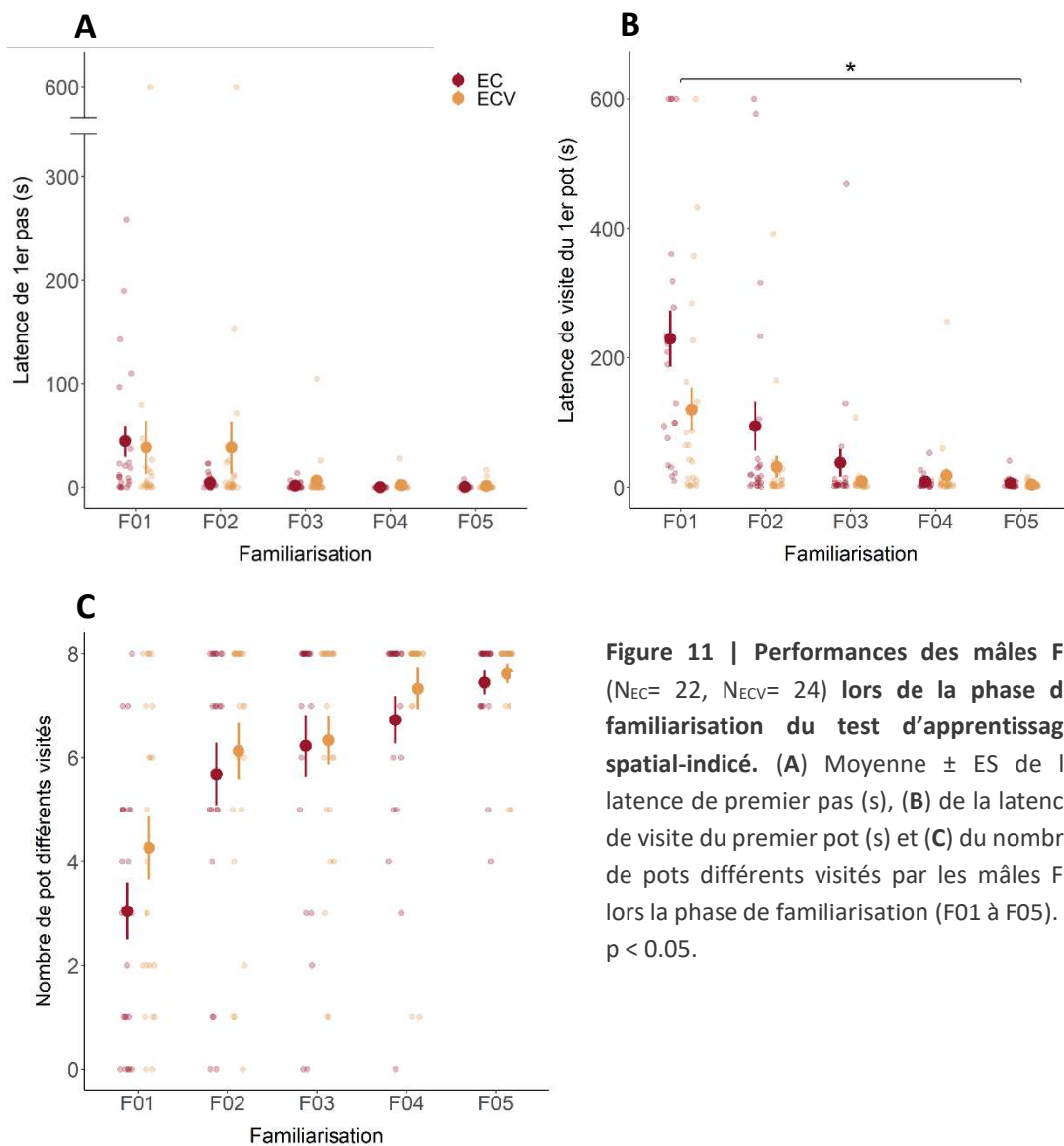


Figure 11 | Performances des mâles F1 ($N_{EC} = 22$, $N_{ECV} = 24$) lors de la phase de familiarisation du test d'apprentissage spatial-indicé. (A) Moyenne \pm ES de la latence de premier pas (s), (B) de la latence de visite du premier pot (s) et (C) du nombre de pots différents visités par les mâles F1 lors la phase de familiarisation (F01 à F05). * $p < 0.05$.

finalement aucune différence ($p > 0.05$). Si la latence de visite du premier pot diminue au fil des jours pour l'ensemble des oiseaux (**Figure 11B** et **Tableau 3** ; LMM, effet jour: $X^2 = 216.536$, $p < 2e-16$), les mâles F1 ECV visitent leur premier pot plus rapidement que les mâles F1 EC (**Figure 11B** et **Tableau 3** ; LMM, effet traitement: $X^2 = 5.680$, $p = 0.017$). Le nombre de pots différents visités par les oiseaux augmente au cours de la phase de familiarisation (**Figure 11C** et **Tableau 3** ; GLMM poisson, effet jour: $X^2 = 64.357$, $p = 3.515e-13$) et ce, de façon similaire pour les mâles F1 EC et ECV (**Tableau 3** ; $p > 0.05$).

Apprentissage (jpe 78 à 80 ; $N_{EC} = 21$, $N_{ECV} = 24$) : Le nombre d'erreurs réalisés par les oiseaux avant de visiter le pot cible diminue tout au long de la phase d'apprentissage (**Figure 12A** et **Tableau 3** ; LMM permutation, effet jour: $p = 0.002$) et ce, indépendamment des traitements (**Tableau 3** ; $p > 0.05$).

Tests de rappel (jpe 81 ; $N_{EC} = 21$, $N_{ECV} = 24$) : Lors du test spatial où tous les pots sont de couleur blanche, le nombre d'erreurs réalisées par les mâles F1 avant de visiter le pot cible est similaire entre les groupes (moyenne \pm ES, EC: 4.57 ± 0.70 , ECV: 4.87 ± 0.60 ; Fisher-Pitman permutation: $Z = -0.332$, $p = 0.771$). Lors du test de déplacement qui permet de mettre en évidence la stratégie préférentiellement utilisée par les oiseaux, on constate que les mâles F1, indépendamment de leur

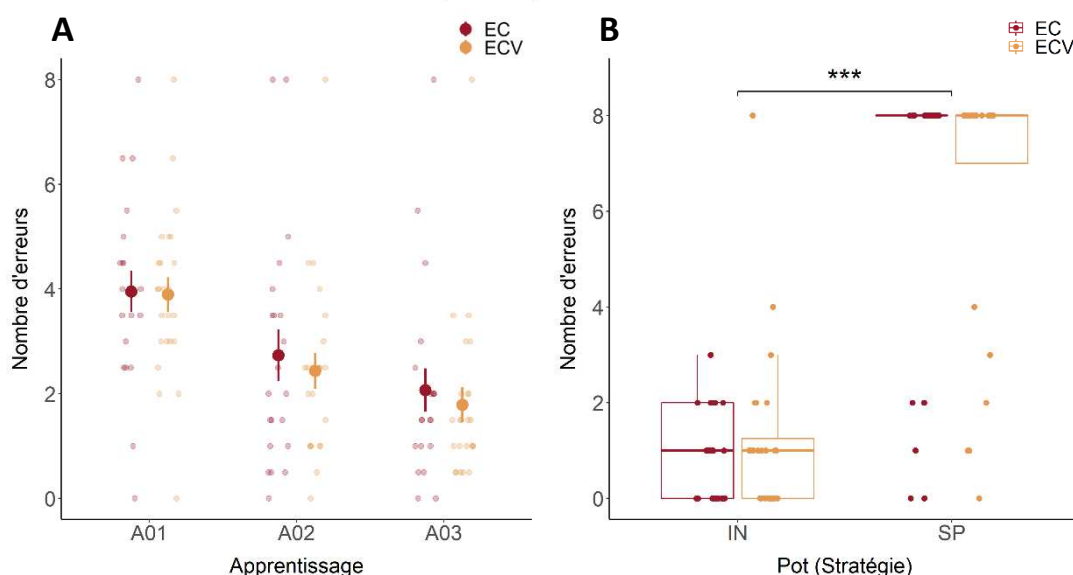


Figure 12 | Performances des mâles F1 ($N_{EC} = 21$, $N_{ECV} = 24$) lors de la phase d'apprentissage et du test de déplacement du test d'apprentissage spatial-indicé. (A) Moyenne \pm ES par jour (cumul des deux passages) du nombre d'erreurs réalisées par les mâles F1 avant de visiter le pot cible lors de la phase d'apprentissage (A01 à A04). Les points en transparence représentent la moyenne des deux passages par jour et par individu. (B) Nombre d'erreurs réalisé par les mâles F1 avant de visiter le pot indicé (IN) et le pot spatial (SP) lors du test de déplacement. * $p < 0.001$.**

traitement, font moins d'erreurs avant de visiter le pot indicé que le pot spatial (**Figure 12B** ; GLMM poisson, effet traitement: $X^2 = 0.263$, $p = 0.608$; effet stratégie: $X^2 = 130.157$, $p < 2e-16$; effet traitement x stratégie: $X^2 = 0.925$, $p = 0.336$).

Bilan des effets du traitement maternel sur les capacités d'apprentissage et de mémorisation des cailles F1

Les capacités d'apprentissage et de mémorisation des cailles F1 diffèrent peu entre nos groupes. On observe toutefois que le premier jour de la phase de familiarisation, la latence de premier pas des femelles F1 ECV est inférieure à celle des femelles F1 EC. De même, tout au long de cette phase, les mâles F1 ECV visitent leur premier pot plus rapidement que les mâles F1 EC. Ces résultats pourraient ainsi résulter de la plus faible réactivité émotionnelle des cailles F1 ECV mise en évidence précédemment. Finalement, on constate, à la fois pour les femelles et les mâles F1, qu'indépendamment des groupes, les oiseaux font, lors du test de déplacement, moins d'erreurs avant de visiter le pot indicé qu'avant de visiter le pot spatial. Tous semblent ainsi privilégier une stratégie d'apprentissage indiquée.

Tableau 2 | Analyses statistiques de la réactivité émotionnelle des cailles F1. Résultats des modèles linéaires, modèles linéaires par permutation et modèles linéaires généralisés. CA = Cris d'appel, RE = Réponse de peur. Les résultats significatifs sont en gras : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, # $0.05 < p < 0.1$.

	Traitement				Sexe				Traitement x Sexe			
	f-value	χ^2	df	p-value	f-value	χ^2	df	p-value	f-value	χ^2	df	p-value
Immobilité tonique												
Nombre d'induction	-	0.173	1	0.677	-	0.412	1	0.521	-	0.259	1	0.611
Durée d'immobilité	2.700	-	1	0.102	0.170	-	1	0.681	0.204	-	1	0.652
Emergence												
Latence CA boîte	-	-	-	0.579	-	-	-	0.206	-	-	-	0.144
Nombre de CA boîte	3.448	-	1	0.065 #	5.572	-	1	0.019 *	1.088	-	1	0.299
Latence d'émergence	-	-	-	0.264	-	-	-	0.659	-	-	-	0.472
Exploration	9.028	-	1	0.003 **	0.810	-	1	0.369	0.844	-	1	0.360
Latence CA dispositif	7.681	-	1	0.006 **	0.153	-	1	0.696	1.102	-	1	0.295
Nombre de CA dispositif	3.190	-	1	0.076 #	6.944	-	1	0.009 **	0.194	-	1	0.660
Bruit soudain												
Première réaction	0.864	-	1	0.325	0.187	-	1	0.665	0.133	-	1	0.715
Marche basse	16.488	-	1	7.791e-05 ***	0.960	-	1	0.329	0.692	-	1	0.406
Peur	5.215	-	1	0.024 *	0.614	-	1	0.434	0.647	-	1	0.422
Openfield												
Observation basse	8.810	-	1	0.003 **	0.518	-	1	0.473	0.608	-	1	0.437
Exploration	3.43	-	1	0.066 #	2.829	-	1	0.094 #	5.962	-	1	0.016 *
Réactivité au prédateur												
Latence RE cri	-	-	-	0.011 *	-	-	-	0.834	-	-	-	0.334

Suite du Tableau 2 | Analyses statistiques de la réactivité émotionnelle des cailles F1.

	Traitement				Sexe				Traitement x Sexe			
	f-value	X ²	df	p-value	f-value	X ²	df	p-value	f-value	X ²	df	p-value
Réactivité au prédateur												
Intensité RE cri	-	2.959	1	0.085	-	0.377	1	0.539	-	0.461	1	0.497
Latence RE cri + leurre	-	-	-	0.040 *	-	-	-	0.997	-	-	-	0.020 *
Intensité RE cri + leurre	-	1.624	1	0.202	-	0.053	1	0.818	-	1.342	1	0.247
Nouvel objet												
Latence d'exploration	2.872	-	1	0.092 #	2.012	-	1	0.275	4.270	-	1	0.040 *
<i>Pacing</i>	7.689	-	1	0.006 **	0.413	-	1	0.521	3.982	-	1	0.048 *
Peur	28.449	-	1	3.351e-07 ***	2.041	-	1	0.155	12.947	-	1	4.305e-04 ***
Nouvel aliment												
Latence à consommer	-	-	-	0.046 *	-	-	-	4.000e-04 ***	-	-	-	0.754
Temps passé à consommer	3.483	-	1	0.064 #	19.841	-	1	1.609e-05 ***	0.313	-	1	0.576

Tableau 3 | Analyses statistiques du test d'apprentissage spatial-indicé des cailles F1. Résultats des modèles linéaires mixtes et des modèles linéaires mixtes par permutation. Les résultats significatifs sont en gras : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, # $0.05 < p < 0.1$.

	χ^2	df	p-value	χ^2	df	p-value	χ^2	df	p-value
FEMELLES F1									
Familiarisation									
Latence du 1 ^{er} pas	0.234	1	0.628	62.729	4	7.738e-13 ***	10.198	4	0.037 *
Nombres de pots visités	0.179	1	0.672	26.216	4	2.862e-05 ***	3.856	4	0.426
Apprentissage									
Nombre d'erreurs	2.954	1	0.086 #	67.867	4	1.221e-14 ***	2.121	3	0.547
MÂLES F1									
Familiarisation									
Latence du 1 ^{er} pas	0.530	1	0.466	163.934	4	< 2.2e-16 ***	10.392	4	0.034 *
Latence de visite du 1 ^{er} pot	5.681	1	0.017 *	216.536	4	< 2.2e-16 ***	7.098	4	0.131
Nombre d'erreurs	0.730	1	0.329	64.357	4	3.515e-13 ***	3.043	4	0.550
Apprentissage									
Nombre d'erreurs	-	-	-0.917	-	-	0.002 **	-	-	0.935

Effets trans-générationnels d'un environnement maternel complexe et variable : étude la génération F3

Effets sur le développement morpho-physiologique

À l'éclosion, les cailleteaux F3 ECV sont plus légers que les cailleteaux F3 EC (moyenne \pm ES, EC: $9.53\text{g} \pm 0.10$, ECV: 9.20 ± 0.12 ; LM, effet traitement: $F_{(1,133)} = 4.240$, $p = 0.041$, effet sexe: $F_{(1,133)} = 0.361$, $p = 0.549$, effet traitement x sexe: $F_{(1,133)} = 0.194$, $p = 0.066$).

Effets sur la réactivité émotionnelle

Test d'immobilité tonique

Les cailles F3 EC et ECV présentent un nombre d'induction (**Tableau 4** ; moyenne \pm ES, EC: 1.59 ± 0.11 , ECV: 1.44 ± 0.10 ; GLM poisson, effet traitement: $X^2 = 0.360$, $p = 0.548$) et une durée d'immobilité similaires (**Tableau 4** ; moyenne \pm ES, EC: $39.23\text{s} \pm 3.32$, ECV: $40.03\text{s} \pm 4.24$; LM, effet traitement: $F_{(1,128)} = 0.014$; $p = 0.906$).

Test d'émergence

Dans la boîte de départ, les cailles F3 ECV émettent leur premier cri d'appel plus rapidement que les cailles F3 EC (**Figure 13A** et **Tableau 4** ; LM, effet traitement: $F_{(1,120)} = 14.240$, $p = 2.514\text{e-}04$). Elles produisent également plus de cris d'appels (**Figure 13B** et **Tableau 4** ; GLM quasi-poisson, effet traitement: $F_{(1,120)} = 12.512$, $p = 5.759\text{e-}05$). Après l'ouverture de la boîte de départ, les cailles F3 ECV émergent plus rapidement que les cailles F3 EC (**Figure 13C** et **Tableau 4** ; LM, effet traitement: $F_{(1,120)} = 7.431$, $p = 0.007$). Une fois dans le dispositif, les mâles F3 ECV explorent moins l'environnement que les mâles F3 EC (**Tableau 4** ; moyenne \pm ES, $EC_{\sigma} : 6.89 \pm 0.83$, $ECV_{\sigma} : 4.00 \pm 0.60$; GLM quasi-poisson, effet traitement x sexe: $F_{(1,118)} = 4.113$, $p = 0.045$; mâles: $p = 0.006$). Les autres comportements relevés ne diffèrent pas significativement entre nos groupes ($p > 0.05$).

Test du bruit soudain

Lors de la diffusion du bruit soudain, la première réaction des oiseaux diffère entre nos groupes

(**Tableau 4** ; GLM binomial, effet traitement x sexe: $X^2 = 7.962$, $p = 0.005$). Les mâles F3 ECV produisent effectivement plus de comportements de peur que les mâles F3 EC ($p = 0.019$). Cette différence n'est pas observée chez les femelles ($p > 0.05$). Une fois la diffusion terminée, les mâles F3 ECV explorent moins l'environnement (**Tableau 4** ; moyenne \pm ES, EC_{σ} : 3.78 ± 0.52 , ECV_{σ} : 2.12 ± 0.48 ; GLM quasi-poisson, effet traitement x sexe: $F_{(1,116)} = 4.820$, $p = 0.030$; mâles: $p = 0.021$) et font moins d'observation moyenne (**Tableau 4** ; moyenne \pm ES, EC_{σ} : 4.14 ± 0.35 , ECV_{σ} : 2.97 ± 0.29 ;

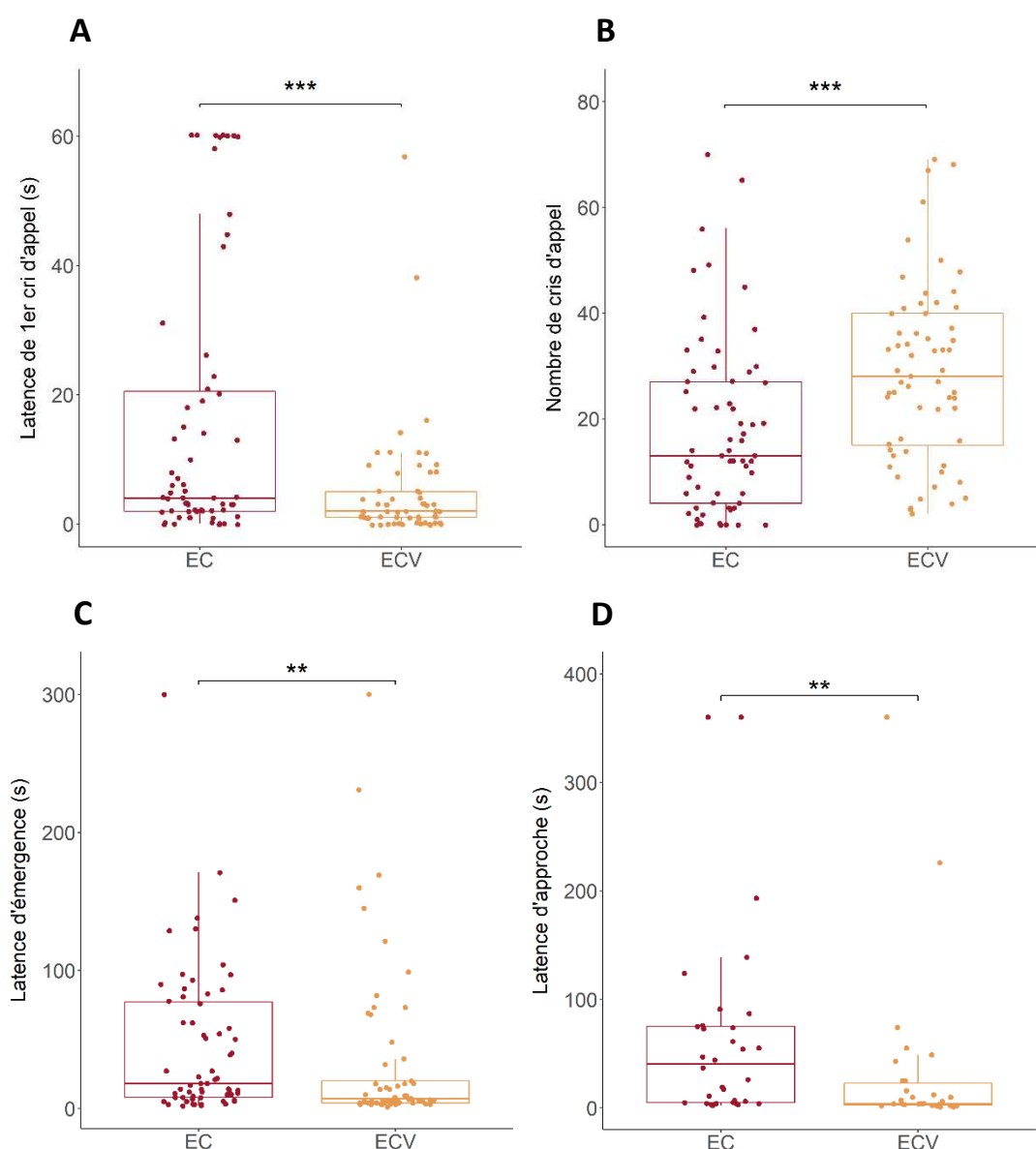


Figure 13 | Comportements des caillles F3 lors du test d'émergence et du nouvel objet. (A et B) Latence du premier cri d'appel (s) et nombre de cris d'appel émis par les caillles F3 dans la boîte de départ lors du test d'émergence. **(C)** Latence d'émergence (s) des caillles F3 lors du test d'émergence. **(D)** Latence d'approche (s) du pot en terre cuite lors du test du nouvel objet. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

GLM poisson, effet traitement x sexe: $X^2 = 7.280$, $p = 0.006$; mâles: $p = 0.011$) que les mâles F3 EC. Les cailles F3 ECV s'ébrouent également moins que les cailles F3 EC (**Tableau 4** ; moyenne \pm ES, EC: 0.28 ± 0.06 , ECV: 0.10 ± 0.04 ; GLM quasi-poisson, effet traitement: $F_{(1,116)} = 5.928$, $p = 0.016$). Les autres comportements relevés ne diffèrent pas significativement entre nos groupes ($p > 0.05$).

Test du nouvel objet

Lorsqu'un nouvel objet (i.e. pot en terre cuite) est introduit dans la cage de vie de nos oiseaux, les cailles F3 ECV approchent ce dernier plus rapidement que les cailles F3 EC (**Figure 13D** et **Tableau 4** ; LM, effet traitement: $F_{(1,58)} = 10.499$, $p = 0.002$). Les latences d'exploration de l'objet (**Tableau 4** ; moyenne \pm ES, EC: $140.13s \pm 24.13$, ECV: $101.87s \pm 22.80$; LM, effet traitement: $F_{(1,58)} = 2.894$, $p = 0.0942$) et les autres comportements relevés ne diffèrent pas significativement entre nos groupes ($p > 0.05$).

Test du nouvel aliment

Aucun des comportements relevés lors du test du nouvel aliment ne diffère significativement entre nos groupes ($p > 0.05$).

Bilan des effets du traitement maternel sur la réactivité émotionnelle des cailles F3

Notre traitement prénatal a encore des conséquences comportementales sur la troisième génération de descendants. Ainsi, les cailles F3 ECV apparaissent plus sensibles à la séparation sociale puisque isolées, elles émettent plus rapidement et plus de cris d'appel. Elles montrent également une exploration plus rapide d'un nouveau milieu en ayant une latence d'émergence plus courte. Enfin, les individus F3 ECV semblent également moins néophobes que les individus F3 EC puisqu'ils s'approchent plus vite d'un nouvel objet. Cependant, les mâles F3 ECV sont plus réactifs que les mâles F3 EC dans certains contextes : ils réagissent plus intensément à la diffusion d'un bruit soudain et dans un milieu inconnu, ils produisent globalement moins de comportements d'exploration.

Tableau 4 | Analyses statistiques de la réactivité émotionnelle des cailles F3. Résultats des modèles linéaires et modèles linéaires généralisés. CA = Cris d'appel. Les résultats significatifs sont en gras : * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001, # 0.05 < p < 0.1.

	Traitement				Sexe				Traitement x Sexe			
	f-value	X ²	df	p-value	f-value	X ²	df	p-value	f-value	X ²	df	p-value
Immobilité tonique												
Nombre d'induction	-	0.362	1	0.547	-	5.328	1	0.021 *	-	0.103	1	0.748
Durée d'immobilité	0.014	-	1	0.906	1.784	-	1	0.184	0.023	-	1	0.880
Emergence												
Latence CA boîte	14.240	-	1	2.514e-04 ***	1.999	-	1	0.160	0.362	-	1	0.548
Nombre de CA boîte	12.512	-	1	5.759e-04 ***	0.567	-	1	0.453	0.449	-	1	0.504
Latence d'émergence	7.432	-	1	0.007 **	3.612	-	1	0.059 #	0.127	-	1	0.722
Exploration	3.931	-	-	0.049 *	3.833	-	1	0.052 #	4.113	-	1	0.045 *
Bruit soudain												
Première réaction	-	0.536	1	0.464	-	0.199	1	0.655	-	7.962	1	0.005 **
Exploration	1.521	-	1	0.220	0.038	-	1	0.846	4.820	-	1	0.030 *
Observation moyenne	-	1.100	1	0.294	-	0.138	1	0.710	-	7.280	1	0.007 **
Ébrouement	5.928	-	1	0.016 *	0.639	-	1	0.425	0.095	-	1	0.758
Nouvel objet												
Latence d'approche	10.499	-	1	0.002 **	7.768	-	1	0.007 **	1.190	-	1	0.280
Latence d'exploration	1.511	-	1	0.224	22.635	-	1	1.341e-05 ***	0.908	-	1	0.344

Effets sur les capacités d'apprentissage et de mémorisation

Capacités d'apprentissage et de mémorisation des mâles

Familiarisation (jpe 319 à 323, $N_{EC} = 16$, $N_{ECV} = 11$) : La latence du premier pas diminue (**Figure 14A**) et le nombre de pots différents visités (**Figure 14B**) augmente au cours de la phase de familiarisation et ce, de façon similaire pour les mâles F3 EC et ECV (latence 1^{er} pas: LMM permutation, effet traitement: $p = 0.127$; effet jour: $p < 0.0001$; effet traitement x jour: $p = 0.650$ et nombre de pots: GLMM poisson, effet traitement: $X^2 = 1.182$, $p = 0.277$; effet jour: $X^2 = 38.780$, $p = 7.733e-08$; effet traitement x jour: $X^2 = 0.674$, $p = 0.954$).

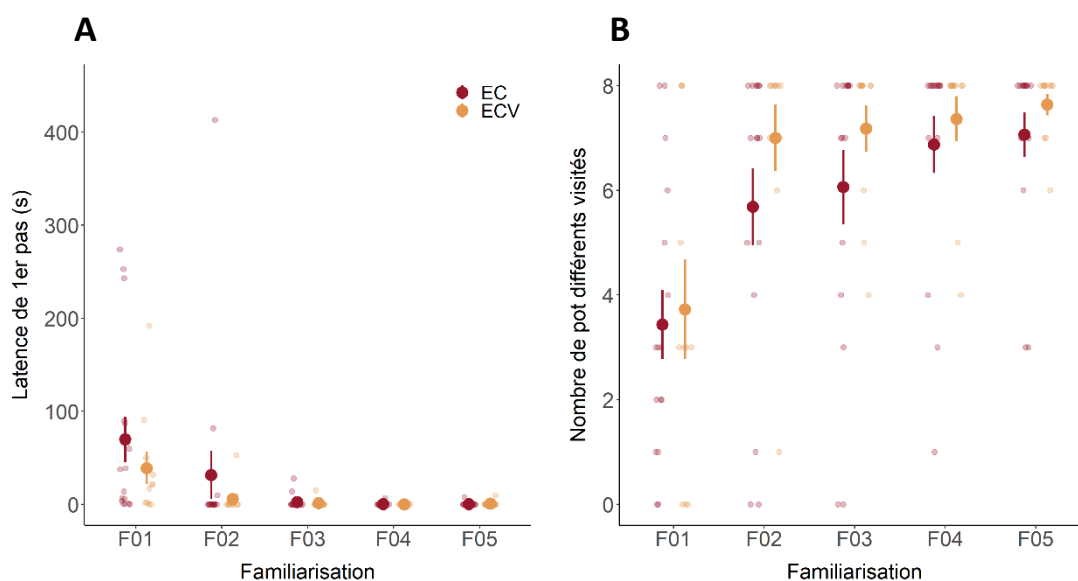


Figure 14 | Performances des mâles F3 ($N_{EC} = 16$, $N_{ECV} = 11$) lors de la phase de familiarisation du test d'apprentissage spatial-indiqué. (A) Moyenne \pm ES de la latence de premier pas (s) et (B) du nombre de pots différents visités par les mâles F3 lors la phase de familiarisation (F01 à F05).

Apprentissage (jpe 324 à 326, $N_{EC} = 14$, $N_{ECV} = 11$) : Le nombre d'erreurs réalisées par les oiseaux avant de visiter le pot cible diminue de façon similaire pour les mâles F3 EC et ECV au cours de la phase d'apprentissage (**Figure 15A**; LMM, effet traitement: $X^2 = 0.181$, $p = 0.671$; effet jour: $X^2 = 30.654$, $p = 2.206e-07$; effet traitement x jour: $X^2 = 1.426$, $p = 0.490$).

Test de rappel (jpe 327, $N_{EC} = 14$, $N_{ECV} = 11$) : Lors du test spatial où tous les pots sont de couleur blanche, le nombre d'erreurs réalisé par les mâles F3 avant de visiter le pot cible, est similaire entre les groupes (moyenne \pm ES, EC: 3.79 ± 0.83 , ECV: 4.73 ± 1.02 ; Fisher-Pitman permutation: $Z = -$

0.730, $p = 0.497$). Lors du test de déplacement on observe que les mâles F3 EC et ECV font tous moins d'erreurs avant de visiter le pot indicé que le pot spatial (**Figure 15B** ; GLMM poisson, effet pot: 72.617, $p < 2e-16$).

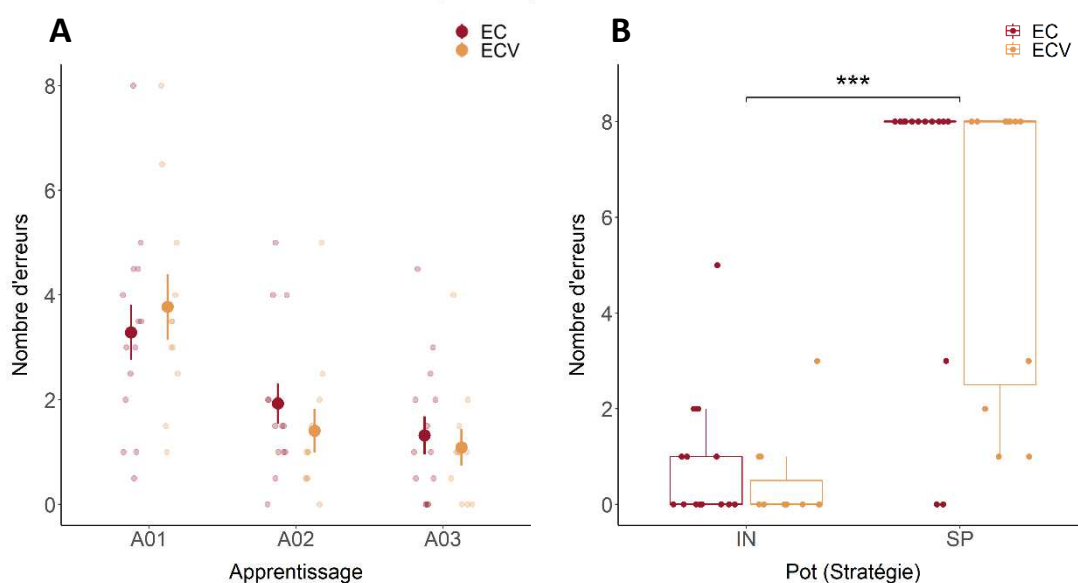


Figure 15 | Performances des mâles F3 lors de la phase d'apprentissage et du test de déplacement du test d'apprentissage spatial-indicé ($N_{EC} = 14$, $N_{ECV} = 11$). **(A)** Moyenne \pm ES par jour (cumul des deux passages) du nombre d'erreurs réalisées par les mâles F3 avant de visiter le pot cible lors de la phase d'apprentissage (A01 à A03). Les points en transparence représentent la moyenne des deux passages par jour et par individu. **(B)** Nombre d'erreurs réalisé par les mâles F3 avant de visiter le pot indicé (IN) et le pot spatial (SP) lors du test de déplacement. *** $p < 0.001$.

Bilan des effets du traitement maternel sur les capacités d'apprentissage et de mémorisation des caillies F3

Aucune différence n'a été mise en évidence entre les mâles F3 EC et ECV lors du test d'apprentissage spatial-indicé. Les capacités d'apprentissage et de mémorisation des mâles F3 n'ont pas été affectées par le traitement des femelles F0. On observe comme à la génération F1, que les mâles F3 EC et ECV font lors du test de déplacement moins d'erreurs avant de visiter le pot indicé qu'avant de visiter le pot spatial. Tous semblent ainsi privilégier une stratégie d'apprentissage indicée.

Discussion

Notre étude met en évidence que l'expérience maternelle d'un environnement à la fois complexe et variable, incluant des expériences positives et négatives, influence le phénotype comportemental des jeunes à travers les générations. Si les capacités d'apprentissage et de mémorisation des jeunes de la génération F1 ne semblent pas avoir été affectées par le traitement prénatal, leur réactivité émotionnelle en revanche, a été modulée. Ces effets phénotypiques sont également observés, du moins en partie, chez les jeunes de la génération F3, témoignant ainsi des effets maternels trans-générationnels.

La complexification de l'environnement de nos femelles F0 a modulé le développement sexuel de leurs jeunes de première génération. Les jeunes F1 ECV présentent en effet, un développement sexuel plus précoce que les jeunes F1 EC. Un tel résultat avait déjà été mis en évidence chez la caille japonaise suite à un enrichissement du milieu de vie de femelles F0 pendant leur phase de ponte (Guibert, 2011). La complexification de l'environnement de nos femelles F0 a également affecté la réactivité émotionnelle de leurs jeunes de première génération. Ainsi, les cailles F1 ECV expriment un plus fort comportement exploratoire et moins de comportements de peur en milieu nouveau. Elles expriment également une plus faible néophobie lorsqu'elles sont confrontées à un nouvel objet ou à un nouvel aliment. Une plus faible néophobie a également été mise en évidence chez les femelles F0 ECV, ceci mettant en évidence une transmission prénatale de cette caractéristique comportementale. Notre étude montre également que les jeunes F1 ECV expriment une plus forte motivation sociale qui se caractérise notamment par une latence plus courte de cri d'appel et une tendance à crier plus en contexte d'isolement social (Launay et al., 1991). Les effets d'un environnement maternel plus complexe et plus variable sur le comportement du jeune, n'avaient encore jamais été mis en évidence à notre connaissance. Nos résultats sont cependant cohérents avec ceux des études s'intéressant à la génération expérimentant directement un tel environnement. Par exemple, lorsqu'ils sont exposés à un nouvel environnement, les poissons zèbres (*Danio rerio*) élevés dans un milieu enrichi (i.e. plantes artificielles, abris, substrat, nouvel objet) et chassés régulièrement à l'épuisette, passent moins de temps au fond du bassin (i.e. comportement de type anxieux) que les individus témoins (DePasquale et al., 2016). De même, les cabillauds (*Gadus morhua*) confrontés à des variations régulières de leur milieu et de leur régime alimentaire (i.e. disponibilité, quantité) quittent lors d'un test d'émergence, la boîte de départ plus rapidement que leurs congénères élevés dans un milieu non changeant (Braithwaite and Salvanes, 2005). Globalement, la complexification de l'environnement des femelles F0 a diminué la réactivité émotionnelle de leurs jeunes F1. Toutefois lorsqu'ils sont mis en présence d'un prédateur, les

jeunes F1 ECV produisent une réponse de peur plus rapidement que les jeunes F1 EC. La complexification de l'environnement des femelles F0 semble donc avoir amélioré la réponse anti-prédateur des jeunes F1. Il est possible que les simulations d'attaques de prédateurs auxquels les femelles F0 ont été exposées, aient permis l'expression d'une telle réponse chez leurs jeunes F1. En effet chez le goéland leucophée (*Larus michahellis*), les jeunes issus de femelles exposées pendant leur phase de ponte à un leurre de prédateur (*Neovison vison*) présentent une meilleure réponse anti-prédateur puisqu'ils s'abaissent plus rapidement lors de la diffusion d'un cri d'alarme spécifique (Morales et al., 2018). De même chez l'épinoche (*Gasterosteus aculeatus*), l'exposition des femelles à un leurre de prédateur (brochet (*Esox lucius*)) pendant leur phase de ponte augmente la fréquence de nage en groupe de leurs jeunes, une réponse assimilable à un comportement anti-prédateur (Giesing et al., 2011). Nos résultats montrent également que certaines caractéristiques émotives n'ont pas été affectées par le traitement prénatal, comme la réponse d'immobilité tonique ou la réponse aux bruits soudains. De nombreux travaux s'accordent aujourd'hui sur l'existence de différentes dimensions/facettes au sein de la réactivité émotionnelle. Facettes qui sont évaluées lors de tests différents et qui ne sont pas forcément corrélées entre elles (Mignon-Grasteau et al., 2003; Jones, 1986; Mills and Faure, 1986). La réponse d'immobilité tonique et la réponse au bruit soudain peuvent toutefois être liées à l'expression de comportement anti-prédateur (Jones, 1986b). Au regard des comportements des jeunes F1 ECV lors de la diffusion d'un cri de buse et/ou de la présence d'un leurre, on aurait pu imaginer observer des différences entre nos oiseaux lors de ces tests également. Ainsi, pour induire une réponse anti-prédateur, il est possible que la diffusion de cri ou le passage d'un leurre soient des stimuli plus forts et plus pertinents en comparaison notamment, à la diffusion d'un bruit soudain qui n'a pas de sens biologique apparent.

Les effets de la complexification de l'environnement maternel ne se limitent pas à la génération F1. Nos résultats révèlent effectivement des différences de développement et de comportement entre les cailles EC et ECV de troisième génération. Les cailles F3 ECV sont plus légères à l'éclosion. Ce résultat est plutôt étonnant. En effet, aucune différence n'avait été observée entre la masse corporelle des cailles F1 EC et ECV. Qui plus est, les cailles F1 ECV présentaient un développement sexuel plus précoce que les cailles F1 EC, ce qui semble contradictoire avec les effets observés sur la masse corporelle des cailles F3. Ce résultat souligne la complexité de la transmission de certains traits à travers les générations et les conséquences potentiellement latentes des effets maternels prénatals. Chez les rongeurs notamment, plusieurs études montrent que certaines caractéristiques phénotypiques peuvent « sauter » une génération et affecter les descendants F2 ou F3 sans que les

descendants F1 ne soient eux-mêmes impactés (Dunn and Bale, 2011; Franklin et al., 2010; Yeshurun et al., 2017). Il est intéressant de noter que les différences de réactivité émotionnelle observées chez les cailles F3 reflètent en partie celles mises en évidence chez les cailles F1 et persistent donc à travers les générations. Comme les individus ECV de première génération, les cailles F3 ECV expriment une plus faible réactivité émotionnelle en environnement nouveau (une latence d'émergence plus faible) mais une plus forte sensibilité à la séparation sociale (latence de cris et nombre de cris plus élevés). Elles sont également comme leurs aïeux moins néophobes face à un objet nouveau. On constate toutefois que certains traits comportementaux diffèrent entre les générations et ce, de façon sexe-spécifique. Lors de la diffusion d'un bruit soudain notamment, les mâles F3 ECV réagissent plus intensément que les mâles F3 EC. Suite à cela, les cailles F3 ECV expriment moins de comportements de confort (i.e. ébrouements) et les mâles F3 ECV explorent moins l'environnement. Ce résultat est particulièrement intéressant. Comme nous l'évoquions précédemment la réponse au bruit soudain peut être associée à un comportement anti-prédateur. À la génération F1, nous avons seulement observé une réponse anti-prédateur plus intense chez les cailles ECV lors de la diffusion du cri de buse et/ou du passage d'un leurre. Nous n'avons pas pu tester nos cailles F3 dans de telles conditions du fait de la pandémie de Covid-19. Toutefois on pourrait supposer d'une accumulation des effets maternels prénatals à travers les générations et du renforcement des comportements anti-prédateurs chez nos oiseaux.

De façon générale, nos résultats montrent qu'un environnement maternel à la fois plus complexe et plus variable peut, au même titre que le stress (**CHAPITRE III - Article II**), la qualité du régime alimentaire (Dunn and Bale, 2011) ou l'exposition à des perturbateurs endocriniens (Leroux et al., 2017; Skinner et al., 2008), induire des effets trans-générationnels.

Comme nous l'avons souligné précédemment, les effets de la complexification de l'environnement maternel ont des effets sexe-spécifiques. À la génération F1, lors du test du nouvel objet, on observe seulement des différences entre les femelles. De même, lors de la diffusion d'un cri de buse et du passage simultané d'un leurre, on observe seulement des différences entre les mâles. À la génération F3, lors du test du bruit soudain, c'est chez les mâles que l'on constate des différences plus importantes. Ce résultat souligne la complexité de la transmission de certains traits à travers les générations. Bien que le rôle des stéroïdes sexuels soit largement suggéré (Franklin et al., 2010), les mécanismes impliqués dans la transmission sexe-spécifique des effets maternels prénatals à travers les générations ne sont pas encore clairement identifiés aujourd'hui. De nombreuses études rapportent cependant des résultats similaires aux nôtres (e.g. Benyshek et al., 2006; Dunn and Bale, 2011; Franklin et al., 2010; Weinstock, 2007; Zuena et al., 2016). Par exemple,

chez la souris, un régime maternel riche en graisses pendant la gestation augmente la masse corporelle des mâles et des femelles F2 alors qu'à la génération F3s ces effets n'ont été mis en évidence que chez les femelles (Dunn and Bale, 2009, 2011).

Plusieurs études montrent que l'exposition à un environnement plus complexe et/ou plus variable, stimule le développement cérébral (pour revue Arai and Feig, 2011; von Krogh et al., 2010; Veena et al., 2009) et améliore par conséquent les capacités d'apprentissage et de mémorisation des individus (DePasquale et al., 2016; Gunnarsson et al., 2000; Hebb, 1947; Kotrschal and Taborsky, 2010). Par exemple, les saumons atlantiques (*Salmo salar*), maintenus dans un environnement contenant des enrichissements structurels changés régulièrement, présentent une augmentation de l'expression de NeuroD1 (i.e. indicateur de neurogenèse) dans le télencéphale et de meilleures capacités d'apprentissage spatial dans un labyrinthe (Salvanes et al., 2013). L'amélioration des capacités d'apprentissage et de mémorisation des individus sont également observés du fait de l'environnement maternel. L'enrichissement de l'environnement de la femelle gestante est ainsi associé chez le rat, à de meilleures performance dans un labyrinthe en T (Kiyono et al., 1985) ou dans un test d'apprentissage en piscine de Morris (Zuena et al., 2016). Lors de notre test d'apprentissage spatial-indicé, on constate que le nombre de pots différents visités par les femelles et les mâles F1 augmente progressivement, confirmant le fait qu'ils s'habituent au dispositif et à la tâche proposée. Néanmoins, les mâles F1 ECV visitent leur premier pot plus rapidement que les mâles F1 EC. De même, les femelles F1 ECV ont une latence de premier pas plus faible que les femelles F1 EC le premier jour de cette phase d'habituation. Ces résultats reflètent de nouveau la plus faible réactivité émotionnelle des cailles F1 ECV. Contrairement à notre hypothèse, les performances des cailles F1 EC et ECV sont similaires lors de la phase d'apprentissage et des tests de rappel. La complexité de l'environnement maternel proposé dans notre étude n'a donc pas amélioré les capacités d'apprentissage et de mémorisation de nos cailles F1. Il en est de la génération F3, puisque les mâles F3 EC et ECV présentent des performances similaires lors de la phase d'apprentissage et lors des tests de rappel. Indépendamment de leur sexe, de leur génération ou de leur traitement, nos cailles utilisent préférentiellement une stratégie indicée pour s'orienter dans le dispositif et localiser la récompense. Lors du test spatial où tous les pots sont blancs, les cailles font effectivement plus d'erreurs avant de visiter le pot cible que lors du dernier jour d'apprentissage où celui-ci est noir. Privées de son indice de couleur, nos cailles ont donc eu plus de difficultés à retrouver le pot cible. De même, lors du test de déplacement, les cailles font moins d'erreurs avant de visiter le pot indicé que le pot spatial. Contrairement à une stratégie spatiale qui dépend de l'intégration par l'animal de signaux multiples et qui repose donc sur une forme de

mémoire complexe, une stratégie indicée est basée sur une association stimulus-réponse et est donc considérée comme dépendante d'une forme de mémoire plus simple (Lormant et al., 2020; Packard and Goodman, 2013). L'utilisation préférentielle d'une telle stratégie a déjà été suggérée précédemment (Ferreira et al., 2020). Il apparaît notamment que les poussins (*Gallus gallus domesticus*) se souviennent davantage des caractéristiques visuelles (e.g. couleur, forme) d'un objet plutôt que de sa position (Vallortigara and Zanforlin, 1989). Récemment, il a aussi été montré, chez la même espèce, que les poussins, lorsqu'ils ont le choix entre des indices distaux et proximaux utilisent préférentiellement des indices proximaux pour s'orienter (Morandi-Raikova et al., 2020). Étonnamment, quel que soit leur sexe, leur génération et même leur traitement, aucune différence de stratégie n'a été observée entre nos cailles. L'utilisation préférentielle d'une stratégie par rapport à une autre est pourtant influencée par de multiples facteurs et notamment par la réactivité émotionnelle de l'animal. Par exemple, chez la caille japonaise, les oiseaux présentant une forte réactivité émotionnelle utilisent davantage des indices distaux alors que les oiseaux présentant une réactivité émotionnelle plus faible privilégient l'utilisation d'indices proximaux (Lormant et al., 2018). On aurait ainsi pu imaginer que les différences de réactivité émotionnelle observée entre les cailles F1 et F3 EC et ECV aient conduit à l'utilisation de stratégies différentes. Finalement, on pourrait supposer que l'absence de différences observées entre les capacités d'apprentissage et de mémorisation des cailles EC et ECV soient directement dépendantes de la stratégie utilisée. En effet, les travaux ayant montré une amélioration des capacités d'apprentissage en lien avec la complexification du milieu, se sont principalement concentrées sur des capacités dépendantes de la mémoire spatiale. Cette forme de mémoire complexe dépend de l'hippocampe alors que la mémoire indicée, privilégiée par nos oiseaux, dépend d'une autre structure cérébrale, le striatum (Packard and Goodman, 2013; White and McDonald, 2002). Ces formes de mémoires et les structures cérébrales qui leur sont associées, sont différemment influencées par les facteurs environnementaux. Ainsi, si le stress peut induire des effets particulièrement délétères pour les formes de mémoire complexe impliquant l'hippocampe, ces effets seraient plus limités pour les formes de mémoire les plus simples (Sandi and Pinelo-Nava, 2007). Les capacités d'apprentissage que nous avons testées sont donc peut-être moins sensibles aux effets du stress.

En conclusion, notre étude montre qu'un environnement maternel à la fois plus complexe et plus variable, combinant expériences négatives et positives et mimant donc un environnement naturel, influence le développement phénotypique des jeunes à travers les générations. Plus particulièrement, nous avons mis en évidence des effets maternels inter- et trans-générationnels sur la réactivité émotionnelle des jeunes, compétence comportementale qui pourrait se révéler

essentiel à l'adaptation d'un individu à son environnement. Les effets trans-générationnels de la complexification de l'environnement de la femelle pourraient au-delà des effets maternels jouer un rôle fondamental dans les processus adaptatifs et la dynamique des populations (Marshall and Uller, 2007; Mousseau and Fox, 1998).

Références

Arai, J.A., and Feig, L.A. (2011). Long-lasting and transgenerational effects of an environmental enrichment on memory formation. *Brain Research Bulletin* 85, 30–35.

Barrett, L.F., Mesquita, B., Ochsner, K.N., and Gross, J.J. (2007). The Experience of Emotion. *Annu. Rev. Psychol.* 58, 373–403.

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., and Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67, 1–48.

Benyshek, D.C., Johnston, C.S., and Martin, J.F. (2006). Glucose metabolism is altered in the adequately-nourished grand-offspring (F3 generation) of rats malnourished during gestation and perinatal life. *Diabetologia* 49, 1117–1119.

Bertin, A., Cornilleau, F., Lemarchand, J., Boissy, A., Leterrier, C., Nowak, R., Calandreau, L., Blache, M.-C., Boivin, X., Arnould, C., et al. (2018). Are there facial indicators of positive emotions in birds? A first exploration in Japanese quail. *Behavioural Processes* 157, 470–473.

Braithwaite, V.A., and Salvanes, A.G.V. (2005). Environmental variability in the early rearing environment generates behaviourally flexible cod: implications for rehabilitating wild populations. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 272, 1107–1113.

Brantsæter, M., Nordgreen, J., Rodenburg, T.B., Tahamtani, F.M., Popova, A., and Janczak, A.M. (2016). Exposure to Increased Environmental Complexity during Rearing Reduces Fearfulness and Increases Use of Three-Dimensional Space in Laying Hens (*Gallus gallus domesticus*). *Front. Vet. Sci.* 3.

Bruce, E.H., Prescott, N.B., and Wathes, C.M. (2003). Preferred food rewards for laying hens in behavioural experiments. *British Poultry Science* 44, 345–349.

Dawkins, M.S. (1989). Time budgets in Red Junglefowl as a baseline for the assessment of welfare in domestic fowl. *Applied Animal Behaviour Science* 24, 77–80.

DePasquale, C., Neuberger, T., Hirrlinger, A.M., and Braithwaite, V.A. (2016). The influence of complex and threatening environments in early life on brain size and behaviour. *Proc. R. Soc. B* 283, 20152564.

- Dunn, G.A., and Bale, T.L. (2009). Maternal High-Fat Diet Promotes Body Length Increases and Insulin Insensitivity in Second-Generation Mice. *Endocrinology* *150*, 4999–5009.
- Dunn, G.A., and Bale, T.L. (2011). Maternal High-Fat Diet Effects on Third-Generation Female Body Size via the Paternal Lineage. *Endocrinology* *152*, 2228–2236.
- Ferreira, V.H.B., Barbarat, M., Lormant, F., Germain, K., Brachet, M., Løvlie, H., Calandreau, L., and Guesdon, V. (2020). Social motivation and the use of distal, but not local, featural cues are related to ranging behavior in free-range chickens (*Gallus gallus domesticus*). *Anim Cogn* *23*, 769–780.
- Fox, J., and Weisberg, S. (2019). *An {R} Companion to Applied Regression*.
- Franklin, T.B., Russig, H., Weiss, I.C., Gräff, J., Linder, N., Michalon, A., Vizi, S., and Mansuy, I.M. (2010). Epigenetic Transmission of the Impact of Early Stress Across Generations. *Biological Psychiatry* *68*, 408–415.
- Giesing, E.R., Suski, C.D., Warner, R.E., and Bell, A.M. (2011). Female sticklebacks transfer information via eggs: effects of maternal experience with predators on offspring. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* *278*, 1753–1759.
- Giraudoux, P., Antonietti, J.-P., Beale, C., Lancelot, R., Pleydell, D., and Treglia, M. (2021). *pgirmess: Spatial Analysis and Data Mining for Field Ecologists*.
- Griffin, A.S., Blumstein, D.T., and Evans, C.S. (2000). Training Captive-Bred or Translocated Animals to Avoid Predators. *Conservation Biology* *14*, 1317–1326.
- Guesdon, V., Bertin, A., Houdelier, C., Lumineau, S., Formanek, L., Kotrschal, K., Möstl, E., and Richard-Yris, M.-A. (2011). A Place to Hide in the Home-Cage Decreases Yolk Androgen Levels and Offspring Emotional Reactivity in Japanese Quail. *PLoS ONE* *6*, e23941.
- Guibert, F. (2011). Influences maternelles prénatales sur le développement comportemental : étude chez la caille japonaise *Coturnix c. japonica*. thesis. Rennes 1.
- Gunnarsson, S., Yngvesson, J., Keeling, L.J., and Forkman, B. (2000). Rearing without early access to perches impairs the spatial skills of laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* *67*, 217–228.
- Hebb, D. (1947). The effects of early experience on problem solving at maturity. *Am. Psychol.* *2*, 306–307.
- Hervé, M. (2021). *RVAideMemoire: Testing and Plotting Procedures for Biostatistics*.
- Hesham H. Mohammed, Enas N. Said, and Shereen EL. Abdel-Hamid (2017). Impact of different litter materials on behaviour, growth performance, feet health and plumage score of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *European Poultry Science* *81*.
- Homberger, M.B. (2014). The effects of prenatal and postnatal contexts on physiology, behaviour and survival of reintroduced grey partridges (*Perdix perdix*). PhD Thesis. University of Zurich.

- Hothorn, T., Hornik, K., van de Wiel, M.A., and Zeileis, A. (2006). A Lego System for Conditional Inference. *The American Statistician* *60*, 257–263.
- Hyvärinen, P., and Rodewald, P. (2013). Enriched rearing improves survival of hatchery-reared Atlantic salmon smolts during migration in the River Tornionjoki. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* *70*, 1386–1395.
- Inglis, I.R., Forkman, B., and Lazarus, J. (1997). Free food or earned food? A review and fuzzy model of contrafreeloading. *Animal Behaviour* *53*, 1171–1191.
- Jensen, P., Schütz, K., and Lindqvist, C. (2002). Red Jungle Fowl have more contrafreeloading than White Leghorn layers: effect of food deprivation and consequences for information gain. *Behaviour* *139*, 1195–1209.
- Jones, R.B. (1986a). Responses of domestic chicks to novel food as a function of sex, strain and previous experience. *Behavioural Processes* *12*, 261–271.
- Jones, R.B. (1986b). The tonic immobility reaction of the domestic fowl: a review. *World's Poultry Science Journal* *42*, 82–96.
- Jones, R.B. (1987). Food Neophobia and Olfaction in Domestic Chicks. *Bird Behavior* *7*, 78–81.
- Kiyono, S., Seo, M.L., Shibagaki, M., and Inouye, M. (1985). Facilitative effects of maternal environmental enrichment on maze learning in rat offspring. *Physiology & Behavior* *34*, 431–435.
- Kleiber, C., and Zeileis, A. (2020). *AER: Applied Econometrics with R*.
- Kotrschal, A., and Taborsky, B. (2010). Environmental Change Enhances Cognitive Abilities in Fish. *PLoS Biol* *8*, e1000351.
- von Krogh, K., Sørensen, C., Nilsson, G.E., and Øverli, Ø. (2010). Forebrain cell proliferation, behavior, and physiology of zebrafish, *Danio rerio*, kept in enriched or barren environments. *Physiology & Behavior* *101*, 32–39.
- Launay, F., Mills, A.D., and Faure, J.M. (1991). Social motivation in Japanese quail *coturnix coturnix japonica* chicks selected for high or low levels of treadmill behaviour. *Behavioural Processes* *24*, 95–110.
- Lenth, R., Buerkner, P., Herve, M., Love, J., Riebl, H., and Singmann, H. (2020). *emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means*.
- Leroux, S., Gourichon, D., Leterrier, C., Labrune, Y., Coustham, V., Rivière, S., Zerjal, T., Coville, J.-L., Morisson, M., Minvielle, F., et al. (2017). Embryonic environment and transgenerational effects in quail. *Genet Sel Evol* *49*, 14.
- Lormant, F., Cornilleau, F., Constantin, P., Meurisse, M., Lansade, L., Leterrier, C., Lévy, F., and Calandreau, L. (2018). A trait for a high emotionality favors spatial memory to the detriment of cue-based memory in Japanese quail. *Behavioural Processes* *157*, 256–262.

- Lormant, F., Cornilleau, F., Constantin, P., Meurisse, M., Lansade, L., Leterrier, C., Lévy, F., and Calandreau, L. (2020). Research Note: Role of the hippocampus in spatial memory in Japanese quail. *Poultry Science* *99*, 61–66.
- Madden, J.R., Hall, A., and Whiteside, M.A. (2018). Why do many pheasants released in the UK die, and how can we best reduce their natural mortality? *Eur J Wildl Res* *64*, 40.
- Marshall, D.J., and Uller, T. (2007). When Is a Maternal Effect Adaptive? *Oikos* *116*, 1957–1963.
- Mignon-Grasteau, S., Roussot, O., Delaby, C., Faure, J.M., Mills, A., Leterrier, C., Guéméné, D., Constantin, P., Mills, M., Lepape, G., et al. (2003). Factorial correspondence analysis of fear-related behaviour traits in Japanese quail. *Behavioural Processes* *61*, 69–75.
- Mills, A. (1997). The behavior of the japanese or domestic quail *Coturnix japonica*. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* *21*, 261–281.
- Mills, A.D., and Faure, J.-M. (1986). The estimation of fear in domestic quail: correlations between various methods and measures. *Biology of Behaviour* *11*, 235–243.
- Moe, R.O., Nordgreen, J., Janczak, A.M., Spruijt, B.M., and Bakken, M. (2013). Effects of signalled reward type, food status and a μ -opioid receptor antagonist on cue-induced anticipatory behaviour in laying hens (*Gallus domesticus*). *Applied Animal Behaviour Science* *148*, 46–53.
- Morales, J., Lucas, A., and Velando, A. (2018). Maternal programming of offspring antipredator behavior in a seabird. *Behavioral Ecology* *29*, 479–485.
- Morandi-Raikova, A., Vallortigara, G., and Mayer, U. (2020). The use of spatial and local cues for orientation in domestic chicks (*Gallus gallus*). *Anim Cogn*.
- Mousseau, T., and Fox, C.W. (1998). The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecology & Evolution* *13*, 403–407.
- Murphy, L.B. (1977). Responses of domestic fowl to novel food and objects. *Applied Animal Ethology* *3*, 335–349.
- Packard, M.G., and Goodman, J. (2013). Factors that influence the relative use of multiple memory systems: Factors that Influence the use of Multiple Memory Systems. *Hippocampus* *23*, 1044–1052.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., and R Core Team (2020). *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*.
- Salvanes, A.G.V., and Braithwaite, V.A. (2005). Exposure to variable spatial information in the early rearing environment generates asymmetries in social interactions in cod (*Gadus morhua*). *Behav Ecol Sociobiol* *59*, 250–257.
- Salvanes, A.G.V., Moberg, O., and Braithwaite, V.A. (2007). Effects of early experience on group behaviour in fish. *Animal Behaviour* *74*, 805–811.

- Salvanes, A.G.V., Moberg, O., Ebbesson, L.O.E., Nilsen, T.O., Jensen, K.H., and Braithwaite, V.A. (2013). Environmental enrichment promotes neural plasticity and cognitive ability in fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280, 20131331.
- Sandi, C., and Pinelo-Nava, M.T. (2007). Stress and Memory: Behavioral Effects and Neurobiological Mechanisms. *Neural Plasticity* 2007, 1–20.
- Skinner, M.K., Anway, M.D., Savenkova, M.I., Gore, A.C., and Crews, D. (2008). Transgenerational Epigenetic Programming of the Brain Transcriptome and Anxiety Behavior. *PLoS ONE* 3, e3745.
- Smith, E.L., Greenwood, V.J., and Bennett, A.T.D. (2002). Ultraviolet colour perception in European starlings and Japanese quail. *Journal of Experimental Biology* 205, 3299–3306.
- Tarou, L.R., and Bashaw, M.J. (2007). Maximizing the effectiveness of environmental enrichment: Suggestions from the experimental analysis of behavior. *Applied Animal Behaviour Science* 102, 189–204.
- Vallortigara, G., and Zanforlin, M. (1989). Place and object learning in chicks (*Gallus gallus domesticus*). *Journal of Comparative Psychology* 103, 201–209.
- Veena, J., Srikumar, B.N., Mahati, K., Bhagya, V., Raju, T.R., and Rao, B.S.S. (2009). Enriched environment restores hippocampal cell proliferation and ameliorates cognitive deficits in chronically stressed rats. *Journal of Neuroscience Research* 87, 831–843.
- Weinstock, M. (2007). Gender Differences in the Effects of Prenatal Stress on Brain Development and Behaviour. *Neurochem Res* 32, 1730–1740.
- White, N., and McDonald, R. (2002). Multiple Parallel Memory Systems in the Brain of the Rat. *Neurobiology of Learning and Memory* 77, 125–184.
- Whiteside, M.A., Sage, R., and Madden, J.R. (2015). Diet complexity in early life affects survival in released pheasants by altering foraging efficiency, food choice, handling skills and gut morphology. *J Anim Ecol* 84, 1480–1489.
- Widowski, T.M., and Duncan, I.J.H. (2000). Working for a dustbath: are hens increasing pleasure rather than reducing suffering? *Applied Animal Behaviour Science* 68, 39–53.
- Yeshurun, S., Short, A.K., Bredy, T.W., Pang, T.Y., and Hannan, A.J. (2017). Paternal environmental enrichment transgenerationally alters affective behavioral and neuroendocrine phenotypes. *Psychoneuroendocrinology* 77, 225–235.
- Zuena, A.R., Zinni, M., Giuli, C., Cinque, C., Alemà, G.S., Giuliani, A., Catalani, A., Casolini, P., and Cozzolino, R. (2016). Maternal exposure to environmental enrichment before and during gestation influences behaviour of rat offspring in a sex-specific manner. *Physiology & Behavior* 163, 274–287.

Chapitre IV

Complexité et variabilité

Partie B

Problématique

Dans la première partie de ce chapitre (**CHAPITRE IVA**), nous avons montré chez la caille japonaise que le phénotype comportemental des jeunes pouvait être modulé à travers les générations, par un environnement maternel plus complexe, plus variable se voulant plus proche d'un environnement naturel. Notre objectif dans cette seconde partie est donc d'en tester le potentiel adaptatif.

Nous nous sommes pour cela intéressés à la perdrix rouge, espèce représentant un enjeu cynégétique majeur, puisque plus de 2,5 millions d'individus sont élevés et mis en nature chaque année en France (Bro and Mayot, 2006). Afin de préparer au mieux ces oiseaux à leur réintroduction en milieu naturel, de nombreux programmes ont tenté d'améliorer leurs conditions d'élevage postnatales (i.e. diversification alimentaire, élevage en présence d'adultes expérimentés, entraînements anti-prédateurs) et ont montré des effets bénéfiques sur leur phénotype comportemental et sur leur survie en nature, du moins à court terme (**CHAPITRE I - 7**). Dans ce contexte et afin de répondre également aux questionnements de la filière élevage, nous avons fait le choix d'évaluer ici, les effets indépendants ou combinés de modifications des environnements prénatal et postnatal sur le phénotype comportemental de la perdrix rouge en élevage et sur sa survie en milieu naturel.

Nous avons dans un premier temps, adapté le protocole mis en place chez la caille japonaise (**CHAPITRE IVA**) et modifié l'environnement des couples (en élevage, mâles et femelles sont maintenues en couples) de perdrix F0 (traitement prénatal) afin de le rendre plus complexe, plus variable et donc plus naturel. Nous avons ainsi i) diversifié le régime alimentaire de ces oiseaux, ii) ajouté dans leur cage de vie différents éléments permettant de stimuler l'expression de leurs comportements d'exploration, de recherche alimentaire et de confort et iii) augmenté la dangerosité du milieu en simulant régulièrement des attaques de prédateurs. Nous avons dans un second temps, modifié l'environnement d'élevage des jeunes perdrix F1 (traitement postnatal) issues de ces perdrix F0, en nous inspirant des études réalisées précédemment (e.g. Gaudio et al., 2011a; Ricci, 2016; Whiteside et al., 2015). Nous avons ainsi i) élevé ces oiseaux en présence de perdrix adultes expérimentées, ii) augmenté la dangerosité du milieu en simulant régulièrement des attaques de prédateurs et iii) diversifié leur régime alimentaire. Afin de mettre en évidence des effets inter- et multi-générationnels de ces différents traitements, nous avons également élevé, dans des conditions standards cette fois-ci (**CHAPITRE II - 2.2.5**) une nouvelle génération issue de nos perdrix F1, les perdrix F2. Nous avons caractérisé le développement morphologique et la

réactivité émotionnelle des perdrix F1 et F2 en élevage, puis après leur mise en nature, à l'âge de 13 semaines avons également évalué leur survie. Nous supposons que les traitements appliqués aux perdrix F0 et F1 peuvent indépendamment et en association, moduler le phénotype comportemental des perdrix F1 et F2 et améliorer leur survie en nature.

Méthodologie

*Dans la section méthodologie de ce chapitre, nous détaillerons seulement les procédures expérimentales appliquées aux perdrix des générations F0, F1 et F2, l'organisation générale de l'expérience ainsi que les analyses statistiques réalisées. Les conditions de maintenance générales et de production des perdrix des générations F0, F1 et F2 ainsi que les détails des tests comportementaux et des suivis effectués en milieu naturel sont présentés dans les chapitres précédents (**CHAPITRES II et IVA**).*

Génération parentale F0

Traitement prénatal

En élevage, les perdrix rouges en reproduction sont maintenues en couple. Aussi, contrairement à nos expérimentations sur la caille japonaise, notre traitement de complexification du milieu concernait à la fois les femelles et les mâles F0.

Les couples de perdrix F0 sont répartis en deux groupes miroirs, une femelle du premier groupe ayant une sœur dans le second. Le premier groupe est maintenu dans des conditions standards (T : Groupe Témoin, $N_T = 79$ couples) alors que le second est exposé à diverses modifications de son environnement que nous appellerons par la suite traitement prénatal (PRE : Groupe Prénatal, $N_{PRE} = 78$ couples). Pendant 30 jours, les couples de perdrix F0 PRE sont exposés à une à trois stimulations quotidiennes (**ANNEXE III**). Ces stimulations ont pour objectif de complexifier et de rendre plus variable et donc, plus naturel, l'environnement des oiseaux. Les stimulations appliquées aux perdrix F0 PRE s'inspirent largement de celles appliquées aux cailles F0 ECV lors de l'expérience complexe et variable (**CHAPITRE IVA**). Toutefois, afin de s'adapter à la perdrix rouge et à ses conditions d'élevage, certaines de ces stimulations ont dû être modifiées. Les spécificités du protocole mis en place chez les perdrix F0 PRE sont ainsi détaillées ci-après (**Figure 3**).

Diversification alimentaire

Contrairement aux perdrix F0 T dont l'aliment se compose uniquement de granulés et ne présente qu'un type de granulométrie, l'aliment proposé aux perdrix F0 PRE se compose de granulés et de semoulette et présente donc deux types de granulométries différentes (**Figure 1A**). L'aliment des perdrix F0 PRE est colorisé, 11 fois au cours du protocole, en noir, vert, rouge-orangé et jaune (colorants alimentaires Vahiné). Toutefois, aucun colorant n'est ajouté dans l'eau des perdrix F0 T comme nous avons pu le faire avec les cailles F0 EC, l'élevage disposant d'un système d'abreuvement collectif automatique qui rendait impossible cette manipulation. En complément de leur aliment habituel, des vers de farine sont régulièrement proposés aux perdrix F0 T et PRE selon les mêmes modalités que celles appliquées pour les cailles F0 EC et EVC (**Figure 1A**).

Stimulation des comportements d'exploration et de recherche alimentaire

Les comportements d'exploration et de recherche alimentaire des perdrix F0 PRE sont stimulés, 30 fois au cours du protocole, via l'ajout dans leur cage de vie de différents éléments dont des plaques de carton classiques ou alvéolées, des fagots de paille, des petits pots en plastique, des planches à trous en bois (**Figure 1B et 1C**) et de grands carrés de gazon artificiel (i.e. astroturf). Des vers de farine vivants et de l'aliment qu'il soit coloré ou non, sont déposés et/ou dissimulés sur et/ou dans ces différents éléments.

Stimulation des comportements de confort

Huit fois au cours du protocole, des bacs contenant trois substrats différents selon les sessions (e.g. du sable, de la terre ou encore des copeaux de bois (**Figure 1D**)) sont ajoutés dans les cages de vie des perdrix. Outre le fait de stimuler les comportements de confort, ces bacs constitués de carton, permettent également de stimuler l'expression des comportements d'exploration.

Simulations d'attaques de prédateurs

Lors de la phase diurne (08:00-19:00), un cri de buse (*Buteo buteo*) est diffusé (90 dB) pendant 54 secondes (i.e. durée de la bande son) grâce à deux haut-parleurs placés aux extrémités du parquet de reproduction. Simultanément à cette diffusion, un leurre de rapace (*Falco tinnunculus*),

monté sur canne à pêche, est déplacé au-dessus des cages de vie des perdrix F0 PRE. Afin d'accentuer la réaction des oiseaux, un bâton métallique peut également être frappé en simultanément sur les parois des cages des perdrix. Ces simulations d'attaques de prédateurs ont lieu 13 fois au cours de la procédure. À chaque fois, deux diffusions et deux passages espacés de deux minutes sont réalisés. Les perdrix F0 T, également présentes dans le parquet de reproduction, peuvent, elles aussi, entendre les cris de buses mais ne peuvent cependant pas les associer avec le passage du leurre, celui-ci n'étant pas déplacé au-dessus de leurs cages (**Figure 1E**).



Figure 1 | Dispositifs et stimulations utilisés lors de notre expérience chez les perdrix rouges de génération F0. (A) Planche à trous contenant des vers de farine vivants ainsi que de l'aliment sous forme de granulés et de semoulette permettant (B) de stimuler les comportements de recherche alimentaire des perdrix F0 PRE. (C) Fagot de paille stimulant les comportements d'exploration, ici du mâle. (D) Bac contenant du sable, des copeaux de bois ou de la terre et permettant l'expression ici par la femelle, du comportement de bain de poussière. (E) Leurre de rapace déplacé au-dessus des cages des perdrix F0 PRE lors des simulations d'attaques de prédateurs. © M. Charrier

Caractérisation phénotypique des couples de la génération F0

Afin de valider les effets du traitement prénatal, nous avons caractérisé les perdrix F0 (**Figure 3**) en évaluant leur masse corporelle, certains paramètres zootechniques (i.e. nombre d'œufs pondus, poids des œufs, taux de fécondation et d'éclosion des œufs) et leur réactivité émotionnelle (i.e. tests d'immobilité tonique, du nouvel objet et du nouvel aliment). Si la masse corporelle ($N_{PRE} = 155$, $N_T = 158$) et les paramètres zootechniques ont été relevés pour l'ensemble des oiseaux ($N_{PRE} = 77$ femelles, $N_T = 79$ femelles), la réactivité émotionnelle des perdrix F0 a cependant été caractérisée sur un échantillon de couples sélectionnés aléatoirement (immobilité tonique : $N_{PRE} = 80$, $N_T = 84$, nouvel objet : $N_{PRE} = 78$, $N_T = 84$, nouvel aliment : $N_{PRE} = 80$, $N_T = 82$).

Génération F1

Traitement postnatal

Le jour de leur éclosion, les perdreaux F1 issus des couples F0 T et PRE sont séparés en deux nouveaux groupes et répartis dans quatre bâtiments. Un groupe de perdreaux T et un groupe de perdreaux PRE sont maintenus dans des conditions d'élevage standards (T : Groupes Témoins). Ils sont respectivement nommés T-T (Groupe Témoin-Témoin, $N_{T-T} = 527$) et PRE-T (Groupe Prénatal-Témoin, $N_{PRE-T} = 554$). Les seconds groupes de perdreaux T et PRE sont quant à eux exposés à diverses modifications de leur environnement d'élevage que nous appellerons par la suite traitement postnatal (POST : Groupe Postnatal). Ils sont respectivement nommés T-POST (Groupe Témoin-Postnatal, $N_{T-POST} = 532$) et PRE-POST (Groupe Prénatal-Postnatal, $N_{PRE-POST} = 550$). Les groupes T-POST et PRE-POST sont pendant leur phase d'élevage, d'une durée de 13 semaines, exposés à différentes stimulations (**Figure 3**) qui ont pour objectif de complexifier leur environnement et de recréer des conditions potentiellement rencontrées en milieu naturel.

Mise en présence de perdrix adultes expérimentées

Le lendemain de leur éclosion, un couple de perdrix adultes expérimentées dit « couple tuteur » est installé dans les bâtiments des perdreaux T-POST et PRE-POST (**Figure 2A et B**). Ces couples de perdrix faisaient partie du groupe F0 PRE. Ils ont été pendant toute la phase d'incubation de la génération F1, réinstallés avec quatre autres couples dans de nouvelles cages (177.8 x 73.7 x 73.7

cm) extérieures végétalisées. Ces six couples ont, en plus du traitement dit prénatal, été exposés à sept simulations d'attaques de prédateur supplémentaires. Ils étaient soit exposés à la diffusion d'un cri de buse (90 dB) et au passage simultané d'un leurre au-dessus de leurs cages, soit mis en présence d'une buse à queue rousse (*Buteo jamaicensis*) que son fauconnier faisait voler au-dessus d'eux. Lors de ces interventions, d'une durée maximale de dix minutes, la séquence de cri de buse précédemment utilisée, était également diffusée. Les deux couples exprimant le plus de comportements de peur et de cris d'alarme ont été sélectionnés pour être nos couples tuteurs. Pendant 6.5 semaines, ces couples sont installés dans les bâtiments des perdreaux, dans des cages surélevées les rendant ainsi visibles de l'ensemble des poussins. Nous avons fait le choix de ne pas mettre les adultes en contact direct avec les jeunes les premiers jours afin d'éviter les agressions (des jeunes par les adultes) et les étouffements (des adultes par les jeunes s'accumulant autour d'eux). Trois jours après la sortie des perdreaux en volière, les adultes sont libérés et laissés avec les perdreaux jusqu'à leur mise en nature à l'âge de 13 semaines. Il est important de préciser que la femelle du couple installé avec les perdreaux T-POST est morte deux semaines après le début de la procédure. Afin de ne pas perturber davantage le groupe, nous avons fait le choix de ne pas remplacer la femelle ou le couple et de laisser le mâle seul jusqu'à la fin de la procédure.

Simulations d'attaques de prédateurs

Les simulations d'attaque de prédateurs diffèrent selon que les perdreaux F1 sont maintenus en bâtiment ou en volière. En bâtiment, un cri de buse, identique à celui utilisé pour les perdrix F0, est diffusé (75 dB environ) aux perdreaux F1 PRE-POST et T-POST pendant 54 secondes (durée de la bande son) grâce à un haut-parleur fixé en hauteur. Cette diffusion a lieu trois fois au cours du protocole. En volière, les perdreaux F1 sont exposés au passage d'un fauconnier et de sa buse à queue rousse (**Figure 2C**). À chaque passage, le fauconnier, déjà intervenu pour la formation des couples tuteurs, fait voler sa buse pendant un maximum de cinq minutes au sein de la volière. Le cri de buse préalablement diffusé en bâtiment, est diffusé (90 dB) en simultané et répété en boucle jusqu'à la fin de l'intervention. En volière, les perdreaux F1 sont également exposés au passage d'un maître et de son chien de chasse. À chaque passage, le chien est lâché dans la volière pendant un maximum de 5 minutes. Afin de permettre aux perdreaux F1 T-POST et PRE-POST de s'abriter lors de ces attaques, les bâtiments sont laissés accessibles et les volières sont agrémentées de deux palettes surélevées (**Figure 2D**). Les passages de la buse et du chien en volière sont répétés quatre fois chacun au cours du protocole.

Diversification alimentaire

Au démarrage, l'ensemble des perdreaux F1 dispose du même régime alimentaire. Cependant, alors que l'aliment 2^{ème} âge des perdreaux F1 PRE-T et T-T est composé à 100% de granulés (GIBIANE 2ÈME ÂGE, Sanders), celui des perdreaux F1 T-POST et PRE-POST est composé à 50% de granulés et à 50% du même aliment sous sa forme brute (graines entières) (**Figure 2E**, GIBIANE 2ÈME ÂGE MOSTRA, Sanders).



Figure 2 | Dispositifs et stimulations utilisés lors de notre expérience chez les perdrix rouges de génération F1. (A) Installation des perdrix adultes « tutrices » dans les bâtiments des perdrix T-POST et PRE-POST. **(B)** Perdrix adulte « tutrice » entourée des jeunes F1. **(C)** Intervention du fauconnier et de sa buse dans les volières des perdrix T-POST et PRE-POST. **(D)** Aménagement des volières des perdrix T-POST et PRE-POST. **(E)** Aliment MOSTRA proposé aux perdrix T-POST et PRE-POST. © M. Charrier

Caractérisation morphologique, comportementale et survie en milieu naturel

Afin d'apprécier les effets de nos traitements pré- et postnatal sur les perdrix de la génération F1, nous avons caractérisé leur développement morphologique, leur réactivité émotionnelle et leur survie en nature (**Figure 3**). Brièvement, nous avons mesuré la **masse corporelle** de l'ensemble de nos oiseaux F1 à l'éclosion ($N_{\text{PRE-POST}} = 550$, $N_{\text{PRE-T}} = 554$, $N_{\text{T-POST}} = 532$, $N_{\text{T-T}} = 527$) puis avons, tout au long de leur phase d'élevage, évalué leur réactivité émotionnelle grâce à un test individuel d'immobilité tonique et des tests collectifs d'émergence et de réaction à la présence d'un prédateur. Deux tests d'**immobilité tonique** ont été réalisés chez les perdrix F1. Le premier au tout début du traitement postnatal afin d'évaluer les effets à court terme du traitement prénatal (jours post-éclosion (jpe) 7 à 10, $N_{\text{PRE}} = 108$, $N_{\text{T}} = 108$). Le second, à la toute fin du traitement postnatal, afin d'évaluer les effets à plus long terme de l'ensemble de la procédure (jpe 84 à 88, $N_{\text{PRE-POST}} = 46$, $N_{\text{PRE-T}} = 46$, $N_{\text{T-POST}} = 45$, $N_{\text{T-T}} = 46$). Le test d'**émergence** s'est déroulé en deux temps. Le premier test a été réalisé le jour de l'ouverture du passage entre le bâtiment et l'auvent. Le second a été réalisé trois jours plus tard afin d'observer une potentielle évolution du comportement des perdrix F1 (jpe 45 et 48, $N_{\text{PRE-POST}} = 529$, $N_{\text{PRE-T}} = 542$, $N_{\text{T-POST}} = 519$, $N_{\text{T-T}} = 510$). Enfin le test de **réactivité à la présence d'un prédateur** a eu lieu en volière, la veille du départ des perdrix F1 sur les trois territoires de lâcher (jpe 89, $N = 20$ individus par groupe). Après leur mise en nature sur nos territoires partenaires de Vendée, du Gard et de la Drôme (jpe 91, $N = 100$ individus par groupe et par territoire), nous avons estimé la **survie** des perdrix F1 grâce aux **prélèvements** réalisés à la **chasse**, aux **captures** mises en place au printemps n+1 et au suivi effectué par télémétrie (Gard seulement, $N = 15$ individus par groupe). Les captures réalisées au printemps n+1 nous ont également permis d'évaluer la condition physique des oiseaux (i.e. longueur de l'aile pliée et masse corporelle) et leur capacité de dispersion (i.e. distance entre le parquet de mise en nature et le parquet de capture).

Génération F2

Environnement d'élevage

Les perdrix F2 ($N_{\text{PRE-POST}} = 541$, $N_{\text{PRE-T}} = 541$, $N_{\text{T-POST}} = 541$, $N_{\text{T-T}} = 541$) sont issus de couples appartenant à nos quatre groupes de perdrix F1 placées vers l'âge de six mois environ, en conditions standards de reproduction. Les perdrix F2 sont maintenues dans des conditions d'élevage standards (**CHAPITRE II - 2.2.5**) afin d'évaluer les effets à travers les générations des traitements pré- et postnatal mis en place pour les générations F0 et F1 (**Figure 3**).

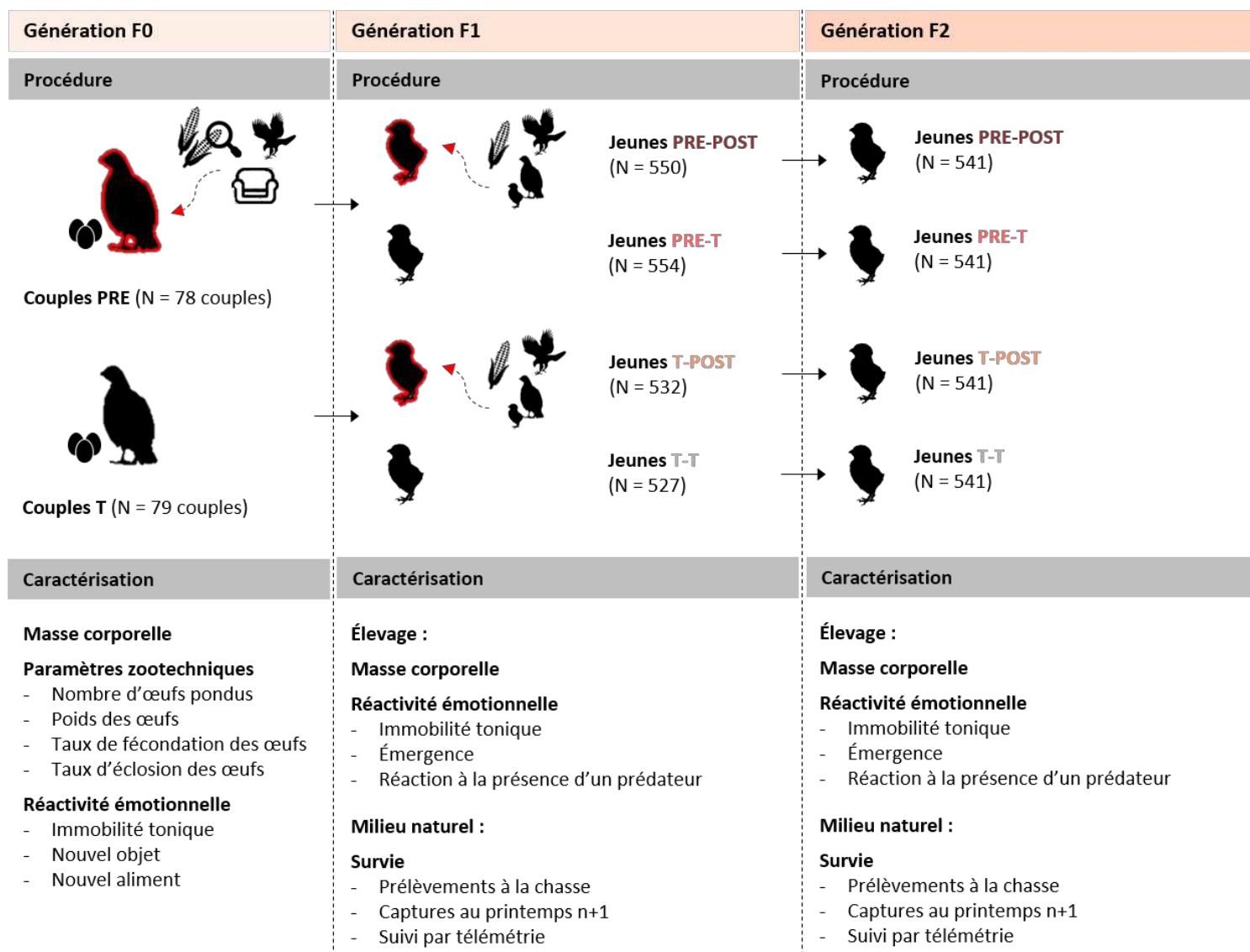


Figure 3 | Protocole expérimental mis en place chez la perdrix rouge. Les couples de perdrix F0 sont exposés à une complexification (i.e. diversification alimentaire, simulation d'attaque de prédateur, stimulation des comportements d'exploration, de confort et de recherche alimentaire) de leur environnement (PRE) ou maintenus en conditions standards (T). Les jeunes F1 issus des perdrix F0, sont à leur tour répartis en quatre groupes. Deux d'entre eux sont exposés à une complexification (i.e. élevage en présence de tuteurs expérimentés, diversification alimentaire, simulations d'attaque de prédateurs) de leur environnement (PRE-POST et T-POST). Les deux autres groupes sont élevés dans des conditions standards (PRE-T et T-T). Les jeunes F2 issus des perdrix F1 sont quant à eux élevés dans des conditions standards. Pour chaque génération, les méthodes et tests utilisés pour caractériser les oiseaux sont précisés sur le schéma.

Caractérisation morphologique, comportementale et survie en milieu naturel

Nous avons caractérisé nos perdrix F2 en évaluant comme pour la génération F1, leur développement morphologique, leur réactivité émotionnelle et leur survie en nature (**Figure 3**). Nous avons mesuré la **masse corporelle** des oiseaux F2 à l'éclosion (N = 4 à 5 poussins par famille) puis le jour de leur départ de l'élevage (jpe 91, N = 100 individus par groupe). Nous avons également évalué leur réactivité émotionnelle grâce à un test individuel d'immobilité tonique et des tests collectifs d'émergence et de réaction à la présence d'un prédateur. Un seul test d'**immobilité tonique** a été réalisé pour la génération F2 (jpe 7 à 10, $N_{\text{PRE-POST}} = 50$, $N_{\text{PRE-T}} = 50$, $N_{\text{T-POST}} = 50$, $N_{\text{T-T}} = 50$). Le test d'**émergence** s'est déroulé le premier et le quatrième jour suivant l'ouverture du passage entre l'auvent et la volière (jpe 39 et 42, $N_{\text{PRE-POST}} = 530$ et 529 , $N_{\text{PRE-T}} = 531$, $N_{\text{T-POST}} = 536$, $N_{\text{T-T}} = 524$ et 523). Le test de **réactivité à la présence d'un prédateur** quant à lui, a eu lieu en deux temps. Le premier test a été réalisé en bâtiment et le second en volière, quelques jours avant le départ des oiseaux de l'élevage (jpe 43 et 86, N = 20 individus par groupe). Après leur mise en nature sur nos trois territoires partenaires (jpe 91, N = 100 individus par groupe et par territoire), nous avons évalué la **survie** des perdrix F2 grâce aux **prélèvements** réalisés à la **chasse**, aux **captures** mises en place au printemps n+1 et au suivi effectué par télémétrie (Gard seulement, N = 15 individus par groupe). Les captures réalisées au printemps n+1 nous ont également permis d'évaluer la condition physique des oiseaux et leur capacité de dispersion.

Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du logiciel R v.3.6.2 (R Core Team, 2019). Les hypothèses de chaque modèle sont vérifiées par i) l'inspection visuelle des données ou des résidus (package RVAideMemoire, Hervé, 2021) et ii) l'évaluation de la dispersion des données (package AER, Kleiber and Zeileis, 2020). Lorsque les données ou les résidus ne respectent pas les conditions d'application des modèles, les données sont transformées (i.e. fonction log (+1), racine carrée) ou des tests par permutation (basés sur 10000 répétitions) sont utilisés.

Génération parentale F0

La masse corporelle et le poids des œufs sont analysés grâce à des modèles linéaires (LM). Le nombre d'œufs pondus est analysé grâce à un modèle linéaire généralisé (GLM) avec une structure

d'erreur de poisson, et les taux de fécondation et d'éclosion avec des LM par permutation. Lors du test d'immobilité tonique, le nombre d'induction est analysé avec un GLM poisson. Les données relatives à la durée d'immobilité sont d'abord transformées avec la fonction log+1 puis analysées avec un LM. Exceptée la quantité de lentille corail consommée qui est analysée avec un test de permutation de Fisher-Pitman, toutes les variables du test du nouvel aliment ainsi que la latence d'approche de l'objet, lors du test du nouvel objet, sont analysées grâce à un LM par permutation. L'observation de l'objet est quant à elle analysée grâce à un GLM avec une structure d'erreur quasi-poisson. Pour chacun des modèles, le traitement (T, PRE), le sexe des oiseaux et leur interaction sont ajoutés en facteurs fixes.

Génération F1 et F2

La masse corporelle des perdrix F1 à l'éclosion est analysée avec un LM. Le nombre d'induction et la durée d'immobilité des perdrix F1 lors de leur premier test d'immobilité tonique sont analysés respectivement avec un GLM poisson et un LM par permutation. Pour chacun de ces modèles le traitement prénatal (T et PRE) est ajouté en facteur fixe. La masse corporelle des perdrix F2 à l'éclosion et la veille de leur mise en nature est analysée avec un LM. Le nombre d'induction et la durée d'immobilité tonique des perdrix F2 et des perdrix F1 lors de leur second test d'immobilité tonique sont respectivement analysées avec un GLM poisson et un LM avec une transformation log+1 préalable des données pour les perdrix F1. Lors des tests d'émergence, le nombre de perdrix pénétrant sous l'auvent ou en volière est analysé avec un GLM binomial et les latences d'émergence avec un LM par permutation. Les taux de retour des perdrix dans le bâtiment sont quant à eux analysés avec un test du Chi². La latence de réaction des perdrix suite à la diffusion du cri de buse est analysée avec un LM par permutation. Leur réponse est analysée avec un GLM poisson. Pour chacun de ces modèles, les traitements prénatal (T, PRE), postnatal (T, POST) et leur interaction sont ajoutés en facteurs fixes. Le nombre d'individus prélevés à la chasse et le nombre d'individus capturés au printemps n+1 sont cumulés pour l'ensemble des territoires et analysés avec un test multinomial. Le nombre de jour entre l'ouverture de la chasse et le prélèvement des oiseaux est analysé grâce à un modèle linéaire mixte (LMM) avec une transformation préalable des données via la fonction racine carrée pour les perdrix F1 et grâce à un LMM par permutation pour les perdrix F2. Le sexe-ratio des oiseaux capturés en nature est analysé grâce à un test binomial ou un test de Chi². Leur masse corporelle et la longueur de leur aile pliée sont analysées grâce à un LMM et leurs distances de dispersion grâce à un LMM par permutation. Pour chacun de ces modèles, le

traitement prénatal, postnatal, si possible le sexe des oiseaux et l'interaction de l'ensemble de ces facteurs sont ajoutés en facteurs fixes. Le territoire de mise en nature est quant à lui ajouté en facteur aléatoire. Pour chaque génération, des courbes de survie sont générées à partir des données récoltées par télémétrie grâce à la méthode de Kaplan-Meier. Cette méthode a l'avantage de considérer l'ensemble des données y compris celles relatives aux individus disparus (i.e. perte du signal émetteur). Une régression de Cox est réalisée sur ces mêmes données afin d'estimer les différences potentielles de survie entre nos groupes de perdrix. Les rapports de risque (HR) générés *via* cette régression permettent d'estimer par rapport aux traitements témoins, l'influence du traitement prénatal, postnatal et de leur interaction, sur la probabilité de survenue de la mort d'un individu. Le sexe des oiseaux suivis par télémétrie n'étant pas correctement défini pour l'ensemble des perdrix n'est pas inclus dans ces modèles. Les conditions d'application du modèle de Cox sont vérifiées grâce à la visualisation des résidus de Schoenfeld.

Les tests multinomiaux et de χ^2 sont réalisés grâce au package RVAideMemoire (Hervé, 2021). Les LM(M) et GLM(M) sont réalisés grâce aux packages lme4 (Bates et al., 2015), nlme (Pinheiro et al., 2020) et car (Fox and Weisberg, 2019). Les LM(M) par permutation sont réalisés grâce au package pgirmess (Giraudoux et al., 2021) et les tests de permutation de Fisher-Pitman grâce au package coin (Hothorn et al., 2006). Les données de survie récoltées par télémétrie sont analysées grâce aux packages survival (Therneau et al., 2021) et survminer (Kassambara et al., 2021). Lorsque des interactions entre facteurs sont significatives, les analyses sont suivies de comparaisons multiples avec correction de Tukey (package emmeans, Lenth et al., 2020). Les effets du facteur sexe ne seront présentés que lors d'une interaction avec les effets des traitements pré- et postnatal.

Résultats

Génération F0

Effets morpho-physiologiques et zootechniques

Aucune différence n'est observée entre les perdrix F0 T et PRE au niveau de leur masse corporelle (moyenne \pm ES, T: 502.32g \pm 3.41, PRE: 497.51g \pm 3.15 ; LM, effet traitement: $F_{(1,310)} = 1.210$, $p = 0.272$, effet sexe: $F_{(1,310)} = 22.814$, $p = 2.757e-06$, effet traitement x sexe: $F_{(1,310)} = 0.558$, $p = 0.455$), du nombre d'œufs pondus pendant la période de récolte (moyenne \pm ES, T: 18.26 \pm 0.45, PRE: 18.23 \pm 0.37 ; GLM poisson, effet traitement: $X^2 = 0.002$, $p = 0.959$), du poids des œufs

(moyenne \pm ES, T: 19.60g \pm 0.16, PRE: 19.71g \pm 0.15 ; LM, effet traitement: $F_{(1,155)} = 0.249$, $p = 0.618$) ou encore de leur taux de fécondation (moyenne \pm ES, T: 88.37% \pm 2.22, PRE: 89.61% \pm 2.32 ; LM permutation, effet traitement: $p = 0.703$). Le taux d'éclosion des œufs des couples PRE tend cependant à être meilleure que celui des œufs T (moyenne \pm ES, T: 79.24% \pm 2.59, PRE: 85.49% \pm 2.06 ; LM permutation, effet traitement: $p = 0.062$).

Effets sur la réactivité émotionnelle

Lors du test d'immobilité tonique, ni le nombre d'induction (moyenne \pm ES, T: 1.21 \pm 0.05, PRE: 1.40 \pm 0.10 ; GLM poisson, effet traitement: $X^2 = 1.083$, $p = 0.298$, effet sexe: $X^2 = 0.168$, $p = 0.682$, effet traitement x sexe: $X^2 = 0.024$, $p = 0.876$), ni la durée d'immobilité (moyenne \pm ES, T: 247.30s \pm 17.07, ECV: 253.75s \pm 18.84 ; LM, effet traitement: $F_{(1,160)} = 0.828$, $p = 0.364$, effet sexe: $F_{(1,160)} = 3.67$, $p = 0.057$, traitement x sexe: $F_{(1,160)} = 0.330$, $p = 0.566$) ne diffèrent entre les groupes.

Lors du test du nouvel objet, les couples F0 PRE approchent plus rapidement (**Figure 4A** ; LM permutation, effet traitement: $p < 0.001$, effet sexe: $p = 0.055$, effet traitement x sexe: $p = 0.498$) et observent plus le pot en terre cuite déposé dans leur cage que les couples F0 T (**Figure 4B** ; GLM quasi-poisson, effet traitement: $F_{(1,156)} = 5.659$, $p = 0.018$, effet sexe: $F_{(1,156)} = 6.107$, $p = 0.015$, effet traitement x sexe: $F_{(1,156)} = 0.516$, $p = 0.474$).

Lors du test du nouvel aliment, les perdrix F0 PRE approchent (**Figure 4C** ; LM permutation, effet traitement: $p < 0.001$, effet sexe: $p = 0.055$, effet traitement x sexe: $p = 0.838$) et consomment (**Figure 4D** ; LM permutation, effet traitement: $p < 0.001$, effet sexe: $p = 0.580$, effet traitement x sexe: $p = 0.311$) plus rapidement la lentille corail. Elles la consomment également plus (**Figure 4E** ; Fisher-Pitman permutation, $Z = 4.412$, $p = 5.163e-07$) et plus longtemps (**Figure 4F** ; LM permutation, effet traitement: $p < 0.001$, effet sexe: $p = 0.950$, effet traitement x sexe: $p = 0.644$).

Bilan et validation du protocole

La procédure « complexe et variable » mise en place chez les perdrix F0 n'a pas affecté les capacités de reproduction des oiseaux. Toutefois, elle a permis de moduler la réactivité émotionnelle des couples de perdrix PRE qui se révèlent moins néophobes que les perdrix maintenues dans des conditions standards. Ces résultats sont ainsi similaires à ceux observés chez les cailles F0 ECV (**CHAPITRE IVA**).

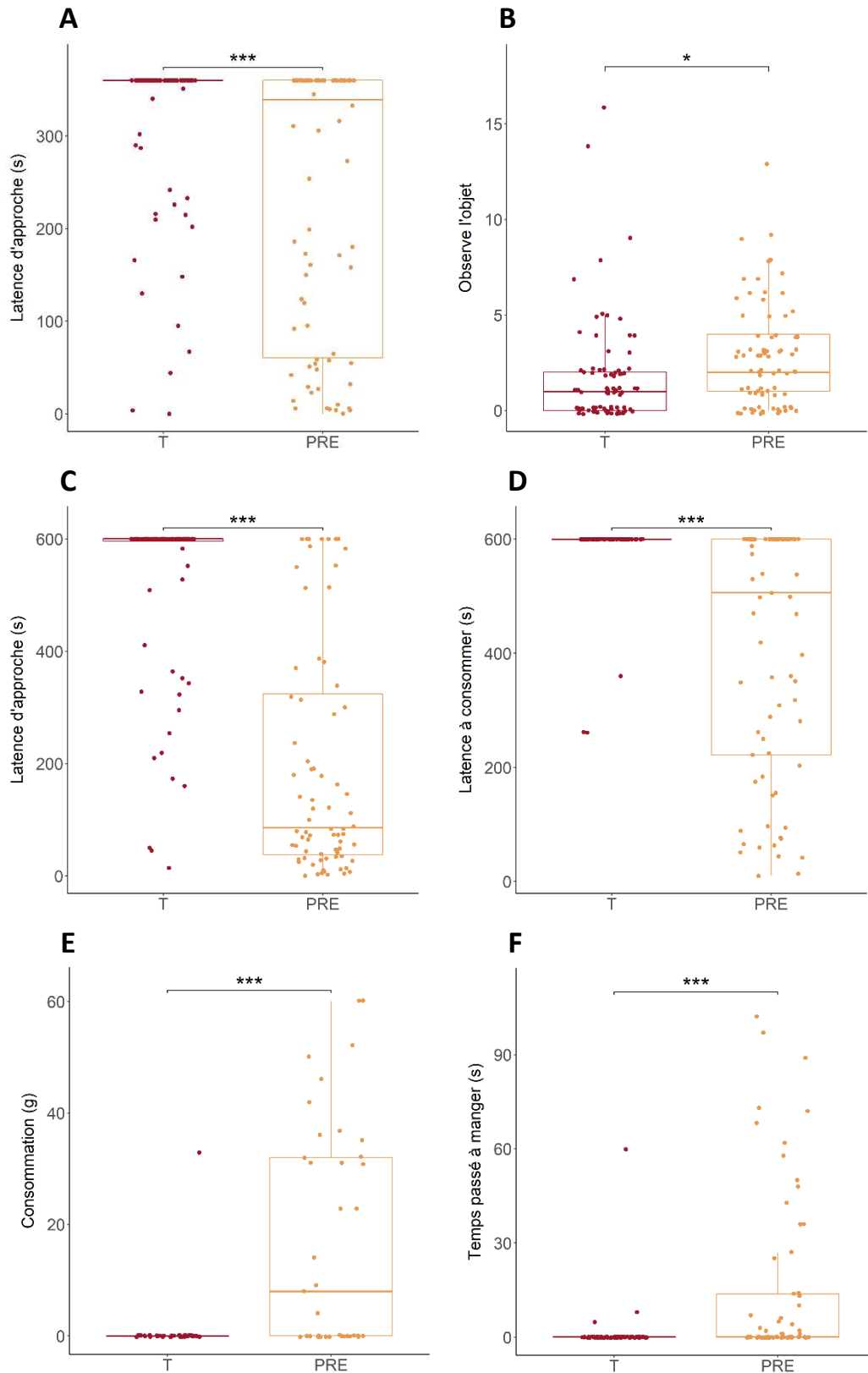


Figure 4 | Comportements des perdrix F0 lors du test du nouvel objet ($N_T = 84$, $N_{PRE} = 78$) et du nouvel aliment ($N_T = 80$, $N_{PRE} = 82$). (A) Latence d'approche (s) et (B) occurrences d'observation du nouvel objet. (C et D) Latences d'approche et de consommation (s) de la lentille corail. (E) Quantité de lentille corail consommée (g). (F) Temps passé à manger la lentille corail (s). * $p < 0.05$, * $p < 0.001$.**

Génération F1

Caractérisation morpho-physiologique et comportementale des perdrix F1 en élevage

Suivi morphologique

Le jour de leur éclosion, les masses corporelles des poussins F1 T et PRE sont similaires (moyenne \pm ES, T: 12.81g \pm 0.04, PRE: 12.87g \pm 0.035 ; LM, $F_{(1,2133)} = 1.148$, $p = 0.284$).

Réactivité émotionnelle

Immobilité tonique: Lors du premier test d'immobilité tonique, le nombre d'induction est similaire entre les poussins F1 T et PRE (moyenne \pm ES, T: 1.67 \pm 0.11, PRE: 1.54 \pm 0.09 ; GLM poisson, $p > 0.05$). Toutefois, les poussins F1 PRE présentent une durée d'immobilité qui tend à être supérieure à celle des poussins F1 T (moyenne \pm ES, T: 152.28s \pm 15.00, PRE: 194.52s \pm 16.74 ; LM permutation, $p = 0.063$). Lors du second test d'immobilité tonique en revanche, le nombre d'induction (moyenne \pm ES, T-T: 1.39 \pm 0.61, PRE-T: 1.39 \pm 0.11, T-POST: 1.46 \pm 0.14, PRE-POST: 1.72 \pm 0.17 ; GLM poisson, $p > 0.05$) et la durée d'immobilité tonique (moyenne \pm ES, T-T: 181.59s \pm 18.95, PRE-T: 128.41s \pm 18.02, T-POST: 146.24s \pm 17.27, PRE-POST: 147.00s \pm 20.85 ; LM, $p > 0.05$) sont similaires entre les perdrix F1 (**Tableau 1**).

Emergence: La première fois qu'elles ont eu accès à l'auvent, les perdrix F1 ne sont pas sorties du bâtiment dans le temps imparti lors de notre test. Trois jours plus tard, les perdrix F1 exposées indépendamment aux traitements prénatal et postnatal sont moins nombreuses à sortir sous l'auvent que les perdrix F1 exposées aux conditions témoins (**Figure 5A, 5B, 5C** et **Tableau 1** ; GLM binomial, effet prénatal: $X^2 = 4.431$, $p = 0.035$, effet postnatal: $X^2 = 5.621$, $p = 0.018$). Il semble important de noter que le nombre de perdrix F1 retournant dans le bâtiment et ressortant donc potentiellement sous l'auvent lors du test, diffère entre nos groupes (**Figure 5A**; Test du Chi², $X^2 = 56.906$, $p = 2.692e-12$). Les perdrix F1 PRE-POST retournent moins dans le bâtiment que les perdrix F1 PRE-T ($p = 4.300e-06$), T-POST ($p = 3.400e-11$) et T-T ($p = 6.200e-11$). Les perdrix F1 PRE-T retournent moins dans le bâtiment que les perdrix F1 T-POST ($p = 0.047$) et T-T ($p = 0.047$). Les perdrix F1 T-POST et T-T présentent en revanche des taux de retours similaires ($p = 0.947$). Les latences d'émergence des perdrix F1 sont homogènes entre nos groupes (**Figure 5D** et **Tableau 1** ; LM permutation, $p > 0.05$).

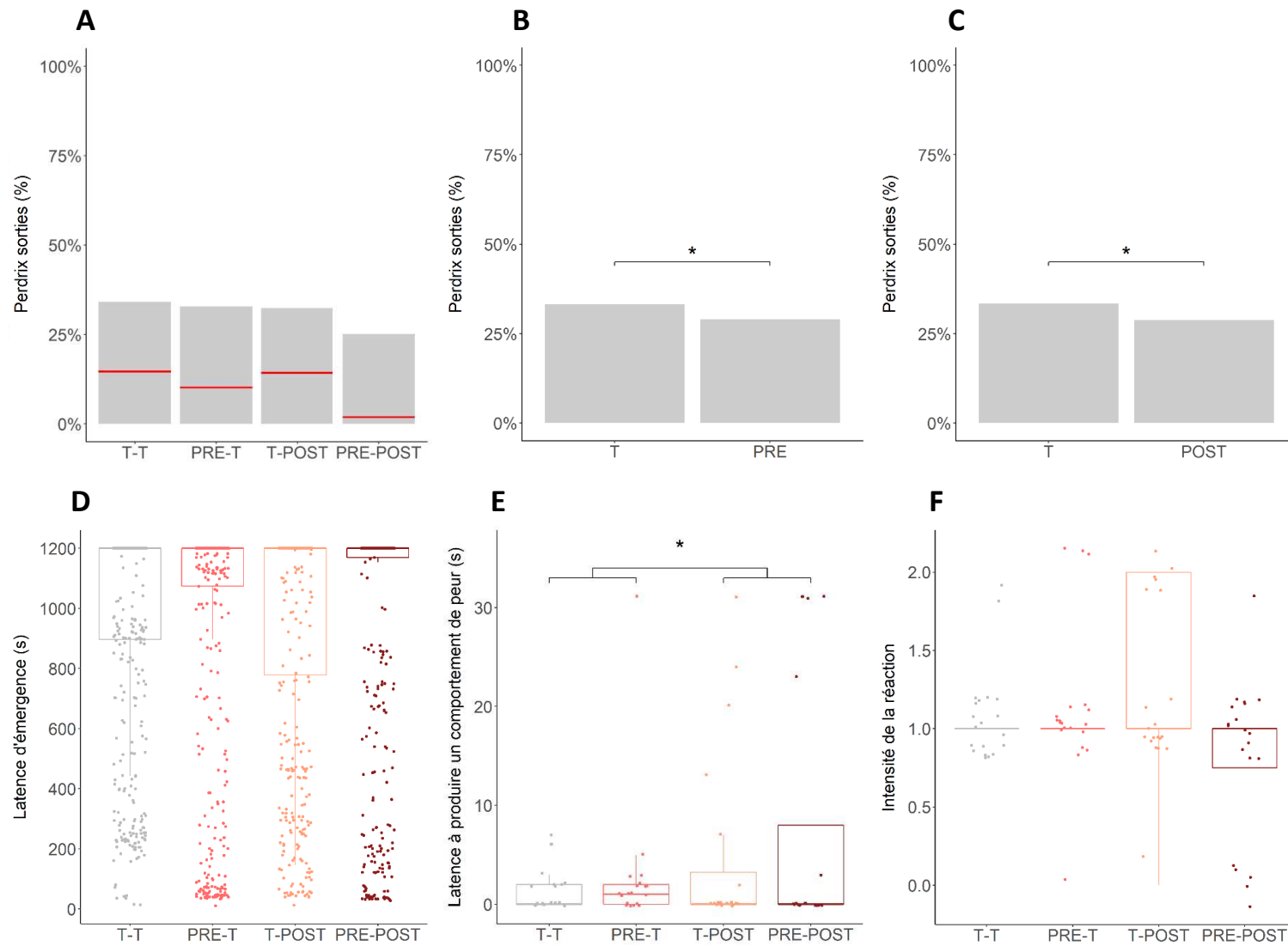


Figure 5 | Comportement des perdrix F1 lors de leur sortie sous l'auvent en test d'émergence ($N_{T-T} = 510$, $N_{PRE-T} = 542$, $N_{T-POST} = 519$, $N_{PRE-POST} = 529$) et lors de la diffusion du cri de buse en volière ($N_{T-T} = 20$, $N_{PRE-T} = 20$, $N_{T-POST} = 20$, $N_{PRE-POST} = 20$). (A) Pourcentage de perdrix pénétrant sous l'auvent. Les lignes rouges représentent le pourcentage de perdrix qui, parmi les 100% d'oiseaux sortis sous l'auvent, retournent dans le bâtiment. (B) Pourcentage de perdrix exposées (PRE) ou non (T) au traitement prénatal qui pénètre sous l'auvent. (C) Pourcentage de perdrix exposées (POST) ou non (T) au traitement postnatal qui pénètre sous l'auvent. (D) Latence d'émergence sous l'auvent (s). (E) Latence (s) à produire un comportement de peur et (F) intensité de la réponse de peur lors de la diffusion de cri de buse en volière. L'intensité de la réponse de peur est scorée de 0 à 3 selon le nombre de comportements de peur différents produits par l'oiseau. * $p < 0.05$

Réaction à la présence d'un prédateur : Lors de la diffusion du cri de buse en volière, les perdrix F1 exposées au traitement postnatal (T-POST et PRE-POST) expriment une réponse de peur plus tardivement que les perdrix F1 élevées dans des conditions témoins (T-T et PRE-T) (**Figure 5E** et **Tableau 1** ; LM permutation, effet postnatal: $p = 0.047$). L'intensité de la réponse de peur (i.e. nombre de comportements de peur différents produits par l'oiseau) des perdrix F1 est cependant homogène entre nos groupes (**Figure 5F** et **Tableau 1** ; GLM poisson, $p > 0.05$).

Caractérisation des perdrix F1 en milieu naturel

Survie en milieu naturel

Prélèvements à la chasse: Le nombre de perdrix F1 prélevées à la chasse sur l'ensemble des territoires est identique entre nos groupes ($N_{T-T} = 21$, $N_{PRE-T} = 24$, $N_{T-POST} = 28$, $N_{PRE-POST} = 27$; Test multinomial, $p = 0.754$). Cependant, les perdrix F1 exposées au traitement postnatal (T-POST et PRE-POST) sont, à partir de l'ouverture de la chasse, prélevées plus tard que les perdrix F1 témoins (T-T et PRE-T) (**Figure 6** ; LMM, effet prénatal, $X^2 = 7.00e-04$, $p = 0.979$, effet postnatal: $X^2 = 6.887$, $p = 0.009$, effet prénatal x postnatal: $X^2 = 0.740$, $p = 0.390$).

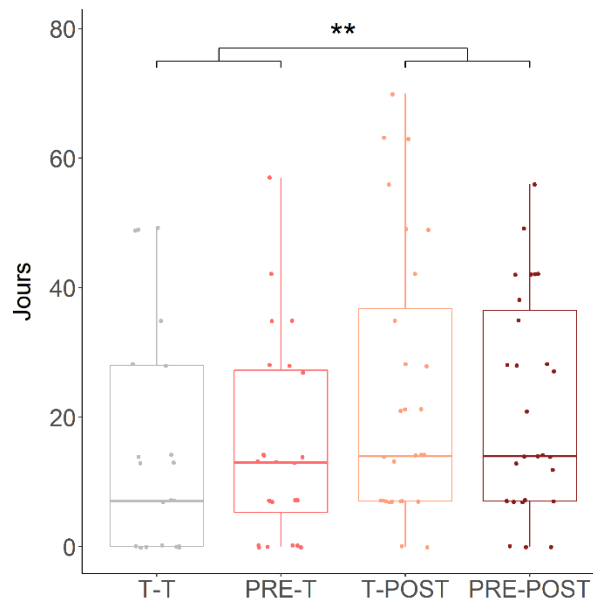


Figure 6 | Prélèvement des perdrix F1 ($N_{T-T} = 21$, $N_{PRE-T} = 24$, $N_{T-POST} = 28$, $N_{PRE-POST} = 27$) à la chasse. Nombre de jours entre l'ouverture de la chasse et le prélèvement de l'oiseau. ** $p < 0.01$.

Tableau 1 | Analyses statistiques de la réactivité émotionnelle des perdrix F1. Résultats des modèles linéaires, modèles linéaires par permutation et modèles linéaires généralisés. IT = Immobilité Tonique, EM = EMergence. Les résultats significatifs sont en gras : * $p < 0.05$, # $0.05 < p < 0.1$.

	Prénatal				Postnatal				Prénatal x Postnatal			
	f-value	X ²	df	p-value	f-value	X ²	df	p-value	f-value	X ²	df	p-value
IT												
Avant le traitement postnatal												
<i>Nombre d'induction</i>	-	0.566	1	0.452	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Durée d'immobilité</i>	-	-	-	0.063 #	-	-	-	-	-	-	-	-
Après le traitement postnatal												
<i>Nombre d'induction</i>	-	0.477	1	0.490	-	1.245	1	0.265	-	0.422	1	0.516
<i>Durée d'immobilité</i>	2.404	-	1	0.123	1.156	-	1	0.284	1.551	-	1	0.215
EM												
<i>Nombre de perdrix</i>	-	4.431	1	0.035 *	-	5.621	1	0.018 *	-	2.457	1	0.117
<i>Latence d'émergence</i>	-	-	-	0.431	-	-	-	0.939	-	-	-	0.353
PRÉDATION												
<i>Latence peur</i>	-	-	-	0.349	-	-	-	0.047 *	-	-	-	0.706
<i>Réponse</i>	-	0.955	1	0.328	-	0.106	1	0.745	-	1.037	1	0.308

Suivi par télémétrie: Lors de leur mise en nature, l'état corporel des perdrix F1 équipées d'émetteurs est similaire entre nos groupes (**Tableau 2**). L'analyse des fonctions de survie révèle que la probabilité de survie de ces perdrix n'est pas influencée par leur traitement (**Figure 7** ; Cox, LRT: $X^2 = 5.88$, $p = 0.100$). Cette probabilité est calculée à partir des données récoltées lors des six mois de suivi, pour les 60 perdrix F1 équipées. Parmi elles, 41 ont été retrouvées mortes (68.33%, $N_{T-T} = 9$, $N_{PRE-T} = 11$, $N_{T-POST} = 9$, $N_{PRE-POST} = 12$), 18 étaient disparues (i.e. perte du signal de l'émetteur ; 30%, $N_{T-T} = 5$, $N_{PRE-T} = 4$, $N_{T-POST} = 6$, $N_{PRE-POST} = 3$) et une était encore en vie (1.67%, $N_{T-T} = 1$, $N_{PRE-T} = 0$, $N_{T-POST} = 0$, $N_{PRE-POST} = 0$). Les causes de mortalité des perdrix F1 sont, indépendamment de leur traitement : les mammifères carnivores (e.g. renard, fouine ; 66.66%), les rapaces (14.29%), la chasse (2.38%), les collisions (2.38%) ou des causes indéterminées (14.29%).

Tableau 2 | Sexe-ratio, masse corporelle (g) et longueur de l'aile pliée (mm) des perdrix F1 équipées d'émetteurs et suivi par télémétrie dans le Gard. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre nos groupes ($p > 0.05$).

	PRE-POST	T-POST	PRE-T	T-T
Sexe-ratio	$N_{\varphi} = 10$ $N_{\sigma} = 5$	$N_{\varphi} = 7$ $N_{\sigma} = 8$	$N_{\varphi} = 6$ $N_{\sigma} = 9$	$N_{\varphi} = 6$ $N_{\sigma} = 9$
Masse (g)	374.0 ± 10.9	380.7 ± 12.0	401.0 ± 12.8	400.7 ± 11.4
Longueur aile pliée (mm)	150.1 ± 1.6	156.1 ± 1.8	157.3 ± 2.2	156.3 ± 1.3

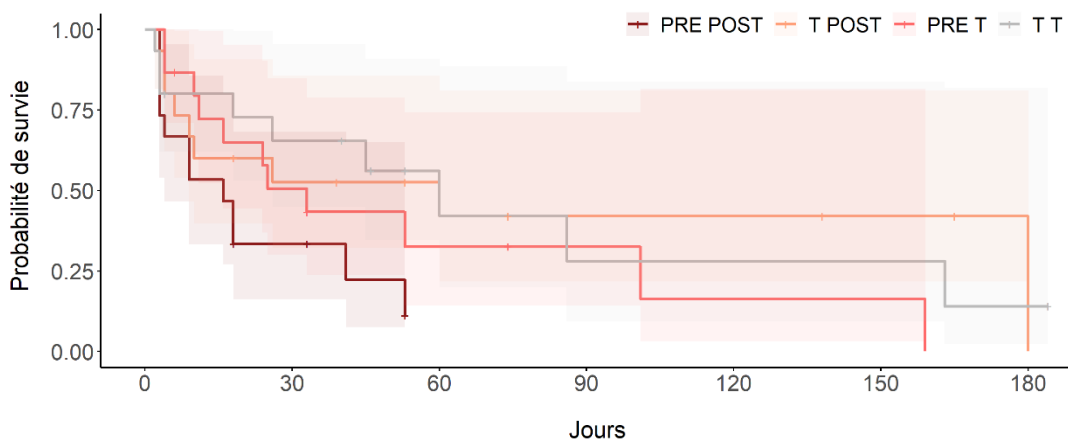


Figure 7 | Fonctions de survie de Kaplan-Meier des perdrix F1 suivies par télémétrie ($N_{T-T} = 15$, $N_{PRE-T} = 15$, $N_{T-POST} = 15$, $N_{PRE-POST} = 15$) **avec leurs intervalles de confiance respectifs à 95%**. Chaque marche correspond à la mort d'un individu ($N_{T-T} = 9$, $N_{PRE-T} = 11$, $N_{T-POST} = 9$, $N_{PRE-POST} = 12$), la hauteur des marches étant proportionnelle au nombre d'individus retrouvés morts. Les censures ou disparition d'individus ($N_{T-T} = 5$, $N_{PRE-T} = 4$, $N_{T-POST} = 6$, $N_{PRE-POST} = 3$) sont représentées sur chaque courbe par des croix. La seule perdrix encore vivante six mois après sa mise en nature est également représentée par une croix ($N_{T-T} = 1$, $N_{PRE-T} = 0$, $N_{T-POST} = 0$, $N_{PRE-POST} = 0$).

Captures au printemps n+1: Les captures réalisées en février et mars 2020, six mois après la mise en nature des oiseaux F1, nous ont permis de retrouver sur l'ensemble des territoires, 67 perdrix ($N_{T-T} = 12$, $N_{PRE-T} = 21$, $N_{T-POST} = 20$, $N_{PRE-POST} = 14$). Lors des captures réalisées un an plus tard, en février et mars 2021, nous avons retrouvé trois perdrix F1 qui n'avaient jusqu'alors pas été échantillonnées ($N_{PRE-T} = 2$, $N_{T-POST} = 1$). Nous avons donc cumulé pour chaque groupe et pour l'ensemble des territoires, le nombre de perdrix F1 capturées en 2020 et 2021. Finalement, les résultats des captures révèlent qu'autant de perdrix F1 de chaque groupe sont en vie six mois après leur mise en nature ($N_{T-T} = 12$, $N_{PRE-T} = 23$, $N_{T-POST} = 21$, $N_{PRE-POST} = 14$; Test multinomial, $p = 0.185$).

Dispersion

La dispersion des perdrix F1 capturées en février et mars 2020 est influencée par l'interaction entre les effets prénatal, postnatal et sexe (**Figure 8** et **Tableau 3** ; LM permutation, effet prénatal x postnatal x sexe: $p = 0.028$). Les perdrix mâles PRE-POST sauf si on les compare aux mâles T-T ($p = 0.2485$), dispersent plus que les mâles et les femelles des autres groupes ($p < 0.05$).

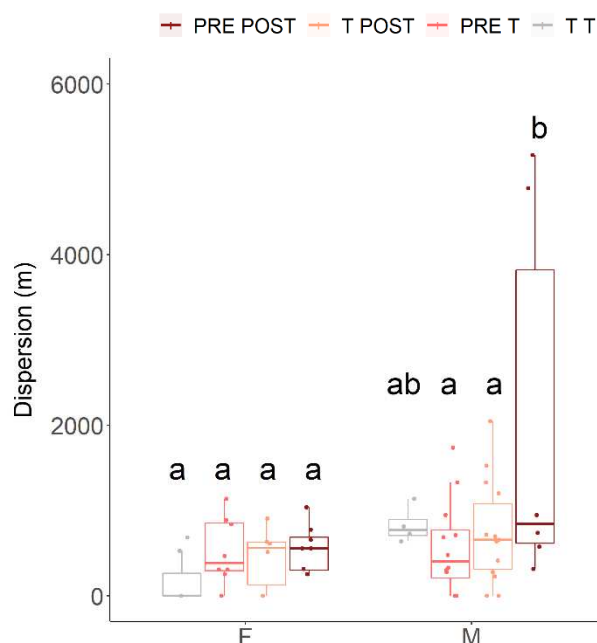


Figure 8 | Dispersion des perdrix F1 ($N_{T-T} = 11$, $N_{PRE-T} = 20$, $N_{T-POST} = 20$, $N_{PRE-POST} = 14$) **capturées au printemps 2020.** Distance (m) parcourue par les perdrix F1 entre leur parquet de mise en nature et le parquet où elles ont été capturées six mois plus tard. F = Femelles, M = Mâles. Les lettres « a » et « b » indiquent des différences significatives entre nos groupes de perdrix ($p < 0.05$).

Morphologie

Sur les 67 perdrix F1 capturées en février et mars 2020, deux se sont échappées et n’ont donc pu être mesurées. Les mesures réalisées sur les 65 autres perdrix F1 montrent que six mois après leur mise en nature, nos groupes présentent une masse corporelle similaire (**Tableau 3** ; moyenne \pm ES, T-T: 472.18g \pm 14.73, PRE-T: 475.00g \pm 12.24, T-POST: 491.00g \pm 9.07, PRE-POST: 487.14g \pm 17.90 ; LMM, $p > 0.05$) et une longueur d’aile pliée équivalente (**Tableau 3** ; moyenne \pm ES, T-T: 156.78mm \pm 1.13, PRE-T: 158.90mm \pm 1.40, T-POST: 159.10mm \pm 1.27, PRE-POST: 156.51mm \pm 2.03 ; LMM, $p > 0.05$). Autant de mâles que de femelles sont capturés ($N_{\sigma} = 36$, $N_{\phi} = 29$; Test binomial, $p = 0.457$) et le sexe-ratio des perdrix F1 est homogène entre nos groupes (Test du Chi², $X^2 = 4.401$, $p = 0.221$).

Tableau 3 | Analyses statistiques du suivi morphologique et de la dispersion des perdrix F1 capturées six mois après leur mise en nature. Résultats des modèles linéaires mixtes et modèle linéaire mixte par permutation. Les résultats significatifs sont en gras : * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, # $0.05 < p < 0.1$.

	Masse corporelle			Longueur de l’aile pliée			Dispersion
	X ²	df	p-value	X ²	df	p-value	p-value
Prénatal	0.001	1	0.974	0.021	1	0.885	0.806
Postnatal	1.983	1	0.156	0.253	1	0.615	0.959
Sexe	82.576	1	< 2e-16 ***	45.853	1	1.273e-11 ***	0.002 **
Prénatal x Postnatal	3.187	1	0.074 #	0.524	1	0.469	0.680
Prénatal x Sexe	0.694	1	0.408	3.153	1	0.076 #	0.033 *
Postnatal x Sexe	0.312	1	0.577	0.270	1	0.603	0.009 **
Prénatal x Postnatal x Sexe	0.028	1	0.866	0.023	1	0.878	0.028 *

Bilan

Ces premiers résultats montrent que les perdrix F1 exposées indépendamment aux traitements pré- et postnatal semblent d’après le test d’émergence, se familiariser moins rapidement à un nouvel environnement. En outre, les perdrix F1 exposées au traitement postnatal réagissent moins rapidement à la diffusion du cri de buse que leurs congénères élevés en conditions témoins.

Une fois en nature, les perdrix F1 exposées au traitement postnatal sont à la chasse, prélevées plus tardivement que les perdrix F1 élevées dans des conditions témoins. Toutefois, cet effet

potentiellement bénéfique du traitement postnatal ne s'observe pas à long-terme puisque la survie des perdrix suivies par télémétrie et le nombre de perdrix capturées six mois après leur mise en nature sont similaires entre nos groupes. Enfin, si la condition physique des perdrix F1 est homogène entre nos groupes, on observe des différences dans leur propension à disperser de leur site de mise en nature. Les mâles F1 PRE-POST ont effectivement une dispersion plus importante que la majorité des autres groupes.

Génération F2

Caractérisation morpho-physiologique et comportementale des perdrix F2 en élevage

Suivi morphologique

La masse corporelle des poussins F2 semble, le jour de leur éclosion, influencée par l'interaction entre les traitements pré- et postnatal (**Figure 9A** et **Tableau 4** ; LM, effet prénatal x postnatal: $F_{(1,869)} = 4.950$, $p = 0.032$). Toutefois, les comparaisons multiples ne révèlent aucune différence significative ($p > 0.05$). Treize semaines plus tard, juste avant leur mise en nature, les masses corporelles des perdrix F2 sont encore similaires (**Figure 9B** et **Tableau 4** ; LM permutation, $p > 0.05$).

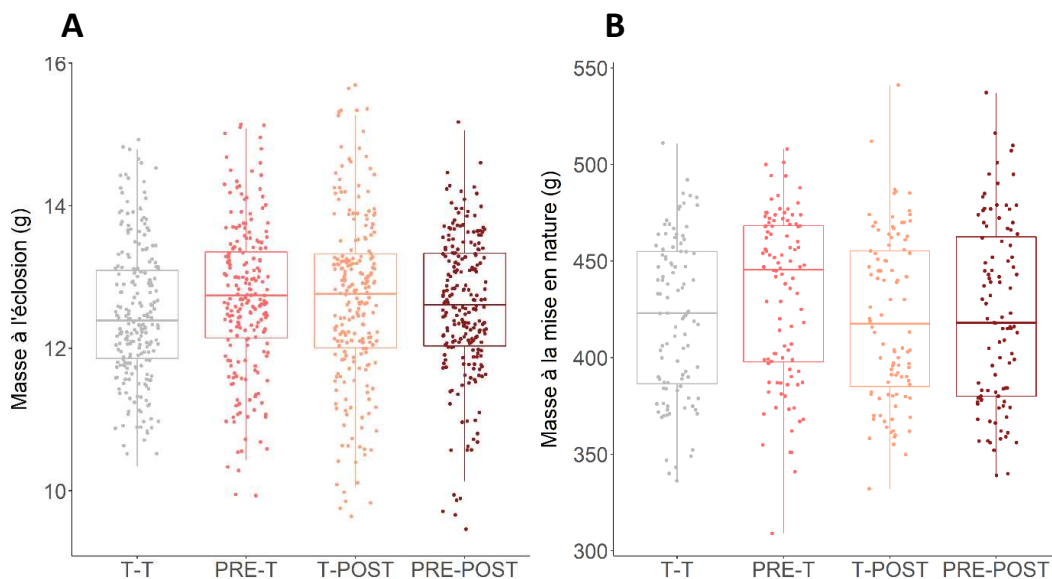


Figure 9 | Suivi morphologique des perdrix F2. (A) Masse (g) des perdrix F2 à J1, le jour de leur éclosion ($N_{T-T} = 223$, $N_{PRE-T} = 207$, $N_{T-POST} = 223$, $N_{PRE-POST} = 220$) et (B) treize semaines plus tard, à J91, la veille de leur mise en nature ($N_{T-T} = 100$, $N_{PRE-T} = 100$, $N_{T-POST} = 100$, $N_{PRE-POST} = 100$).

Réactivité émotionnelle

Immobilité tonique : Lors du test d'immobilité tonique, ni le nombre d'induction (moyenne \pm ES, T-T: 1.44 ± 0.12 , PRE-T: 1.54 ± 0.14 , T-POST: 1.94 ± 0.18 , PRE-POST: 1.54 ± 0.14 ; GLM poisson, $p > 0.05$), ni la durée d'immobilité tonique (moyenne \pm ES, PRE-POST: $151.58s \pm 21.949$, PRE-T: $175.72s \pm 22.16$, T-POST: $140.28s \pm 18.66$, T-T: $181.64s \pm 22.63$; LM, $p > 0.05$) ne diffère entre nos groupes de perdrix F2 (**Tableau 4**).

Emergence : La première fois qu'elles ont accès à l'extérieur, les perdrix F2 PRE-POST sont plus nombreuses à pénétrer dans leur volière que les perdrix F2 des autres groupes (**Figure 10A** et **Tableau 4**; GLM binomial, effet prénatal x postnatal: $X^2 = 37.908$, $p = 7.416e-10$; PRE-POST: $p < 0.001$). Elles sont également plus rapides à sortir en volière puisque leur latence d'émergence sont plus courtes que celles des perdrix des autres groupes (**Figure 10B** et **Tableau 4** ; LM permutation, effet prénatal x postnatal: $p < 0.001$; PRE-POST: $p < 0.0001$). Comme pour la génération F1, le nombre de perdrix F2 retournant sous l'auvent et ressortant donc potentiellement en volière au cours du test diffère entre nos groupes (**Figure 10A** ; Test du Chi², $X^2 = 56.454$, $p = 3.361e-12$). Les perdrix F2 T-POST retournent significativement plus sous l'auvent que les perdrix F2 des groupes PRE-POST ($p = 8.540e-08$), PRE-T ($p = 3.766e-06$) et T-T ($p = 7.200e-09$). Les perdrix F2 des autres groupes ont des taux de retour faibles et homogènes (**Figure 10A** ; $p > 0.05$).

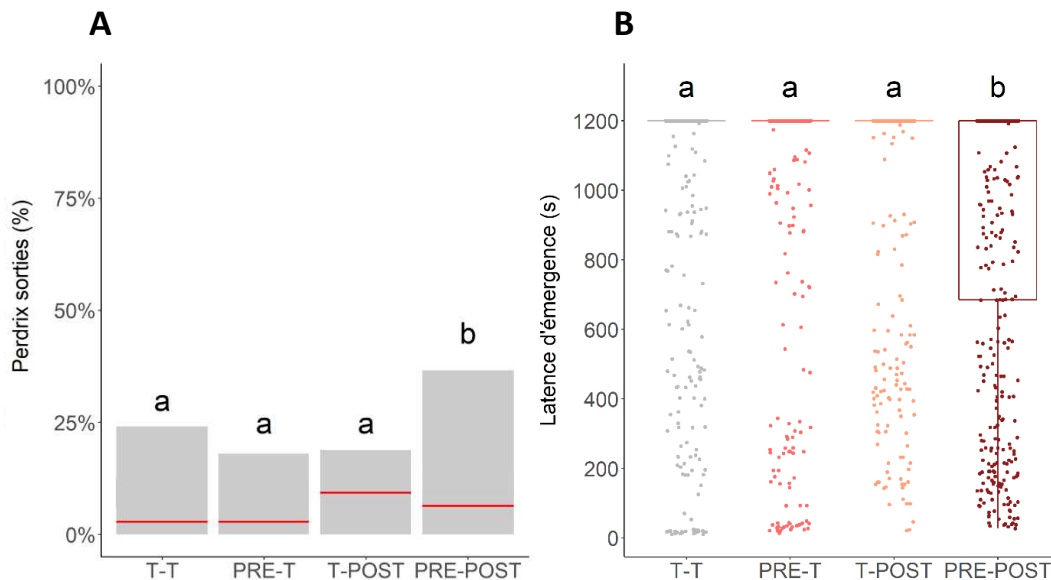


Figure 10 | Comportement des perdrix F2 lors de leur première sortie en volière ($N_{T-T} = 524$, $N_{PRE-T} = 531$, $N_{T-POST} = 536$, $N_{PRE-POST} = 530$). **(A)** Pourcentage de perdrix pénétrant en volière. Les lignes rouges représentent le pourcentage de perdrix qui, parmi les oiseaux sortis en volière, retournent sous l'auvent. **(B)** Latence d'émergence (s). Les lettres « a » et « b » indiquent des différences significatives entre nos groupes de perdrix ($p < 0.05$).

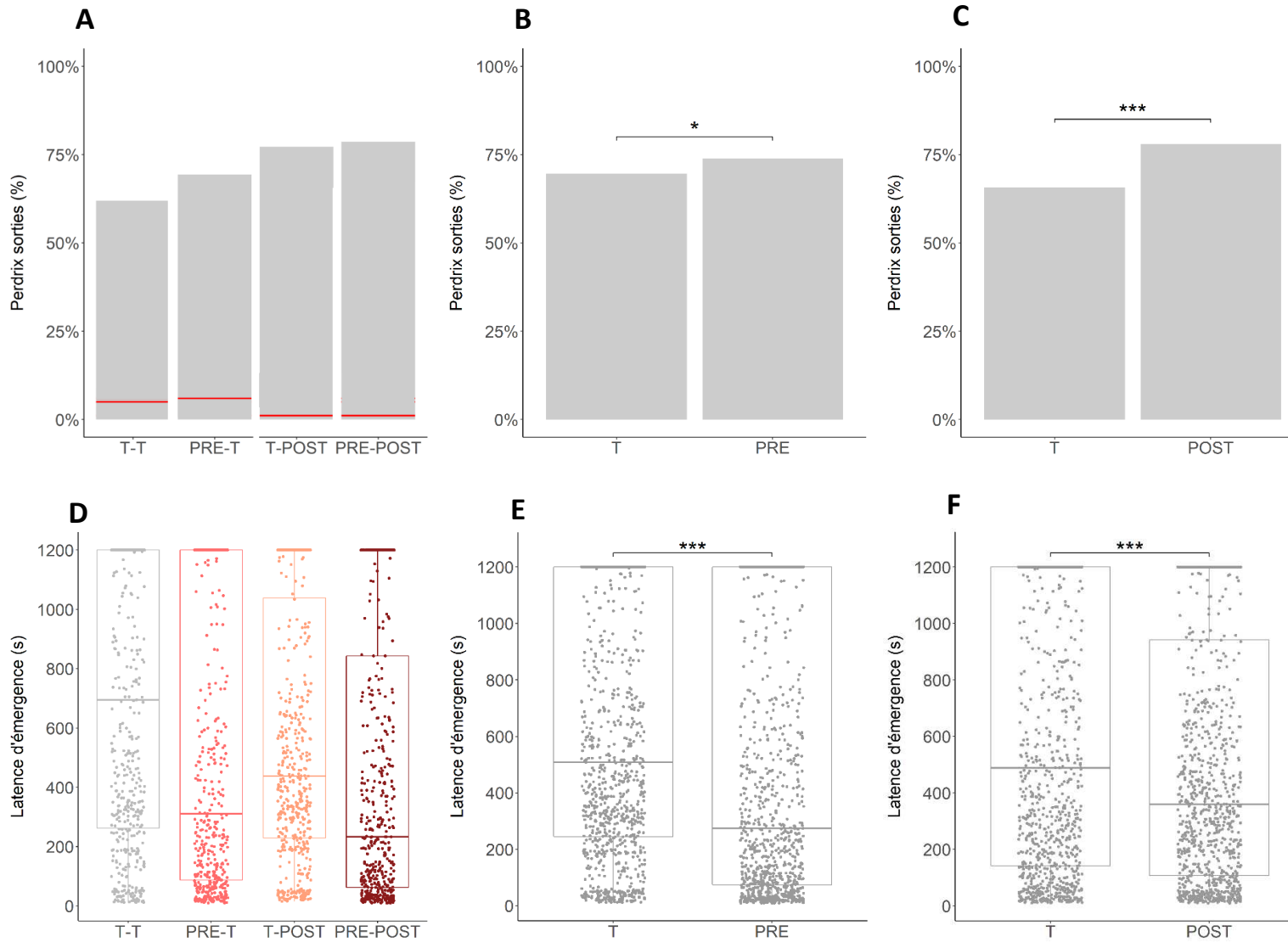


Figure 11 | Comportement des perdrix F2 lors de leur quatrième sortie en volière ($N_{T-T} = 523$, $N_{PRE-T} = 531$, $N_{T-POST} = 536$, $N_{PRE-POST} = 529$). **(A)** Pourcentage de perdrix pénétrant en volière. Les lignes rouges représentent le pourcentage de perdrix qui, parmi les oiseaux sortis en volière, retournent sous l'auvent. **(B)** Pourcentage de perdrix exposées (PRE) ou non (T) au traitement prénatal et **(C)** exposées (POST) ou non (T) au traitement postnatal qui pénètre sous l'auvent. **(D)** Latence d'émergence (s). **(E)** Latence d'émergence (s) des perdrix exposées (PRE) ou non (T) au traitement prénatal et **(F)** exposées (POST) ou non (T) au traitement postnatal. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

Quatre jours plus tard, les perdrix exposées indépendamment aux traitements pré- et postnatal sont plus nombreuses (**Figure 11A, 11B, 11C** et **Tableau 4** ; GLM binomial, effet prénatal: $X^2 = 5.077$, $p = 0.024$, effet postnatal: $X^2 = 39.990$, $p = 2.554e-10$) et plus rapides à sortir en volière que les perdrix F2 exposées aux conditions témoins (**Figure 11D, 11E, 11F** et **Tableau 4** ; LM permutation, effet prénatal: $p < 0.001$, effet postnatal: $p < 0.001$). À nouveau, les taux de retour sous l’auvent diffèrent entre les groupes (**Figure 11A** ; Test du Chi², $X^2 = 41.550$, $p = 4.999e-09$). Les perdrix F2 PRE-T et T-T retournent plus sous l’auvent que les perdrix F2 PRE-POST ($p = 3.200e-05$ et $p = 1.000e-04$ respectivement) et T-POST ($p = 3.200e-05$ et $p = 1.000e-04$ respectivement).

Réaction à la présence d’un prédateur : Lors de la diffusion du cri de buse en bâtiment, les perdrix F2 réagissent différemment (**Figure 12A** et **Tableau 4** ; LM permutation, effet prénatal x

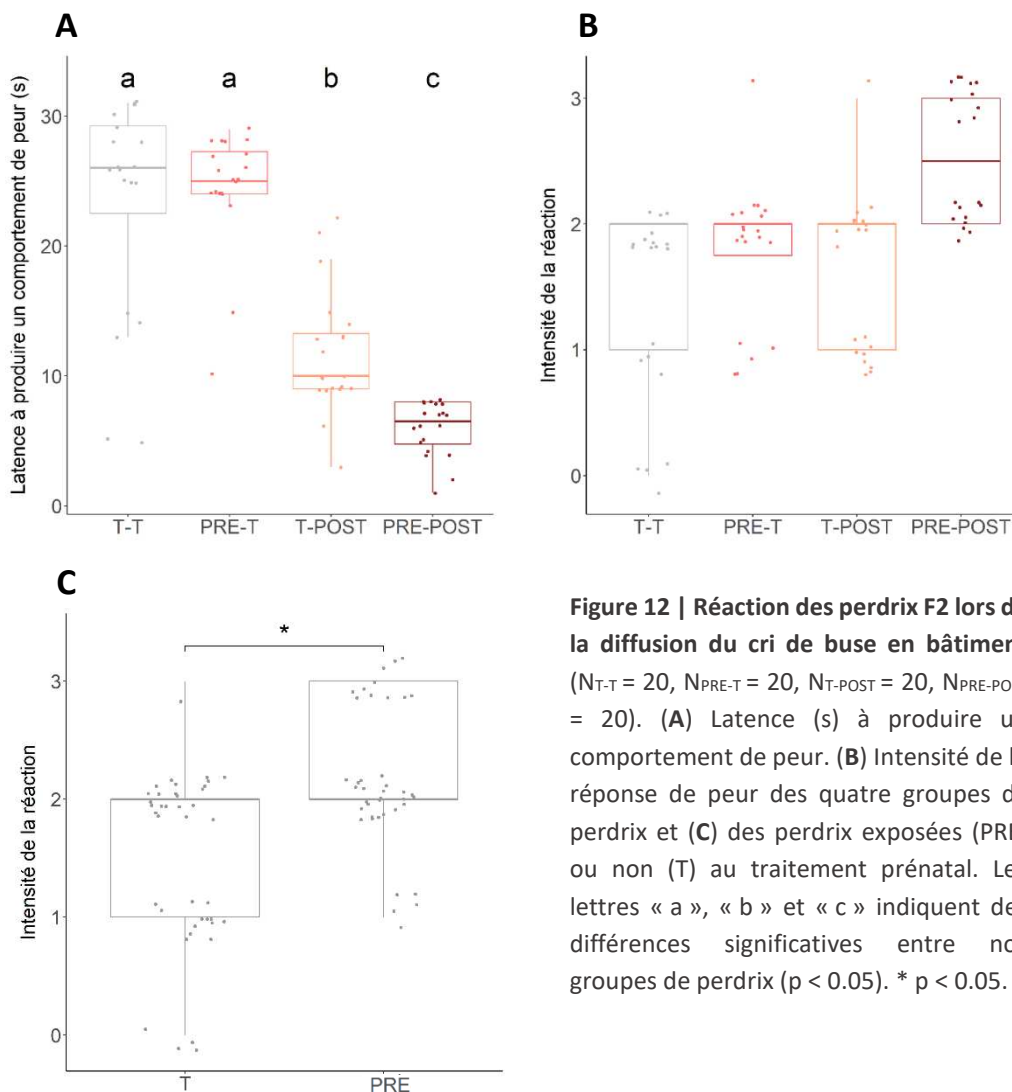


Figure 12 | Réaction des perdrix F2 lors de la diffusion du cri de buse en bâtiment ($N_{T-T} = 20$, $N_{PRE-T} = 20$, $N_{T-POST} = 20$, $N_{PRE-POST} = 20$). (A) Latence (s) à produire un comportement de peur. (B) Intensité de la réponse de peur des quatre groupes de perdrix et (C) des perdrix exposées (PRE) ou non (T) au traitement prénatal. Les lettres « a », « b » et « c » indiquent des différences significatives entre nos groupes de perdrix ($p < 0.05$). * $p < 0.05$.

postnatal: $p = 0.006$). Les perdrix F2 PRE-POST produisent une réponse de peur plus rapidement que les perdrix F2 T-T ($p < 0.0001$), PRE-T ($p < 0.0001$) et T-POST ($p = 0.006$). Il en est de même pour les perdrix F2 T-POST qui produisent une réponse de peur plus rapidement que les perdrix T-T et PRE-T ($p < 0.0001$). Les perdrix F2 exposées au traitement prénatal (PRE-T et PRE-POST) expriment une réponse de peur plus intense que les perdrix F2 témoins (T-T et T-POST) (**Figure 12B, 12C** et **Tableau 4** ; GLM poisson, effet prénatal: $X^2 = 4.656$, $p = 0.031$).

Lors de la diffusion du cri de buse en volière, les perdrix F2 réagissent à nouveau différemment (**Figure 12A** et **Tableau 4** ; LM permutation, effet prénatal x postnatal: $p = 0.018$). Les perdrix F2 PRE-T produisent ou tendent à produire une réponse de peur plus rapidement que les perdrix F2 T-T ($p = 0.002$) et PRE-POST ($p = 0.054$). Les perdrix T-POST quant à elles, produisent une réponse de peur plus tardivement que les perdrix F2 des autres groupes ($p < 0.0001$). L'intensité de la réponse des perdrix F2 au cri de buse varie également entre nos groupes (**Figure 13B** et **Tableau 4**; GLM poisson, effet prénatal x postnatal: $p = 0.045$). Les perdrix F2 T-POST expriment moins de comportements de peur que les perdrix T-T, PRE-T et PRE-POST ($p = 0.027$, $p = 0.001$ et $p = 0.007$, respectivement).

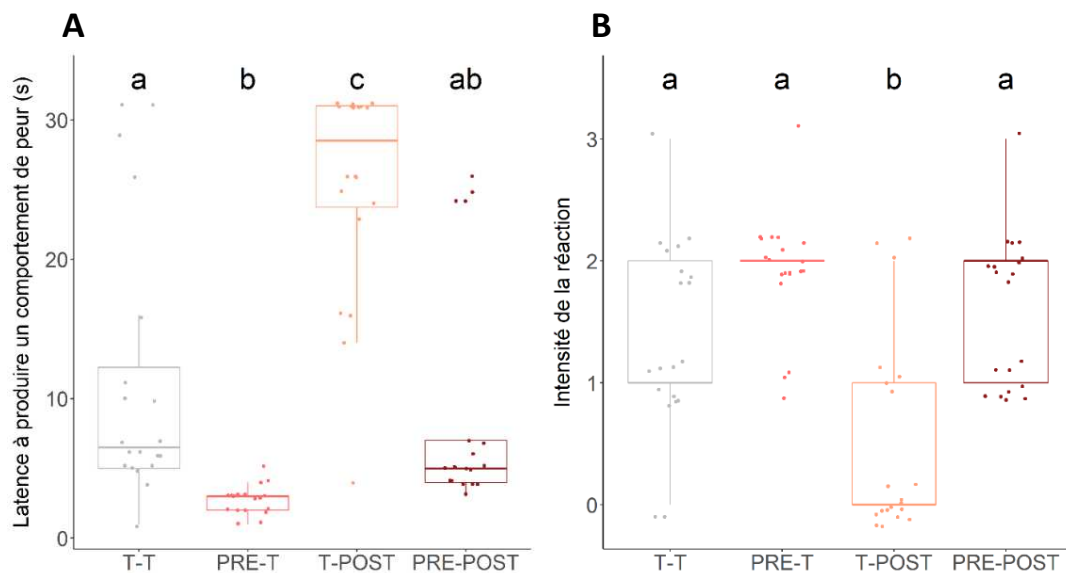


Figure 13 | Réaction des perdrix F2 lors de la diffusion du cri de buse en volière ($N_{T-T} = 20$, $N_{PRE-T} = 20$, $N_{T-POST} = 20$, $N_{PRE-POST} = 20$). (A) Latence (s) à produire un comportement de peur et (B) Intensité de la réponse de peur. Les lettres « a », « b » et « c » indiquent des différences significatives entre nos groupes de perdrix ($p < 0.05$).

Tableau 4 | Analyses statistiques de la morphologie et de la réactivité émotionnelle des perdrix F2. Résultats des modèles linéaires, modèles linéaires par permutation et modèles linéaires généralisés. IT = Immobilité Tonique, EM = EMergence. Les résultats significatifs sont en gras : * $p \leq 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

	Prénatal				Postnatal				Prénatal x Postnatal			
	f-value	X ²	df	p-value	f-value	X ²	df	p-value	f-value	X ²	df	p-value
MORPHOLOGIE												
Masse à J1	0.655	-	1	0.418	0.433	-	1	0.511	4.608	-	1	0.032 *
Masse à J91	-	-	-	0.125	-	-	-	0.219	-	-	-	0.259
IT												
Nombre d'induction	-	0.697	1	0.404	-	1.937	1	0.164	-	1.77	1	0.183
Durée d'immobilité	0.0002	-	1	0.988	2.348	-	1	0.127	0.123	-	1	0.726
EM												
Jour 1												
Nombre de perdrix	-	10.294	1	0.001 **	-	12.884	1	3.315e-04 ***	-	37.908	1	7.416e-10 ***
Latence d'émergence	-	-	-	0.003 *	-	-	-	0.002 **	-	-	-	< 0.0001 ***
Jour 4												
Nombre de perdrix	-	5.077	1	0.024 *	-	39.989	1	2.554e-10 ***	-	1.551	1	0.213
Latence d'émergence	-	-	-	< 0.0001 ***	-	-	-	< 0.0001 ***	-	-	-	0.336
PRÉDATION												
Bâtiment												
Latence peur	-	-	-	0.045 *	-	-	-	< 0.0001 ***	-	-	-	0.006 **
Réponse	-	4.655	1	0.031 *	-	2.225	1	0.136	-	0.331	1	0.565
Volière												
Latence peur	-	-	-	< 0.0001 ***	-	-	-	< 0.0001 ***	-	-	-	0.018 *
Réponse	-	9.625	1	0.002 **	-	5.378	1	0.020 *	-	4.015	1	0.045 *

Caractérisation des perdrix F2 en milieu naturel

Survie en milieu naturel

Prélèvements à la chasse : Sur l'ensemble des territoires étudiés, le nombre de perdrix F2 prélevées à la chasse diffère significativement entre nos groupes ($N_{T-T} = 26$, $N_{PRE-T} = 8$, $N_{T-POST} = 21$, $N_{PRE-POST} = 27$; Test multinomial: $p = 0.005$). Les perdrix F2 PRE-T sont moins prélevées que les perdrix F2 T-T, T-POST et PRE-POST ($p = 0.009$, $p = 0.048$ et $p = 0.009$, respectivement). Le nombre de jours entre l'ouverture de la chasse et le prélèvement des perdrix F2 est cependant similaire entre nos groupes (moyenne \pm ES, T-T: $22.35j \pm 3.80$, PRE-T: $39.25j \pm 9.89$, T-POST: $24.38j \pm 3.71$, PRE-POST = $23.73j \pm 4.30$; LM permutation, effet prénatal: $p = 0.929$, effet postnatal : $p = 0.076$, effet prénatal x postnatal: $p = 0.106$).

Suivi par télémétrie : Lors de leur mise en nature, l'état corporel des perdrix F2 équipées d'émetteurs est similaire entre nos groupes (**Tableau 5**). L'analyse des fonctions de survie révèle que la probabilité de survie de ces perdrix est influencée par leur traitement (**Figure 14** ; Cox, LRT: $X^2 = 8.06$, $p = 0.040$). L'analyse des rapports de risque (HR) révèle que le traitement prénatal augmente le risque de mortalité des perdrix F2 (HR = 2.25, $p = 0.042$). La combinaison des traitements pré- et postnatals tend en revanche à réduire cette même probabilité (HR = 0.327, $p = 0.060$). Le traitement postnatal quant à lui, n'influence pas la probabilité de survie des perdrix F2 (HR = 0.912, $p = 0.815$). Ces probabilités sont calculées à partir des données récoltées lors des six mois de suivi pour les 60 perdrix F2 équipées. Parmi elles, 52 ont été retrouvées mortes (86.67%, $N_{T-T} = 13$, $N_{PRE-T} = 14$, $N_{T-POST} = 13$, $N_{PRE-POST} = 12$), 7 étaient disparues (i.e. perte du signal de l'émetteur ; 11.66%, $N_{T-T} = 2$, $N_{PRE-T} = 1$, $N_{T-POST} = 2$, $N_{PRE-POST} = 2$) et une était encore en vie (1.67%, $N_{T-T} = 0$, $N_{PRE-T} = 0$, $N_{T-POST} = 0$, $N_{PRE-POST} = 1$). Les principales causes de mortalité des perdrix F2 sont indépendamment des groupes: les mammifères carnivores (57.14%), les rapaces (8.16%), la chasse (6.12%), l'inanition (2.04%) ou des causes indéterminées (22.45%).

Tableau 5 | Sexe-ratio, masse corporelle (g) et longueur de l'aile pliée (mm) des perdrix F2 équipées d'émetteurs et suivi par télémétrie dans le Gard. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre nos groupes ($p > 0.05$).

	PRE-POST	T-POST	PRE-T	T-T
Sexe-ratio	$N_{\varphi} = 8$ $N_{\sigma} = 6$ $N_{ND} = 1$	$N_{\varphi} = 8$ $N_{\sigma} = 6$ $N_{ND} = 1$	$N_{\varphi} = 9$ $N_{\sigma} = 5$ $N_{ND} = 1$	$N_{\varphi} = 9$ $N_{\sigma} = 4$ $N_{ND} = 2$
Masse (g)	393.3 ± 14.1	389.7 ± 13.9	383.0 ± 13.6	383.7 ± 9.2
Longueur aile pliée (mm)	154.5 ± 1.5	155.1 ± 1.1	155.5 ± 1.9	154.4 ± 1.3

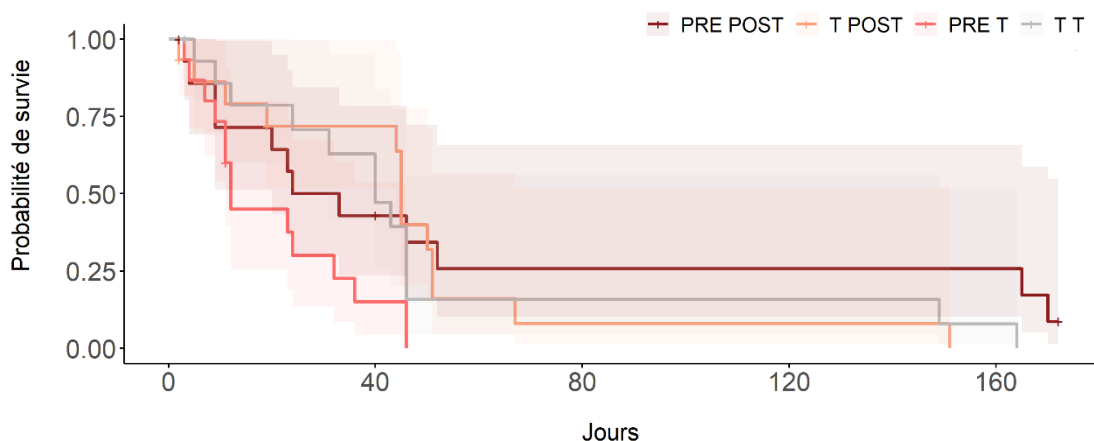


Figure 14 | Fonctions de survie de Kaplan-Meier des perdrix F2 suivies par télémétrie ($N_{T-T} = 15$, $N_{PRE-T} = 15$, $N_{T-POST} = 15$, $N_{PRE-POST} = 15$) avec leurs intervalles de confiance respectifs à 95%. Chaque marche correspond à la mort ($N = 52$) d'un individu, la hauteur des marches étant proportionnelle au nombre d'individus retrouvés morts. Les censures ou disparition d'individus ($N = 7$) sont représentées sur chaque courbe par des croix. La seule perdrix encore vivante environ six mois après sa mise en nature est également représentée par une croix.

Captures au printemps n+1 : Les captures réalisées en février et mars 2021, six mois après la mise en nature des oiseaux F2, nous ont permis de capturer sur l'ensemble des territoires, 59 perdrix F2 ($N_{T-T} = 12$, $N_{PRE-T} = 13$, $N_{T-POST} = 15$, $N_{PRE-POST} = 19$). Aucune différence entre nos quatre groupes n'est ici mise en évidence (Test multinomial, $p = 0.595$).

Dispersion

La dispersion des perdrix F2 est apparue homogène entre nos groupes (**Tableau 6** ; moyenne \pm ES, T-T: 603.37m \pm 240.94, PRE-T: 675.41m \pm 234.59, T-POST: 489.29m \pm 101.53, PRE-POST = 445.19m \pm 84.47 ; LMM permutation, $p > 0.05$).

Morphologie

Six mois après leur mise en nature, la masse corporelle des oiseaux semble être influencée par l'interaction des traitements pré- et postnatal (**Tableau 6** ; moyenne \pm ES, T-T: 471.92g \pm 11.58, PRE-T: 506.92g \pm 14.70, T-POST: 495.33g \pm 14.92, PRE-POST = 510.26g \pm 8.56 ; LMM, effet prénatal x postnatal: $X^2 = 4.70$, $p = 0.030$). Cependant, les comparaisons multiples ne révèlent aucune différence ($p > 0.05$). La longueur de l'aile pliée des perdrix F2 est également homogène entre nos

groupes (**Tableau 6** ; moyenne \pm ES, T-T: 157.50mm \pm 1.48, PRE-T: 158.69mm \pm 1.43, T-POST: 157.60mm \pm 1.56, PRE-POST = 161.16mm \pm 1.43 ; LMM permutation, $p > 0.05$). Si le sexe-ratio des perdrix F2 est similaire entre nos groupes (Test du Chi², $X^2 = 4.401$, $p = 0.221$), nous avons cependant capturé plus de mâles que de femelles ($N_{\sigma} = 39$, $N_{\varphi} = 20$; Test binomial, $p = 0.018$).

Tableau 6 | Analyses statistiques du suivi morphologique et de la dispersion des perdrix F2 capturées six mois après leur mise en nature. Résultats des modèles linéaires mixtes et modèle linéaire mixte par permutation. Les résultats significatifs sont en gras : *** $p < 0.001$.

	Masse corporelle			Longueur de l'aile pliée	Dispersion
	X ²	df	p-value	p-value	p-value
Prénatal	2.164	1	0.141	0.846	0.487
Postnatal	0.267	1	0.605	0.672	0.204
Sexe	57.442	1	3.481e-04 ***	0.002 ***	0.720
Prénatal x Postnatal	4.703	1	0.030 *	0.901	0.226
Prénatal x Sexe	0.143	1	0.705	0.807	0.537
Postnatal x Sexe	0.234	1	0.628	0.458	0.386
Prénatal x Postnatal x Sexe	0.971	1	0.324	0.861	0.254

Bilan

Nos résultats montrent qu'en plus d'avoir influencé le phénotype comportemental des perdrix F1, nos traitements pré- et postnatals ont influencé celui des perdrix F2. La première fois qu'elles ont accès à la volière, les perdrix F2 PRE-POST sont plus nombreuses et plus rapides à y pénétrer. Au quatrième jour, cet effet s'observe pour l'ensemble de perdrix dont les parents ont été exposés indépendamment aux traitements pré- et postnatal. Les perdrix F2 PRE-POST et T-POST réagissent plus rapidement à la diffusion du cri de buse en bâtiment que les perdrix des autres groupes. Les réponses de peur des perdrix F2 dont les parents ont été exposés au traitement prénatal sont également plus intenses. Lors de la diffusion du cri de buse en volière, les perdrix F2 PRE-T réagissent plus rapidement que les perdrix des autres groupes. Les perdrix F2 T-POST, quant à elles, réagissent moins rapidement et moins intensément que les perdrix des autres groupes.

Une fois en nature, les perdrix F2 PRE-T sont moins prélevées à la chasse que les perdrix des autres groupes. Cependant, le suivi par télémétrie révèle que le traitement prénatal seul réduit la

probabilité de survie des oiseaux. Enfin, aucune différence n'est observée entre nos groupes par rapport au nombre de perdrix capturées six mois après la mise en nature.

Discussion

Dans cette étude, nous nous sommes demandés si la complexification des environnements d'élevage prénatal et postnatal pouvait sur plusieurs générations, moduler le phénotype des perdrix rouges et les préparer à leur réintroduction en nature. Nous avons alors montré, en fonction des traitements, des modulations de la réactivité émotionnelle chez les perdrix F1 mais surtout chez les perdrix F2 sans que ces oiseaux ne soient eux-mêmes exposés. Malgré ces effets sur le phénotype comportemental des perdrix F1 et F2, ni le traitement prénatal, ni le traitement postnatal ou leur combinaison n'ont *a priori* permis d'améliorer significativement leur survie en nature.

Effets des traitements prénatal et/ou postnatal sur le phénotype et la survie en nature de la génération F1

Les effets des traitements prénatal et postnatal sur le phénotype des perdrix F1 se révèlent plutôt mineurs. Lors du test d'émergence réalisé au moment de l'ouverture de l'auvent, les perdrix F1 exposées indépendamment au traitement prénatal et postnatal sont moins nombreuses à y pénétrer. Si ce résultat pourrait témoigner d'un phénotype comportemental différent entre nos oiseaux, il n'est pas impossible qu'il soit dépendant des taux de retours des perdrix dans le bâtiment. En effet, 43 à 44% des perdrix F1 T-T et T-POST retournent dans le bâtiment au cours du test contre 31% pour les PRE-T et 7% pour les PRE-POST. Les perdrix F1 T-T et T-POST ayant déjà pénétré sous l'auvent y retournent donc peut-être plus facilement. Celles-ci, n'étant pas identifiables individuellement lors du test sont donc potentiellement ré-échantillonnées, expliquant ainsi les différences observées. La propension des oiseaux à retourner dans le bâtiment pourraient également témoigner d'une stratégie à part entière. Les perdrix F1 T-T et T-POST retournent plus vers le bâtiment. Elles pourraient donc se familiariser moins rapidement à l'environnement nouveau que constitue l'auvent ou prendre moins de risque que les perdrix F1 PRE-T et PRE-POST, en retournant plus souvent vers la zone refuge que constitue le bâtiment. Plusieurs études ont ainsi démontré que l'utilisation d'un abri est influencée par les conditions

d'élevage des individus (Griffiths and Armstrong, 2002; Salvanes and Braithwaite, 2005) mais également par le risque de prédation présent dans l'environnement.

Le traitement postnatal semble retarder l'expression d'une réponse anti-prédateurs chez nos perdrix F1 ; celles-ci réagissant moins rapidement au cri de buse que les perdrix F1 élevées dans des conditions témoins. Ce résultat est relativement surprenant. De précédents travaux ont effectivement montré que des expositions répétées aux prédateurs, qui plus est en présence d'adultes tuteurs, améliorent l'expression des comportements anti-prédateurs (pour revue Griffin et al., 2000; Beani and Dessí-Fulgheri, 1998; Mesquita and Young, 2007). Par exemple, les chiens de prairie à queue noire (*Cynomys ludovicianus*) à qui l'on diffuse des cris d'alarme spécifique en simultanée à la présence d'un prédateur (i.e. putois à pieds noirs (*Mustela nigripes*), buse à queue rousse (*Buteo jamaicensis*), crotale des prairies (*Crotalus viridis*)) émettent davantage de cris d'alarme lorsque ces prédateurs leur sont présentés *a posteriori* (Shier and Owings, 2006). Les perdrix rouges élevées en présence de tuteurs et régulièrement exposées à l'humain ou à des leurres de rapace expriment une réponse anti-prédateur plus longue et plus intense que les perdrix témoins (Sánchez-García et al., 2016). La réponse plus limitée de nos perdrix F1 PRE-POST et T-POST pourrait éventuellement s'expliquer par un processus d'habituation de nos oiseaux au cours du traitement postnatal (Heezik et al., 1999; Martin and Melvin, 1964) mais également aux modalités même du test que nous leur avons fait passer. Par exemple, Beani et ses collaborateurs ont montré que des perdrix grises, élevées en présence de leurs parents, présentent une meilleure réponse anti-prédateur que les perdrix grises élevées artificiellement. Toutefois, cette différence s'observe seulement si cette réponse est évaluée en présence d'un leurre de rapace ou lors de la diffusion de cris d'alarme spécifiques. Lors de la diffusion seule de cris de rapace, comme cela était le cas lors de notre test, la réponse anti-prédateur de ces perdrix apparaît similaire entre les groupes (Beani and Dessí-Fulgheri, 1998). La différence de réponse anti-prédateur que nous avons observée entre les perdrix exposées au traitement postnatal et les perdrix témoins pourrait donc être liée à la qualité du stimulus et au niveau de risque qui y est associé. La vue du prédateur ou l'émission de signaux d'alarme par des congénères pourraient témoigner d'un danger plus important que la simple perception d'une vocalisation de prédateur. On sait également qu'afin d'évaluer le risque de prédation, les organismes sont capables de percevoir et d'utiliser simultanément plusieurs sources d'informations sensorielles provenant des prédateurs (e.g. visuelle, auditive, olfactive). Ainsi, la combinaison de différentes modalités sensorielles semble induire une réponse supérieure à celle induite par chaque modalité perçue isolément (Hale et al., 2017). Cette capacité d'analyse multi-sensorielle pourrait se révéler adaptative, permettant la mise en place d'un compromis entre

le risque de prédation et l'utilisation des ressources environnementales (Partan and Marler, 1999). Dans notre étude, les perdrix exposées au traitement postnatal, ayant expérimenté un apprentissage associant les vocalisations et le passage du rapace, pourraient lors de notre test répondre moins rapidement du fait de la perception d'un seul stimulus ou d'une seule modalité sensorielle provenant du prédateur.

En nature, les perdrix F1 exposées au traitement postnatal sont à la chasse, prélevées plus tardivement que les perdrix élevées dans des conditions témoins. Ce résultat pourrait s'interpréter de deux façons. Les perdrix F1 exposées au traitement postnatal pourraient être moins présentes sur le territoire du fait d'une mortalité plus élevée résultant d'une réponse anti-prédateur plus limitée, comme observé lors des tests en élevage. Au contraire, ce résultat pourrait témoigner, comme le suggère les données des mâles PRE-POST, de la plus grande propension de ces oiseaux à disperser en dehors du territoire, les rendant ainsi moins susceptibles d'être prélevées. Une autre possibilité est que ces oiseaux présentent une meilleure capacité d'adaptation, ce qui leur aurait permis d'échapper plus longtemps aux prélèvements. Une étude menée sur plusieurs années par l'IMPCF montre que les perdrix rouges élevées en présence d'adultes tuteurs et entraînées aux prédateurs sont prélevées moins rapidement que les perdrix élevées dans des conditions traditionnelles. Les auteurs suggèrent une meilleure adaptation de ces oiseaux puisqu'à long terme, ces derniers présentent un meilleur taux de survie que les oiseaux témoins (Froustey, 2017, 2019). De nombreux auteurs rapportent qu'une modulation des conditions d'élevage postnatales notamment, influence positivement les capacités d'adaptation et la survie des individus en nature (régime alimentaire : Homberger et al., 2014; Whiteside et al., 2015 ; naturalisation et complexification du milieu de vie : Hyvärinen and Rodewald, 2013; Santilli and Bagliacca, 2017; Santilli et al., 2012; Whiteside et al., 2016 ; training anti-prédateurs et/ou présence d'adultes expérimentés : Avril, 2020; Ferretti et al., 2012; Froustey, 2017; Gaudioso et al., 2011; Griffin et al., 2000; Heezik et al., 1999). Si les résultats des prélèvements à la chasse pourraient notamment témoigner d'un effet adaptatif du traitement postnatal, les résultats des captures et du suivi par télémétrie ne révèlent aucune différence entre nos oiseaux. Ni le traitement prénatal, ni le traitement postnatal ne semblent donc améliorer leur survie. La seule différence observée lors des captures concerne la dispersion des perdrix F1. En moyenne les perdrix F1 ont été capturées à moins de 700m de leur parquet de pré-lâcher, une distance cohérente avec celle précédemment rapportée chez la perdrix rouge (Gaudioso et al., 2011a) et la perdrix bartavelle (*Alectoris graeca* ; Mihajlov et al., 2019). Si ce résultat doit être considéré avec prudence du fait de la taille de notre échantillon, on observe que les mâles F1 PRE-POST dispersent significativement plus loin que la

majorité des autres perdrix F1. Les guppys (*Poecilia reticulata* ; Cattelan et al., 2020) et les lézards vivipares (*Zootoca vivipara* ; Bestion et al., 2014) dont les mères ont été exposées, comme lors de notre traitement prénatal, à un risque de prédation plus élevé, explorent plus leur environnement et dispersent plus loin que les individus témoins. De même, les perdrix rouges élevées en présence de tuteurs et exposées à un leurre de prédateurs dispersent plus loin que les perdrix témoins ce qui, selon certains auteurs, améliorerait leur chance de survie (Alonso et al., 2005; Gaudioso et al., 2011b). Les espèces de gibier à plumes restent généralement à proximité de leur site de mise en nature où ils sont supplémentés en eau et en nourriture (pour revue Madden et al., 2018). Ainsi, la dispersion plus importante des mâles F1 PRE-POST pourrait être considérée comme une prise de risque élevée et/ou comme un comportement adaptatif, ces mâles étant capable de quitter un territoire à forte densité où la compétition entre individus (e.g. nourriture, eau, partenaires sexuels) et le risque d'être prédaté peuvent être élevés (pour revue Benard and McCauley, 2008).

Effets des traitements prénatal et/ou postnatal sur le phénotype et la survie en nature de la génération F2

Les perdrix F2 bien qu'ayant été élevées en conditions standards présentent des modulations de leur phénotype comportemental. Lors du test d'émergence notamment, les perdrix F2 issues de parents F1 exposés aux traitements prénatal et postnatal, sont plus nombreuses et plus rapides à pénétrer dans ce nouvel environnement que constitue la volière. Contrairement à ce que nous avons constaté à la génération F1, il est peu probable que ces différences soient liées aux retours des oiseaux sous l'auvent. Les taux de retours que nous avons observés pour la génération F2 sont en effet très faibles et homogènes pour les groupes d'intérêt. Ce résultat témoignerait donc d'un effet des traitements pré- et postnatal sur le phénotype comportemental des perdrix F2. Plusieurs possibilités peuvent être évoquées. Les traitements prénatal et postnatal pourraient non seulement avoir diminué la réactivité émotionnelle des perdrix F2 (Forkman et al., 2007; Guibert et al., 2010) mais également influencé leur comportement social (Braithwaite and Salvanes, 2005; Homberger et al., 2021a). En effet, notre test se déroulait collectivement, ainsi l'émergence plus importante de ces perdrix pourrait témoigner d'une motivation plus élevée à rejoindre leurs congénères déjà en volière. Cette possibilité semble d'autant plus essentielle chez un oiseau comme la perdrix rouge qui en nature, vit en couple ou en compagnie (Cramp and Simmons, 1980) et qui dépend donc fortement de ses congénères pour survivre, comme cela a été montré chez plusieurs espèces de perdrix (Alonso et al., 2008; Tillmann, 2009; Watson et al., 2007).

Les traitements pré- et postnatal améliorent la réponse anti-prédateur des perdrix F2. En bâtiment, les perdrix F2 PRE-POST et T-POST réagissent plus rapidement à la diffusion du cri de buse que les perdrix des autres groupes. Les perdrix F2 issues des perdrix F1 exposées au traitement prénatal produisent également une réponse de peur plus intense. Cet effet potentiellement bénéfique du traitement prénatal sur les comportements anti-prédateurs des oiseaux s'observe également pour les perdrix F2 PRE-T lors du test réalisé en volière. Les perdrix F2 T-POST en revanche, ne réagissent que très peu à la diffusion : elles expriment peu de comportements de vigilance et de peur et lorsqu'elles le font, leurs latences de réaction sont très élevées. Ce résultat, d'autant plus étonnant si l'on considère la réaction de ces oiseaux lors du test en bâtiment, pourrait s'expliquer par leur état inhabituel le jour de ce test. Cet état, régulièrement observé par les éleveurs au cours du développement des perdrix, se traduit par plusieurs comportements : les oiseaux s'alimentent moins, sont globalement moins actifs et présentent pendant de brefs instants, un niveau d'agitation important s'accompagnant de vocalisations spécifiques (obs. et comm. personnelles). Ainsi, il est possible que l'état des oiseaux T-POST le jour du test en volière ait inhibé ou du moins modifié leur réponse anti-prédateurs.

On constate globalement suite à nos traitements, une diminution de la réactivité émotionnelle et une amélioration de l'expression du comportement anti-prédateur des perdrix F2. Dans notre étude, les changements comportementaux observés chez les perdrix F2 PRE-POST et T-POST sont directement liés à l'environnement de leur grands-parents et/ou de leurs parents. Les changements comportementaux observés chez les perdrix F2 PRE-T en revanche, ne peuvent être liés qu'aux changements de l'environnement de leurs grands-parents. Nos résultats témoignent ainsi des effets inter- (F1 à F2) et multi-générationnels (F0 à F2) des traitements prénatal et postnatal. Plusieurs études avaient déjà montré des changements de la réactivité émotionnelle et de la réponse anti-prédateur des jeunes suite à des modifications de l'environnement de leurs parents avant, pendant ou après la fécondation (risque élevé de prédation : Agrawal et al., 1999; Bell et al., 2016; Giesing et al., 2011; Morales et al., 2018; Patin et al., 2005; Seiter and Schausberger, 2015; Storm and Lima, 2010 ; enrichissement : Guibert, 2011; Yeshurun et al., 2017). Nos résultats, en accord avec la littérature, viennent en plus confirmer l'idée que le milieu de vie des parents et notamment de la femelle gestante ou pondeuse, peut influencer le développement comportemental des individus au-delà de la première génération (Bian et al., 2015; Crews et al., 2007; Guibert et al., 2013; Khan et al., 2016). Contrairement à ce que nous avons observé chez les cailles, le phénotype comportemental de nos perdrix, semble beaucoup moins stable entre les générations F1 et F2. Ce résultat n'est que peu surprenant. En effet alors que les cailles F1, F2 et F3

ont toute été maintenues dans un environnement postnatal homogène, les perdrix F1 ont été exposées à une complexification de leur environnement et, les perdrix F1 et F2 étaient maintenues pendant toute une partie de leur développement en extérieur, dans un environnement particulièrement changeant. De telles variations des conditions postnatales de nos perdrix pourraient donc expliquer les variations phénotypiques importantes que nous avons observé entre nos générations.

Une fois en nature, les perdrix F2 PRE-T sont moins prélevées à la chasse que les perdrix F2 des autres groupes. Les perdrix F2 PRE-T, comme le suggère leur phénotype comportemental, pourraient être moins prélevées du fait de meilleures capacités d'adaptation. Au contraire, elles pourraient être moins prélevées car déjà prédatées à l'ouverture de la chasse. Les résultats des captures et du suivi par télémétrie ne permettent pas de confirmer l'une ou l'autre de ces hypothèses. Si le suivi par télémétrie montre que le traitement prénatal diminue la probabilité de survie des perdrix F2, les captures révèlent que les perdrix F2 PRE-T sont, six mois après leur mise en nature, autant capturées que les perdrix F2 des autres groupes. Ces résultats contradictoires soulignent certaines limites de notre protocole et suggèrent plusieurs perspectives d'amélioration.

Limites et perspectives

Afin d'évaluer au mieux les effets de nos traitements sur la survie en nature des perdrix F1 et F2, nous avons cumulé trois méthodes de suivi (i.e. prélèvements à la chasse, captures au printemps, télémétrie). Malgré cela, sur les 1200 perdrix mises en nature chaque année, nous avons réussi à estimer la survie de 19.16% des perdrix F1 et de 16.75% des perdrix F2 seulement. Nous n'avons ainsi obtenu aucune information sur le devenir en nature de plus de 80% des perdrix F1 et F2 réintroduites. De tels résultats ont déjà été rapportés. Par exemple, Whiteside et ses collaborateurs, ont mis en nature 900 faisans de Colchide sur deux années successives. En cumulant prélèvements à la chasse et campagne de capture, ils ont réussi à estimer la survie de 20 à 23% des individus réintroduits (Whiteside et al., 2015). On peut donc se demander si de tels pourcentages sont représentatifs de l'échantillon global et si, dans le cadre de notre étude, ils influencent la conclusion quant aux effets de nos différents traitements. L'idéal serait donc à l'avenir de pouvoir suivre précisément et individuellement le devenir de chaque oiseau, notamment via l'utilisation de dispositif externe de suivi.

Afin de limiter les biais liés à la surinterprétation de nos données, nous avons fait le choix d'analyser séparément les résultats de chacune de nos méthodes de suivi. Néanmoins, des modèles de captures-recaptures basés sur une approche bayésienne ont récemment été développés afin d'estimer la survie globale des individus en prenant non seulement en compte les données concernant les rencontres, les captures et la découverte des cadavres des individus radio-équipés ou simplement marqués (e.g. bagues, ponchos) mais également les données concernant les individus non observés (Buner and Schaub, 2008; Homberger et al., 2014). Adapter cette approche à notre étude pourrait être particulièrement intéressante car elle nous permettrait de considérer dans un même modèle l'ensemble des données récoltées sur le terrain et d'estimer peut-être plus finement l'influence de nos différents traitements sur la survie de nos oiseaux.

Les méthodes de captures sont très souvent utilisées en nature pour évaluer la taille d'une population ou la survie d'un groupe d'individu (Petit and Valiere, 2006). Toutefois, dans le cadre de notre étude, plusieurs témoignages de bénévoles et d'observations personnelles montrent que les perdrix peuvent être attirées par les appelants, rester à proximité des parquets mais ne jamais se faire piéger, nous empêchant ainsi de les échantillonner. Nous avons également, au cours de la campagne de capture 2020, échantillonné trois perdrix F1 qui n'avaient pas été capturées la première année. Au cours de cette même campagne, nous avons capturé plus de mâles que de femelles. Cela pourrait témoigner de la meilleure survie des mâles mais également d'un biais d'échantillonnage du fait de notre méthode de capture (e.g. les mâles territoriaux ont potentiellement été plus attirés par les vocalisations du mâle appelant). Enfin, nous avons montré que les mâles F1 PRE-POST dispersaient pour certains à plus de 4500m du site de mise en nature. Si nous avons malgré tout réussi à capturer ces individus, il est possible qu'une petite proportion de perdrix aient dispersé encore plus loin rendant leur échantillonnage impossible. Sur l'un de nos territoires partenaires, une perdrix F1 PRE-T qui n'avait jamais été capturée, a été retrouvée cette année à plus de 7000m de son parquet de pré-lâcher. Même si ces quelques remarques sont anecdotiques, elles questionnent quant à l'efficacité de notre méthode de suivi.

La survie des perdrix suivies par télémétrie apparaît très faible dans notre étude puisque six mois après leur mise en nature, une seule perdrix F1 et une seule perdrix F2 sont encore en vie. Ces résultats sont relativement cohérents avec d'autres études réalisées sur le gibier à plume qui montrent une mortalité importante des oiseaux, notamment le premier mois suivant leur réintroduction (Alonso et al., 2005; Avril, 2020; Buner et al., 2011; Homberger et al., 2021b; Perez et al., 2004). Néanmoins, les captures que nous avons réalisées six mois après la mise en nature des perdrix, et donc sur une période similaire au suivi par télémétrie, montrent qu'à chaque génération,

ce sont au minimum une soixantaine d'oiseaux qui sont encore en vie. Les méthodes de suivi comme la télémétrie sont largement répandues aujourd'hui et semblent indispensables pour estimer avec précision le devenir de chaque individu. Toutefois, les dispositifs externes que ces méthodes emploient (i.e. émetteur, GPS) sont suspectés d'altérer la survie des individus et de compromettre le succès des programmes de réintroduction. Si certaines études ne montrent aucun effet de ces dispositifs (Hagen et al., 2006; Parish and Sotherton, 2007; Stantial et al., 2019; Thirgood et al., 1995), d'autres au contraire déplorent leurs effets négatifs sur le comportement, la condition physique, le succès reproducteur et la survie des individus équipés (Bro et al., 1999; Buner and Schaub, 2008; Gibson et al., 2013; Homberger et al., 2021b; Lameris et al., 2018; Putaala et al., 1997). Par exemple, Putaala et ses collaborateurs ont montré que les émetteurs diminuaient l'angle et la vitesse de décollage des perdrix grises sauvages les rendant potentiellement plus vulnérables aux prédateurs (Putaala et al., 1997). Chez cette même espèce, Homberger et ses collaborateurs ont récemment montré que le taux de survie annuel des oiseaux équipés est plus de cinq fois inférieur à celui des oiseaux non équipés (Homberger et al., 2021b).

Conclusion

Notre étude a montré que la complexification du milieu d'élevage des perdrix influence leur réactivité émotionnelle et leurs comportements anti-prédateurs. Si de tels effets avaient déjà été mis en évidence suite à des changements des conditions d'élevage postnatales des oiseaux, notre étude montre que des changements des conditions d'élevage de leurs parents peuvent également jouer un rôle fondamental, modulant le comportement des individus à travers les générations. Si nos traitements n'ont *a priori* pas eu les effets escomptés sur la survie en nature des perdrix, notre étude souligne toutefois l'importance de considérer, dans le cadre des programmes de réintroduction, les environnements postnatal et prénatal des individus.

Références

Agrawal, A.A., Laforsch, C., and Tollrian, R. (1999). Transgenerational induction of defences in animals and plants. *Nature* 401, 60–63.

Alonso, M.E., Pérez, J.A., Gaudioso, V.R., Díez, C., and Prieto, R. (2005). Study of survival, dispersal and home range of autumn-released red-legged partridges (*Alectoris rufa*). *British Poultry Science* 46, 401–406.

Alonso, M.E., Prieto, R., Gaudioso, V.R., Pérez, J.A., Bartolomé, D., and Díez, C. (2008). Influence of

the pairing system on the behaviour of farmed red-legged partridge couples (*Alectoris rufa*). *Applied Animal Behaviour Science* 115, 55–66.

Avril, J. (2020). *Survie et participation à la reproduction de perdrix rouges (Alectoris rufa) issues de différentes origines en milieu méditerranéen*. Master of Science. Université de Poitiers. Rapport de stage IMPCF: pp 41 + annexes.

Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., and Walker, S. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67, 1–48.

Beani, L., and Dessí-Fulgheri, F. (1998). Anti-predator behaviour of captive Grey partridges (*Perdix perdix*). *Ethology Ecology & Evolution* 10, 185–196.

Bell, A.M., McGhee, K.E., and Stein, L.R. (2016). Effects of mothers' and fathers' experience with predation risk on the behavioral development of their offspring in threespined sticklebacks. *Current Opinion in Behavioral Sciences* 7, 28–32.

Benard, M.F., and McCauley, S.J. (2008). Integrating across Life-History Stages: Consequences of Natal Habitat Effects on Dispersal. *The American Naturalist* 171, 553–567.

Bestion, E., Teyssier, A., Aubret, F., Clobert, J., and Cote, J. (2014). Maternal exposure to predator scents: offspring phenotypic adjustment and dispersal. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281, 20140701.

Bian, J.-H., Du, S.-Y., Wu, Y., Cao, Y., Nie, X.-H., He, H., and You, Z. (2015). Maternal effects and population regulation: maternal density-induced reproduction suppression impairs offspring capacity in response to immediate environment in root voles *Microtus oeconomus*. *The Journal of Animal Ecology* 84 2, 326–336.

Braithwaite, V.A., and Salvanes, A.G.V. (2005). Environmental variability in the early rearing environment generates behaviourally flexible cod: implications for rehabilitating wild populations. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 272, 1107–1113.

Bro, E., and Mayot, P. (2006). Opérations de reconstitution des populations de perdrix grises et de perdrix rouges en France. *Faune Sauvage* 274, 6–24.

Bro, E., Clobert, J., and Reitz, F. (1999). Effects of Radiotransmitters on Survival and Reproductive Success of Gray Partridge. *The Journal of Wildlife Management* 63, 1044.

Buner, F., and Schaub, M. (2008). How do different releasing techniques affect the survival of reintroduced grey partridges *Perdix perdix*? *Wildlife Biology* 14, 26–35.

Buner, F.D., Browne, S.J., and Aebischer, N.J. (2011). Experimental assessment of release methods for the re-establishment of a red-listed galliform, the grey partridge (*Perdix perdix*). *Biological Conservation* 144, 593–601.

Cattelan, S., Herbert-Read, J., Panizzon, P., Devigili, A., Griggio, M., Pilastro, A., and Morosinotto, C. (2020). Maternal predation risk increases offspring's exploration but does not affect schooling behavior. *Behav Ecol*.

Cramp, S., and Simmons, K. (1980). Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa. The Birds of the Western Palearctic, vol. II. Hawks to Bustards. (Oxford: Oxford University Press), pp. 463–469.

Crews, D., Gore, A.C., Hsu, T.S., Dangleben, N.L., Spinetta, M., Schallert, T., Anway, M.D., and Skinner, M.K. (2007). Transgenerational epigenetic imprints on mate preference. *Proc Natl Acad Sci USA* 104, 5942–5946.

Ferretti, M., Falcini, F., Paci, G., and Bagliacca, M. (2012). Captive rearing technologies and survival of pheasants (*Phasianus colchicus* L.) after release. *Italian Journal of Animal Science* 11, e29.

Forkman, B., Boissy, A., Meunier-Salaün, M.-C., Canali, E., and Jones, R.B. (2007). A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology & Behavior* 92, 340–374.

Fox, J., and Weisberg, S. (2019). *An {R} Companion to Applied Regression*.

Froustey, N. (2017). Dynamique des populations de perdrix rouges sur le bassin méditerranéen : Evaluation des ressources, comparaisons des taux de survie et de participation à la reproduction de perdrix rouges “sauvages” et “issues de lâchers antérieurs.” Rapport de licence. Université de Pau et des Pays de l’Adour.

Froustey, N. (2019). Suivi d’une population de Perdrix rouge (*Alectoris rufa* L.) : Etude démographique, analyse spatiale comparative des domaines vitaux et cartographie des habitats favorables à la reproduction. Master of Science. Université Toulouse III-Paul Sabatier. Rapport de stage IMPCF : pp 49 + annexes.

Gaudioso, V.R., Sanchez-Garcia, C., Perez, J.A., Rodriguez, P.L., Armenteros, J.A., and Alonso, M.E. (2011a). Does early antipredator training increase the suitability of captive red-legged partridges (*Alectoris rufa*) for releasing? *Poultry Science* 90, 1900–1908.

Gaudioso, V.R., Pérez, J.A., Sánchez-García, C., Armenteros, J.A., Lomillos, J.M., and Alonso, M.E. (2011b). Isolation from predators: a key factor in the failed release of farmed red-legged partridges (*Alectoris rufa*) to the wild? *British Poultry Science* 52, 155–162.

Gibson, D., Blomberg, E.J., Patricelli, G.L., Krakauer, A.H., Atamian, M.T., and Seding, J.S. (2013). Effects of Radio Collars on Survival and Lekking Behavior of Male Greater Sage-Grouse. *The Condor* 115, 769–776.

Giesing, E.R., Suski, C.D., Warner, R.E., and Bell, A.M. (2011). Female sticklebacks transfer information via eggs: effects of maternal experience with predators on offspring. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 278, 1753–1759.

Giraudoux, P., Antonietti, J.-P., Beale, C., Lancelot, R., Pleydell, D., and Treglia, M. (2021). *pgirmess: Spatial Analysis and Data Mining for Field Ecologists*.

Griffin, A.S., Blumstein, D.T., and Evans, C.S. (2000). Training Captive-Bred or Translocated Animals to Avoid Predators. *Conservation Biology* 14, 1317–1326.

Griffiths, S.W., and Armstrong, J.D. (2002). Rearing conditions influence refuge use among over-

wintering Atlantic salmon juveniles. *Journal of Fish Biology* 60, 363–369.

Guibert, F. (2011). Influences maternelles prénatales sur le développement comportemental : étude chez la caille japonaise *Coturnix c. japonica*. thesis. Rennes 1.

Guibert, F., Richard-Yris, M.-A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Guémené, D., Bertin, A., Möstl, E., and Houdelier, C. (2010). Social Instability in Laying Quail: Consequences on Yolk Steroids and Offspring's Phenotype. *PLoS ONE* 5, e14069.

Guibert, F., Lumineau, S., Kotrschal, K., Möstl, E., Richard-Yris, M.-A., and Houdelier, C. (2013). Trans-generational effects of prenatal stress in quail. *Proc. R. Soc. B* 280, 20122368.

Hagen, C.A., Sandercock, B.K., Pitman, J.C., Robel, R.J., and Applegate, R.D. (2006). Radiotelemetry Survival Estimates of Lesser Prairie-Chickens in Kansas: Are There Transmitter Biases? *Wildlife Society Bulletin* 34, 1064–1069.

Hale, R., Piggott, J.J., and Swearer, S.E. (2017). Describing and understanding behavioral responses to multiple stressors and multiple stimuli. *Ecology and Evolution* 7, 38–47.

Heezik, Y. van, Seddon, P.J., and Maloney, R.F. (1999). Helping reintroduced houbara bustards avoid predation: effective anti-predator training and the predictive value of pre-release behaviour. *Animal Conservation* 2, 155–163.

Hervé, M. (2021). *RVAideMemoire: Testing and Plotting Procedures for Biostatistics*.

Homberger, B., Jenni, L., Duplain, J., Lanz, M., and Schaub, M. (2014). Food unpredictability in early life increases survival of captive grey partridges (*Perdix perdix*) after release into the wild. *Biological Conservation* 177, 134–141.

Homberger, B., Korner-Nievergelt, F., Jenni-Eiermann, S., Duplain, J., Lanz, M., and Jenni, L. (2021a). Integrating behaviour, physiology and survival to explore the outcome of reintroductions: a case study of grey partridge. *Animal Behaviour* 176, 145–156.

Homberger, B., Jenni, L., Duplain, J., Lanz, M., and Schaub, M. (2021b). Strong effects of radio-tags, social group and release date on survival of reintroduced grey partridges. *Animal Conservation*.

Hothorn, T., Hornik, K., van de Wiel, M.A., and Zeileis, A. (2006). A Lego System for Conditional Inference. *The American Statistician* 60, 257–263.

Hyvärinen, P., and Rodewald, P. (2013). Enriched rearing improves survival of hatchery-reared Atlantic salmon smolts during migration in the River Tornionjoki. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 70, 1386–1395.

Kassambara, A., Kosinski, M., Biecek, P., and Fabian, S. (2021). *survminer: Drawing Survival Curves using "ggplot2."*

Khan, N., Peters, R.A., Richardson, E., and Robert, K.A. (2016). Maternal corticosterone exposure has transgenerational effects on grand-offspring. *Biol. Lett.* 12, 20160627.

Kleiber, C., and Zeileis, A. (2020). *AER: Applied Econometrics with R*.

- Lameris, T.K., Müskens, G.J.D.M., Kölzsch, A., Dokter, A.M., Van der Jeugd, H.P., and Nolet, B.A. (2018). Effects of harness-attached tracking devices on survival, migration, and reproduction in three species of migratory waterfowl. *Animal Biotelemetry* 6, 7.
- Lenth, R., Buerkner, P., Herve, M., Love, J., Riebl, H., and Singmann, H. (2020). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means.
- Madden, J.R., Hall, A., and Whiteside, M.A. (2018). Why do many pheasants released in the UK die, and how can we best reduce their natural mortality? *Eur J Wildl Res* 64, 40.
- Martin, R.C., and Melvin, K.B. (1964). Fear responses of Bobwhite Quail (*Colinus virginianus*) to a model and a live Red-tailed Hawk (*Buteo jamaicensis*). *Psychol. Forsch.* 27, 323–336.
- Mesquita, F. de O., and Young, R.J. (2007). The behavioural responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to anti-predator training. *Applied Animal Behaviour Science* 106, 144–154.
- Mihajlov, C., Gruychev, G., Stoyanov, S., and Angelov, E. (2019). Rock Partridge (*Alectoris graeca*) recovery program: first evidences on survival and dispersion rate of semi-natural reared birds in “Vrachanski Balkan” Nature Park. *Forestry Ideas* 24, 208–2016.
- Morales, J., Lucas, A., and Velando, A. (2018). Maternal programming of offspring antipredator behavior in a seabird. *Behavioral Ecology* 29, 479–485.
- Parish, D.M.B., and Sotherton, N.W. (2007). The fate of released captive-reared grey partridges *Perdix perdix*: implications for reintroduction programmes. *Wildlife Biology* 13, 140–149.
- Partan, S., and Marler, P. (1999). Communication Goes Multimodal. *Science* 283, 1272–1273.
- Patin, V., Lordi, B., Vincent, A., and Caston, J. (2005). Effects of prenatal stress on anxiety and social interactions in adult rats. *Developmental Brain Research* 160, 265–274.
- Perez, J.A., Alonso, M.E., Gaudioso, V.R., Olmedo, J.A., Diez, C., and Bartolome, D. (2004). Use of Radiotracking Techniques to Study a Summer Repopulation with Red-Legged Partridge (*Alectoris Rufa*) Chicks. *Poultry Science* 83, 882–888.
- Petit, E., and Valiere, N. (2006). Estimating Population Size with Noninvasive Capture-Mark-Recapture Data. *Conservation Biology* 20, 1062–1073.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., and R Core Team (2020). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models.
- Putala, A., Oksa, J., Rintamäki, H., and Hissa, R. (1997). Effects of Hand-Rearing and Radiotransmitters on Flight of Gray Partridge. *The Journal of Wildlife Management* 61, 1345–1351.
- Ricci, J.-C. (2016). Programme perdrix rouge - Prédation - Habitats (IMPCF). Rapport IMPCF Etat d’avancement. Novembre 2016 : pp 32 + annexes.
- Salvanes, A.G.V., and Braithwaite, V.A. (2005). Exposure to variable spatial information in the early rearing environment generates asymmetries in social interactions in cod (*Gadus morhua*). *Behav Ecol Sociobiol* 59, 250–257.

- Sánchez-García, C., Alonso, M.E., Tizado, E.J., Pérez, J.A., Armenteros, J.A., and Gaudioso, V.R. (2016). Anti-predator behaviour of adult red-legged partridge (*Alectoris rufa*) tutors improves the defensive responses of farm-reared broods. *British Poultry Science* 57, 306–316.
- Santilli, F., and Bagliacca, M. (2017). Effect of perches on morphology, welfare and behaviour of captive reared pheasants. *Italian Journal of Animal Science* 16, 317–320.
- Santilli, F., Galardi, L., and Bagliacca, M. (2012). First Evaluation of Different Captive Rearing Techniques for the Re-Establishment of the Red Legged Partridge Populations. *Avian Biology Research* 5, 147–153.
- Seiter, M., and Schausberger, P. (2015). Maternal intraguild predation risk affects offspring anti-predator behavior and learning in mites. *Scientific Reports* 5, 15046.
- Shier, D.M., and Owings, D.H. (2006). Effects of predator training on behavior and post-release survival of captive prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*). *Biological Conservation* 132, 126–135.
- Stantial, M.L., Cohen, J.B., Loring, P.H., and Paton, P.W.C. (2019). Radio Transmitters did not Affect Apparent Survival Rates of Adult Piping Plovers (*Charadrius melodus*). *Cowa* 42, 205–209.
- Storm, J.J., and Lima, S.L. (2010). Mothers Forewarn Offspring about Predators: A Transgenerational Maternal Effect on Behavior. *The American Naturalist* 175, 382–390.
- Therneau, T.M., until 2009), T.L. (original S.->R port and R. maintainer, Elizabeth, A., and Cynthia, C. (2021). survival: Survival Analysis.
- Thirgood, S.J., Redpath, S.M., Hudson, P.J., Hurley, M.M., and Aebischer, N.J. (1995). Effects of necklace radio transmitters on survival and breeding success of red grouse *Lagopus lagopus scoticus*. *Wbio* 1, 121–126.
- Tillmann, J.E. (2009). An ethological perspective on defecation as an integral part of anti-predatory behaviour in the grey partridge (*Perdix perdix* L.) at night. *J Ethol* 27, 117–124.
- Watson, M., Aebischer, N.J., and Cresswell, W. (2007). Vigilance and fitness in grey partridges *Perdix perdix*: the effects of group size and foraging-vigilance trade-offs on predation mortality. *J Anim Ecology* 76, 211–221.
- Whiteside, M.A., Sage, R., and Madden, J.R. (2015). Diet complexity in early life affects survival in released pheasants by altering foraging efficiency, food choice, handling skills and gut morphology. *J Anim Ecol* 84, 1480–1489.
- Whiteside, M.A., Sage, R., and Madden, J.R. (2016). Multiple behavioural, morphological and cognitive developmental changes arise from a single alteration to early life spatial environment, resulting in fitness consequences for released pheasants. *Royal Society Open Science* 3, 160008.
- Yeshurun, S., Short, A.K., Bredy, T.W., Pang, T.Y., and Hannan, A.J. (2017). Paternal environmental enrichment transgenerationally alters affective behavioral and neuroendocrine phenotypes. *Psychoneuroendocrinology* 77, 225–235.

Chapitre V

Discussion générale

Discussion générale

1. Bilan des principaux résultats

L'objectif de ce travail de thèse était de caractériser les effets inter-, multi- et trans-générationnels de l'environnement maternel sur le développement comportemental des descendants, d'identifier les mécanismes impliqués dans la transmission de ces effets à travers les générations et d'en évaluer le potentiel adaptatif.

Nous nous sommes intéressés, dans un premier temps, à la transmission des effets du stress maternel prénatal chez notre modèle de laboratoire, la caille japonaise. Nous avons montré qu'un stress chronique de la femelle pondeuse augmente la réactivité émotionnelle des jeunes de la génération F1 mais n'influence que peu les capacités d'apprentissage testées. De tels résultats ont également été observés chez les descendants des générations F2 et F3. Notre étude met donc en évidence, chez la caille japonaise, l'existence d'effets inter-, multi- et trans-générationnels du stress maternel prénatal. Afin d'identifier certains des mécanismes potentiellement impliqués dans la médiation de ces effets, nous avons évalué la composition hormonale des œufs des femelles F0, F1 et F2 et caractérisé l'expression, dans le cerveau des femelles F1 et F3, de deux marques post-traductionnelles des histones (i.e. H3K4me2 et H37me3) connues pour être influencées par le stress. Nous avons ainsi montré, à chaque génération, des modulations de la composition hormonale des œufs de nos femelles. Nous avons également pu mettre en évidence, chez les femelles F1, des changements de l'expression d'H3K27me3 dans des structures cérébrales impliquées dans la réponse émotionnelle chez les vertébrés. Nous n'avons cependant pas observé de tels changements chez les femelles F3. Les stéroïdes sexuels présents *in ovo* et les modifications épigénétiques que nous avons étudiées pourraient donc être impliqués, du moins en partie, dans les effets comportementaux du stress maternel prénatal à travers les générations.

Si le stress chronique est un modèle particulièrement pertinent pour caractériser l'influence des effets maternels à travers les générations, un environnement complexe et variable, mêlant expériences négatives et positives, nous paraissait intéressant pour évaluer leur potentiel adaptatif dans le cadre de programmes de réintroduction. Dans une première partie réalisée en laboratoire chez la caille japonaise, nous avons ainsi évalué l'influence d'un environnement maternel complexe et variable sur le phénotype comportemental des descendants des générations F1 et F3. Notre traitement prénatal n'a pas modulé, chez les jeunes F1 et F3, les capacités cognitives évaluées puisque les jeunes témoins et expérimentaux présentent des stratégies et des capacités

d'apprentissage et de mémorisation similaires. Néanmoins, nous avons montré avec le traitement prénatal, une diminution de la réactivité émotionnelle des jeunes F1 et une amélioration de leur réponse anti-prédateur. De tels résultats ont également été observés, du moins en partie, chez les jeunes de la génération F3. Ces résultats soulignent ainsi des effets inter- et trans-générationnels de la complexification de l'environnement maternel. Afin de tester le potentiel adaptatif de ces effets maternels prénatals (et plus généralement des effets parentaux) en milieu naturel, nous avons dans une seconde partie, adapté notre protocole à un modèle de gibier d'élevage, la perdrix rouge. Nous avons montré que la complexification de l'environnement parental, seule et/ou en association avec la complexification de l'environnement d'élevage postnatal des jeunes, a influencé la réactivité émotionnelle et notamment la réponse anti-prédateur des perdrix des générations F1 et F2. Cependant, nos traitements n'ont *a priori* pas permis d'améliorer la survie des perdrix en milieu naturel.

2. Persistance des effets maternels prénatals à travers les générations

L'une des questions majeures de notre étude était de caractériser l'influence des effets maternels prénatals à travers les générations. Que cela soit suite à un stress de la femelle pondeuse ou à la complexification de son environnement, nous avons montré des modulations du phénotype comportemental des jeunes jusqu'à la troisième génération. La réactivité émotionnelle est un trait comportemental qui semble particulièrement sensible aux effets maternels prénatals. Nous avons effectivement observé une augmentation ou une modulation de la réactivité émotionnelle de nos jeunes à chaque génération (**CHAPITRES III, IVA et IVB**). En revanche, les capacités d'apprentissage que nous avons étudiées sont peu modifiées par les traitements prénatals que nous avons utilisés (**CHAPITRE III et IVA**). Ce résultat est relativement surprenant puisque de nombreuses études ont montré que des traitements comme le stress prénatal notamment, pouvaient avoir des effets majeurs sur les capacités d'apprentissage et de mémorisation (poule : Lindqvist et al., 2007 ; rat : Markham et al., 2010; Schulz et al., 2011 ; pour revue Braastad, 1998; Weinstock, 2008). On sait cependant que les effets du stress sont différents selon la nature ou l'intensité de celui-ci (Mychasiuk et al., 2011; Patin et al., 2004, 2005; Kapoor et al., 2009; Schneider et al., 1999). De plus le modèle du « *hot and cool memory systems* » suggère que les effets du stress dépendent du type de mémoire et par conséquent, des comportements étudiés (Metcalf and Jacobs, 1998). Les systèmes/mémoires émotionnelles ne seraient pas modulées de la même façon que d'autres formes de systèmes/mémoires comme la mémoire spatiale par exemple. Ce modèle nous permet

donc d'expliquer le fait que nos traitements aient influencé la réactivité émotionnelle de nos jeunes, sans avoir modulé leur capacités d'apprentissage et de mémorisation ; les systèmes neurophysiologiques impliqués dans ces différents comportements n'ayant pas la même sensibilité au stress notamment.

Les modulations comportementales observées chez les jeunes jusqu'à la troisième génération témoignent d'effets maternels inter-, multi- et trans-générationnels. Si les changements phénotypiques constatés chez les jeunes F1 et F2 peuvent être directement dépendants des expériences vécues par nos femelles F0, ce n'est pas le cas de ceux observés chez les jeunes F3. Par exemple, lors de l'exposition des femelles F0 au stress chronique, leurs jeunes (F1) et les cellules germinales de ceux-ci (future F2) le sont également (i.e. via l'environnement prénatal que constitue l'œuf). Les effets inter- et multi-générationnels observés sur le phénotype des jeunes jusqu'à la génération F2 peuvent donc dépendre d'une exposition directe au stress maternel. À l'inverse, les effets trans-générationnels observés sur le phénotype des jeunes F3 ne dépendent pas d'une telle exposition (Skinner, 2008). Les effets maternels prénatals trans-générationnels que nous avons mis en évidence sont donc particulièrement intéressants, et ce d'autant plus qu'ils ont jusqu'à présent rarement été caractérisés et démontrés dans la littérature (pour revue Feeney et al., 2014; Guerrero-Bosagna et al., 2018).

Outre la persistance des effets maternels au cours des générations, nous avons montré des profils phénotypiques relativement similaires entre les caillies F1, F2 et F3 (e.g. augmentation (**CHAPITRE III**) ou modulation (**CHAPITRE IVA**) de la réactivité émotionnelle). La persistance de tels effets n'est pas surprenante au regard de la littérature. Certaines études rapportent effectivement une certaine constance des effets maternels sur le phénotype des jeunes à travers les générations (Franklin et al., 2010; Guibert et al., 2013; Ward et al., 2013). Par exemple, chez la souris, les comportements de type dépressif induits suite à un stress de contention et de nage forcée des femelles F0, sont observés jusqu'à la génération F3 (Franklin et al., 2010).

Si globalement nos caillies F1, F2 et F3 présentent un profil phénotypique similaire, quelques spécificités sont cependant apparues au fil des générations (i.e. effets sexe-spécifique, influence sur différentes dimensions de l'émotivité). Dans le **CHAPITRE III** notamment, les effets du stress maternel semblaient plus importants à partir de la génération F2 (i.e. jeunes témoins et expérimentaux diffèrent sur un nombre de variables plus important). On retrouve des effets similaires dans la littérature. Par exemple, des injections de corticostérone chez la souris influencent les comportements de type dépressifs chez les jeunes F2 mais pas chez les jeunes F1

(Short et al., 2016). Dans le cadre de notre étude, il est possible que l'influence des effets maternels prénatals sur le phénotype des jeunes F2 et F3 ait été renforcée par notre design expérimental. En effet, pour produire la génération F1, nous avons fait s'accoupler des femelles F0 expérimentales (i.e. exposées à nos procédures environnementales), avec des mâles F0 témoins (i.e. exposés à des conditions d'élevage standards). En revanche, nous avons fait le choix, pour produire les générations suivantes, de faire s'accoupler mâles et femelles issus de même traitement (i.e. expérimentaux vs témoins). Les effets observés sur les jeunes F2 et F3 ont donc potentiellement été maximisés par ce double effet parental. En ce sens, de précédents travaux ont montré que les performances de rat dans un test de labyrinthe en eau se trouvent être moins bonnes pour les jeunes dont les deux parents ont été exposés à l'acétate de plomb en comparaison aux jeunes dont seul l'un des parents était exposé (Brady et al., 1975).

Dans la littérature, la transmission des effets maternels prénatals à travers les générations semble être un processus commun à de nombreux taxons (pour revue Braastad, 1998 ; mammifères : Dunn and Bale, 2009, 2011 ; Bian et al., 2015 ; oiseaux : Khan et al., 2016 ; Naguib et al., 2006 ; poissons : Le Roy et al., 2017 ; Shama and Wegner, 2014 ; reptiles : Sorci and Clobert, 1995 ; invertébrés : Agrawal et al., 1999). Le fait que ces effets soient également transmissibles *a minima* jusqu'à la génération F3, questionnent quant à leur fonction dans les processus adaptatifs et évolutifs. Nous discuterons donc de ce point dans l'un des paragraphes suivants.

3. Stress, complexité et variabilité de l'environnement maternel

Dans la littérature, le stress chronique et ses effets ont reçu un intérêt tout particulier. De nombreuses études ont effectivement montré que des expériences négatives régulières, souvent extrêmes (e.g. contention, nage forcée, famine, stress social, etc.) pouvaient avoir des effets phénotypiques majeurs (pour revue Braastad, 1998). Que ses effets soient considérés comme positifs ou négatifs, le stress chronique peut façonner et orienter les comportements d'un individu voire même, comme nos résultats le souligne, ceux de ses descendants (**CHAPITRE III**). Il n'est cependant pas nécessaire d'exposer un individu à des expériences négatives aussi intenses et répétées pour observer des changements à long terme de son comportement ou de celui de ses descendants. Le fait d'évoluer dans un environnement plus modéré et d'être exposé à des stimulations, négatives, positives et d'intensité limitée semble également avoir des conséquences phénotypiques majeures ; c'est en tous cas ce que suggèrent nos résultats. L'exposition de nos femelles à un environnement plus complexe, plus variable via des stimulations d'intensité modérée,

a effectivement influencé la réactivité émotionnelle de leurs jeunes à travers les générations (**CHAPITRE IVA**).

L'objectif principal de ce travail n'était pas d'étudier la réaction des femelles F0 à l'environnement que nous leur avons proposé. On peut cependant se demander comment celles-ci ont perçu la complexification de l'environnement qu'elles ont expérimentés (**CHAPITRE IVA**). En effet, il est possible que l'imprévisibilité quotidienne des changements opérés dans leur cage de vie (e.g. carré de gazon artificiel, bac de stable, carton, etc.) ainsi que leur exposition régulière à des cris ou à des leurres de prédateurs (e.g. renard, buse) aient induit une réponse de stress (LaDage, 2015). Cependant, contrairement à ce que nous avons observé dans notre étude sur les effets du stress chronique maternel (**CHAPITRE III**), la complexification de l'environnement de nos femelles F0 a permis de moduler la réactivité émotionnelle de leurs descendants. Le stress que nous avons potentiellement généré n'a donc peut-être pas été perçu et vécu de la même façon par nos femelles selon nos expérimentations. Cette hypothèse s'accorde avec l'idée que le stress, aurait selon son intensité notamment, des effets qui suivraient une courbe en U inversée (Joëls, 2006; Sandi and Pinelo-Nava, 2007). Si ce modèle a majoritairement été développé pour établir une relation entre intensité du stress, hormones de stress et capacités d'apprentissage et de mémorisation, il est possible qu'il soit également pertinent pour d'autres dimensions du comportement. Un stress chronique, intense, imprévisible aurait des effets majeurs voire néfastes alors qu'un stress modéré et prévisible aurait des effets plus légers voire bénéfiques. Ainsi, le stress potentiellement expérimenté par nos femelles F0 du fait de la complexification de leur environnement n'a peut-être pas eu les mêmes effets néfastes que le stress chronique (e.g. Cyr and Michael Romero, 2007; Lindqvist and Jensen, 2009; Pruett, 2003; Rich and Romero, 2005; Sapolsky et al., 2000). On peut notamment supposer que l'abri qui était installé dans leur cage de vie a eu l'effet escompté ; à savoir, de permettre à nos femelles d'exercer une certaine contrôlabilité sur leur milieu et de se soustraire un minimum aux expériences négatives que nous leur avons imposées. Il a effectivement été montré que la contrôlabilité était un élément fondamental affectant la réponse émotionnelle d'un individu à un événement aversif (pour revue Bassett and Buchanan-Smith, 2007; Greiveldinger et al., 2009) et modulant même la réponse comportementale de ses descendants (Guesdon et al., 2011). Par exemple chez la caille japonaise, les jeunes de femelles exposées à des perturbations, notamment humaines, se révèlent moins émotives si leurs mères disposaient, pendant leur phase de ponte, d'un abri dans leur cage de vie (Guesdon et al., 2011). Au-delà de la notion de contrôlabilité, il est possible que les stimulations proposées à nos femelles (e.g. stimulations des comportements d'exploration, de recherche alimentaire et de confort) aient permis d'inverser les

effets stressants des perturbations évoquées précédemment, en induisant notamment l'expression d'émotions positives (Bertin et al., 2018a). On peut finalement supposer qu'un environnement complexe et variable, mêlant expériences positives et négatives peut constituer un environnement enrichi ayant des effets opposés à un environnement simplement stressant.

4. Potentiel adaptatif des effets maternels prénatals

Nous avons montré sur l'ensemble de notre étude que les effets maternels prénatals peuvent influencer le phénotype des jeunes à travers les générations (**CHAPITRES III, IVA, IVB**). La question est maintenant de savoir si ces changements phénotypiques peuvent refléter la capacité des effets maternels prénatals à façonner et ajuster le phénotype des jeunes pour les préparer au mieux à leur environnement futur. Il semble ici intéressant de discuter de deux aspects : le potentiel adaptatif des effets maternels inter-générationnel d'une part et celui des effets maternels multi- et trans-générationnels d'autre part.

4.1. Potentiel adaptatif des effets maternels prénatals inter-générationnels

Comme nous l'avons évoqué en introduction, deux théories majeures sont actuellement proposées pour caractériser le potentiel adaptatif des effets maternels prénatals. La théorie de la « *silver spoon* » notamment, suggère que, quelques soient ses conditions environnementales postnatales, la valeur adaptative d'un individu exposé à des conditions de développement favorables sera toujours supérieure à celle d'un individu exposé à des conditions de développement contraignantes (Monaghan, 2008). En ce sens, des conditions de développement contraignantes seraient toujours défavorables à la valeur adaptative d'un individu. Cette théorie est validée par certaines études sur les effets d'un stress chronique de la femelle. Celles-ci montrent en effet une altération du développement morfo-physiologique et des comportements des jeunes pouvant affecter leur survie et leur succès reproducteur (pour revue Braastad, 1998; Lindström, 1999). Par exemple, les hirondelles rustiques exposées pendant leur phase de ponte à un leurre de chat, l'un de leur prédateur, pondent des œufs plus riches en corticostérone réduisant ainsi leur éclosabilité. De plus, une fois éclos, les jeunes sont plus petits et leur plumage se développe plus lentement, ce qui altérerait leur survie (Saino et al., 2005). De même, les babouins jaunes (*Papio cynocephalus*) dont les mères ont été confrontées à des expériences négatives au cours de leur vie (i.e. mort prématurée de la mère, mère de rang hiérarchique inférieur, mère évoluant dans un groupe social

de forte densité ou ayant expérimenté une période de sécheresse importante ou la naissance rapprochée d'un nouveau membre dans sa fratrie) présentent un taux de mortalité élevé avant l'âge de quatre ans et ce indépendamment de leur propre expérience (Zipple et al., 2019). Un autre exemple montre que les enfants de femmes ayant déclaré un niveau de stress important lors de leur grossesse, ont des télomères plus courts à la naissance (Entringer et al., 2013) et au début de l'âge adulte (Entringer et al., 2011) altérant potentiellement leur santé et augmentant leur susceptibilité aux maladies. Cependant, plusieurs études suggèrent également des effets bénéfiques d'un stress de la femelle sur le phénotype de ses jeunes ; effets qui tradiraient *in fine* une meilleure valeur adaptative (Sheriff et al., 2010, 2011 ; Bestion et al., 2014 ; Chin et al., 2009 ; Coslovsky and Richner, 2011). Par exemple, les jeunes écureuils roux ont une croissance plus rapide et des chances de survie plus élevées si leurs mères sont exposées, pendant leur gestation, à des playbacks de vocalisations territoriales (i.e. mimant un environnement social dense et contraignant ; Dantzer et al., 2013). De même, les daphnies arborent des casques protecteurs plus larges lorsque leurs mères sont exposées à des kairomones mimant la présence d'un insecte prédateur (i.e. *Chaoborus avicans* ; Agrawal et al., 1999). La théorie de la « *silver spoon* » ne peut donc être validée par les résultats précédemment évoqués. Cela témoigne ainsi de l'existence de relations complexes entre effets maternels prénatals et conséquences adaptatives pour le jeune.

Afin d'apprécier le potentiel adaptatif des effets maternels prénatals, il semble alors nécessaire de considérer l'ensemble de leurs influences. Quelques études montrent en effet, qu'un déficit observé pour une composante du phénotype du jeune peut être compensé par la modification d'autres composantes. Par exemple, chez la mouette rieuse, des injections de testostérone *in ovo* (i.e. mimant un stress de la femelle) altèrent la fonction immunitaire des jeunes mais augmentent leurs comportements de quémante et facilitent leur croissance (Eising and Groothuis, 2003; Groothuis et al., 2005a, pour review 2005b). Il semble également essentiel de considérer l'influence des effets maternels prénatals sur toute la durée de vie de l'individu puisque certaines de ces influences peuvent se révéler bénéfiques à un moment de son cycle de développement mais ne plus l'être au suivant. Par exemple, les femelles de merle bleu de l'Est, pondent des œufs plus riches en androgènes lorsqu'elles sont en compétition avec d'autres espèces pour accéder à un site de nidification (Duckworth et al., 2015). Leurs fils sont plus agressifs et dispersent plus que les fils des femelles expérimentant moins de concurrence (Aguillon and Duckworth, 2015; Duckworth, 2008, 2009). S'ils étendent leur territoire et ont accès à de nouveaux sites de reproduction, ces mâles présentent en contrepartie un plus faible succès reproducteur. En effet, les mâles les plus agressifs approvisionnent moins leurs femelles, induisant une perturbation du comportement d'incubation

de celle-ci et une diminution du nombre de jeunes à l'envol (Duckworth, 2006). Le potentiel adaptatif des effets maternel prénatals dépendrait également de la cohérence entre l'environnement maternel et l'environnement postnatal du jeune. C'est notamment cette idée qui a permis de développer une théorie alternative à celle de la « *silver spoon* », celle du « *environmental matching* ». Cette théorie propose que les conditions de développement d'un individu façonnent son phénotype afin d'anticiper l'environnement postnatal qu'il sera susceptible de rencontrer, et d'améliorer *in fine* sa valeur adaptative. Pour que la valeur adaptative de cet individu soit optimale, il faudrait cependant que ses conditions environnementales postnatales correspondent à ses conditions de développement prénatales et donc aux conditions environnementales maternelles (Gluckman et al., 2005; Monaghan, 2008; Sheriff and Love, 2013). Par exemple, des mésanges charbonnières ont été exposées à des leurres et des cris de grives musiciennes (groupe témoin) ou d'éperviers d'Europe, un de leur prédateur (groupe expérimental). Les jeunes des femelles témoins (i.e. exposées au playback de grive) et ceux des femelles expérimentales (i.e. exposées au playback d'épervier) ont en partie été échangés afin de créer des conditions de « *match-mismatch* » entre les environnements pré- et postnatales. Il en résulte que la croissance des jeunes issus de femelles témoins n'est pas influencée par le manque de congruence des environnements pré- et postnatales. En revanche, les jeunes issus des femelles expérimentales et évoluant dans un environnement postnatal incohérent par rapport à l'environnement maternel, se développent moins bien, plus lentement et quittent le nid plus tard que les jeunes évoluant dans un environnement cohérent (Coslovsky and Richner, 2012). De plus, on peut supposer que l'hypothèse du « *environmental matching* » dépend également des capacités de dispersion individuelles des jeunes ou de leur espèce. L'influence des effets maternels prénatals pourrait ainsi être plus forte si les individus dispersent peu et restent dans un environnement très similaire à celui de leur mère.

Nos études en laboratoire, chez la caille japonaise, ont mis en évidence des changements phénotypiques chez les jeunes F1 suite aux expériences vécues par leurs mères lors de leur phase de ponte. Ces changements phénotypiques peuvent être discutés au regard de leurs effets adaptatifs potentiels. Nous avons notamment montré une altération de la croissance des jeunes F1 suite à un stress chronique des femelles F0 (**CHAPITRE III**). Si à première vue, cela pourrait témoigner d'un effet négatif du stress (e.g. diminution de la résistance aux variations de température, de la capacité à suivre la mère) et soutenir l'hypothèse de la « *silver spoon* », certaines études suggèrent qu'une plus petite masse corporelle pourrait se révéler bénéfique notamment pour échapper à la prédation (e.g. Coslovsky and Richner, 2011). De même, l'augmentation de la

réactivité émotionnelle observée chez les jeunes F1 issus de mères stressés (**CHAPITRE III**) pourrait induire une plus grande prudence des individus, une prise de risque limitée et donc de meilleures chances de survie en milieu naturel. Toutefois, cela pourrait également affecter dans un milieu changeant, leur capacité à trouver une nouvelle source de nourriture ou un partenaire sexuel notamment. L'amélioration de la réponse anti-prédateur observée chez les jeunes F1 issus de mères exposées à une complexification de leur environnement (**CHAPITRE IVA**), pourrait favoriser l'adaptation en nature des individus. Parallèlement, la diminution globale de leur réactivité émotionnelle pourrait favoriser leurs capacités d'exploration et d'exploitation du milieu mais aussi augmenter le risque qu'ils soient prédatés. En effet, il semble que les individus les plus explorateurs ou les plus téméraires sont plus sujets à la prédation et ont de moins bonnes chances de survie que les individus les plus timides (Smith and Blumstein, 2008). Nos résultats, comme beaucoup d'autres dans la littérature, peuvent ainsi soutenir l'hypothèse de la « *silver spoon* » mais n'excluent pas celle du « *environmental matching* ». Comme le suggère Drummond & Ancona, les expériences réalisées en captivité ne permettent pas toujours d'apprécier le potentiel adaptatif d'un phénotype (Drummond and Ancona, 2015). Ainsi, comprendre les liens existants entre influences maternelles prénatales et effets adaptatifs passe nécessairement par le développement d'études en contexte naturel, celles-ci intégrant la complexité des relations entre le phénotype individuel et les caractéristiques environnementales. L'expérience que nous avons réalisée chez la perdrix rouge allait dans ce sens mais notre travail n'a montré que peu d'effet de l'environnement parental sur la survie des individus en nature (**CHAPITRE IVB**). Ce résultat est peut-être en partie lié aux difficultés que nous avons rencontrées pour suivre nos oiseaux en milieu naturel. Comme nous l'évoquons dans le **CHAPITRE IVB**, nous avons réussi à estimer la survie en nature d'un nombre de perdrix relativement limité par rapport au nombre de perdrix réintroduites. Cela a donc certainement impacté nos conclusions quant aux potentiels effets adaptatifs de notre traitement.

Dans notre étude, comme dans de nombreuses autres, nous avons évalué le potentiel adaptatif des effets maternels prénatals en nous limitant presque exclusivement à des mesures immédiates et indirectes de l'adaptation qui n'estiment que partiellement la valeur adaptative d'un individu (e.g. mesures morphologiques et/ou physiologiques et/ou comportementales). Néanmoins, comme le souligne Marshall & Uller, déterminer le potentiel adaptatif des effets maternels prénatals mérite un examen rigoureux (Marshall and Uller, 2007). Cela nécessiterait selon eux i) la connaissance des conditions environnementales à l'origine de ces effets, ii) la connaissance des mécanismes impliqués dans les changements phénotypiques observés chez le jeune, et iii) une caractérisation fine et dans un contexte adéquat du phénotype de la mère (i.e. les effets maternels

prénataux ne devant pas constituer un coût pour la femelle) et du jeune à différentes étapes de son développement (Marshall and Uller, 2007; Sheriff and Love, 2013). Si nous avons bien caractérisé les deux premiers points évoqués, nous pourrions, pour réellement évaluer le potentiel adaptatif des effets maternels prénataux, exposer les jeunes à des conditions de vie plus ou moins proches des conditions de vie maternelles (e.g. Donelson et al., 2012; Shama and Wegner, 2014). Nous pourrions également caractériser le phénotype des jeunes à différentes périodes de leur cycle de développement (e.g. avant et après la maturité sexuelle, lors de la reproduction) voire même étudier leurs comportements reproducteurs et parentaux en milieu naturel ou semi-naturels afin d'évaluer leur capacité à produire et élever leurs propres jeunes.

4.2. Potentiel adaptatif des effets maternels prénataux multi- et trans-générationnels

Nos travaux ont mis en évidence les effets de l'environnement maternel sur le phénotype comportemental des jeunes F1. De façon intéressante, ces mêmes effets ont globalement été observés chez les jeunes F2 et F3 (**CHAPITRES III et IVA**). Plusieurs études ont déjà rapporté une telle persistance des effets maternels prénataux à travers les générations (rongeurs : Ward et al., 2013; Yeshurun et al., 2017 ; oiseaux : Guibert et al., 2013). Si nos résultats semblent cohérents avec la littérature, on aurait pu cependant imaginer que le maintien et l'ampleur des effets maternels multi- et trans-générationnels seraient dépendants de la stabilité de l'environnement à travers les générations. Dans le cas d'un environnement stable entre la génération F0 et les générations suivantes, on pourrait effectivement supposer du maintien, voire de l'accumulation du phénotype associé aux effets maternels prénataux (Le Roy et al., 2017; Schmidt et al., 2014). Par exemple, le comportement maternel *antepartum* de « *tail chasing* » est réduit chez les rates F2 dont les grand-mères F0 ont été exposées à un stress lors de leur gestation (i.e. contention et nage forcée). Lorsque ce stress est répété lors de la gestation des rates F1, ce comportement n'est plus du tout exprimé par les rates F2, témoignant des effets cumulatifs d'une réexposition au stress (Ward et al., 2013). Lorsque l'environnement de la femelle et celui de ses jeunes diffèrent, comme c'était le cas lors de notre étude, on pourrait imaginer voir apparaître au cours des générations, des ajustements phénotypiques ou des mécanismes de compensation autrement plus importants que ceux que nous avons observés (Crocker and Hunter, 2018; Mikulski and Pijanowska, 2017; Shama et al., 2016). Par exemple, les daphnies F1 arborent des casques protecteurs plus larges, lorsque leurs mères F0 sont exposées à des kairomones, mimant la présence d'un insecte prédateur. Lorsque ces daphnies F1 sont réexposées aux kairomones, le casque protecteur de leurs

descendants F2 est toujours aussi large. Cependant, lorsqu'elles n'y sont pas réexposées, le casque protecteur de leurs descendants F2 devient similaires à celles daphnies F2 témoins (Agrawal et al., 1999). Le fait que le phénotype de nos oiseaux soit conservé à travers les générations illustre donc la pertinence et la force de nos traitements et pose question quant au potentiel adaptatif des effets maternels à travers les générations.

Le potentiel adaptatif des effets maternels multi- et trans-générationnels semble dépendant de la capacité de la femelle F0 à prédire les conditions environnementales rencontrées par leurs petits-enfants F2 et leurs arrière-petits-enfants F3. Dans un environnement peu changeant et prévisible une telle prédiction semble possible et les effets maternels prénatals multi- et trans-générationnels pourraient se révéler adaptatifs. C'est notamment ce que suggère l'étude réalisée chez les daphnies évoqué précédemment. Les daphnies F2 dont les mères F1 et les grands-mères F0 évoluaient dans un environnement similaire (i.e. exposition aux kairomones) présentent un casque protecteur plus large ce qui leur confère un avantage adaptatif face aux prédateurs (Agrawal et al., 1999). Dans un environnement complexe et changeant, cependant, la capacité de la femelle à prédire l'environnement futur de ses petits-enfants F2 et ses arrière-petits-enfants F3, semble difficilement envisageable. Plusieurs auteurs affirment ainsi qu'au-delà de la première génération de descendants, le potentiel adaptatif des effets maternels serait particulièrement limité. En ce sens, Perez et Lehner suggèrent que peu d'effets trans-générationnels seraient réellement adaptatifs dans le sens où ils préparent les jeunes à leur environnement futur. Certaines espèces présentant un cycle de vie court en comparaison à de potentielles fluctuations environnementales feraient cependant exception (Perez and Lehner, 2019). Par exemple, chez un nématode (*Caenorhabditis elegans*), une privation de nourriture à la génération F0 permet la mise en place de mécanismes de résistance à la famine dans les générations F1 et F2 (Jobson et al., 2015). Si l'on considère nos deux modèles en conditions naturelles, il semble peu probable que les femelles soient capables de prédire l'environnement dans lequel se développeront leurs descendants F2 et F3 (cycle de reproduction annuelle). Toutefois à l'échelle de l'évolution, ces oiseaux ont un cycle de reproduction relativement court. On pourrait donc imaginer que la femelle anticipe des changements environnementaux potentiels, hypothèse d'autant plus intéressante si l'on considère les fluctuations environnementales majeures que l'on rencontre actuellement. Ainsi, il pourrait être plus adaptatif de prédire ces changements et de produire des jeunes adaptés, plutôt que de les subir et de produire des jeunes incapables de faire face aux pressions présentes dans ce nouvel environnement. Le potentiel adaptatif des effets maternels multi- ou trans-générationnels pourraient

être d'autant plus important chez les espèces qui comme nos oiseaux, ont des cycles de développement relativement courts et qui subissent de forte pression de sélection (e.g. prédation).

Au-delà de leur potentiel adaptatif, les effets maternels inter-, multi- et trans-générationnels sont des mécanismes qui semblent donc essentiels aux processus évolutifs et à l'établissement d'une certaine variabilité phénotypique entre les populations.

5. Mécanismes de transmission des effets maternels à travers les générations

La mise en évidence de l'influence des effets maternels à travers les générations pose également question quant aux mécanismes mis en jeu. Nos travaux ne cherchaient pas à prouver, expérimentalement, le rôle direct de certains de ces mécanismes sur les effets phénotypiques observés chez les jeunes. Cependant, nous avons exploré deux mécanismes potentiellement impliqués dans la médiation des effets maternels à travers les générations : la composition hormonale de l'œuf et certaines marques épigénétiques.

5.1. Composition hormonale de l'œuf

Les hormones maternelles présentes dans l'œuf et notamment les stéroïdes sexuels (e.g. testostérone, progestérone, androstenédione) sont considérées comme d'importants médiateurs des effets maternels prénatals (pour revue Groothuis et al., 2005b). Nous n'avons pu réaliser le dosage des stéroïdes vitellins lors de l'expérimentation complexe et variable, du fait de la pandémie de Covid-19 (**CHAPITRES IVA** et **IVB**). Nous avons cependant réussi à les doser lors de notre expérimentation stress maternel (**CHAPITRE III**). Nous avons mis en évidence un impact de la procédure de stress sur la composition hormonale des œufs produits par les femelle F0 mais également sur celle des œufs de leurs filles F1 et de leurs petites-filles F2. Ainsi, les œufs des femelles F0 stressées contiennent moins de testostérone, sont proportionnellement plus pauvres en androgènes (i.e. testostérone, androstenédione) et plus riches en progestérone que les œufs des femelles F0 témoins. Les œufs de leurs filles F1 contiennent moins d'androgènes alors que ceux de leurs petites-filles F2 en contiennent plus. Nous observons donc à chaque génération, une modulation de la composition hormonale des œufs parallèlement à une augmentation de la réactivité émotionnelle des jeunes. Il semble donc intéressant de discuter, d'une part, des

mécanismes impliqués dans la modulation de la composition hormonale de l'œuf puis, d'autre part, de l'influence de la composition hormonale du vitellus sur le phénotype des descendants.

5.1.1. Modulation de la composition hormonale de l'œuf

De nombreuses études ont déjà mis en évidence une modulation de la composition hormonale de l'œuf du fait des expériences, notamment négatives, vécues par la femelle (présence de prédateurs (mésange charbonnière : Coslovsky et al., 2012), qualité du milieu social (caille japonaise : Guibert et al., 2010 ; moineau : Mazuc et al., 2003), facteurs de stress divers et variés (caille japonaise : Guibert et al., 2011), ou encore densité du groupe (moineau : Schwabl, 1997 ; mouette rieuse : Groothuis et al., 2005a)). Si les mécanismes médiant cette modulation ne sont pas entièrement connus, l'interaction des axes physiologiques liés aux fonctions reproductives (i.e. axe HPG ou axe hypothalamo-pituitaire-gonadotrope) et au stress (i.e. axe HPA ou axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien) semble être impliquée. Les stéroïdes sexuels sont principalement produits au niveau de l'ovaire par les couches cellulaires du follicule entourant chaque oocyte en croissance (pour revue Groothuis and Schwabl, 2008; Sauveur, 1988). La production de ces stéroïdes est régulée par l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadotrope (HPG ; **Figure 1**) et notamment par une hormone hypothalamique (GnRH) et deux hormones hypophysaires, l'hormone lutéinisante (LH) et l'hormone folliculo-stimulante (FSH) (pour revue Groothuis and Schwabl, 2008). Une boucle de régulation hormonale va moduler la production des stéroïdes au sein du vitellus en croissance, et induire suite à un pic pré-ovulatoire de LH, la rupture du follicule ovarien. Si les stéroïdes ovariens s'accumulent dans le vitellus, ils vont également diffuser dans le système circulatoire général de la femelle (**Figure 1**). C'est pourquoi de nombreux travaux se sont intéressés aux relations pouvant exister entre les taux de testostérone vitelline et plasmatique. Cependant, ces relations apparaissent complexes puisque selon les études, les taux plasmatiques et vitellins peuvent être corrélés, (positivement (étourneau unicolore (*Sturnus unicolor*) : Müller et al., 2007 ; poule : Pfannkuche et al., 2011) ou négativement (moineau domestique : Mazuc et al., 2003 ; goéland brun : Verboven et al., 2003)) sous-tendant un mécanisme commun de régulation, ou, à l'inverse, non corrélés supposant deux processus indépendants (pour revue Groothuis and Schwabl, 2008). De plus, si des injections de testostérone plasmatique peuvent induire une augmentation des taux vitellins, l'utilisation d'hormones radioactives montre qu'une infime partie (0.1%) se retrouve dans l'œuf (Hackl et al., 2003), écartant l'importance d'un transfert sang-follicule dans les mécanismes mis en jeu. Une récente étude offre cependant de nouvelles et intéressantes perspectives pour la

compréhension des mécanismes impliqués. En effet, Okuliarova et ses collaborateurs ont exploré le lien entre le cycle ovulatoire de la femelle et le taux de testostérone présent dans ses œufs. Ils ont montré que la concentration de testostérone dans le vitellus était positivement corrélée au taux du pic pré-ovulatoire de LH (Okuliarova et al., 2018), pouvant lui-même être influencé par les niveaux de testostérone produits par les follicules (**Figure 1** ; (Rangel et al., 2007)). En mettant en évidence de nouveaux facteurs d'influences, cette étude montre une nouvelle fois la complexité des processus impliqués dans la modulation de la composition hormonale des œufs mais aussi l'importance de se placer à l'échelle du cycle ovulatoire pour comprendre les mécanismes mis en jeu.

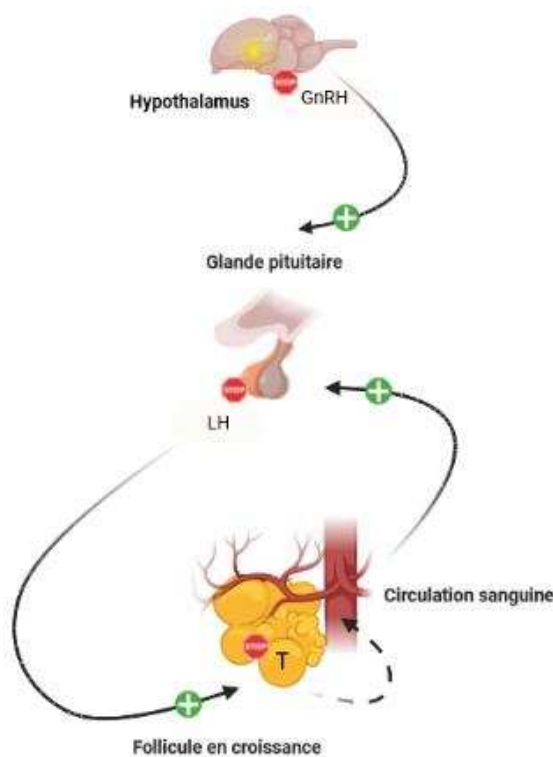


Figure 1 | Voies de régulation de la composition hormonale de l'œuf. La production des stéroïdes vitellins est régulée par l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique (HPG) et notamment par une hormone hypothalamique, la gonadolibérine (GnRH). Sous l'effet de la GnRH, la glande pituitaire va notamment libérer l'hormone lutéinisante (LH). Celle-ci va stimuler dans le follicule en croissance, la synthèse de testostérone notamment. Une partie de la testostérone va diffuser dans la circulation sanguine et stimuler la libération de la LH par la glande pituitaire. Cette boucle de rétroaction positive va permettre l'accumulation des stéroïdes sexuels dans le vitellus (follicule). Si elle n'est pas représentée sur ce schéma, la progestérone produite dans le follicule en croissance va également stimuler la libération de la GnRH par l'hypothalamus. Les icônes « stop » représentés sur ce schéma illustrent les différentes voies d'action des glucocorticoïdes (i.e. axe HPA) sur le fonctionnement de l'axe HPG. Illustration créée avec Biorender.com.

Même si les processus d'accumulation des stéroïdes dans l'œuf restent encore méconnus, l'axe HPG y contribue de manière importante. Ainsi une modification de son fonctionnement pourrait influencer la composition hormonale de l'œuf. Plusieurs études rapportent que le fonctionnement de l'axe HPG peut être influencé par les effets du stress (Chand and Lovejoy, 2011; Rivier and Rivest, 1991; Schmidt et al., 2014). Il existe en effet, des interactions à plusieurs niveaux entre l'axe HPA et l'axe HPG (**Figure 1**). Les glucocorticoïdes comme la corticostérone inhibent la synthèse et la

libération de la GNRH, la sécrétion de la LH ainsi que la stéroïdogénèse gonadique (pour revue Brunton, 2013). L'axe HPA influence donc toute la cascade de production des stéroïdes sexuels. On peut donc supposer que les modulations de la composition hormonale du vitellus que nous avons observé dans les œufs des femelles F0 stressées, résulte, en interaction avec l'axe HPA (Brunton, 2013; Green and McCormick, 2016; Henriksen et al., 2011a), d'une modification du fonctionnement de l'axe HPG.

Si la modulation de la composition hormonale des œufs des femelles F0 pourrait être directement liée aux effets du stress, celle des œufs des femelles F1 et F2 pourrait être liée au milieu hormonal dans lequel elles se sont elles-mêmes développées. En effet, l'axe HPG de l'embryon pourrait être soumis aux influences des stéroïdes sexuels d'origine maternelle, ce qui affecterait sa propre production d'hormones. En ce sens, l'injection *in ovo* de doses physiologiques de testostérone et/ou d'androstènedione, provoque des modulations des niveaux de testostérone plasmatique chez les poussins (étourneau unicolore : Müller et al., 2007 ; poule : Pfannkuche et al., 2011) pouvant à long-terme influencer le dépôt de testostérone par la femelle dans ses œufs (étourneau unicolore : López-Rull and Gil, 2009).

Comme nous l'évoquions précédemment, nous avons observé dans le **CHAPITRE III**, des variations de la composition hormonale de l'œuf à chaque génération, renforçant ainsi l'idée que les hormones présentes *in ovo* jouent un rôle essentiel dans la transmission des effets maternels à travers les générations. Si nous pouvions imaginer des variations similaires entre les générations F0, F1 et F2, nos résultats montrent que ce n'est pas le cas. Ils suggèrent plutôt une relation complexe entre la femelle, les hormones présentes *in ovo* et leur évolution au cours des générations. Les études multi- ou trans-générationnelles sont encore rares chez l'oiseau, mais de tels effets ont déjà été observés. Dans une autre série d'expériences chez la caille japonaise, les œufs des femelles F0 exposées à un stress chronique tendaient à être plus riches en testostérone que les œufs des femelles F0 témoins. La même chose était observée pour les œufs de leurs filles F1. Néanmoins, contrairement aux œufs des femelles F0, ils contenaient également plus de progestérone (Guibert et al., 2011, 2013).

5.1.2. Modulation du phénotype des descendants

Les effets de la composition hormonale de l'œuf sur le phénotype des descendants sont largement démontrés dans la littérature (pour revue Groothuis and Schwabl, 2008; Groothuis et

al., 2005b). Dans notre étude, nous avons montré que le stress maternel (**CHAPITRE III**) module la composition hormonale des œufs des femelles F0, F1 et F2 et augmente la réactivité émotionnelle des jeunes F1, F2 et F3. Les processus impliqués dans les effets de la composition hormonale de l'œuf sur le développement phénotypique du jeune sont encore méconnus. Néanmoins, on sait que dès les premiers jours d'incubation, l'embryon dispose de récepteurs aux androgènes au niveau du cerveau et des membranes extra-embryonnaire. Il est donc capable d'assimiler les hormones maternelles très rapidement, celles-ci pouvant alors influencer son développement (pour revue Groothuis et al., 2019). Malgré les variations de la composition hormonale des œufs observées entre nos femelles F0, F1 et F2, le phénotype comportemental de leurs jeunes apparaît similaire. Ce résultat pourrait paraître contradictoire et remettre en question le rôle des hormones présentes *in ovo* dans la médiation des effets maternels prénatals. Cependant, il n'est pas rare d'observer de telles divergences. Une augmentation ou une diminution des concentrations en testostérone *in ovo* peuvent ainsi être associées à une réactivité émotionnelle plus élevée (Bertin et al., 2008; Guibert et al., 2010; Okuliarová et al., 2007) ou au contraire plus faible chez des jeunes de caille japonaise (Daisley et al., 2005; Le Bot, 2015). Plusieurs facteurs pourraient expliquer ces résultats :

- Quelques études rapportent notamment, des relations dose-réponse pour une hormone donnée (merle bleu de l'Est Navara et al., 2005; poule : Norton and Wira, 1977). Par exemple, chez l'étourneau unicolore, des injections de testostérone *in ovo* augmentent la masse corporelle des poussins à l'éclosion et la croissance de leur squelette. Ces effets semblent suivre une courbe en U inversée avec les effets les plus importants observés pour des doses intermédiaires (Muriel et al., 2015). Dans notre étude, la relation dose-réponse suivrait plutôt une courbe en forme de U. Les concentrations en stéroïdes sexuels *in ovo* les plus faibles ou les plus élevées, contrairement aux doses intermédiaires, augmenteraient la réactivité émotionnelle des jeunes. Cela pourrait expliquer que la diminution et l'augmentation des concentrations en testostérone et/ou androstènedione observée respectivement, dans les œufs des femelles stressées F0/F1 et des femelles F2 soient, de la même manière, associées à une augmentation de la réactivité émotionnelle de nos oiseaux.

- Il est important de considérer l'œuf comme un environnement complexe dont chaque constituant (e.g. coquille, albumen, vitellus) joue un rôle fondamental dans le développement de l'embryon (Anton, 2007; Sauveur, 1988). Des interactions entre divers composants hormonaux et/ou non hormonaux contenus dans le vitellus notamment, peuvent également influencer les effets du contenu hormonal de l'œuf sur le phénotype comportemental du jeune. Si nous nous sommes particulièrement concentrés sur les stéroïdes sexuels, l'œuf est cependant composé de nombreux autres constituants (e.g. immunoglobulines, (Johnson, 2015), corticostérone (Almasi et

al., 2012; Love et al., 2008), hormones thyroïdiennes (Ruuskanen and Hsu, 2018), vitamines et caroténoïdes (e.g. xanthophylles, zéaxanthine, lutéine (Sauveur, 1988)) pouvant jouer un rôle fondamental dans le développement phénotypique du jeune. Bien que les résultats ne soient pas toujours similaires entre les espèces, des niveaux élevés de corticostérone *in ovo* par exemple, affectent différents traits comportementaux tels que la compétitivité, les comportements de quémante, de peur ainsi que les comportements d'exploration (goéland leucopnée : Possenti et al., 2018; Rubolini et al., 2005 ; poule : Janczak et al., 2006 ; pour revue Henriksen et al., 2011b). Plus récemment, des injections *in ovo* d'hormones thyroïdiennes ont permis d'améliorer le succès d'éclosion des jeunes cailles japonaises (Sarraude et al., 2020) et de moduler la croissance des jeunes pigeons bizet (*Columbia livia* ; Hsu et al., 2017). Outre leurs effets indépendants, les constituants de l'œuf semblent également interagir et influencer de concert le phénotype du jeune (pour revue Groothuis et al., 2020, 2019; Hsu, 2016). On observe, par exemple, une réduction de la masse des poussins à l'éclosion suite à des injections de testostérone ou de caroténoïdes *in ovo*. Cependant, lors de l'injection de ces deux composés en simultané, la masse des poussins à l'éclosion n'est pas affectée. Ainsi, l'interaction des caroténoïdes et de la testostérone inhibent les effets potentiellement néfastes de ces deux composés pris indépendamment (Giraudeau et al., 2017). Comme le souligne Hsu dans sa thèse, il est ainsi possible que les différents constituants de l'œuf et, plus particulièrement, du vitellus aient des effets synergiques, antagonistes, permissifs ou réversifs (Hsu, 2016). Il semble donc fondamental de considérer l'ensemble des composés et leur interaction pour comprendre l'influence réelle de la composition hormonale des œufs sur le phénotype des individus.

- De plus, contrairement à ce qui a longtemps été imaginé, l'embryon ne répondrait pas seulement aux hormones d'origine maternelle de manière passive, mais y répondrait plutôt de manière active, modulant ainsi leurs effets sur son propre développement (pour revue Groothuis et al., 2020, 2019). Comme chez de nombreuses espèces, les embryons de pigeon bizet sont naturellement exposés à différentes quantités de stéroïdes maternels dans l'œuf en fonction de leur ordre de ponte. La métabolisation de ces hormones dans le vitellus se déroule dès la première semaine suivant la fécondation (Kumar et al., 2019) et il a été montré qu'elles diffèrent selon l'ordre de ponte des œufs. Les embryons du deuxième œuf pondu métabolisent beaucoup plus les androgènes contenus dans le vitellus que les embryons du premier œuf pondu (Kumar et al., 2018). Cela signifie donc que l'embryon est capable de moduler les effets potentiels des hormones maternelles auxquelles il est exposé.

Au regard de ces différents éléments, il pourrait donc être intéressant de considérer d'autres composants de l'œuf, soit indépendamment, soit en interaction avec les stéroïdes sexuels que nous avons déjà étudiés. Nous pourrions par exemple imaginer réaliser *in ovo* des injections croisées de testostérone et de corticostérone (hormone particulièrement intéressante du fait de l'interaction des axes HPA et HPG) et d'en évaluer les effets sur le phénotype du jeune. Afin d'observer l'influence des hormones maternelles à travers les générations, nous pourrions également réaliser des injections de testostérone *in ovo* à des femelles F0 et de caractériser le profil hormonal des œufs de leurs descendantes. Cela permettrait notamment de mieux comprendre le rôle de la composition hormonale de l'œuf dans la transmission des effets maternels prénataux à travers les générations.

5.2. Les mécanismes épigénétiques

L'implication des mécanismes épigénétiques est aujourd'hui reconnue dans de nombreux processus et est largement suggérée dans la médiation des effets maternels prénataux. Un stress parental lumineux par exemple induit des modifications de l'expression génique dans l'hypothalamus de jeunes poulets qui présentent en parallèle des altérations de leurs capacités d'apprentissage et de mémorisation (Lindqvist et al., 2007). Du fait de la pandémie de Covid-19, nous n'avons pu apprécier comme cela était initialement prévu, l'implication de tels mécanismes dans la médiation des effets maternels observés dans le **CHAPITRE IVA**. Dans le **CHAPITRE III** cependant, nous avons évalué dans des structures spécifiques du cerveau des jeunes femelles F1 et F3, les effets du stress maternel sur l'expression de deux marques post-traductionnelles des histones : H3K27me3 et H3K4me2 (**CHAPITRE III**). Si nous n'avons observé aucune variation pour H3K4me2, nous avons montré que la densité de cellules exprimant H3K27me3 était plus élevée dans l'hippocampe, le PVN et le noyau dorsal de l'amygdale des femelles F1 issues de mères stressées. Il est donc possible que la surexpression d'H3K27me3 ait médié les effets du stress maternel prénatal que nous avons observé sur le comportement des jeunes F1. Nous n'avons pas la preuve que la surexpression d'H3K27me3 soit directement impliquée dans les comportements exprimés par nos jeunes F1. Toutefois nous l'avons observé dans des structures spécifiques du cerveau (i.e. hippocampe, noyau dorsal de l'amygdale, PVN) impliquées dans l'expression des réponses émotionnelles chez les vertébrés (Perez et al., 2020; Revest et al., 2009; Saint-Dizier et al., 2009) ce qui correspond étonnement bien à l'augmentation de la réactivité émotionnelle constatée chez les jeunes F1 issus de mères stressées. H3K27me3 est généralement associé à la formation

d'hétérochromatine, à la répression de la transcription et donc à une inhibition de l'expression du gène qui lui est associé (Kouzarides, 2007). Afin de mieux comprendre les mécanismes associés aux effets du stress maternel prénatal et d'identifier l'ensemble des phénomènes associés à la surexpression d'H3K27me3, il pourrait donc se révéler intéressant d'identifier les gènes ayant été impactés. Nos résultats mettant en évidence des modulations de la réactivité émotionnelle des jeunes, on pourrait notamment supposer des effets de la surexpression d'H3K27me3 sur des gènes régulant le fonctionnement de l'axe HPA (pour revue Li and Leatherland, 2013).

Comme nous le suggérons en introduction, le stress maternel a pu moduler l'expression d'H3K27me3 via au moins deux mécanismes. Le premier mécanisme suppose que certaines marques épigénétiques sont transférées aux générations suivantes, grâce à leur incorporation dans la lignée germinale. Après la fécondation et/ou lors de la migration des cellules germinales primordiales, des changements épigénétiques majeurs interviennent au niveau du génome. Le génome subit notamment deux vagues de déméthylation puis de reméthylation importante (près de 80% du génome est déméthylé après la fécondation ; lu dans Burdge et al., 2011). Malgré cela, certaines marques épigénétiques seraient préservées et transmises à travers les générations, perpétuant ainsi le phénotype qui leur est associé (pour revue Crews, 2008; Franklin and Mansuy, 2010; Youngson and Whitelaw, 2008). Le second mécanisme suppose que les marques épigénétiques et le phénotype qui leur est associé sont induits *de novo* à chaque génération (Meaney, 2001). L'existence d'une telle transmission n'a été que peu démontrée à l'échelle des effets maternels prénatals (Burdge et al., 2011). On pourrait cependant supposer que la surexpression d'H3K27me3 observée chez les femelles F1 soit dépendante de l'environnement prénatal qu'elles ont expérimenté et donc de la composition hormonale de l'œuf. Cette hypothèse est renforcée par le fait qu'au cours du développement, il existe une certaine synchronisation entre le système endocrinien et la programmation épigénétique du génome (pour revue Li and Leatherland, 2013; Zhang and Ho, 2011). D'une part, la programmation épigénétique est un mécanisme déterminant dans l'expression des gènes associés aux différents acteurs du système endocrinien (e.g. hormones, récepteurs hormonaux). D'autre part, les hormones régissent certains aspects de la programmation épigénétique (e.g. composants endocriniens et non endocriniens). Si nos résultats ne nous permettent pas de confirmer ou d'infirmer l'existence d'une transmission de nos marques épigénétiques via la lignée germinale, l'existence d'une transmission *de novo in ovo* semble donc particulièrement probable. Ainsi, la surexpression d'H3K27me3 observée chez nos femelles F1 pourrait être liée aux concentrations en testostérone retrouvées dans les œufs des femelles F0. Cette hypothèse est également suggérée par Bentz et ses collaborateurs qui ont

injectés de la testostérone dans des œufs de diamants mandarins. Ils ont montré qu'en comparaison aux mâles témoins, plus d'une centaine de gènes étaient différemment méthylés dans l'hypothalamus des mâles exposés *in ovo* à la testostérone. Il pourrait être intéressant d'envisager un scénario similaire dans notre étude et d'observer les effets d'injections de testostérone *in ovo* sur l'expression d'H3K27me3.

Étonnement, nous n'avons pas observé de surexpression d'H3K27me3 dans le cerveau des femelles F3. Ainsi, cette marque épigénétique pourrait être impliquée uniquement dans les effets inter-générationnels du stress maternel prénatal et non dans les effets trans-générationnels. Cette absence de différence entre nos jeunes F3 témoins et expérimentaux pourrait être liée au faible nombre d'individus que nous avons prélevés et de cerveaux que nous avons analysés. Toutefois, il est aussi possible que les marques épigénétiques de la génération F1 aient, du fait de son exposition directe au stress maternel, été impacté de façon plus importante que celles de la génération F3 qui elle, n'a été exposée qu'indirectement. C'est aussi ce que propose une étude chez le rat suite à des injections de vinclozoline à des femelles gestantes F0. Les auteurs ont effectivement identifié dans le sperme des mâles F1, 290 régions de l'ADN différemment méthylées (DMRs) entre les individus témoins et les expérimentaux. Ce nombre se trouve être bien supérieur dans le sperme des mâles de la génération F3 où 981 DMRs ont été identifiés (Beck et al., 2017). Les auteurs suggèrent que compte tenu de la différence entre une exposition directe à la vinclozoline de la lignée germinale en F1 et sa reprogrammation épigénétique trans-générationnelle en F3, il n'est pas surprenant que des différences soient observés (Beck et al., 2017).

Les marques épigénétiques que nous avons étudiées ne semblent pas impliquées dans la médiation des effets trans-générationnels du stress maternel prénatal. Dans notre étude cependant, nous nous sommes concentrés sur des marques épigénétiques très spécifiques car nous savions qu'elles pouvaient être influencées par le stress prénatal (Hunter et al., 2009). Il n'est donc pas impossible que d'autres mécanismes épigénétiques soient mis en jeu dans la médiation des effets du stress maternel prénatal que nous avons observés (Feng and Chen, 2015). Cela inclue notamment d'autres modifications post-traductionnelles des histones, des miARN (Rodgers et al., 2013; Yao et al., 2014) ou encore la méthylation de l'ADN (Anway et al., 2005; Braunschweig et al., 2012; Burdge et al., 2011). On sait notamment que la méthylation de l'ADN est un processus dynamique qui s'établit et est régulé au cours du développement (Klose and Bird, 2006). Elle peut influencer de façon permanente la structure de la chromatine et donc l'expression des gènes, et peut être transmise d'une génération à l'autre (Anway et al., 2005; Klose and Bird, 2006). Par exemple chez la souris, des séparations maternelles chroniques et imprévisibles provoquent

l'hyperméthylation et l'hypométhylation de plusieurs gènes candidats dans le cerveau des jeunes femelles F2. Ces changements se révèlent fonctionnels puisqu'ils sont associés à une diminution de l'expression des ARNm de ces mêmes gènes (Franklin et al., 2010). Outre les marques épigénétiques très spécifiques que nous avons ciblées, nous avons également concentré notre analyse sur des structures cérébrales particulières. Les marques épigénétiques apparaissent cependant tissus-spécifiques voire même cellules-spécifiques (Naidoo et al., 2018; Widman et al., 2014).

Si nous avons considéré la composition hormonale de l'œuf et les modifications épigénétiques comme deux mécanismes indépendants, il semble évident qu'ils peuvent interagir et médier de concert, les effets du stress maternel prénatal. Cette hypothèse est largement suggérée par les études qui rapportent la relation étroite existante entre système endocrinien et programmation épigénétique (pour revue Li and Leatherland, 2013; Zhang and Ho, 2011)

6. Pertinence pour la conservation de la perdrix rouge

L'un des principaux objectifs de notre étude était d'améliorer la survie en nature d'une espèce de gibier d'élevage, la perdrix rouge. Nous avons pour cela complexifier l'environnement prénatal et postnatal des perdrix et caractériser leurs comportements en élevage et leur survie en nature. Dans les paragraphes suivants, nous discuterons de plusieurs points relatifs à cette étude.

6.1. Réflexion sur nos protocoles de complexification

6.1.1. Protocole prénatal et effets paternels

L'environnement postnatal est considéré comme un facteur clé dans la réussite des programmes de réintroduction impliquant des animaux nés et élevés en captivité. De nombreuses études ont ainsi montré que l'exposition à des prédateurs, la présence de parents, la mise à disposition d'un régime alimentaire plus naturel ou la complexification spatiale du milieu d'élevage améliorent, du moins à court terme la survie en nature des animaux élevés en captivité (pour revue Madden et al., 2018, 2020). Malgré son potentiel adaptatif, l'environnement prénatal et notamment les effets parentaux prénatals sont en revanche rarement considérés (Hombberger, 2014). Si la complexification de l'environnement parental ne nous a *a priori* par permis d'améliorer la survie en nature des perdrix F1 et F2, cela a cependant modulé leur réactivité émotionnelle et notamment leur réponse anti-prédateur. Outre son effet sur le comportement des descendants,

nous avons également montré que la complexification de l'environnement influençait directement le phénotype comportemental des cailles (**CHAPITRE IVA**) et des perdrix F0 (**CHAPITRE IVB**). Nous avons effectivement observé, en à peine un mois de traitement une diminution de la réactivité émotionnelle et plus précisément de la néophobie de nos oiseaux. Dans le contexte sociétal actuel, les professionnels de l'élevage de gibier sont en train de repenser activement leur manière d'élever. L'ensemble de ces résultats souligne les conséquences fondamentales de l'environnement des couples reproducteurs (e.g. bien-être, influence inter- et multi-générationnelle) et offre ainsi à la profession de nouvelles perspectives quant à l'amélioration des conditions d'élevage de leurs animaux.

Dans notre étude chez la perdrix rouge, nous avons évalué le potentiel adaptatif des effets maternels prénatals en complexifiant l'environnement de la femelle pondeuse. Toutefois, les perdrix rouges étant maintenues en couple en élevage, mâles et femelles ont été exposés à cette complexification. Il est donc probable que les effets phénotypiques observés chez les perdrix F1 et F2, PRE-POST et/ou PRE-T (**CHAPITRE IVB**), soient dépendants à la fois d'effets prénatals maternels et paternels. En comparaison aux effets maternels, les effets paternels (pré- et postnatals) ont reçu une attention limitée, sûrement parce que les études s'intéressant aux effets parentaux se sont d'abord focalisées sur les mammifères où l'on observe du soin paternel, chez seulement 5 à 10% des espèces (lu dans Braun and Champagne, 2014). Récemment, des études ont néanmoins mis en évidence l'influence non génétique du père sur le développement phénotypique du jeune (Braun and Champagne, 2014). Au niveau prénatal, deux voies d'influence peuvent être distinguées. La première est une voie d'influence directe dépendante des caractéristiques et de l'environnement paternel. Un stress pré- ou péri-conceptionnel du père (rat : Harker et al., 2018; Mychasiuk et al., 2013; van Steenwyk et al., 2018), un enrichissement de son milieu (rat : Mychasiuk et al., 2012), sa consommation d'alcool (rat : Ledig et al., 1998), son régime alimentaire ou encore les drogues et toxines auxquelles il peut être exposé sont autant de facteurs identifiés, capables de façonner le développement phénotypique du jeune, et ce, à travers les générations (pour revue Braun and Champagne, 2014). Par exemple, des souris mâles F1 exposés à des séparations précoces et régulières d'avec leur mère, présentent des comportements de type anxieux et une altération de leurs compétences sociales à l'âge adulte, traits comportementaux qui sont transmis à leurs descendants F2 et F3 (Franklin et al., 2010, 2011). Ces effets seraient déterminés par des facteurs épigénétiques, puisque l'on observe dans le sperme de ces mâles des variations de la méthylation ADN de plusieurs gènes (Franklin et al., 2010).

La seconde voie d'influence des effets paternels prénatals est indirecte et dépendante de la relation qu'entretient le mâle avec la femelle. Des études ont en effet montré que l'attractivité physique du mâle (mésange bleue : Kingma et al., 2009 ; paon : Loyau et al., 2007 ; diamant mandarin : Gil et al., 1999), la qualité de son chant (canari : Gil et al., 2004) ou son statut hiérarchique (perdreix grise : Grenna et al., 2014) peuvent influencer le dépôt par la femelle, d'hormones dans ses œufs. Par exemple, chez la perdrix grise, les femelles appariées avec des mâles dominants pondent des œufs plus riches en testostérone que les femelles appariées avec des mâles subordonnés (Grenna et al., 2014). Les modulations de la composition hormonale des œufs induites par les effets paternels pourraient alors, comme nous l'avons vu précédemment, influencer le phénotype comportemental des jeunes.

Considérer les effets paternels notamment prénatals dans les programmes de conservation semble donc essentiel et cohérent ; notamment chez la perdrix rouge où le lien entre les partenaires en milieu naturel et en élevage est important et où les comportements paternels sont particulièrement développés (i.e. construction du nid, couvaison, élevage des jeunes ; **CHAPITRE II**).

6.1.2. Protocole postnatal

Que ce soit à la génération F1 ou à la génération F2, nos résultats montrent des effets de notre traitement postnatal, seul ou en interaction avec le traitement prénatal, sur le phénotype comportemental de nos perdrix (e.g. modulation de la réactivité émotionnelle, de la réponse anti-prédateur). Malgré ces changements comportementaux, nous n'avons pas montré de différences majeures quant à la survie de nos oiseaux en milieu naturel (exception faite de la survie des perdrix F1 à la chasse (**CHAPITRE IVB**)). Comme dans la majorité des programmes de repeuplement ou de renforcement des populations, la prédation semble être la cause de principale de mortalité de nos perdrix en nature (pour revue Madden et al., 2018; Moseby et al., 2011). Ce résultat pose donc question quant à la qualité de l'entraînement anti-prédateur auxquels elles ont été exposés. Une réponse anti-prédateur adaptée implique la détection spécifique d'un prédateur et l'expression d'une réponse appropriée. Chez la perdrix rouge, une réponse appropriée implique des comportements de vigilance et de fuite face à un prédateur terrestre et un comportement d'immobilité face à un prédateur aérien (Binazzi et al., 2011). Dans notre étude, nous avons seulement évalué la réponse anti-prédateur de nos perdrix suite à la diffusion d'un cri de rapace. Comme la majorité de nos perdrix ont été prédatées par des prédateurs terrestres, il serait

intéressant de comparer leur réaction face à des prédateurs différents. Au regard de la prédation importante de nos perdrix par des prédateurs terrestres, il serait également intéressant de les exposer en élevage à des prédateurs peut-être plus adaptés comme cela a déjà été réalisé avec des renards (outarde houbara : (Heezik et al., 1999) ou des furets (chien de prairie à queue noire : Shier and Owings, 2006). Outre la détection des prédateurs et l'expression d'une réponse appropriée, un comportement anti-prédateur adéquat implique également l'évitement des secteurs où les prédateurs sont présents. Dowell a notamment montré que les perdrix grises sauvages passent plus de temps à l'intérieur des champs alors que les perdrix grises nées en captivité, passent plus de temps au niveau de leurs bordures. Ce comportement influence négativement leur survie puisque les prédateurs nocturnes notamment, se déplacent principalement au niveau de ces bordures (Dowell, 1990). Cette étude souligne non seulement l'intérêt de caractériser l'ensemble des dimensions de la réponse anti-prédateur d'un individu (e.g. détection, réponse mais également utilisation de l'habitat) mais également le fait de l'évaluer en milieu naturel. Il est en effet possible que l'expression de comportement anti-prédateur en élevage ne traduise pas l'expression de comportements anti-prédateur en nature. Les conditions de maintien des animaux en captivité ne leur permettent peut-être pas d'exprimer un comportement adapté (Griffin et al., 2000).

Les jeunes galliformes sont capables d'exprimer des comportements anti-prédateurs même lorsqu'ils sont élevés sans leurs parents. Toutefois l'expression de ces comportements est façonnée par les parents qui apprennent à leurs jeunes à réagir à un prédateur de façon spécifique. Plusieurs études ont mis en évidence le fait que des oiseaux élevés par leurs parents expriment de meilleurs comportements anti-prédateur (bernaches nées : Black, 1995; faisan de Colchide : Santilli and Bagliacca, 2019). Toutefois, l'une d'entre elle a montré un certain degré de variation de la réponse anti-prédateur des couvées élevées par des parents différents. Ce résultat suggère ainsi que la qualité des parents est déterminante à l'expression d'un comportement anti-prédateur adapté et donc à la survie en nature des individus (Anttila et al. 1995 lu dans Beani and Dessí-Fulgheri, 1998). Si dans notre étude, nous avons pris soin de sélectionner des couples de perdrix tuteurs exprimant des comportements anti-prédateur appropriés, nous n'avons pas pris en compte leur comportement en élevage en présence des jeunes. Il serait donc intéressant de caractériser finement le phénotype des couples tuteurs et notamment leur réaction lors de l'exposition des jeunes aux stimulations d'attaques de prédateurs ; celle-ci pouvant effectivement être une composante critique de la réussite de nos traitements et de la survie en nature des perdrix. Afin d'optimiser l'influence des animaux tuteurs, certaines études emploient d'ailleurs des individus sauvages (perdrix rouge : Gaudioso et al., 2011a).

Un autre point qu'il semble important d'évoquer concerne la répétition de notre traitement postnatal mais également prénatal sur plusieurs générations. Les perdrix rouges que nous avons étudiées sont effectivement maintenues en captivité depuis plus d'une dizaine de générations. Leur domestication a induit, intentionnellement ou non, la sélection de traits physiologiques ou comportementaux particuliers les rendant adaptées à la captivité mais potentiellement mal adaptées au milieu naturel. La captivité semble ainsi avoir contre-sélectionné certains traits comportementaux fondamentaux à l'adaptation d'un individu en nature. C'est notamment le cas des comportements anti-prédateur qui semblent de plus en plus altérés au fil des générations passées en captivité. Une étude a par exemple évalué les comportements anti-prédateur de souris des dunes maintenues en captivité depuis 0 (i.e. individus sauvages), 2, 14 ou 35 générations. Les résultats montrent que plus les souris sont maintenues en captivité, moins elles sont susceptibles de se mettre à l'abri en présence d'un prédateur. De plus, la variabilité de la réponse anti-prédateur des souris augmentent avec le nombre de générations en captivité (McPhee, 2003). Améliorer la survie en nature et l'expression de comportements adaptatifs chez nos perdrix qui sont maintenues en captivité depuis de nombreuses générations pourraient donc nécessiter une réexposition régulière à nos traitements.

6.2. Personnalité, adaptation et survie en milieu naturel

Si l'expression d'une certaine flexibilité comportementale peut être considérée comme un avantage adaptatif, on observe parfois au sein d'une même espèce ou d'une même population, des différences comportementales individuelles invariables (pour revue Bergmüller, 2010). La relative constance à travers le temps et les situations de ces tendances comportementales individuelles est défini sous le terme de personnalité (pour revue Réale et al., 2007). Cinq traits de personnalité, ont été identifiés par Réale et ses collaborateurs (pour revue Réale et al., 2007) : l'agressivité (i.e. réaction agonistique d'un individu envers un congénère), la sociabilité (i.e. réaction d'un individu à la présence ou à l'absence d'un congénère), la témérité (i.e. réaction d'un individu à une situation risquée), l'exploration (i.e. réaction d'un individu face à une nouvelle situation) et l'activité (i.e. niveau général d'activité d'un individu). En milieu naturel, la personnalité d'un individu semble affecter sa propension à disperser (mésange charbonnière : Dingemanse et al., 2003), son succès reproducteur (mésange charbonnière : Both et al., 2005), sa réponse au stress (mésange charbonnière : Carere and van Oers, 2004), la sélection de son habitat (accenteur mouchet (*Prunella modularis*) : Holtmann et al., 2017) ou encore sa survie (guppy : Smith and Blumstein, 2010 ; écureuil roux : Boon et al., 2008 ; mésange charbonnière : Dingemanse et al., 2004 ; cerf élaphe

(*Cervus elaphus*) : Ciuti et al., 2012 ; faisan de Colchide : Madden and Whiteside, 2014 ; perdrix grise : Homberger et al., 2021). De manière générale, il semble que les individus qualifiés d'explorateurs ou de téméraires ont un meilleur succès reproducteur mais une durée de vie plus courte que les individus qualifiés de timides (Smith and Blumstein, 2008). Par exemple, les poissons qui présentent une croissance rapide prennent plus de risques pour se nourrir. Ils sont plus téméraires, plus actifs et sont plus susceptibles d'être prélevés à la pêche (Biro and Post, 2008). Les renards véloces (*Vulpes velox*) qui présentent les taux de survie les plus limités en milieu naturel sont ceux qui en captivité, sont qualifiés de plus explorateurs et de plus téméraires car quittant leur tanière plus rapidement en présence d'un nouveau stimulus et s'approchant plus près de celui-ci (Bremner-Harrison et al., 2004). Plusieurs études suggèrent au contraire que les individus les plus téméraires ou les plus proactifs, explorant rapidement leur environnement, présentent une meilleure probabilité de survie (perdrix grises : Homberger et al., 2021) et de meilleures capacités à fuir face aux prédateurs et à réutiliser un habitat rapidement après un dérangement (mésange charbonnière : van Oers et al., 2004; pour revue Sih and Del Giudice, 2012). Ces résultats contradictoires suggèrent ainsi l'existence d'une relation complexe entre personnalité et contexte environnemental (Coleman and Wilson, 1998).

Dans notre étude chez la perdrix rouge, nous ne sommes pas allés jusqu'à caractériser la personnalité de nos oiseaux. Nous avons cependant montré des variations globales de leur réactivité émotionnelle et de leur réponse anti-prédateur du fait de leurs environnements pré- et postnataux (**CHAPITRE IVB**). S'il est difficile d'établir une relation précise et directe entre le comportement de nos oiseaux en élevage et leur prélèvement en nature, il est intéressant de noter que, les perdrix F1 exposées au traitement postnatal et prélevées plus tard à la chasse, font parties de celles qui lors du test d'émergence, pourraient être qualifiées de moins téméraires car pénétrant moins sous l'auvent. Au regard des études présentées précédemment, il serait donc intéressant d'aller plus loin et de caractériser individuellement, dans différents contextes et à travers le temps, l'influence des environnements pré- et postnatal sur la personnalité de nos oiseaux puis de faire le lien entre leur personnalité et leur survie en milieu naturel. Cette remarque pourrait d'ailleurs s'appliquer à l'ensemble de notre étude puisque nous n'avons pas réévalué le comportement de nos oiseaux pour savoir si les effets que nous avons observés étaient persistants et pouvaient donc être considérés comme des traits de personnalité.

Si la personnalité des individus devrait être plus généralement prise en compte dans les programmes de réintroduction, certains auteurs suggèrent que seuls les individus présentant une personnalité spécifique devraient être réintroduits (Bremner-Harrison et al., 2004; pour revue

Réale et al., 2007). Il faut cependant rester prudents. En effet, s'il est généralement admis que les individus les plus téméraires ont un meilleur succès reproducteur mais une durée de vie plus courte, réintroduire seulement les individus les plus timides pourraient se révéler contre productifs. Cela pourrait avoir des effets bénéfiques à court terme sur la survie mais des effets négatifs à plus long terme sur le succès reproducteur et donc sur la réussite du programme de réintroduction (Smith and Blumstein, 2008). Cela pourrait également avoir à très long terme des effets néfastes sur la valeur adaptative des populations en réduisant la variabilité génétique. Par ailleurs, certains traits de personnalité peuvent se révéler adaptatifs ou au contraire maladaptatifs selon le contexte environnemental et les pressions de sélection qui y sont associées (mésange charbonnière : Dingemanse et al., 2004; mouflon canadien (*Ovis canadensis*) : Réale and Festa-Bianchet, 2003). Par exemple, chez la mésange charbonnière, les mâles les moins explorateurs et les femelles les plus exploratrices survivent mieux les années où la nourriture en hiver est peu disponible. Lorsque la nourriture en hiver est plus abondante, c'est le modèle inverse qui est observé (Dingemanse et al., 2004). Ainsi, la diversité des profils comportementaux est un facteur majeur dans les capacités d'adaptation et de survie d'une population d'un environnement changeant. Cette diversité n'est donc pas à négliger dans les programmes de conservation. Par ailleurs, il est possible que la personnalité d'un individu évolue au cours du temps (Dingemanse et al., 2010) et diffère entre la captivité et le milieu naturel. En effet, la personnalité des individus destinés à être réintroduits est souvent caractérisée en captivité. Si certaines études montrent que les mesures qui y sont réalisées peuvent prédire celles réalisées en milieu naturel (mésange bleue : Herborn et al., 2010), d'autres montrent des résultats plus mitigés (grillon champêtre (*Gryllus campestris*) : Fisher et al., 2015). Ainsi, il pourrait être intéressant de caractériser à court terme la personnalité de nos perdrix en élevage et à plus long terme leur personnalité en milieu naturel et semi-naturel (e.g. volières installées en milieu naturel).

6.3. Incubation et mise en nature : des étapes pré- et postnatales à ne pas négliger ?

Dans notre étude chez la perdrix rouge, nous avons tenté d'améliorer la survie en nature de nos oiseaux en complexifiant leur environnement d'élevage pré- et postnatal. Néanmoins, nous aurions également pu intervenir lors de deux autres périodes essentielles : l'incubation et la mise en nature des perdrix.

Selon le comportement d'incubation des parents (e.g. couvaion, retournement des œufs), les embryons peuvent être exposés *in ovo* à des variations thermiques, hygrométriques ou lumineuses

qui vont, comme nous l'avons vu en introduction (**CHAPITRE I - 3.1.4**), influencer la croissance (poule : Bertin et al., 2018b), le comportement (poule : Bertin et al., 2018b; Riedstra and Groothuis, 2004) et les capacités d'apprentissage et de mémorisation des jeunes après leur éclosion (colin de Virginie : Lickliter et al., 2002, 2004). Plusieurs études ont également montré que le comportement d'incubation des parents est extrêmement flexible et peut varier en réponse à de nombreux facteurs environnementaux tels que la présence de prédateur (mésange charbonnière : Basso and Richner, 2015) ou la température et la disponibilité alimentaire (moqueur polyglotte (*Mimus polyglottos*) : Londoño et al., 2008). Par exemple, la présentation de leurres de prédateurs (i.e. hermine (*Mustela erminea*) et épervier) à des mésange charbonnières lors de l'incubation, diminue les fréquences d'entrée et de sortie au nid des femelles, réduisant ainsi progressivement la température du nid et altérant la croissance postnatale des jeunes (Basso and Richner, 2015). En conditions naturelles, la période d'incubation et de couvain des œufs est donc également un facteur déterminant pour le phénotype du jeune et ses capacités d'adaptation. Les parents de par leur comportement commencent lors de cette période, à préparer leurs jeunes à leur futur environnement (**CHAPITRE I - 3**). Par exemple, les interactions entre les parents et leur jeune encore dans l'œuf, favorisent le processus d'empreinte, le suivi de ses parents par le jeune et donc sa survie. Pour de nombreuses espèces cependant, la domestication et/ou la captivité a pu altérer le comportement de couvain. De plus, en élevage, la période d'incubation est rarement considérée, les œufs sont souvent incubés artificiellement et dans conditions relativement constantes. Il pourrait donc être intéressant de mimer des conditions d'incubation plus naturelles et d'en observer les effets sur le phénotype des jeunes et leur survie en nature.

Comme nous l'avons évoqué dans notre chapitre introductif, les embryons sont capables de percevoir et de répondre *in ovo* à tout une variété de stimuli provenant de leur environnement (e.g. olfacto-gustatifs, auditifs, tactiles ; **CHAPITRE I - 3.1**). Ces stimuli sont capables d'influencer leur développement et de moduler leur phénotype comportemental pré- et postnatal (e.g. Aigueperse et al., 2013; Bertin et al., 2010; Sneddon et al., 1998 ; Gottlieb, 1965). Les embryons sont notamment capables de percevoir, de reconnaître et de répondre à la présence d'un prédateur (grenouille des bois (*Rana sylvatica*) : Ferrari and Chivers, 2010; seiche commune : Mezrai et al., 2020). Par exemple, l'exposition *in ovo* de pluviers à tête rousse (*Charadrius ruficapillus*), de vanneau soldat (*Vanellus miles*) et de goéland leucopnée à des cris de prédateurs ou aux cris d'alarme de leurs parents, résulte en la diminution de leurs vocalisations embryonnaires, une réponse assimilée à un comportement anti-prédateur (Kostoglou et al., 2021; Noguera and Velando, 2019). On pourrait ainsi imaginer diffuser dans les incubateurs des élevages, des

vocalisations voire des odeurs de prédateurs, en association avec des cris d’alarme spécifiques. Cette suggestion, relativement facile à mettre en place dans des conditions d’élevage pourrait permettre d’améliorer dès le stade embryonnaire, l’expression de comportements anti-prédateur par le jeune et donc potentiellement d’améliorer sa survie dans le cadre de mise en nature.

Comme nous l’évoquions précédemment, la mise en nature des oiseaux peut également être une période critique pour leur adaptation et leur survie en milieu naturel. La capture en volière, le marquage, le transport, la période d’acclimatation et enfin la mise en nature en elle-même sont autant d’étapes qui peuvent se révéler être des sources de stress aigu (pour revue Dickens et al., 2010; Teixeira et al., 2007). L’accumulation de ces événements pourrait générer un état de stress chronique exacerbant la vulnérabilité des oiseaux et participant à la mortalité importante observée les premiers jours suivants le lâcher (pour revue Dickens et al., 2010; Teixeira et al., 2007 ; e.g. atténuation de la réponse aigu au stress (i.e. *fight or flight*) et augmentation du risque de prédation, altération du système immunitaire et augmentation de la susceptibilité aux maladies). Par exemple, la capture et le transport de perdrix choukars sauvages altèrent la réponse de leur axe HPA en diminuant la sensibilité de leur boucle de rétrocontrôle négatif, et ce au minimum un mois après leur réintroduction (Dickens et al., 2009). Dans notre étude, nous avons essayé de minimiser au maximum le stress de nos perdrix, en réduisant leur temps de manipulation et en les habituant en parquet ou volière de pré-lâcher quatre jours avant leur réintroduction (**CHAPITRES II - 2.2.6 et IVB**). Cependant, nous disposons de très peu d’informations sur l’influence de telles procédures. Il n’est pas évident de savoir si la période d’acclimatation des oiseaux leur permet de récupérer du transport, des manipulations et de s’adapter en douceur au milieu naturel ou si cela génère une nouvelle source de stress (e.g. Letty et al., 2000). Il serait donc intéressant à l’avenir de considérer cette période particulière et d’évaluer le comportement des oiseaux tout au long de leur acclimatation.

Nous avons fait le choix, dans notre étude, de réintroduire nos perdrix par groupe de 10 à 18 individus sélectionnés aléatoirement comme cela est fait classiquement. D’autres techniques pourraient cependant se révéler plus adaptées. Buner et Schaub par exemple, ont comparé la survie de perdrix grises élevées et réintroduites selon différents procédés : i) des perdrix nées en milieu naturel et issues de perdrix précédemment réintroduites, ii) des perdrix nées en milieu naturel et transférées sur le territoire étudié, iii) des perdrix nés en élevage, élevées par leurs parents et relâchées avec leur couvée et iv) des perdrix nés en élevage, élevées par leurs parents et relâchées à proximité d’un couple de perdrix sauvages venant de perdre leur couvée. Ils ont montré que les perdrix sauvages, les perdrix nées en milieu naturel et les perdrix nées en captivité mais adoptées

par des couples sauvages présentaient des taux de survie similaires. Les perdrix nées en captivité et mises en nature seules présentaient quant à elles un taux de survie inférieur aux trois autres groupes (Buner and Schaub, 2008). L'adoption de perdrix élevées en captivité par des couples sauvages maximise donc leur chance de survie. Si cette technique semble difficile à mettre en place à grande échelle, elle permet de reconsidérer les effets des techniques de lâcher sur le taux de survie des oiseaux en nature.

7. Conclusion

Ce travail de thèse a permis de mettre en évidence l'influence majeure des effets maternels prénatals sur l'ontogenèse comportementale des individus. Nos travaux suggèrent que ces effets n'affectent pas seulement les descendants de première génération mais également ceux des deux générations suivantes, témoignant ainsi d'effets maternels trans-générationnels. Si les mécanismes médiant ces effets restent encore méconnus, nos travaux suggèrent l'implication, certainement en interaction, de la composition hormonale du vitellus et de certaines modifications épigénétiques. La capacité des effets maternels à moduler rapidement, intensément et à travers les générations le phénotype comportemental de ses descendants, pose question quant à son influence dans les processus d'adaptation et de dynamique des populations. Dans nos travaux, les effets maternels (et plus généralement parentaux) n'ont *a priori* pas permis d'améliorer la survie en nature de nos oiseaux. Nous croyions cependant au potentiel adaptatif des effets maternels prénatals dans le sens où il permettrait de préparer au mieux, les jeunes à leur environnement futur. Dans le contexte sociétal et écologique actuel, il est fondamental pour les scientifiques d'identifier et d'utiliser de tels outils qui pourraient être des facteurs clés permettant à la fois d'améliorer le bien-être des animaux en élevage mais également leur adaptation dans un milieu naturel fortement impacté par les activités humaines.

Références bibliographiques

- Aaltonen, K., Bryant, A.A., Hostetler, J.A., and Oli, M.K. (2009). Reintroducing endangered Vancouver Island marmots: Survival and cause-specific mortality rates of captive-born versus wild-born individuals. *Biological Conservation* *142*, 2181–2190.
- Agrawal, A.A., Laforsch, C., and Tollrian, R. (1999). Transgenerational induction of defences in animals and plants. *Nature* *401*, 60–63.
- Aguillon, S.M., and Duckworth, R.A. (2015). Kin aggression and resource availability influence phenotype-dependent dispersal in a passerine bird. *Behav Ecol Sociobiol* *69*, 625–633.
- Aigueperse, N. (2017). Influence des jeunes sur le comportement maternel et conséquences développementales chez la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*). Thèse. Université de Rennes 1.
- Aigueperse, N., Calandreau, L., and Bertin, A. (2013). Maternal Diet Influences Offspring Feeding Behavior and Fearfulness in the Precocial Chicken. *PLoS ONE* *8*, e77583.
- Aisa, B., Tordera, R., Lasheras, B., Del Río, J., and Ramírez, M.J. (2007). Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. *Psychoneuroendocrinology* *32*, 256–266.
- Almasi, B., Rettenbacher, S., Müller, C., Brill, S., Wagner, H., and Jenni, L. (2012). Maternal corticosterone is transferred into the egg yolk. *General and Comparative Endocrinology* *178*, 139–144.
- Altmann, J. (1974). Observational Study of Behavior: Sampling Methods. *Behaviour* *49*, 227–266.
- Angelier, F., Tonra, C.M., Holberton, R.L., and Marra, P.P. (2010). How to capture wild passerine species to study baseline corticosterone levels. *J Ornithol* *151*, 415–422.
- Anton, M. (2007). Composition and Structure of Hen Egg Yolk. In *Bioactive Egg Compounds*, R. Huopalahti, R. López-Fandiño, R. Schade, and M. Anton, eds. (Berlin ; New York: Springer), p.
- Anway, M.D., Cupp, A.S., Uzumcu, M., and Skinner, M.K. (2005). Epigenetic Transgenerational Actions of Endocrine Disruptors and Male Fertility. *Science* *308*, 1466–1469.
- Anway, M.D., Leathers, C., and Skinner, M.K. (2006). Endocrine Disruptor Vinclozolin Induced Epigenetic Transgenerational Adult-Onset Disease. *Endocrinology* *147*, 5515–5523.
- Arling, G.L., and Harlow, H.F. (1967). Effects of social deprivation on maternal behavior of rhesus monkeys. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* *64*, 371–377.
- Aubry, P., Anstett, L., Ferrand, Y., Reitz, F., Klein, F., Ruelle, S., Sarasa, M., Arnauduc, J.-P., and Migot, P. (2016). Enquête nationale sur les tableaux de chasse à tir.
- Avery, M.L. (1996). Food avoidance by adult house finches, *Carpodacus mexicanus*, affects seed preferences of offspring. *Animal Behaviour* *51*, 1279–1283.
- Avril, J. (2020). Survie et participation à la reproduction de perdrix rouges (*Alectoris rufa*) issues de différentes origines en milieu méditerranéen. Master of Science. Université de Poitiers. Rapport de stage IMPCF : pp 41 + annexes.
- Babenko, O., Kovalchuk, I., and Metz, G.A.S. (2015). Stress-induced perinatal and transgenerational epigenetic programming of brain development and mental health. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* *48*, 70–91.
- Baer, J., Lansford, R., and Cheng, K. (2015). Japanese Quail as a Laboratory Animal Model. In *Laboratory Animal Medicine*, (Elsevier), pp. 1087–1108.

- Baker, M.R., Gobush, K.S., and Vynne, C.H. (2013). Review of factors influencing stress hormones in fish and wildlife. *Journal for Nature Conservation* 21, 309–318.
- Barbanera, F., Pergams, O.R.W., Guerrini, M., Forcina, G., Panayides, P., and Dini, F. (2010). Genetic consequences of intensive management in game birds. *Biological Conservation* 143, 1259–1268.
- Barbazanges, A., Piazza, P.V., Moal, M.L., and Maccari, S. (1996). Maternal Glucocorticoid Secretion Mediates Long-Term Effects of Prenatal Stress. *J. Neurosci.* 16, 3943–3949.
- Bassett, L., and Buchanan-Smith, H.M. (2007). Effects of predictability on the welfare of captive animals. *Applied Animal Behaviour Science* 102, 223–245.
- Basso, A., and Richner, H. (2015). Predator-Specific Effects on Incubation Behaviour and Offspring Growth in Great Tits. *PLOS ONE* 10, e0121088.
- Basso, A., Coslovsky, M., and Richner, H. (2014). Parasite- and predator-induced maternal effects in the great tit (*Parus major*). *Behavioral Ecology* 25, 1105–1114.
- Baylé, J.D., Ramade, F., and Oliver, J. (1974). Stereotaxic topography of the brain of the quail (*Coturnix coturnix japonica*). *J. Physiol. (Paris)* 68, 219–241.
- Beani, L., and Dessí-Fulgheri, F. (1998). Anti-predator behaviour of captive Grey partridges (*Perdix perdix*). *Ethology Ecology & Evolution* 10, 185–196.
- Beck, B.B., Kleiman, D.G., Dietz, J.M., Caso, I., Carvalho, C., Martins, A., and Rettberg-Beck, B. (1991). Losses and reproduction in reintroduced golden Lion tamarins *leontopithecus rosalia*. *Dodo, J. Jersey Wildl. Perserv. Trust* 27.
- Beck, D., Sadler-Riggelman, I., and Skinner, M.K. (2017). Generational comparisons (F1 versus F3) of vinclozolin induced epigenetic transgenerational inheritance of sperm differential DNA methylation regions (epimutations) using MeDIP-Seq. *Environmental Epigenetics* 3.
- Belnap, S.C., Currea, J.P., and Lickliter, R. (2019). Prenatal incubation temperature affects neonatal precocial birds' locomotor behavior. *Physiology & Behavior* 206, 51–58.
- Benoit, J.D., Rakic, P., and Frick, K.M. (2015). Prenatal stress induces spatial memory deficits and epigenetic changes in the hippocampus indicative of heterochromatin formation and reduced gene expression. *Behavioural Brain Research* 281, 1–8.
- Bentz, A.B., Niederhuth, C.E., Carruth, L.L., and Navara, K.J. (2021). Prenatal testosterone triggers long-term behavioral changes in male zebra finches: unravelling the neurogenomic mechanisms. *BMC Genomics* 22, 158.
- Benyshek, D.C., Johnston, C.S., and Martin, J.F. (2006). Glucose metabolism is altered in the adequately-nourished grand-offspring (F3 generation) of rats malnourished during gestation and perinatal life. *Diabetologia* 49, 1117–1119.
- Berbel-Filho, W.M., Berry, N., Rodríguez-Barreto, D., Teixeira, S.R., Leaniz, C.G. de, and Consuegra, S. (2020). Environmental enrichment induces intergenerational behavioural and epigenetic effects on fish. *Molecular Ecology* 29, 2288–2299.
- Bergmüller, R. (2010). Animal personality and behavioural syndromes. In *Animal Behaviour: Evolution and Mechanisms*, P. Kappeler, ed. (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), pp. 587–615.
- Berlin, K.E., and Clark, A.B. (1998). Embryonic Calls as Care-soliciting Signals in Budgerigars, *Melopsittacus undulatus*. *Ethology* 104, 531–544.

- Bertin, A., Richard-Yris, M.-A., Houdelier, C., Lumineau, S., Möstl, E., Kuchar, A., Hirschenhauser, K., and Kotrschal, K. (2008). Habituation to humans affects yolk steroid levels and offspring phenotype in quail. *Hormones and Behavior* *54*, 396–402.
- Bertin, A., Richard-Yris, M.-A., Möstl, E., and Lickliter, R. (2009). Increased yolk testosterone facilitates prenatal perceptual learning in Northern bobwhite quail (*Colinus virginianus*). *Hormones and Behavior* *56*, 416–422.
- Bertin, A., Calandreau, L., Arnould, C., Nowak, R., Levy, F., Noirot, V., Bouvarel, I., and Leterrier, C. (2010). In Ovo Olfactory Experience Influences Post-hatch Feeding Behaviour in Young Chickens: Prehatch Olfaction and Feeding. *Ethology* *116*, 1027–1037.
- Bertin, A., Chanson, M., Delaveau, J., Mercierand, F., Möstl, E., Calandreau, L., Arnould, C., Leterrier, C., and Collin, A. (2013). Moderate Heat Challenge Increased Yolk Steroid Hormones and Shaped Offspring Growth and Behavior in Chickens. *PLoS ONE* *8*, e57670.
- Bertin, A., Calandreau, L., Meurisse, M., Georgelin, M., Palme, R., Lumineau, S., Houdelier, C., Darmaillacq, A.-S., Dickel, L., Colson, V., et al. (2018a). Incubation temperature affects the expression of young precocial birds' fear-related behaviours and neuroendocrine correlates. *Sci Rep* *8*, 1857.
- Bertin, A., Cornilleau, F., Lemarchand, J., Boissy, A., Leterrier, C., Nowak, R., Calandreau, L., Blache, M.-C., Boivin, X., Arnould, C., et al. (2018b). Are there facial indicators of positive emotions in birds? A first exploration in Japanese quail. *Behavioural Processes* *157*, 470–473.
- Bestion, E., Teyssier, A., Aubret, F., Clobert, J., and Cote, J. (2014). Maternal exposure to predator scents: offspring phenotypic adjustment and dispersal. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* *281*, 20140701.
- Bian, J.-H., Du, S.-Y., Wu, Y., Cao, Y., Nie, X.-H., He, H., and You, Z. (2015). Maternal effects and population regulation: maternal density-induced reproduction suppression impairs offspring capacity in response to immediate environment in root voles *Microtus oeconomus*. *The Journal of Animal Ecology* *84* *2*, 326–336.
- Binazzi, R., Zaccaroni, M., Nespoli, A., Massolo, A., and Dessì-Fulgheri, F. (2011). Anti-predator behaviour of the red-legged partridge *Alectoris rufa* (Galliformes: Phasianidae) to simulated terrestrial and aerial predators. *Italian Journal of Zoology* *78*, 106–112.
- Birkhead, T.R., and Fletcher, F. (1994). Sperm storage and the release of sperm from the sperm storage tubules in Japanese Quail *Coturnix japonica*. *Ibis* *136*, 101–105.
- Biro, P.A., and Post, J.R. (2008). Rapid depletion of genotypes with fast growth and bold personality traits from harvested fish populations. *PNAS* *105*, 2919–2922.
- Black, J.M. (1995). The Nene *Branta sandvicensis* Recovery Initiative: research against extinction. *Ibis* *137*, S153–S160.
- Blanco Rodríguez, J., and Camprubí Sánchez, C. (2019). Epigenetic Transgenerational Inheritance. In *Genetic Damage in Human Spermatozoa*, E. Baldi, and M. Muratori, eds. (Cham: Springer International Publishing), pp. 57–74.
- Boissy, A. (1995). Fear and Fearfulness in Animals. *The Quarterly Review of Biology* *70*, 165–191.
- Bolhuis, J.J. (1991). Mechanisms of Avian Imprinting: A Review. *Biological Reviews* *66*, 303–345.

- Boncoraglio, G., Rubolini, D., Romano, M., Martinelli, R., and Saino, N. (2006). Effects of elevated yolk androgens on perinatal begging behavior in yellow-legged gull (*Larus michahellis*) chicks. *Hormones and Behavior* *50*, 442–447.
- Bonduriansky, R., Crean, A.J., and Day, T. (2012). The implications of nongenetic inheritance for evolution in changing environments: Nongenetic inheritance and environmental change. *Evolutionary Applications* *5*, 192–201.
- Bonisoli Alquati, A., Rubolini, D., Romano, M., Boncoraglio, G., Fasola, M., and Saino, N. (2007). Effects of Egg Albumen Removal on Yellow-Legged Gull Chick Phenotype. *Functional Ecology* *21*, 310–316.
- Bonisoli-Alquati, A., Matteo, A., Ambrosini, R., Rubolini, D., Romano, M., Caprioli, M., Dessì-Fulgheri, F., Baratti, M., and Saino, N. (2011). Effects of egg testosterone on female mate choice and male sexual behavior in the pheasant. *Hormones and Behavior* *59*, 75–82.
- Boon, A.K., Réale, D., and Boutin, S. (2008). Personality, habitat use, and their consequences for survival in North American red squirrels *Tamiasciurus hudsonicus*. *Oikos* *117*, 1321–1328.
- Boonstra, R. (2004). Coping with Changing Northern Environments: The Role of the Stress Axis in Birds and Mammals. *Integrative and Comparative Biology* *44*, 95–108.
- Both, C., Dingemanse, N.J., Drent, P.J., and Tinbergen, J.M. (2005). Pairs of extreme avian personalities have highest reproductive success. *Journal of Animal Ecology* *74*, 667–674.
- Braastad, B.O. (1998). Effects of prenatal stress on behaviour of offspring of laboratory and farmed mammals. *Applied Animal Behaviour Science* *61*, 159–180.
- Brady, K., Herrera, Y., and Zenick, H. (1975). Influence of parental lead exposure on subsequent learning ability of offspring. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* *3*, 561–565.
- Braun, K., and Champagne, F.A. (2014). Paternal Influences on Offspring Development: Behavioural and Epigenetic Pathways. *Journal of Neuroendocrinology* *26*, 697–706.
- Braunschweig, M., Jagannathan, V., Gutzwiller, A., and Bee, G. (2012). Investigations on Transgenerational Epigenetic Response Down the Male Line in F2 Pigs. *PLOS ONE* *7*, e30583.
- Bremner-Harrison, S., Prodohl, P.A., and Elwood, R.W. (2004). Behavioural trait assessment as a release criterion: boldness predicts early death in a reintroduction programme of captive-bred swift fox (*Vulpes velox*). *Animal Conservation Forum* *7*, 313–320.
- Brittas, R., Marcstrom, V., Kenward, R.E., and Karlbom, M. (1992). Survival and Breeding Success of Reared and Wild Ring-Necked Pheasants in Sweden. *The Journal of Wildlife Management* *56*, 368–376.
- Bro, E., and Ponce-Boutin, F. (2004). Régime alimentaire des Phasianidés en plaine de grandes cultures.
- Brua, R.B., Nuechterlein, G.L., and Buitron, D. (1996). Vocal response of Eared Grebe embryos to egg cooling and egg turning. *The Auk* *113*, 525–533.
- Brunton, P.J. (2013). Effects of maternal exposure to social stress during pregnancy: consequences for mother and offspring. *Reproduction* *146*, R175–R189.
- Brydges, N., Leach, M., Nicol, K., Wright, R., and Bateson, M. (2011). Environmental enrichment induces optimistic cognitive bias in rats. *Animal Behaviour*.

- Buner, F., and Schaub, M. (2008). How do different releasing techniques affect the survival of reintroduced grey partridges *Perdix perdix*? *Wildlife Biology* 14, 26–35.
- Burden, D. (2013). *Game-Bird Preserve Business Development Guide*.
- Burdge, G.C., Hoile, S.P., Uller, T., Thomas, N.A., Gluckman, P.D., Hanson, M.A., and Lillycrop, K.A. (2011). Progressive, Transgenerational Changes in Offspring Phenotype and Epigenotype following Nutritional Transition. *PLOS ONE* 6, e28282.
- Burton, T., and Metcalfe, N.B. (2014). Can environmental conditions experienced in early life influence future generations? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281, 20140311.
- Calandreau, L., Bertin, A., Boissy, A., Arnould, C., Constantin, P., Desmedt, A., Guémené, D., Nowak, R., and Leterrier, C. (2011). Effect of one week of stress on emotional reactivity and learning and memory performances in Japanese quail. *Behavioural Brain Research* 217, 104–110.
- Caldji, C., Tannenbaum, B., Sharma, S., Francis, D., Plotsky, P.M., and Meaney, M.J. (1998). Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. *PNAS* 95, 5335–5340.
- Cameron, E.Z., Linklater, W.L., Stafford, K.J., and Minot, E.O. (2003). Social grouping and maternal behaviour in feral horses (*Equus caballus*): the influence of males on maternal protectiveness. *Behav Ecol Sociobiol* 53, 92–101.
- Campo, J.L., Dávila, S.G., Gil, M.G., Torres, O., and Moreno, J.S. (2015). Fear and stress measurements in pure and hybrid red-legged partridges. *Applied Animal Behaviour Science* 166, 123–130.
- Cannizzaro, C., Plescia, F., Martire, M., Gagliano, M., Cannizzaro, G., Mantia, G., and Cannizzaro, E. (2006). Single, intense prenatal stress decreases emotionality and enhances learning performance in the adolescent rat offspring: Interaction with a brief, daily maternal separation. *Behavioural Brain Research* 169, 128–136.
- Carere, C., and van Oers, K. (2004). Shy and bold great tits (*Parus major*): body temperature and breath rate in response to handling stress. *Physiology & Behavior* 82, 905–912.
- Caro, J., Delibes-Mateos, M., Vicente, J., and Arroyo, B. (2014). A quantitative assessment of the release of farm-reared red-legged partridges (*Alectoris rufa*) for shooting in central Spain. *Eur J Wildl Res* 60, 919–926.
- Casas, F., Mougeot, F., and Viñuela, J. (2009). Double-nesting behaviour and sexual differences in breeding success in wild Red-legged Partridges *Alectoris rufa*: Double-nesting in Partridges. *Ibis* 151, 743–751.
- Casas, F., Mougeot, F., Sánchez-Barbudo, I., Dávila, J.A., and Viñuela, J. (2012). Fitness consequences of anthropogenic hybridization in wild red-legged partridge (*Alectoris rufa*, Phasianidae) populations. *Biol Invasions* 14, 295–305.
- Casey, M.B., and Lickliter, R. (1998). Prenatal visual experience influences the development of turning bias in bobwhite quail chicks (*Colinus virginianus*). *Developmental Psychobiology* 32, 327–338.
- Ceballos, G., Ehrlich, P.R., Barnosky, A.D., García, A., Pringle, R.M., and Palmer, T.M. (2015). Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction. *Science Advances* 1, e1400253.

- Champagne, F.A., and Curley, J.P. (2009). Epigenetic mechanisms mediating the long-term effects of maternal care on development. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 33, 593–600.
- Champagne, F.A., Francis, D.D., Mar, A., and Meaney, M.J. (2003). Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiology & Behavior* 79, 359–371.
- Chan, J.C., Nugent, B.M., and Bale, T.L. (2018). Parental Advisory: Maternal and Paternal Stress Can Impact Offspring Neurodevelopment. *Biological Psychiatry* 83, 886–894.
- Chand, D., and Lovejoy, D.A. (2011). Stress and reproduction: Controversies and challenges. *General and Comparative Endocrinology* 171, 253–257.
- Chandezon, C., and Lumineau, S. (2020). Croiser les sciences pour lire les animaux - Fragments de vies de cailles antiques. Une enquête éthohistorique.
- Chang, G.B., Chang, H., Liu, X.P., Xu, W., Wang, H.Y., Zhao, W.M., and Olowofeso, O. (2005). Developmental research on the origin and phylogeny of quails. *World's Poultry Science Journal* 61, 105–112.
- Chang, G.B., Liu, X.P., Chang, H., Chen, G.H., Zhao, W.M., Ji, D.J., Chen, R., Qin, Y.R., Shi, X.K., and Hu, G.S. (2009). Behavior differentiation between wild Japanese quail, domestic quail, and their first filial generation. *Poult Sci* 88, 1137–1142.
- Chiandetti, C., and Vallortigara, G. (2019). Distinct effect of early and late embryonic light-stimulation on chicks' lateralization. *Neuroscience* 414, 1–7.
- Chiandetti, C., Galliussi, J., Andrew, R.J., and Vallortigara, G. (2013). Early-light embryonic stimulation suggests a second route, via gene activation, to cerebral lateralization in vertebrates. *Sci Rep* 3, 2701.
- Chin, E.H., Love, O.P., Verspoor, J.J., Williams, T.D., Rowley, K., and Burness, G. (2009). Juveniles exposed to embryonic corticosterone have enhanced flight performance. *Proc. R. Soc. B* 276, 499–505.
- Christians, J.K. (2002). Avian egg size: variation within species and inflexibility within individuals. *Biological Reviews* 77, 1–26.
- Chuang, J.C., and Jones, P.A. (2007). Epigenetics and MicroRNAs. *Pediatr Res* 61, 24–29.
- Ciuti, S., Muhly, T.B., Paton, D.G., McDevitt, A.D., Musiani, M., and Boyce, M.S. (2012). Human selection of elk behavioural traits in a landscape of fear. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279, 4407–4416.
- Clarke, J.A. (2010). White-tailed ptarmigan food calls enhance chick diet choice: learning nutritional wisdom? *Animal Behaviour* 79, 25–30.
- Clarke, A.S., and Schneider, M.L. (1993). Prenatal stress has long-term effects on behavioral responses to stress in juvenile rhesus monkeys. *Dev. Psychobiol.* 26, 293–304.
- Cockrem, J.F. (2013). Individual variation in glucocorticoid stress responses in animals. *General and Comparative Endocrinology* 181, 45–58.
- Coleman, K., and Wilson, D.S. (1998). Shyness and boldness in pumpkinseed sunfish: individual differences are context-specific. *Animal Behaviour* 56, 927–936.

- Colombelli-Négre, D., Hauber, M.E., Robertson, J., Sulloway, F.J., Hoi, H., Griggio, M., and Kleindorfer, S. (2012). Embryonic Learning of Vocal Passwords in Superb Fairy-Wrens Reveals Intruder Cuckoo Nestlings. *Current Biology* 22, 2155–2160.
- Colombelli-Négre, D., Webster, M.S., Dowling, J.L., Hauber, M.E., and Kleindorfer, S. (2016). Vocal imitation of mother's calls by begging Red-backed Fairywren nestlings increases parental provisioning. *The Auk* 133, 273–285.
- Colson, V., Cousture, M., Damasceno, D., Valotaire, C., Nguyen, T., Cam, A.L., and Bobe, J. (2019). Maternal temperature exposure impairs emotional and cognitive responses and triggers dysregulation of neurodevelopment genes in fish. *PeerJ* 7, e6338.
- Conradt, E., Lester, B.M., Appleton, A.A., Armstrong, D.A., and Marsit, C.J. (2013). The roles of DNA methylation of NR3C1 and 11 β -HSD2 and exposure to maternal mood disorder in utero on newborn neurobehavior. *Epigenetics* 8, 1321–1329.
- Coslovsky, M., and Richner, H. (2011). Predation risk affects offspring growth via maternal effects. *Functional Ecology* 25, 878–888.
- Coslovsky, M., and Richner, H. (2012). Preparing Offspring for a Dangerous World: Potential Costs of Being Wrong. *PLOS ONE* 7, e48840.
- Coslovsky, M., Groothuis, T., Vries, B. de, and Richner, H. (2012). Maternal steroids in egg yolk as a pathway to translate predation risk to offspring: experiments with great tits. *General and Comparative Endocrinology* 176 2, 211–214.
- Coureaud, G., Schaal, B., Hudson, R., Orgeur, P., and Coudert, P. (2002). Transnatal olfactory continuity in the rabbit: Behavioral evidence and short-term consequence of its disruption. *Developmental Psychobiology* 40, 372–390.
- Cramp, S., and Simmons, K. (1980). *Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa. The Birds of the Western Palearctic, vol. II. Hawks to Bustards.* (Oxford: Oxford University Press), pp. 463–469.
- Crews, D. (2008). Epigenetics and its implications for behavioral neuroendocrinology. *Front Neuroendocrinol* 29, 344–357.
- Crews, D., Gore, A.C., Hsu, T.S., Dangleben, N.L., Spinetta, M., Schallert, T., Anway, M.D., and Skinner, M.K. (2007). Transgenerational epigenetic imprints on mate preference. *Proc Natl Acad Sci USA* 104, 5942–5946.
- Crocker, K.C., and Hunter, M.D. (2018). Environmental causes and transgenerational consequences of ecdysteroid hormone provisioning in *Acheta domesticus*. *Journal of Insect Physiology* 109, 69–78.
- Crowe, T.M., Bowie, R.C.K., Bloomer, P., Mandiwana, T.G., Hedderson, T.A.J., Randi, E., Pereira, S.L., and Wakeling, J. (2006). Phylogenetics, biogeography and classification of, and character evolution in, gamebirds (Aves: Galliformes): effects of character exclusion, data partitioning and missing data. *Cladistics* 22, 495–532.
- Curley, J.P. (2009). Social enrichment during postnatal development induces transgenerational effects on emotional and reproductive behavior in mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 3.
- Cutuli, D., Caporali, P., Gelfo, F., Angelucci, F., Laricchiuta, D., Foti, F., De Bartolo, P., Bisicchia, E., Molinari, M., Farioli Vecchioli, S., et al. (2015). Pre-reproductive maternal enrichment influences rat

maternal care and offspring developmental trajectories: behavioral performances and neuroplasticity correlates. *Front. Behav. Neurosci.* 9.

Cyr, N.E., and Michael Romero, L. (2007). Chronic stress in free-living European starlings reduces corticosterone concentrations and reproductive success. *General and Comparative Endocrinology* 151, 82–89.

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

Danchin, É., Charmantier, A., Champagne, F.A., Mesoudi, A., Pujol, B., and Blanchet, S. (2011). Beyond DNA: integrating inclusive inheritance into an extended theory of evolution. *Nat Rev Genet* 12, 475–486.

Dantzer, B., Newman, A.E.M., Boonstra, R., Palme, R., Boutin, S., Humphries, M.M., and McAdam, A.G. (2013). Density Triggers Maternal Hormones That Increase Adaptive Offspring Growth in a Wild Mammal. *Science* 340, 1215–1217.

Dantzer, B., Fletcher, Q.E., Boonstra, R., and Sheriff, M.J. (2014). Measures of physiological stress: a transparent or opaque window into the status, management and conservation of species? *Conserv Physiol* 2, cou023.

Davis, F.C., and Gorski, R.A. (1985). Development of Hamster Circadian Rhythms. I. Within-Litter Synchrony of Mother and Pup Activity Rhythms at Weaning1. *Biology of Reproduction* 33, 353–362.

DeCasper, A.J., and Fifer, W.P. (1980). Of human bonding: newborns prefer their mothers' voices. *Science* 208, 1174–1176.

Del Hoyo, J., Sargatal, J., and Elliott, A. (1994). *Handbook of the Birds of the World: New World Vultures to Guineafowl* (Barcelona, Spain).

Delibes-Mateos, M., Viñuela, J., and Arroyo, B. (2015). Game managers' views on the release of farm-reared red-legged partridges in hunting estates within central Spain. *Journal for Nature Conservation* 26, 1–8.

Derégnaucourt, S., Guyomarc'h, J.-C., and Belhamra, M. (2005). Comparison of migratory tendency in European Quail *Coturnix c. coturnix*, domestic Japanese Quail *Coturnix c. japonica* and their hybrids. *Ibis* 147, 25–36.

Díaz-Fernández, S., Viñuela, J., and Arroyo, B. (2012). Harvest of red-legged partridge in central Spain. *The Journal of Wildlife Management* 76, 1354–1363.

Dickens, M.J., Delehanty, D.J., and Romero, L.M. (2009). Stress and translocation: alterations in the stress physiology of translocated birds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*.

Dickens, M.J., Delehanty, D.J., and Michael Romero, L. (2010). Stress: An inevitable component of animal translocation. *Biological Conservation* 143, 1329–1341.

Dingemanse, N.J., Both, C., van Noordwijk, A.J., Rutten, A.L., and Drent, P.J. (2003). Natal dispersal and personalities in great tits (*Parus major*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270, 741–747.

Dingemanse, N.J., Both, C., Drent, P.J., and Tinbergen, J.M. (2004). Fitness consequences of avian personalities in a fluctuating environment. *Proc. R. Soc. Lond. B* 271, 847–852.

- Dingemanse, N.J., Kazem, A.J.N., Réale, D., and Wright, J. (2010). Behavioural reaction norms: animal personality meets individual plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* 25, 81–89.
- Dirzo, R., Young, H.S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N.J.B., and Collen, B. (2014). Defaunation in the Anthropocene. *Science* 345, 401–406.
- Donald, P.F., Green, R.E., and Heath, M.F. (2001). Agricultural Intensification and the Collapse of Europe's Farmland Bird Populations. *Proceedings: Biological Sciences* 268, 25–29.
- Donelson, J.M., Munday, P.L., McCormick, M.I., and Pitcher, C.R. (2012). Rapid transgenerational acclimation of a tropical reef fish to climate change. *Nature Clim Change* 2, 30–32.
- Douglas, C., Bateson, M., Walsh, C., Bédoué, A., and Edwards, S.A. (2012). Environmental enrichment induces optimistic cognitive biases in pigs. *Applied Animal Behaviour Science* 139, 65–73.
- Dowell, S.D. (1990). Differential behaviour and survival of hand-reared and wild grey partridge in the United Kingdom. In *Perdix V: Gray Partridge and Ring-Necked Pheasant Workshop*, K.E. Church, R.E. Warner, and S.J. Brady, eds. (Kansas Department of wildlife and Parks, Emporia), pp. 230–241.
- Drummond, H., and Ancona, S. (2015). Observational field studies reveal wild birds responding to early-life stresses with resilience, plasticity, and intergenerational effects. *The Auk* 132, 563–576.
- Duckworth, R.A. (2006). Behavioral correlations across breeding contexts provide a mechanism for a cost of aggression. *Behavioral Ecology* 17, 1011–1019.
- Duckworth, R.A. (2008). Adaptive Dispersal Strategies and the Dynamics of a Range Expansion. *The American Naturalist* 172, S4–S17.
- Duckworth, R.A. (2009). Maternal effects and range expansion: a key factor in a dynamic process? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 1075–1086.
- Duckworth, R.A., Belloni, V., and Anderson, S.R. (2015). Cycles of species replacement emerge from locally induced maternal effects on offspring behavior in a passerine bird. *Science*.
- Dunn, G.A., and Bale, T.L. (2009). Maternal High-Fat Diet Promotes Body Length Increases and Insulin Insensitivity in Second-Generation Mice. *Endocrinology* 150, 4999–5009.
- Dunn, G.A., and Bale, T.L. (2011). Maternal High-Fat Diet Effects on Third-Generation Female Body Size via the Paternal Lineage. *Endocrinology* 152, 2228–2236.
- Dwyer, C.M., and Lawrence, A.B. (2000a). Effects of maternal genotype and behaviour on the development of their offspring in sheep. *Behaviour* 137, 1629–1654.
- Dwyer, C.M., and Lawrence, A.B. (2000b). Maternal Behaviour in Domestic Sheep (*Ovis aries*): Constancy and Change with Maternal Experience. *Behaviour* 137, 1391–1413.
- Eising, C.M., and Groothuis, T.G.G. (2003). Yolk androgens and begging behaviour in black-headed gull chicks: an experimental field study. *Animal Behaviour* 66, 1027–1034.
- Ellis, T., Hughes, R.N., and Howell, B.R. (2002). Artificial dietary regime may impair subsequent foraging behaviour of hatchery-reared turbot released into the natural environment. *Journal of Fish Biology* 61, 252–264.
- von Engelhardt, N., and Groothuis, T.G.G. (2011). Maternal Hormones in Avian Eggs. In *Hormones and Reproduction of Vertebrates*, (Elsevier), pp. 91–127.

- Entringer, S., Epel, E.S., Kumsta, R., Lin, J., Hellhammer, D.H., Blackburn, E.H., Wüst, S., and Wadhwa, P.D. (2011). Stress exposure in intrauterine life is associated with shorter telomere length in young adulthood. *PNAS* *108*, E513–E518.
- Entringer, S., Epel, E.S., Lin, J., Buss, C., Shahbaba, B., Blackburn, E.H., Simhan, H.N., and Wadhwa, P.D. (2013). Maternal psychosocial stress during pregnancy is associated with newborn leukocyte telomere length. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* *208*, 134.e1-134.e7.
- Estanislau, C., and Morato, S. (2005). Prenatal stress produces more behavioral alterations than maternal separation in the elevated plus-maze and in the elevated T-maze. *Behavioural Brain Research* *163*, 70–77.
- Evans, R.M. (1990). Vocal regulation of temperature by avian embryos: a laboratory study with pipped eggs of the American white pelican. *Animal Behaviour* *40*, 969–979.
- Evans, R.M. (1992). Embryonic and neonatal vocal elicitation of parental brooding and feeding responses in american white pelicans. *Animal Behaviour* *44*, 667–675.
- Fairbanks, L.A. (1996). Individual Differences in Maternal Style: Causes and Consequences for Mothers and offspring. In *Advances in the Study of Behavior*, J.S. Rosenblatt, and C.T. Snowdon, eds. (Academic Press), pp. 579–611.
- Fairbanks, L.A., and McGuire, M.T. (1988). Long-term effects of early mothering behavior on responsiveness to the environment in vervet monkeys. *Developmental Psychobiology* *21*, 711–724.
- Fält, B. (1981). Development of responsiveness to the individual maternal “clucking” by domestic chicks (*Gallus gallus domesticus*). *Behavioural Processes* *6*, 303–317.
- Feeney, A., Nilsson, E., and Skinner, M.K. (2014). Epigenetics and transgenerational inheritance in domesticated farm animals. *J Anim Sci Biotechnol* *5*, 48.
- Feng, L., and Chen, X. (2015). Epigenetic regulation of germ cells—remember or forget? *Current Opinion in Genetics & Development* *31*, 20–27.
- Ferrari, M.C.O., and Chivers, D.P. (2010). The ghost of predation future: threat-sensitive and temporal assessment of risk by embryonic woodfrogs. *Behav Ecol Sociobiol* *64*, 549–555.
- Ferreira, V.H.B., Barbarat, M., Lormant, F., Germain, K., Brachet, M., Løvlie, H., Calandreau, L., and Guesdon, V. (2020). Social motivation and the use of distal, but not local, featural cues are related to ranging behavior in free-range chickens (*Gallus gallus domesticus*). *Anim Cogn* *23*, 769–780.
- Ferretti, M., Falcini, F., Paci, G., and Bagliacca, M. (2012). Captive rearing technologies and survival of pheasants (*Phasianus colchicus* L.) after release. *Italian Journal of Animal Science* *11*, e29.
- Figuroa, J., Solà-Oriol, D., Vinokurovas, L., Manteca, X., and Pérez, J.F. (2013). Prenatal flavour exposure through maternal diets influences flavour preference in piglets before and after weaning. *Animal Feed Science and Technology* *183*, 160–167.
- Finkler, M.S., Van Orman, J.B., and Sotherland, P.R. (1998). Experimental manipulation of egg quality in chickens: influence of albumen and yolk on the size and body composition of near-term embryos in a precocial bird. *J Comp Physiol B* *168*, 17–24.
- Fischer, J., and Lindenmayer, D.B. (2000). An assessment of the published results of animal relocations. *Biological Conservation* *96*, 1–11.

- Fisher, D.N., James, A., Rodríguez-Muñoz, R., and Tregenza, T. (2015). Behaviour in captivity predicts some aspects of natural behaviour, but not others, in a wild cricket population. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* *282*, 20150708.
- Forkman, B., Boissy, A., Meunier-Salaün, M.-C., Canali, E., and Jones, R.B. (2007). A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology & Behavior* *92*, 340–374.
- Formanek, L., Houdelier, C., Lumineau, S., Bertin, A., and Richard-Yris, M.-A. (2008). Maternal Epigenetic Transmission of Social Motivation in Birds. *Ethology* *114*, 817–826.
- Formanek, L., Richard-Yris, M., Houdelier, C., and Lumineau, S. (2009). Epigenetic Maternal Effects on Endogenous Rhythms in Precocial Birds. *Chronobiology International* *26*, 396–414.
- Francis, D., Diorio, J., Liu, D., and Meaney, M.J. (1999). Nongenomic Transmission Across Generations of Maternal Behavior and Stress Responses in the Rat. *Science* *286*, 5.
- Frankham, R. (2008). Genetic adaptation to captivity in species conservation programs. *Molecular Ecology* *17*, 325–333.
- Frankham, R., Hemmer, H., Ryder, O.A., Cothran, E.G., Soulé, M.E., Murray, N.D., and Snyder, M. (1986). Selection in captive populations. *Zoo Biology* *5*, 127–138.
- Franklin, T.B., and Mansuy, I.M. (2010). Epigenetic inheritance in mammals: Evidence for the impact of adverse environmental effects. *Neurobiology of Disease* *39*, 61–65.
- Franklin, T.B., Russig, H., Weiss, I.C., Gräff, J., Linder, N., Michalon, A., Vizi, S., and Mansuy, I.M. (2010). Epigenetic Transmission of the Impact of Early Stress Across Generations. *Biological Psychiatry* *68*, 408–415.
- Franklin, T.B., Linder, N., Russig, H., Thöny, B., and Mansuy, I.M. (2011). Influence of Early Stress on Social Abilities and Serotonergic Functions across Generations in Mice. *PLOS ONE* *6*, e21842.
- Freeman, B.M. (1975). Physiological basis of stress. *Proc R Soc Med* *68*, 427–429.
- Fride, E., and Weinstock, M. (1988). Prenatal stress increase anxiety related behavior and alters cerebral lateralization of dopamine activity. *Life Sciences* *42*, 1059–1065.
- Froustey, N. (2019). Suivi d'une population de Perdrix rouge (*Alectoris rufa* L.): Etude démographique, analyse spatiale comparative des domaines vitaux et cartographie des habitats favorables à la reproduction. Master of Science. Université Toulouse III-Paul Sabatier. Rapport de stage IMPCF : pp 49 + annexes.
- Fujioka, T., Fujioka, A., Tan, N., Chowdhury, G.M.I., Mouri, H., Sakata, Y., and Nakamura, S. (2001). Mild prenatal stress enhances learning performance in the non-adopted rat offspring. *Neuroscience* *103*, 301–307.
- Gagliano, M., and McCormick, M.I. (2009). Hormonally mediated maternal effects shape offspring survival potential in stressful environments. *Oecologia* *160*, 657–665.
- Garcia-Fernandez, V., Guasco, B., Tanvez, A., Lacroix, A., Cucco, M., Leboucher, G., and Malacarne, G. (2010). Influence of mating preferences on yolk testosterone in the grey partridge. *Animal Behaviour* *80*, 45–49.
- Gaudioso, V.R., Alonso, M.E., Robles, R., Garrido, J.A., and Olmedo, J.A. (2002). Effects of Housing Type and Breeding System on the Reproductive Capacity of the Red-Legged Partridge (*Alectoris rufa*). *Poultry Science* *81*, 169–172.

- Gaudioso, V.R., Pérez, J.A., Sánchez-García, C., Armenteros, J.A., Lomillos, J.M., and Alonso, M.E. (2011a). Isolation from predators: a key factor in the failed release of farmed red-legged partridges (*Alectoris rufa*) to the wild? *British Poultry Science* *52*, 155–162.
- Gaudioso, V.R., Sanchez-Garcia, C., Perez, J.A., Rodriguez, P.L., Armenteros, J.A., and Alonso, M.E. (2011b). Does early antipredator training increase the suitability of captive red-legged partridges (*Alectoris rufa*) for releasing? *Poultry Science* *90*, 1900–1908.
- Gheusi, G. (2019). Une brève histoire des personnages et des idées qui ont fait naître l'éthologie. In *Éthologie Animale : Une Approche Biologique Du Comportement [2ème Édition]*, (De Boeck Supérieur), pp. 10–25.
- Giesing, E.R., Suski, C.D., Warner, R.E., and Bell, A.M. (2011). Female sticklebacks transfer information via eggs: effects of maternal experience with predators on offspring. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* *278*, 1753–1759.
- Gil, D. (2008). Chapter 7 Hormones in Avian Eggs: Physiology, Ecology and Behavior. In *Advances in the Study of Behavior*, (Academic Press), pp. 337–398.
- Gil, D., and Faure, J.-M. (2007). Correlated response in yolk testosterone levels following divergent genetic selection for social behaviour in Japanese quail. *J. Exp. Zool.* *307A*, 91–94.
- Gil, D., Graves, J., Hazon, N., and Wells, A. (1999). Male attractiveness and differential testosterone investment in zebra finch eggs. *Science* *286*, 126–128.
- Gil, D., Leboucher, G., Lacroix, A., Cue, R., and Kreutzer, M. (2004). Female canaries produce eggs with greater amounts of testosterone when exposed to preferred male song. *Hormones and Behavior* *45*, 64–70.
- Giraudeau, M., Ziegler, A.-K., Pick, J.L., Ducatez, S., Canale, C.I., and Tschirren, B. (2017). Interactive effects of yolk testosterone and carotenoid on prenatal growth and offspring physiology in a precocial bird. *BEHECO* *28*, 31–38.
- Gitau, R., Adams, D., Fisk, N.M., and Glover, V. (2005). Fetal plasma testosterone correlates positively with cortisol. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition* *90*, F166–F169.
- Gluckman, P.D., Hanson, M.A., and Spencer, H.G. (2005). Predictive adaptive responses and human evolution. *Trends in Ecology & Evolution* *20*, 527–533.
- Goerlich, V.C., Nätt, D., Elfving, M., Macdonald, B., and Jensen, P. (2012). Transgenerational effects of early experience on behavioral, hormonal and gene expression responses to acute stress in the precocial chicken. *Hormones and Behavior* *61*, 711–718.
- Gonzalez, A., Lovic, V., Ward, G.R., Wainwright, P.E., and Fleming, A.S. (2001). Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Developmental Psychobiology* *38*, 11–32.
- Goodwin, D. (1953). Observations on Voice and Behaviour of the Red-Legged Partridge *Alectoris Rufa*. *Ibis* *95*, 581–614.
- Goodwin, D. (1958). Further Notes on Pairing and Submissive Behaviour of the Red-Legged Partridge *Alectoris Rufa*. *Ibis* *100*, 59–66.
- Goos, J.M., Swain, C.J., Munch, S.B., and Walsh, M.R. (2019). Maternal diet and age alter direct and indirect relationships between life-history traits across multiple generations. *Functional Ecology* *33*, 491–502.

- Gottlieb, G. (1965). Prenatal Auditory Sensitivity in Chickens and Ducks. *Science, New Series* 147, 1596–1598.
- Gottlieb, G. (1979). Development of species identification in ducklings: V. Perceptual differentiation in the embryo. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 93, 831–854.
- Gottlieb, G. (1991). Experiential Canalization of Behavioral Development: Theory. *Developmental Psychology* 27, 4–13.
- Gottlieb, G. (2008). From Gene to Organism: The Developing Individual as an Emergent, Interactional Hierarchical System. In *Brain Development and Cognition: A Reader*, (John Wiley & Sons), p.
- Gräff, J., and Mansuy, I.M. (2008). Epigenetic codes in cognition and behaviour. *Behavioural Brain Research* 192, 70–87.
- Green, R.E. (1983). Spring dispersal and agonistic behaviour of the Red-legged partridge (*Alectoris rufa*). *Journal of Zoology*.
- Green, M.R., and McCormick, C.M. (2016). Sex and stress steroids in adolescence: Gonadal regulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the rat. *General and Comparative Endocrinology* 234, 110–116.
- Greiveldinger, L., Veissier, I., and Boissy, A. (2009). Behavioural and physiological responses of lambs to controllable vs. uncontrollable aversive events. *Psychoneuroendocrinology* 34, 805–814.
- Grenna, M., Avidano, L., Malacarne, G., Leboucher, G., and Cucco, M. (2014). Influence of Male Dominance on Egg Testosterone and Antibacterial Substances in the Egg of Grey Partridges. *Ethology* 120, 149–158.
- Griffin, A.S., Blumstein, D.T., and Evans, C.S. (2000). Training Captive-Bred or Translocated Animals to Avoid Predators. *Conservation Biology* 14, 1317–1326.
- Griffith, B., Scott, J.M., Carpenter, J.W., and Reed, C. (1989). Translocation as a Species Conservation Tool: Status and Strategy. *Science* 245, 477–480.
- Groothuis, T.G.G., and Schwabl, H. (2008). Hormone-mediated maternal effects in birds: mechanisms matter but what do we know of them? *Phil. Trans. R. Soc. B* 363, 1647–1661.
- Groothuis, T.G.G., Kumar, N., and Hsu, B.-Y. (2020). Explaining discrepancies in the study of maternal effects: the role of context and embryo. *Current Opinion in Behavioral Sciences* 36, 185–192.
- Groothuis, T.G.G., Eising, C.M., Dijkstra, C., and Müller, W. (2005a). Balancing between costs and benefits of maternal hormone deposition in avian eggs. *Biol. Lett.* 1, 78–81.
- Groothuis, T.G.G., Müller, W., von Engelhardt, N., Carere, C., and Eising, C. (2005b). Maternal hormones as a tool to adjust offspring phenotype in avian species. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29, 329–352.
- Groothuis, T.G.G., Hsu, B.-Y., Kumar, N., and Tschirren, B. (2019). Revisiting mechanisms and functions of prenatal hormone-mediated maternal effects using avian species as a model. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 374, 20180115.
- Gu, C., Liu, Y., Huang, Y., Yang, S., Wang, A., Yin, B., and Wei, W. (2020). Effects of predator-induced stress during pregnancy on reproductive output and offspring quality in Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*). *Eur J Wildl Res* 66, 14.

- Guerrero-Bosagna, C., Morisson, M., Liaubet, L., Rodenburg, T.B., de Haas, E.N., Košťál, L., and Pitel, F. (2018). Transgenerational epigenetic inheritance in birds. *Environmental Epigenetics* 4.
- Guesdon, V., Bertin, A., Houdelier, C., Lumineau, S., Formanek, L., Kotrschal, K., Möstl, E., and Richard-Yris, M.-A. (2011). A Place to Hide in the Home-Cage Decreases Yolk Androgen Levels and Offspring Emotional Reactivity in Japanese Quail. *PLoS ONE* 6, e23941.
- Guibert, F. (2011). Influences maternelles prénatales sur le développement comportemental : étude chez la caille japonaise *Coturnix c. japonica*. thesis. Rennes 1.
- Guibert, F., Richard-Yris, M.-A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Guémené, D., Bertin, A., Möstl, E., and Houdelier, C. (2010). Social Instability in Laying Quail: Consequences on Yolk Steroids and Offspring's Phenotype. *PLoS ONE* 5, e14069.
- Guibert, F., Richard-Yris, M.-A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Bertin, A., Petton, C., Möstl, E., and Houdelier, C. (2011). Unpredictable mild stressors on laying females influence the composition of Japanese quail eggs and offspring's phenotype. *Applied Animal Behaviour Science* 132, 51–60.
- Guibert, F., Richard-Yris, M.-A., Lumineau, S., Kotrschal, K., Möstl, E., and Houdelier, C. (2012). Yolk testosterone levels and offspring phenotype correlate with parental age in a precocial bird. *Physiology & Behavior* 105, 242–250.
- Guibert, F., Lumineau, S., Kotrschal, K., Möstl, E., Richard-Yris, M.-A., and Houdelier, C. (2013). Trans-generational effects of prenatal stress in quail. *Proc. R. Soc. B* 280, 20122368.
- Guo, T., Luo, F., and Lin, Q. (2020). You are affected by what your parents eat: Diet, epigenetics, transgeneration and intergeneration. *Trends in Food Science & Technology* 100, 248–261.
- Gutiérrez-Cárdenas, P.D.A. (2006). Embryonic olfactory learning in larvae of *Smilisca Phaeota* (Cope, 1862) (Anura: Hylidae). *Actualidades Biológicas* 28, 59–65.
- Guyomarc'h, J.C. (2003). Elements for a common quail (*Coturnix C. Coturnix*). *Game & Wildlife Science* 20.
- Guyomarc'h, C., and Guyomarc'h, J.-C. (1994). Testosterone Levels and the Free Running Rhythm of Feeding Activity in Japanese Quail in Darkness. *General and Comparative Endocrinology* 96, 165–171.
- Guyomarc'h, J.C., and Guyomarc'h, C. (1996). Vocal communication in European quail; Comparison with Japanese quail. *Comptes Rendus de l'Académie Des Sciences. Série III, Sciences de La Vie* 319, 827.
- Guyomarc'h, J.C., Richard-Yris, M.A., and Fontenelle, G. (1973). Influence de l'expérience prénatale sur le rythme d'activité du poussin domestique. *Bulletin de La Société Scientifique de Bretagne* 48, 49–57.
- Hackl, R., Bromundt, V., Daisley, J., Kotrschal, K., and Möstl, E. (2003). Distribution and origin of steroid hormones in the yolk of Japanese quail eggs (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 173, 327–331.
- Hanson, M.A., and Skinner, M.K. (2016). Developmental origins of epigenetic transgenerational inheritance. *Environ Epigenet* 2, dwv002.
- Harker, A., Carroll, C., Raza, S., Kolb, B., and Gibb, R. (2018). Preconception Paternal Stress in Rats Alters Brain and Behavior in Offspring. *Neuroscience* 388, 474–485.

- Harlow, H.F., Dodsworth, R.O., and Harlow, M.K. (1965). Total social isolation in monkeys. *Proc Natl Acad Sci USA* 54, 90–97.
- Harmange, C. (2019). Survivre en agrosystème céréalier - le défi de la Perdrix grise: sélection d'habitat, compétition interspécifique et traits individuels.
- Harris, A., and Seckl, J. (2011). Glucocorticoids, prenatal stress and the programming of disease. *Hormones and Behavior* 59, 279–289.
- Harvey, S., Phillips, J.G., Rees, A., and Hall, T.R. (1984). Stress and adrenal function. *Journal of Experimental Zoology* 232, 633–645.
- Hayward, L.S., and Wingfield, J.C. (2004). Maternal corticosterone is transferred to avian yolk and may alter offspring growth and adult phenotype. *General and Comparative Endocrinology* 135, 365–371.
- Heaton, M.B., and Galleher, E. (1981). Prenatal auditory discrimination in the bobwhite quail. *Behavioral and Neural Biology* 31, 242–246.
- Hebb, D. (1947). The effects of early experience on problem solving at maturity. *Am. Psychol.* 2, 306–307.
- Heezik, Y. van, Seddon, P.J., and Maloney, R.F. (1999). Helping reintroduced houbara bustards avoid predation: effective anti-predator training and the predictive value of pre-release behaviour. *Animal Conservation* 2, 155–163.
- Heijmans, B.T., Tobi, E.W., Stein, A.D., Putter, H., Blauw, G.J., Susser, E.S., Slagboom, P.E., and Lumey, L.H. (2008). Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *PNAS* 105, 17046–17049.
- Hellmann, J.K., Bukhari, S.A., Deno, J., and Bell, A.M. (2020). Sex-specific plasticity across generations I: Maternal and paternal effects on sons and daughters. *Journal of Animal Ecology* 89, 2788–2799.
- Henriksen, R., Rettenbacher, S., and Groothuis, T.G.G. (2011a). Prenatal stress in birds: Pathways, effects, function and perspectives. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 35, 1484–1501.
- Henriksen, R., Groothuis, T.G., and Rettenbacher, S. (2011b). Elevated Plasma Corticosterone Decreases Yolk Testosterone and Progesterone in Chickens: Linking Maternal Stress and Hormone-Mediated Maternal Effects. *PLoS ONE* 6, e23824.
- Hepper, P.G., and Waldman, B. (1992). Embryonic olfactory learning in frogs. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B: Comparative and Physiological Psychology* 44, 179–197.
- Hepper, P.G., Wells, D.L., Millsopp, S., Kraehenbuehl, K., Lyn, S.A., and Mauroux, O. (2012). Prenatal and Early Sucking Influences on Dietary Preference in Newborn, Weaning, and Young Adult Cats. *Chemical Senses* 37, 755–766.
- Herborn, K.A., Macleod, R., Miles, W.T.S., Schofield, A.N.B., Alexander, L., and Arnold, K.E. (2010). Personality in captivity reflects personality in the wild. *Animal Behaviour* 79, 835–843.
- Hess, M.F., Silvy, N.J., Griffin, C.P., Lopez, R.R., and Davis, D.S. (2005). Differences in Flight Characteristics of Pen-Reared and Wild Prairie-Chickens. *The Journal of Wildlife Management* 69, 650–654.
- Hill, D., and Robertson, P. (1988). Breeding Success of Wild and Hand-Reared Ring-Necked Pheasants. *The Journal of Wildlife Management* 52, 446.

- Höchel, J., Pirow, R., and Nichelmann, M. (2002). Development of heart rate responses to acoustic stimuli in Muscovy duck embryos. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* *131*, 805–816.
- Holtmann, B., Santos, E.S.A., Lara, C.E., and Nakagawa, S. (2017). Personality-matching habitat choice, rather than behavioural plasticity, is a likely driver of a phenotype–environment covariance. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* *284*, 20170943.
- Homberger, M.B. (2014). The effects of prenatal and postnatal contexts on physiology, behaviour and survival of reintroduced grey partridges (*Perdix perdix*). PhD Thesis. University of Zurich.
- Homberger, B., Jenni, L., Duplain, J., Lanz, M., and Schaub, M. (2014). Food unpredictability in early life increases survival of captive grey partridges (*Perdix perdix*) after release into the wild. *Biological Conservation* *177*, 134–141.
- Homberger, B., Korner-Nievergelt, F., Jenni-Eiermann, S., Duplain, J., Lanz, M., and Jenni, L. (2021). Integrating behaviour, physiology and survival to explore the outcome of reintroductions: a case study of grey partridge. *Animal Behaviour* *176*, 145–156.
- Houdelier, C. (2019). L'ontogenèse des comportements. In *Éthologie animale : Une Approche biologique du comportement* [2ème Édition], (De Boeck Supérieur), p.
- Houdelier, C., Lumineau, S., Bertin, A., Guibert, F., De Margerie, E., Augery, M., and Richard-Yris, M.-A. (2011). Development of Fearfulness in Birds: Genetic Factors Modulate Non-Genetic Maternal Influences. *PLoS ONE* *6*, e14604.
- Hrabcakova, P., Bedanova, I., Voslarova, E., Pistekova, V., and Vecerek, V. (2012). Evaluation of tonic immobility in common pheasant hens kept in different housing systems during laying period. *Arch. Anim. Breed.* *55*, 626–632.
- Hsu, B.-Y. (2016). Maternal Hormones Meet Environmental Variability: Context-dependent effects of maternal hormones in avian egg yolks. University of Groningen.
- Hsu, B.-Y., Dijkstra, C., Darras, V.M., de Vries, B., and Groothuis, T.G.G. (2017). Maternal thyroid hormones enhance hatching success but decrease nestling body mass in the rock pigeon (*Columba livia*). *Gen Comp Endocrinol* *240*, 174–181.
- Hume, D.K. (1995). Anti-predator training : An experimental approach in reintroduction biology. Master of Science. University of Canterbury.
- Hunter, R.G., McCarthy, K.J., Milne, T.A., Pfaff, D.W., and McEwen, B.S. (2009). Regulation of hippocampal H3 histone methylation by acute and chronic stress. *Proc Natl Acad Sci USA* *106*, 20912–20917.
- Huss, D., Poynter, G., and Lansford, R. (2008). Japanese quail (*Coturnix japonica*) as a laboratory animal model. *Lab Anim* *37*, 513–519.
- Hutchinson, E., Avery, A., and VandeWoude, S. (2005). Environmental Enrichment for Laboratory Rodents. *ILAR Journal* *46*, 148–161.
- Immelmann, K. (1972). Sexual and Other Long-Term Aspects of Imprinting in Birds and Other Species. In *Advances in the Study of Behavior*, D.S. Lehrman, R.A. Hinde, and E. Shaw, eds. (Academic Press), pp. 147–174.
- Impekoven, M. (1973). The Response of Incubating Laughing Gulls (*Larus atricilla* L.) To Calls of Hatching Chicks. *Behaviour* *46*, 94–113.

- Inger, R., Gregory, R., Duffy, J.P., Stott, I., Voříšek, P., and Gaston, K.J. (2015). Common European birds are declining rapidly while less abundant species' numbers are rising. *Ecology Letters* *18*, 28–36.
- Jablonka, E., and Raz, G. (2009). Transgenerational Epigenetic Inheritance: Prevalence, Mechanisms, and Implications for the Study of Heredity and Evolution. *The Quarterly Review of Biology* *84*, 131–176.
- Janczak, A.M., Braastad, B.O., and Bakken, M. (2006). Behavioural effects of embryonic exposure to corticosterone in chickens. *Applied Animal Behaviour Science* *96*, 69–82.
- Janczak, A.M., Torjesen, P., Palme, R., and Bakken, M. (2007). Effects of stress in hens on the behaviour of their offspring. *Applied Animal Behaviour Science* *107*, 66–77.
- Jarvis, S., Moinard, C., Robson, S.K., Baxter, E., Ormandy, E., Douglas, A.J., Seckl, J.R., Russell, J.A., and Lawrence, A.B. (2006). Programming the offspring of the pig by prenatal social stress: Neuroendocrine activity and behaviour. *Hormones and Behavior* *49*, 68–80.
- Jensen, P. (2013). Transgenerational epigenetic effects on animal behaviour. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* *113*, 447–454.
- Jobson, M.A., Jordan, J.M., Sandrof, M.A., Hibshman, J.D., Lennox, A.L., and Baugh, L.R. (2015). Transgenerational Effects of Early Life Starvation on Growth, Reproduction, and Stress Resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* *201*, 201–212.
- Joëls, M. (2006). Corticosteroid effects in the brain: U-shape it. *Trends in Pharmacological Sciences* *27*, 244–250.
- Johnson, A.L. (2015). Reproduction in the Female. In *Sturkie's Avian Physiology*, (Elsevier), pp. 635–665.
- Jones, R.B. (1986). The tonic immobility reaction of the domestic fowl: a review. *World's Poultry Science Journal* *42*, 82–96.
- Kaiser, S., and Sachser, N. (2005). The effects of prenatal social stress on behaviour: mechanisms and function. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* *29*, 283–294.
- Kalinichev, M., Easterling, K.W., Plotsky, P.M., and Holtzman, S.G. (2002). Long-lasting changes in stress-induced corticosterone response and anxiety-like behaviors as a consequence of neonatal maternal separation in Long–Evans rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* *73*, 131–140.
- Kamenetzky, G.V., Suárez, A.B., Ifran, M.C., Nizhnikov, M.E., and Pautassi, R.M. (2018). Influence of prenatal pre-exposure to an odor on intake behavior of an aversive solution in newborn rats. *Neuroscience Letters* *673*, 7–11.
- Kapoor, A., Dunn, E., Kostaki, A., Andrews, M.H., and Matthews, S.G. (2006). Fetal programming of hypothalamo-pituitary-adrenal function: prenatal stress and glucocorticoids. *The Journal of Physiology* *572*, 31–44.
- Kapoor, A., Kostaki, A., Janus, C., and Matthews, S.G. (2009). The effects of prenatal stress on learning in adult offspring is dependent on the timing of the stressor. *Behavioural Brain Research* *197*, 144–149.
- Keller, L.F., Biebach, I., Ewing, S.R., and Hoeck, P.E.A. (2012). The genetics of reintroductions: inbreeding and genetic drift. In *Reintroduction Biology: Integrating Science and Management*, (John Wiley & Sons), p.

- Kendrick, K.M., Haupt, M.A., Hinton, M.R., Broad, K.D., and Skinner, J.D. (2001). Sex Differences in the Influence of Mothers on the Sociosexual Preferences of Their Offspring. *Hormones and Behavior* 40, 322–338.
- Khan, N., Peters, R.A., Richardson, E., and Robert, K.A. (2016). Maternal corticosterone exposure has transgenerational effects on grand-offspring. *Biol. Lett.* 12, 20160627.
- Kingma, S.A., Komdeur, J., Vedder, O., von Engelhardt, N., Korsten, P., and Groothuis, T.G.G. (2009). Manipulation of male attractiveness induces rapid changes in avian maternal yolk androgen deposition. *Behavioral Ecology* 20, 172–179.
- Kinsley, C.H., and Bridges, R.S. (1988). Prenatal stress and maternal behavior in intact virgin rats: Response latencies are decreased in males and increased in females. *Hormones and Behavior* 22, 76–89.
- Kisilevsky, B.S., Hains, S.M.J., Lee, K., Xie, X., Huang, H., Ye, H.H., Zhang, K., and Wang, Z. (2003). Effects of Experience on Fetal Voice Recognition. *Psychological Science* 14, 220–224.
- Kiyono, S., Seo, M.L., Shibagaki, M., and Inouye, M. (1985). Facilitative effects of maternal environmental enrichment on maze learning in rat offspring. *Physiology & Behavior* 34, 431–435.
- Klose, R.J., and Bird, A.P. (2006). Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends in Biochemical Sciences* 31, 89–97.
- Knop, J., van IJzendoorn, M.H., Bakermans-Kranenburg, M.J., Joëls, M., and van der Veen, R. (2019). The effects of different rearing conditions on sexual maturation and maternal care in heterozygous mineralocorticoid receptor knockout mice. *Hormones and Behavior* 112, 54–64.
- König, B. (1989). Kin Recognition and Maternal Care under Restricted Feeding in House Mice (*Mus domesticus*). *Ethology* 82, 328–343.
- Kostoglou, K.N., Dongen, W.F.D. van, Bowe, S.J., and Weston, M.A. (2021). Shorebird embryos exhibit anti-predator responses. *Ibis* *n/a*.
- Kouzarides, T. (2007). Chromatin Modifications and Their Function. *Cell* 128, 693–705.
- Kreger, M.D., Hatfield, J.S., Estevez, I., Gee, G.F., and Clugston, D.A. (2005). The effects of captive rearing on the behavior of newly-released whooping cranes (*Grus americana*). *Applied Animal Behaviour Science* 93, 165–178.
- Kuenzel, W.J., and Masson, M. (1988). *A Stereotaxic Atlas of the Brain of the Chick (Gallus Domesticus)* (Johns Hopkins University Press).
- Kumar, N., van Faassen, M., Kema, I., Gahr, M., and Groothuis, T.G.G. (2018). Early embryonic modification of maternal hormones differs systematically among embryos of different laying order: A study in birds. *General and Comparative Endocrinology* 269, 53–59.
- Kumar, N., Dam, A. van, Permentier, H., Faassen, M. van, Kema, I., Gahr, M., and Groothuis, T.G.G. (2019). Avian yolk androgens are metabolized instead of taken up by the embryo during the first days of incubation. *The Journal of Experimental Biology* 222, jeb193961.
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., and Hedges, S.B. (2017). TimeTree: A Resource for Timelines, Timetrees, and Divergence Times. *Molecular Biology and Evolution* 34, 1812–1819.
- Kyneb, A., and Toft, S. (2006). Effects of maternal diet quality on offspring performance in the rove beetle *Tachyporus hypnorum*. *Ecological Entomology* 31, 322–330.

- LaDage, L.D. (2015). Environmental Change, the Stress Response, and Neurogenesis. *Integrative and Comparative Biology* 55, 372–383.
- Laurence, A., Houdelier, C., Petton, C., Calandreau, L., Arnould, C., Favreau-Peigné, A., Leterrier, C., Boissy, A., Richard-Yris, M.-A., and Lumineau, S. (2012). Japanese Quail's Genetic Background Modulates Effects of Chronic Stress on Emotional Reactivity but Not Spatial Learning. *PLoS ONE* 7, e47475.
- Le Bot, O. (2015). Influences maternelles prénatales chez les oiseaux nidifuges : facteurs de variation et effets sur le développement comportemental des jeunes. Thèse. Université de Rennes 1.
- Le Bot, O., Lumineau, S., Margerie, E. de, Pittet, F., Trabalon, M., and Houdelier, C. (2014). Long-life partners or sex friends? Impact of parental pair bond on offspring personality. *Journal of Experimental Biology* 217, 4184–4192.
- Le Roy, A., Loughland, I., and Seebacher, F. (2017). Differential effects of developmental thermal plasticity across three generations of guppies (*Poecilia reticulata*): canalization and anticipatory matching. *Sci Rep* 7, 4313.
- Ledig, M., Misslin, R., Vogel, E., Holownia, A., Copin, J.C., and Tholey, G. (1998). Paternal alcohol exposure: developmental and behavioral effects on the offspring of rats. *Neuropharmacology* 37, 57–66.
- Lee, H.-H., Kim, H., Lee, J.-W., Kim, Y.-S., Yang, H.-Y., Chang, H.-K., Lee, T.-H., Shin, M.-C., Lee, M.-H., Shin, M.-S., et al. (2006). Maternal swimming during pregnancy enhances short-term memory and neurogenesis in the hippocampus of rat pups. *Brain and Development* 28, 147–154.
- Leif, A.P. (1994). Survival and Reproduction of Wild and Pen-Reared Ring-Necked Pheasant Hens. *The Journal of Wildlife Management* 58, 501–506.
- Leroux, S., Gourichon, D., Leterrier, C., Labrune, Y., Coustham, V., Rivière, S., Zerjal, T., Coville, J.-L., Morisson, M., Minvielle, F., et al. (2017). Embryonic environment and transgenerational effects in quail. *Genet Sel Evol* 49, 14.
- Letty, J., Marchandeau, S., Clobert, J., and Aubineau, J. (2000). Improving translocation success: an experimental study of anti-stress treatment and release method for wild rabbits. *Animal Conservation* 3, 211–219.
- Levenson, J.M., and Sweatt, J.D. (2005). Epigenetic mechanisms in memory formation. *Nat Rev Neurosci* 6, 108–118.
- Li, M., and Leatherland, J.F. (2013). The implications for aquaculture practice of epigenomic programming of components of the endocrine system of teleostean embryos: lessons learned from mammalian studies. *Fish and Fisheries* 14, 528–553.
- Lickliter, R. (2000). Atypical Perinatal Sensory Stimulation and Early Perceptual Development: Insights From Developmental Psychobiology. *J Perinatol* 20, S45–S54.
- Lickliter, R., and Hellewell, T.B. (1992). Contextual determinants of auditory learning in bobwhite quail embryos and hatchlings. *Dev. Psychobiol.* 25, 17–31.
- Lickliter, R., Dyer, A.B., and McBride, T. (1993). Perceptual consequences of early social experience in precocial birds. *Behavioural Processes* 30, 185–200.

- Lickliter, R., Bahrick, L.E., and Honeycutt, H. (2002). Intersensory redundancy facilitates prenatal perceptual learning in bobwhite quail (*Colinus virginianus*) embryos. *Developmental Psychology* *38*, 15–23.
- Lickliter, R., Bahrick, L.E., and Honeycutt, H. (2004). Intersensory Redundancy Enhances Memory in Bobwhite Quail Embryos. *Infancy* *5*, 253–269.
- Lindqvist, C., and Jensen, P. (2009). Domestication and stress effects on contrafreeloading and spatial learning performance in red jungle fowl (*Gallus gallus*) and White Leghorn layers. *Behavioural Processes* *81*, 80–84.
- Lindqvist, C., Janczak, A.M., Nätt, D., Baranowska, I., Lindqvist, N., Wichman, A., Lundeberg, J., Lindberg, J., Torjesen, P.A., and Jensen, P. (2007). Transmission of Stress-Induced Learning Impairment and Associated Brain Gene Expression from Parents to Offspring in Chickens. *PLoS ONE* *2*, e364.
- Lindström, J. (1999). Early development and fitness in birds and mammals. *Trends in Ecology & Evolution* *14*, 343–348.
- Londoño, G.A., Levey, D.J., and Robinson, S.K. (2008). Effects of temperature and food on incubation behaviour of the northern mockingbird, *Mimus polyglottos*. *Animal Behaviour* *76*, 669–677.
- Lonsdorf, E.V. (2005). Sex differences in the development of termite-fishing skills in the wild chimpanzees, *Pan troglodytes schweinfurthii*, of Gombe National Park, Tanzania. *Animal Behaviour* *70*, 673–683.
- López-Rull, I., and Gil, D. (2009). Elevated testosterone levels affect female breeding success and yolk androgen deposition in a passerine bird. *Behavioural Processes* *82*, 312–318.
- Lordi, B., Patin, V., Protais, P., Mellier, D., and Caston, J. (2000). Chronic stress in pregnant rats: effects on growth rate, anxiety and memory capabilities of the offspring. *International Journal of Psychophysiology* *37*, 195–205.
- Lorenz, K. (1935). Der Kumpan in der Umwelt des Vogels. *J. Ornithol* *83*, 137–213.
- Lormant, F., Cornilleau, F., Constantin, P., Meurisse, M., Lansade, L., Leterrier, C., Lévy, F., and Calandreau, L. (2018). A trait for a high emotionality favors spatial memory to the detriment of cue-based memory in Japanese quail. *Behavioural Processes* *157*, 256–262.
- Lormant, F., Ferreira, V.H.B., Meurisse, M., Lemarchand, J., Constantin, P., Morisse, M., Cornilleau, F., Parias, C., Chaillou, E., Bertin, A., et al. (2020). Emotionality modulates the impact of chronic stress on memory and neurogenesis in birds. *Scientific Reports* *10*, 14620.
- Lormant, F., Ferreira, V.H.B., Lemarchand, J., Cornilleau, F., Constantin, P., Parias, C., Bertin, A., Lansade, L., Leterrier, C., Lévy, F., et al. (2021). Training level reveals a dynamic dialogue between stress and memory systems in birds. *Behavioural Brain Research* *408*, 113280.
- Lormée, H., Jouventin, P., Trouve, C., and Chastel, O. (2003). Sex-specific patterns in baseline corticosterone and body condition changes in breeding Red-footed Boobies *Sula sula*. *Ibis* *145*, 212–219.
- Love, O.P., Chin, E.H., Wynne-Edwards, K.E., and Williams, T.D. (2005). Stress Hormones: A Link between Maternal Condition and Sex-Biased Reproductive Investment. *The American Naturalist* *166*, 751–766.

- Love, O.P., Wynne-Edwards, K.E., Bond, L., and Williams, T.D. (2008). Determinants of within- and among-clutch variation in yolk corticosterone in the European starling. *Hormones and Behavior* *53*, 104–111.
- Lovell, P.G., Ruxton, G.D., Langridge, K.V., and Spencer, K.A. (2013). Egg-Laying Substrate Selection for Optimal Camouflage by Quail. *Current Biology* *23*, 260–264.
- Loyau, A., Saint Jalme, M., Mauget, R., and Sorci, G. (2007). Male sexual attractiveness affects the investment of maternal resources into the eggs in peafowl (*Pavo cristatus*). *Behav Ecol Sociobiol* *61*, 1043–1052.
- Lubin, F.D., Gupta, S., Parrish, R.R., Grissom, N.M., and Davis, R.L. (2011). Epigenetic Mechanisms: Critical Contributors to Long-Term Memory Formation. *Neuroscientist* *17*, 616–632.
- Lukanov, H. (2019). Domestic quail (*Coturnix japonica domestica*), is there such farm animal? *World's Poultry Science Journal* *75*, 11.
- Lumineau, S., Houdelier, C., and Guyomarc'h, C. (2005). Individual differences in sexual display behaviour in the male Japanese quail. *Ethology Ecology & Evolution* *17*, 121–134.
- Lupien, S.J., McEwen, B.S., Gunnar, M.R., and Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci* *10*, 434–445.
- Madden, J.R., and Sage, R.B. (2020). Ecological Consequences of Gamebird Releasing and Management on Lowland Shoots in England.pdf (Peterborough: Natural England).
- Madden, J.R., and Whiteside, M.A. (2014). Selection on behavioural traits during 'unselective' harvesting means that shy pheasants better survive a hunting season. *Animal Behaviour* *87*, 129–135.
- Madden, J.R., Hall, A., and Whiteside, M.A. (2018). Why do many pheasants released in the UK die, and how can we best reduce their natural mortality? *Eur J Wildl Res* *64*, 40.
- Madden, J.R., Santilli, F., and Whiteside, M.A. (2020). The welfare of game birds destined for release into the wild: a balance between early life care and preparation for future natural hazards. *Animal Welfare* *29*, 1–18.
- Magiafoglou, A., and Hoffmann, A.A. (2003). Cross-generation effects due to cold exposure in *Drosophila serrata*. *Functional Ecology* *17*, 664–672.
- Mairesse, J., Lesage, J., Breton, C., Bréant, B., Hahn, T., Darnaudéry, M., Dickson, S.L., Seckl, J., Blondeau, B., Vieau, D., et al. (2007). Maternal stress alters endocrine function of the fetoplacental unit in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* *292*, E1526–E1533.
- Marchlewska-Koj, A., Kruczek, M., Kapusta, J., and Pochroń, E. (2003). Prenatal stress affects the rate of sexual maturation and attractiveness in bank voles. *Physiology & Behavior* *79*, 305–310.
- de Margerie, E., Peris, A., Pittet, F., Houdelier, C., Lumineau, S., and Richard-Yris, M.-A. (2013). Effect of mothering on the spatial exploratory behavior of quail chicks. *Dev. Psychobiol.* *55*, 256–264.
- Mariette, M.M., and Buchanan, K.L. (2016). Prenatal acoustic communication programs offspring for high posthatching temperatures in a songbird. *Science* *353*, 812–814.
- Markham, J.A., Taylor, A.R., Taylor, S.B., Bell, D.B., and Koenig, J.I. (2010). Characterization of the Cognitive Impairments Induced by Prenatal Exposure to Stress in the Rat. *Front. Behav. Neurosci.* *4*.

- Marshall, A.P., and Black, J.M. (1992). The effect of rearing experience on subsequent behavioural traits in Hawaiian Geese *Branta sandvicensis*: implications for the recovery programme. *Bird Conservation International* 2, 131–147.
- Marshall, D.J., and Uller, T. (2007). When Is a Maternal Effect Adaptive? *Oikos* 116, 1957–1963.
- Maruoka, T., Kodomari, I., Yamauchi, R., Wada, E., and Wada, K. (2009). Maternal enrichment affects prenatal hippocampal proliferation and open-field behaviors in female offspring mice. *Neurosci Lett* 454, 28–32.
- Masseti, M. (2020). Representations of birds in Etruscan art (6th - late 4th century BC). *Quaternary International* S1040618220308338.
- Mathews, F., Orros, M., McLaren, G., Gelling, M., and Foster, R. (2005). Keeping fit on the ark: assessing the suitability of captive-bred animals for release. *Biological Conservation* 121, 569–577.
- Mathur, P., Lau, B., and Guo, S. (2011). Conditioned place preference behavior in zebrafish. *Nature Protocols* 6, 338–345.
- Matthews, S.G. (2002). Early programming of the hypothalamo–pituitary–adrenal axis. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 13, 373–380.
- Maxwell, S.L., Fuller, R.A., Brooks, T.M., and Watson, J.E.M. (2016). Biodiversity: The ravages of guns, nets and bulldozers. *Nature* 536, 143–145.
- Mazuc, J., Bonneaud, C., Chastel, O., and Sorci, G. (2003). Social environment affects female and egg testosterone levels in the house sparrow (*Passer domesticus*). *Ecology Letters* 6, 1084–1090.
- McGhee, K.E., Pintor, L.M., Suhr, E.L., and Bell, A.M. (2012). Maternal exposure to predation risk decreases offspring antipredator behaviour and survival in threespined stickleback. *Functional Ecology* 26, 932–940.
- McGhee, K.E., Barbosa, A.J., Bissell, K., Darby, N.A., and Foshee, S. (2021). Maternal stress during pregnancy affects activity, exploration and potential dispersal of daughters in an invasive fish. *Animal Behaviour* 171, 41–50.
- McKim, M., and Thompson, W.R. (1975). Prenatal maternal enrichment and restriction in rats: Effects on biological and foster offspring. *Bull. Psychon. Soc.* 5, 259–260.
- McPhee, M.E. (2003). Generations in captivity increases behavioral variance: considerations for captive breeding and reintroduction programs. *Biological Conservation* 115, 71–77.
- Meaney, M.J. (2001). Maternal Care, Gene Expression, and the Transmission of Individual Differences in Stress Reactivity Across Generations. *Annu. Rev. Neurosci.* 24, 1161–1192.
- Mehler, J., Jusczyk, P., Lambertz, G., Halsted, N., Bertoncini, J., and Amiel-Tison, C. (1988). A precursor of language acquisition in young infants. *Cognition* 29, 143–178.
- Metcalfe, J., and Jacobs, W.J. (1998). Emotional memory: The effects of stress on “cool” and “hot” memory systems. In *The Psychology of Learning and Motivation: Advances in Research and Theory*, Vol. 38, (San Diego, CA, US: Academic Press), pp. 187–222.
- Metcalfe, N.B., Valdimarsson, S.K., and Morgan, I.J. (2003). The relative roles of domestication, rearing environment, prior residence and body size in deciding territorial contests between hatchery and wild juvenile salmon. *Journal of Applied Ecology* 40, 535–544.

- Mezrai, N., Arduini, L., Dickel, L., Chiao, C.-C., and Darmaillacq, A.-S. (2020). Awareness of danger inside the egg: Evidence of innate and learned predator recognition in cuttlefish embryos. *Learn Behav.*
- Mignon-Grasteau, S., Roussot, O., Delaby, C., Faure, J.M., Mills, A., Leterrier, C., Guéméné, D., Constantin, P., Mills, M., Lepape, G., et al. (2003). Factorial correspondence analysis of fear-related behaviour traits in Japanese quail. *Behavioural Processes* 61, 69–75.
- Mikulski, A., and Pijanowska, J. (2017). The contribution of individual and maternal experience in shaping *Daphnia* life history. *Hydrobiologia* 788, 55–63.
- Mills, A. (1997). The behavior of the japanese or domestic quail *Coturnix japonica*. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 21, 261–281.
- Mills, A.D., and Faure, J.-M. (1986). The estimation of fear in domestic quail: correlations between various methods and measures. *Biology of Behaviour* 11, 235–243.
- Mirza, S.N., and Provenza, F.D. (1990). Preference of the mother affects selection and avoidance of foods by lambs differing in age. *Applied Animal Behaviour Science* 28, 255–263.
- Modir, F., Elahdadi Salmani, M., Goudarzi, I., Lashkarboluki, T., and Abrari, K. (2014). Prenatal stress decreases spatial learning and memory retrieval of the adult male offspring of rats. *Physiology & Behavior* 129, 104–109.
- Mommer, B.C., and Bell, A.M. (2014). Maternal Experience with Predation Risk Influences Genome-Wide Embryonic Gene Expression in Threespined Sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *PLOS ONE* 9, e98564.
- Monaghan, P. (2008). Early growth conditions, phenotypic development and environmental change. *Phil. Trans. R. Soc. B* 363, 1635–1645.
- Monclús, R., Tiulim, J., and Blumstein, D.T. (2011). Older mothers follow conservative strategies under predator pressure: The adaptive role of maternal glucocorticoids in yellow-bellied marmots. *Hormones and Behavior* 60, 660–665.
- Morales, J., Lucas, A., and Velando, A. (2018). Maternal programming of offspring antipredator behavior in a seabird. *Behavioral Ecology* 29, 479–485.
- Moran, E.T. (2007). Nutrition of the Developing Embryo and Hatchling1. *Poultry Science* 86, 1043–1049.
- Morgan, K.N., and Tromborg, C.T. (2007). Sources of stress in captivity. *Applied Animal Behaviour Science* 102, 262–302.
- Moseby, K.E., Read, J.L., Paton, D.C., Copley, P., Hill, B.M., and Crisp, H.A. (2011). Predation determines the outcome of 10 reintroduction attempts in arid South Australia. *Biological Conservation* 144, 2863–2872.
- Möstl, E., Spendier, H., and Kotrschal, K. (2001). Concentration of immunoreactive progesterone and androgens in the yolk of hens' eggs (*Gallus domesticus*). *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 88, 62–65.
- Mougeot, F., Pérez-Rodríguez, L., Sumozas, N., and Terraube, J. (2009). Parasites, condition, immune responsiveness and carotenoid-based ornamentation in male red-legged partridge *Alectoris rufa*. *Journal of Avian Biology* 40, 67–74.

- Mourão, J.L., Barbosa, Á.C., Outor-Monteiro, D., and Pinheiro, V.M. (2010). Age affects the laying performance and egg hatchability of red-legged partridges (*Alectoris rufa*) in captivity. *Poultry Science* *89*, 2494–2498.
- Mousseau, T., and Fox, C.W. (1998). The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecology & Evolution* *13*, 403–407.
- Mousseau, T.A., Uller, T., Wapstra, E., and Badyaev, A.V. (2009). Evolution of maternal effects: past and present. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* *364*, 1035–1038.
- Mueller, M.S., Ruiz-García, N.A., García-Gasca, A., and Abreu-Grobois, F.A. (2019). Best swimmers hatch from intermediate temperatures: Effect of incubation temperature on swimming performance of olive ridley sea turtle hatchlings. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* *519*, 151186.
- Mulder, E.J.H., Robles de Medina, P.G., Huizink, A.C., Van den Bergh, B.R.H., Buitelaar, J.K., and Visser, G.H.A. (2002). Prenatal maternal stress: effects on pregnancy and the (unborn) child. *Early Human Development* *70*, 3–14.
- Müller, W., Eising, C.M., Dijkstra, C., and Grootuis, T.G.G. (2002). Sex differences in yolk hormones depend on maternal social status in Leghorn chickens (*Gallus gallus domesticus*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* *269*, 2249–2255.
- Müller, W., Deptuch, K., López-Rull, I., and Gil, D. (2007). Elevated yolk androgen levels benefit offspring development in a between-clutch context. *Behavioral Ecology* *18*, 929–936.
- Munch, K.L., Noble, D.W.A., Budd, L., Row, A., Wapstra, E., and While, G.M. (2018). Maternal presence facilitates plasticity in offspring behavior: insights into the evolution of parental care. *Behavioral Ecology* *29*, 1298–1306.
- Munck, A., Guyre, P.M., and Holbrook, N.J. (1984). Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev* *5*, 25–44.
- Muriel, J., Pérez-Rodríguez, L., Puerta, M., and Gil, D. (2015). Diverse dose–response effects of yolk androgens on embryo development and nestling growth in a wild passerine. *Journal of Experimental Biology* *218*, 2241–2249.
- Murphy, G.E.P., and Romanuk, T.N. (2014). A meta-analysis of declines in local species richness from human disturbances. *Ecology and Evolution* *4*, 91–103.
- Mychasiuk, R., Ilnytskyy, S., Kovalchuk, O., Kolb, B., and Gibb, R. (2011). Intensity matters: brain, behaviour and the epigenome of prenatally stressed rats. *Neuroscience* *180*, 105–110.
- Mychasiuk, R., Zahir, S., Schmold, N., Ilnytskyy, S., Kovalchuk, O., and Gibb, R. (2012). Parental enrichment and offspring development: Modifications to brain, behavior and the epigenome. *Behavioural Brain Research* *228*, 294–298.
- Mychasiuk, R., Harker, A., Ilnytskyy, S., and Gibb, R. (2013). Paternal stress prior to conception alters DNA methylation and behaviour of developing rat offspring. *Neuroscience* *241*, 100–105.
- Nadal, J., Ponz, C., and Margalida, A. (2018). Body proportions for the facilitation of walking, running and flying: the case of partridges. *BMC Evol Biol* *18*, 176.
- Naguib, M., Nemitz, A., and Gil, D. (2006). Maternal developmental stress reduces reproductive success of female offspring in zebra finches. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* *273*, 1901–1905.

- Naidoo, V., Naidoo, M., and Ghai, M. (2018). Cell- and tissue-specific epigenetic changes associated with chronic inflammation in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Scandinavian Journal of Immunology* *88*, e12723.
- Nakamori, T., Maekawa, F., Sato, K., Tanaka, K., and Ohki-Hamazaki, H. (2013). Neural basis of imprinting behavior in chicks. *Development, Growth & Differentiation* *55*, 198–206.
- Nätt, D., Lindqvist, N., Stranneheim, H., Lundeberg, J., Torjesen, P.A., and Jensen, P. (2009). Inheritance of Acquired Behaviour Adaptations and Brain Gene Expression in Chickens. *PLoS ONE* *4*, e6405.
- Nätt, D., Rubin, C.-J., Wright, D., Johnsson, M., Beltéky, J., Andersson, L., and Jensen, P. (2012). Heritable genome-wide variation of gene expression and promoter methylation between wild and domesticated chickens. *BMC Genomics* *13*, 59.
- Navara, K.J., Hill, G.E., and Mendonça, M.T. (2005). Variable Effects of Yolk Androgens on Growth, Survival, and Immunity in Eastern Bluebird Nestlings. *Physiological and Biochemical Zoology* *78*, 570–578.
- Newberry, R.C. (1995). Environmental enrichment: Increasing the biological relevance of captive environments. *Applied Animal Behaviour Science* *44*, 229–243.
- Nicol, C.J. (2004). Development, direction, and damage limitation: Social learning in domestic fowl. *Animal Learning & Behavior* *32*, 72–81.
- Nishio, H., Tokumo, K., and Hirai, T. (2006). Effects of perinatal stress on the anxiety-related behavior of the adolescence mouse. *International Journal of Developmental Neuroscience* *24*, 263–268.
- Noguera, J.C., and Velando, A. (2019). Bird embryos perceive vibratory cues of predation risk from clutch mates. *Nat Ecol Evol* *3*, 1225–1232.
- Norouzitallab, P., Baruah, K., Vanrompay, D., and Bossier, P. (2019). Can epigenetics translate environmental cues into phenotypes? *Science of The Total Environment* *647*, 1281–1293.
- Norton, J.M., and Wira, C.R. (1977). Dose-related effects of the sex hormones and cortisol on the growth of the bursa of fabricius in chick embryos. *Journal of Steroid Biochemistry* *8*, 985–987.
- Nowaczewski, S., Gosk, J., Kolanoś, B., Wolc, A., and Kontecka, H. (2012). Characteristics of the tonic immobility reaction in young farm-reared ring-neck pheasants, common quails and grey partridges. *J Ethol* *30*, 289–294.
- O’Brien, C.E., Jozet-Alves, C., Mezrai, N., Bellanger, C., Darmaillacq, A.-S., and Dickel, L. (2017). Maternal and Embryonic Stress Influence Offspring Behavior in the Cuttlefish *Sepia officinalis*. *Front. Physiol.* *8*, 981.
- van Oers, K., Drent, P.J., de Goede, P., and van Noordwijk, A.J. (2004). Realized heritability and repeatability of risk-taking behaviour in relation to avian personalities. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* *271*, 65–73.
- Okuliarová, M., Škrobánek, P., and Zeman, M. (2007). Effect of Increasing Yolk Testosterone Levels on Early Behaviour in Japanese Quail Hatchlings. *Acta Vet. Brno* *76*, 325–331.
- Okuliarová, M., Kankova, Z., Skrobánek, P., and Zeman, M. (2014). Bidirectional Selection for Yolk Testosterone Content in Japanese Quail. *Avian Biology Research* *7*.

- Okuliarova, M., Meddle, S.L., and Zeman, M. (2018). Egg deposition of maternal testosterone is primarily controlled by the preovulatory peak of luteinizing hormone in Japanese quail. *General and Comparative Endocrinology* 256, 23–29.
- Oostindjer, M., Bolhuis, J.E., van den Brand, H., and Kemp, B. (2009). Prenatal Flavor Exposure Affects Flavor Recognition and Stress-Related Behavior of Piglets. *Chemical Senses* 34, 775–787.
- Orcutt, Jr., F.S., and Orcutt, A.B. (1976). Nesting and Parental Behavior in Domestic Common Quail. *The Auk* 93, 135–141.
- Ostlund, B.D., Conradt, E., Crowell, S.E., Tyrka, A.R., Marsit, C.J., and Lester, B.M. (2016). Prenatal Stress, Fearfulness, and the Epigenome: Exploratory Analysis of Sex Differences in DNA Methylation of the Glucocorticoid Receptor Gene. *Front Behav Neurosci* 10, 147.
- O’Sullivan, R.J., Aykanat, T., Johnston, S.E., Rogan, G., Poole, R., Prodöhl, P.A., De Eyto, E., Primmer, C.R., McGinnity, P., and Reed, T.E. (2020). Captive-bred Atlantic salmon released into the wild have fewer offspring than wild-bred fish and decrease population productivity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 8.
- Ottinger, M.A., Schleidt, W.M., and Russek, E. (1982). Daily patterns of courtship and mating behavior in the male Japanese quail. *Behavioural Processes* 7, 223–233.
- Painter, R., Osmond, C., Gluckman, P., Hanson, M., Phillips, D., and Roseboom, T. (2008). Transgenerational effects of prenatal exposure to the Dutch famine on neonatal adiposity and health in later life. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 115, 1243–1249.
- Pallarés, M.E., Scacchi Bernasconi, P.A., Feleder, C., and Cutrera, R.A. (2007). Effects of prenatal stress on motor performance and anxiety behavior in Swiss mice. *Physiol Behav* 92, 951–956.
- Palme, R., and Möstl, E. (1993). Biotin-Streptavidin enzyme immunoassay for the determination of oestrogens and androgens in boar faeces. p.
- Parish, D.M.B., and Sotherton, N.W. (2007). The fate of released captive-reared grey partridges *Perdix perdix*: implications for reintroduction programmes. *Wildlife Biology* 13, 140–149.
- Parnpiansil, P., Jutapakdeegul, N., Chentanez, T., and Kotchabhakdi, N. (2003). Exercise during pregnancy increases hippocampal brain-derived neurotrophic factor mRNA expression and spatial learning in neonatal rat pup. *Neuroscience Letters* 352, 45–48.
- Partecke, J., and Schwabl, H. (2008). Organizational effects of maternal testosterone on reproductive behavior of adult house sparrows. *Developmental Neurobiology* 68, 1538–1548.
- Patin, V., Vincent, A., Lordi, B., and Caston, J. (2004). Does prenatal stress affect the motoric development of rat pups? *Developmental Brain Research* 149, 85–92.
- Patin, V., Lordi, B., Vincent, A., and Caston, J. (2005). Effects of prenatal stress on anxiety and social interactions in adult rats. *Developmental Brain Research* 160, 265–274.
- Penke, Z., Felszeghy, K., Fernette, B., Sage, D., Nyakas, C., and Burlet, A. (2001). Postnatal maternal deprivation produces long-lasting modifications of the stress response, feeding and stress-related behaviour in the rat. *European Journal of Neuroscience* 14, 747–755.
- Perez, M.F., and Lehner, B. (2019). Intergenerational and transgenerational epigenetic inheritance in animals. *Nat Cell Biol* 21, 143–151.
- Perez, E.C., Meurisse, M., Hervé, L., Georgelin, M., Constantin, P., Cornilleau, F., Love, S.A., Lévy, F., Calandreau, L., and Bertin, A. (2020). Object and food novelty induce distinct patterns of c-fos

- immunoreactivity in amygdala and striatum in domestic male chicks (*Gallus gallus domesticus*). *Behavioural Brain Research* *381*, 112453.
- Perez, J.A., Alonso, M.E., Prieto, R., Bartolome, D., and Gaudioso, D.V.R. (2010). Influence of the breeding system on the escape response of red-legged partridges (*Alectoris rufa*). *Poultry Science* *89*, 5–12.
- Perez, R.M., Wilson, D.E., and Gruen, K.D. (2002). Survival and Flight Characteristics of Captive-Reared and Wild Northern Bobwhites in Texas. p.
- Pérez-Rodríguez, L. (2008). Carotenoid-based ornamentation as a dynamic but consistent individual trait. *Behav Ecol Sociobiol* *62*, 995–1005.
- Pérez-Rodríguez, L., and Viñuela, J. (2008). Carotenoid-based bill and eye ring coloration as honest signals of condition: an experimental test in the red-legged partridge (*Alectoris rufa*). *Naturwissenschaften* *95*, 821–830.
- Pérez-Rodríguez, L., Martínez-Padilla, J., and Mougeot, F. (2013a). Carotenoid-based ornaments as signals of health status in birds: Evidences from two galliform species, the red-legged partridge (*Alectoris rufa*) and the red grouse (*Lagopus lagopus scoticus*). In *Carotenoids: Food Sources, Production and Health Benefits*, (Hauppauge, New York: Nova Science Publishers), pp. 173–198.
- Pérez-Rodríguez, L., Jovani, R., and Mougeot, F. (2013b). Fractal geometry of a complex plumage trait reveals bird's quality. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* *280*, 20122783.
- Perré, Y., Wauters, A.-M., and Richard-Yris, M.-A. (2002). Influence of mothering on emotional and social reactivity of domestic pullets. *Applied Animal Behaviour Science* *75*, 133–146.
- Pfannkuche, K.A., Gahr, M., Weites, I.M., Riedstra, B., Wolf, C., and Groothuis, T.G.G. (2011). Examining a pathway for hormone mediated maternal effects – Yolk testosterone affects androgen receptor expression and endogenous testosterone production in young chicks (*Gallus gallus domesticus*). *General and Comparative Endocrinology* *172*, 487–493.
- Pilz, K.M., Smith, H.G., Sandell, M.I., and Schwabl, H. (2003). Interfemale variation in egg yolk androgen allocation in the European starling: do high-quality females invest more? *Animal Behaviour* *65*, 841–850.
- Pittet, F. (2012). Comportement maternel chez la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*): Caractérisation, facteurs de variation et conséquences sur les jeunes. Thèse. Université de Rennes 1.
- Pittet, F., Coignard, M., Houdelier, C., Richard-Yris, M.-A., and Lumineau, S. (2012). Age Affects the Expression of Maternal Care and Subsequent Behavioural Development of Offspring in a Precocial Bird. *PLoS ONE* *7*, e36835.
- Pittet, F., Coignard, M., Houdelier, C., Richard-Yris, M.-A., and Lumineau, S. (2013). Effects of maternal experience on fearfulness and maternal behaviour in a precocial bird. *Animal Behaviour* *85*, 797–805.
- Pittet, F., Le Bot, O., Houdelier, C., Richard-Yris, M.-A., and Lumineau, S. (2014a). Motherless quail mothers display impaired maternal behavior and produce more fearful and less socially motivated offspring: Maternal Deprivation in Quail. *Developmental Psychobiology* *56*, 622–634.
- Pittet, F., Houdelier, C., de Margerie, E., Le Bot, O., Richard-Yris, M.-A., and Lumineau, S. (2014b). Maternal styles in a precocial bird. *Animal Behaviour* *87*, 31–37.

- Pokhrel, N., Sela-Donofeld, D., and Cinnamon, Y. (2021). The chick blastoderm during diapause, a landmark for optimization of preincubation storage conditions. *Poultry Science* 101227.
- Possenti, C.D., Parolini, M., Romano, A., Caprioli, M., Rubolini, D., and Saino, N. (2018). Effect of yolk corticosterone on begging in the yellow-legged gull. *Hormones and Behavior* 97, 121–127.
- Pruett, S.B. (2003). Stress and the immune system. *Pathophysiology* 9, 133–153.
- Putala, A., and Hissa, R. (1995). Effects of hand-rearing on physiology and anatomy in the grey partridge. *Wildlife Biology* 1, 27–31.
- Quillfeldt, P., Poisbleau, M., Parenteau, C., Trouvé, C., Demongin, L., van Noordwijk, H.J., and Möstl, E. (2011). Measuring corticosterone in seabird egg yolk and the presence of high yolk gestagen concentrations. *General and Comparative Endocrinology* 173, 11–14.
- Ramos, A., and Mormède, P. (1997). Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 22, 33–57.
- Rangel, P.L., Rodríguez, A., and Gutierrez, C.G. (2007). Testosterone directly induces progesterone production and interacts with physiological concentrations of LH to increase granulosa cell progesterone production in laying hens (*Gallus domesticus*). *Animal Reproduction Science* 102, 56–65.
- Rantanen, E.M., Buner, F., Riordan, P., Sotherton, N., and Macdonald, D.W. (2010). Vigilance, time budgets and predation risk in reintroduced captive-bred grey partridges *Perdix perdix*. *Applied Animal Behaviour Science* 127, 43–50.
- Räsänen, K., and Kruuk, L.E.B. (2007). Maternal effects and evolution at ecological time-scales. *Functional Ecology* 21, 408–421.
- Réale, D., and Festa-Bianchet, M. (2003). Predator-induced natural selection on temperament in bighorn ewes. *Animal Behaviour* 65, 463–470.
- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T., and Dingemanse, N.J. (2007). Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews* 82, 291–318.
- Reiner, A., Perkel, D.J., Bruce, L.L., Butler, A.B., Csillag, A., Kuenzel, W., Medina, L., Paxinos, G., Shimizu, T., Striedter, G., et al. (2004). Revised nomenclature for avian telencephalon and some related brainstem nuclei. *J. Comp. Neurol.* 473, 377–414.
- Reppert, S.M., and Schwartz, W.J. (1983). Maternal coordination of the fetal biological clock in utero. *Science* 220, 969–971.
- Rettenbacher, S., Möstl, E., and Groothuis, T.G.G. (2009). Gestagens and glucocorticoids in chicken eggs. *Gen Comp Endocrinol* 164, 125–129.
- Revest, J.-M., Dupret, D., Koehl, M., Funk-Reiter, C., Grosjean, N., Piazza, P.-V., and Abrous, D.N. (2009). Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Molecular Psychiatry* 14, 959–967.
- Riber, A.B., van de Weerd, H.A., de Jong, I.C., and Steinfeldt, S. (2018). Review of environmental enrichment for broiler chickens. *Poultry Science* 97, 378–396.
- Ricci, J.-C. (1983). Deux cas de participation à l'incubation du mâle de Perdrix rouge (*Alectoris rufa*) en France. *Alauda* 51, 64–65.

- Ricci, J.-C. (2016). Programme Perdrix rouge-Prédation-Habitats. Rapport IMPCF Etat d'avancement. Novembre 2016 : pp 32 + annexes.
- Ricci, J.-C. (2019). Etat des lieux de la génétique de la perdrix rouge en France continentale. Partie 1 : hybridation des populations autochtones avec la perdrix choukar. Rapport IMPCF : pp 18.
- Rich, E.L., and Romero, L.M. (2005). Exposure to chronic stress downregulates corticosterone responses to acute stressors. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 288, R1628–R1636.
- Riedstra, B., and Groothuis, T.G.G. (2004). Prenatal light exposure affects early feather-pecking behaviour in the domestic chick. *Animal Behaviour* 67, 1037–1042.
- Riedstra, B., Pfannkuche, K.A., and Groothuis, T.G.G. (2013). Increased exposure to yolk testosterone has feminizing effects in chickens, *Gallus gallus domesticus*. *Animal Behaviour* 85, 701–708.
- Ripple, W.J., Wolf, C., Newsome, T.M., Betts, M.G., Ceballos, G., Courchamp, F., Hayward, M.W., Valkenburgh, B.V., Wallach, A.D., and Worm, B. (2019). Are we eating the world's megafauna to extinction? *Conservation Letters* 12, e12627.
- Rivier, C., and Rivest, S. (1991). Effect of Stress on the Activity of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis: Peripheral and Central Mechanisms¹. *Biology of Reproduction* 45, 523–532.
- Roche, D.P., McGhee, K.E., and Bell, A.M. (2012). Maternal predator-exposure has lifelong consequences for offspring learning in threespined sticklebacks. *Biology Letters* 8, 932–935.
- Roche, E.A., Cuthbert, F.J., and Arnold, T.W. (2008). Relative fitness of wild and captive-reared piping plovers: Does egg salvage contribute to recovery of the endangered Great Lakes population? *Biological Conservation* 141, 3079–3088.
- Rodewald, P., Hyvärinen, P., and Hirvonen, H. (2011). Wild origin and enriched environment promote foraging rate and learning to forage on natural prey of captive reared Atlantic salmon parr: Enriched rearing promotes foraging of juvenile salmon. *Ecology of Freshwater Fish* 20, 569–579.
- Rodgers, A.B., Morgan, C.P., Bronson, S.L., Revello, S., and Bale, T.L. (2013). Paternal Stress Exposure Alters Sperm MicroRNA Content and Reprograms Offspring HPA Stress Axis Regulation. *Journal of Neuroscience* 33, 9003–9012.
- Rogers, L.J., Zucca, P., and Vallortigara, G. (2004). Advantages of having a lateralized brain. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 271, S420–S422.
- Romero, L.M., Platts, S.H., Schoech, S.J., Wada, H., Crespi, E., Martin, L.B., and Buck, C.L. (2015). Understanding stress in the healthy animal – potential paths for progress. *Stress* 18, 491–497.
- Roseboom, T., de Rooij, S., and Painter, R. (2006). The Dutch famine and its long-term consequences for adult health. *Early Human Development* 82, 485–491.
- Roussel, S., Hemsworth, P.H., Boissy, A., and Duvaux-Ponter, C. (2004). Effects of repeated stress during pregnancy in ewes on the behavioural and physiological responses to stressful events and birth weight of their offspring. *Applied Animal Behaviour Science* 85, 259–276.
- Royle, N.J., Smiseth, P., and Kölliker, M. (2012). The evolution of parental care: Summary, conclusions and implications. *The Evolution of Parental Care* 327–345.

- Rozen-Rechels, D., Dupoué, A., Meylan, S., Decencière, B., Guingand, S., and Le Galliard, J.-F. (2018). Water restriction in viviparous lizards causes transgenerational effects on behavioral anxiety and immediate effects on exploration behavior. *Behav Ecol Sociobiol* 72, 23.
- Rubolini, D., Romano, M., Boncoraglio, G., Ferrari, R.P., Martinelli, R., Galeotti, P., Fasola, M., and Saino, N. (2005). Effects of elevated egg corticosterone levels on behavior, growth, and immunity of yellow-legged gull (*Larus michahellis*) chicks. *Hormones and Behavior* 47, 592–605.
- Ruuskanen, S., and Hsu, B.-Y. (2018). Maternal Thyroid Hormones: An Unexplored Mechanism Underlying Maternal Effects in an Ecological Framework. *Physiological and Biochemical Zoology* 91, 904–916.
- Ruuskanen, S., and Laaksonen, T. (2010). Yolk hormones have sex-specific long-term effects on behavior in the pied flycatcher (*Ficedula hypoleuca*). *Hormones and Behavior* 57, 119–127.
- Ruuskanen, S., and Laaksonen, T. (2013). Sex-specific effects of yolk androgens on begging behavior and digestion in pied flycatchers. *Journal of Avian Biology* 44, 331–338.
- Rymešová, D., Tomášek, O., and Šálek, M. (2013). Differences in mortality rates, dispersal distances and breeding success of commercially reared and wild grey partridges in the Czech agricultural landscape. *Eur J Wildl Res* 59, 147–158.
- Sage, R.B., Putaala, A., Pradell-Ruiz, V., Greenall, T.L., Woodburn, M.I.A., and Draycott, R.A.H. (2003). Incubation success of released hand-reared pheasants *Phasianus colchicus* compared with wild ones. *Wildlife Biology* 9, 179–184.
- Saino, N., Romano, M., Ferrari, R.P., Martinelli, R., and Møller, A.P. (2005). Stressed mothers lay eggs with high corticosterone levels which produce low-quality offspring. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology* 303A, 998–1006.
- Saino, N., Ferrari, R.P., Romano, M., Martinelli, R., Lacroix, A., Gil, D., and Møller, A.P. (2006). Maternal allocation of androgens and antagonistic effects of yolk androgens on sons and daughters. *Behavioral Ecology* 17, 172–181.
- Saint-Dizier, H., Constantin, P., Davies, D.C., Leterrier, C., Lévy, F., and Richard, S. (2009). Subdivisions of the arcopallium/posterior pallial amygdala complex are differentially involved in the control of fear behaviour in the Japanese quail. *Brain Research Bulletin* 79, 288–295.
- Saint-Jalme, M. (1990). La reproduction chez la caille des blés (*Coturnix coturnix coturnix*) : études expérimentales des cycles saisonniers et de la variabilité interindividuelle. Rennes 1.
- Salvanes, A.G.V., Moberg, O., Ebbesson, L.O.E., Nilsen, T.O., Jensen, K.H., and Braithwaite, V.A. (2013). Environmental enrichment promotes neural plasticity and cognitive ability in fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280, 20131331.
- Sánchez-García, C., Alonso, M.E., Tizado, E.J., Pérez, J.A., Armenteros, J.A., and Gaudioso, V.R. (2016). Anti-predator behaviour of adult red-legged partridge (*Alectoris rufa*) tutors improves the defensive responses of farm-reared broods. *British Poultry Science* 57, 306–316.
- Sandi, C., and Pinelo-Nava, M.T. (2007). Stress and Memory: Behavioral Effects and Neurobiological Mechanisms. *Neural Plasticity* 2007, 1–20.
- Sanga, U., Provenza, F.D., and Villalba, J.J. (2011). Transmission of self-medicative behaviour from mother to offspring in sheep. *Animal Behaviour* 82, 219–227.
- Santilli, F., and Bagliacca, M. (2017). Effect of perches on morphology, welfare and behaviour of captive reared pheasants. *Italian Journal of Animal Science* 16, 317–320.

- Santilli, F., and Bagliacca, M. (2019). Fear and behavior of young pheasants reared with or without parent figure. *Avian Biology Research* 12, 23–27.
- Santilli, F., Galardi, L., and Bagliacca, M. (2012). First Evaluation of Different Captive Rearing Techniques for the Re-Establishment of the Red Legged Partridge Populations. *Avian Biology Research* 5, 147–153.
- Sapolsky, R.M., Romero, L.M., and Munck, A.U. (2000). How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev* 21, 55–89.
- Sarkar, P., Bergman, K., Fisk, N.M., O'Connor, T.G., and Glover, V. (2007). Amniotic fluid testosterone: relationship with cortisol and gestational age. *Clinical Endocrinology* 67, 743–747.
- Sarraude, T., Hsu, B.-Y., Groothuis, T., and Ruuskanen, S. (2020). Testing the short-and long-term effects of elevated prenatal exposure to different forms of thyroid hormones. *PeerJ* 8, e10175.
- Sauveur, B. (1988). *Reproduction des volailles et production d'oeufs* (Quae).
- Schaal, B. (2000). Human Foetuses Learn Odours from their Pregnant Mother's Diet. *Chemical Senses* 25, 729–737.
- Schaal, B., and Orgeur, P. (1992). Olfaction in utero: Can the rodent model be generalized? *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B* 44, 245–278.
- Schaal, B., Orgeur, P., and Arnould, C. (1995). Olfactory Preferences in Newborn Lambs: Possible Influence of Prenatal Experience. *Behav* 132, 351–365.
- Schmidt, K.L., MacDougall-Shackleton, E.A., Soma, K.K., and MacDougall-Shackleton, S.A. (2014). Developmental programming of the HPA and HPG axes by early-life stress in male and female song sparrows. *General and Comparative Endocrinology* 196, 72–80.
- Schneider, M.L., Roughton, E.C., Koehler, A.J., and Lubach, G.R. (1999). Growth and Development Following Prenatal Stress Exposure in Primates: An Examination of Ontogenetic Vulnerability. *Child Development* 70, 263–274.
- Schneirla, T.C. (1965). Aspects of Stimulation and Organization in Approach/Withdrawal Processes Underlying Vertebrate Behavioral Development. *Advances in the Study of Behavior* 1, 1–74.
- Schulz, K.M., Pearson, J.N., Neeley, E.W., Berger, R., Leonard, S., Adams, C.E., and Stevens, K.E. (2011). Maternal stress during pregnancy causes sex-specific alterations in offspring memory performance, social interactions, indices of anxiety, and body mass. *Physiology & Behavior* 104, 340–347.
- Schwabl, H. (1993). Yolk is a source of maternal testosterone for developing birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90, 11446–11450.
- Schwabl, H. (1996). Environment modifies the testosterone levels of a female bird and its eggs. *J Exp Zool* 276, 157–163.
- Schwabl, H. (1997). The Contents of Maternal Testosterone in House Sparrow *Passer domesticus* Eggs Vary with Breeding Conditions. *Naturwissenschaften* 84, 406–408.
- Schwarzenberger, F., Tomášová, K., Holečková, D., Matern, B., and Möstl, E. (1996). Measurement of fecal steroids in the black rhinoceros (*Diceros bicornis*) using group-specific enzyme immunoassays for 20-oxo-pregnanes. *Zoo Biology* 15, 159–171.

- Schweitzer, C., Goldstein, M.H., Place, N.J., and Adkins-Regan, E. (2013). Long-lasting and sex-specific consequences of elevated egg yolk testosterone for social behavior in Japanese quail. *Hormones and Behavior* 63, 80–87.
- Seay, B., and Harlow, H.F. (1965). Maternal separation in the rhesus monkey. *Journal of Nervous and Mental Disease* 140, 434–441.
- Seay, B., Alexander, B.K., and Harlow, H.F. (1964). Maternal behavior of socially deprived Rhesus monkeys. *The Journal of Abnormal and Social Psychology* 69, 345–354.
- Seiter, M., and Schausberger, P. (2015). Maternal intraguild predation risk affects offspring anti-predator behavior and learning in mites. *Scientific Reports* 5, 15046.
- Shama, L.N.S., and Wegner, K.M. (2014). Grandparental effects in marine sticklebacks: transgenerational plasticity across multiple generations. *Journal of Evolutionary Biology* 27, 2297–2307.
- Shama, L.N.S., Mark, F.C., Strobel, A., Lokmer, A., John, U., and Mathias Wegner, K. (2016). Transgenerational effects persist down the maternal line in marine sticklebacks: gene expression matches physiology in a warming ocean. *Evol Appl* 9, 1096–1111.
- Sheriff, M.J., and Love, O.P. (2013). Determining the adaptive potential of maternal stress. *Ecology Letters* 16, 271–280.
- Sheriff, M.J., Krebs, C.J., and Boonstra, R. (2010). The ghosts of predators past: population cycles and the role of maternal programming under fluctuating predation risk. *Ecology* 91, 2983–2994.
- Sheriff, M.J., Krebs, C.J., and Boonstra, R. (2011). From process to pattern: how fluctuating predation risk impacts the stress axis of snowshoe hares during the 10-year cycle. *Oecologia* 166, 593–605.
- Sherry, D.F. (1977). Parental food-calling and the role of the young in the Burmese red junglefowl (*Gallus gallus spadiceus*). *Animal Behaviour* 25, 594–601.
- Shier, D.M., and Owings, D.H. (2006). Effects of predator training on behavior and post-release survival of captive prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*). *Biological Conservation* 132, 126–135.
- Shine, R., Madsen, T.R.L., Elphick, M.J., and Harlow, P.S. (1997). The Influence of Nest Temperatures and Maternal Brooding on Hatchling Phenotypes in Water Pythons. *Ecology* 78, 1713–1721.
- Short, A.K., Fennell, K.A., Perreau, V.M., Fox, A., O’Byrne, M.K., Kim, J.H., Bredy, T.W., Pang, T.Y., and Hannan, A.J. (2016). Elevated paternal glucocorticoid exposure alters the small noncoding RNA profile in sperm and modifies anxiety and depressive phenotypes in the offspring. *Transl Psychiatry* 6, e837–e837.
- Sih, A., and Del Giudice, M. (2012). Linking behavioural syndromes and cognition: a behavioural ecology perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 367, 2762–2772.
- Simitzis, P.E., Deligeorgis, S.G., Bizelis, J.A., and Fegeros, K. (2008). Feeding preferences in lambs influenced by prenatal flavour exposure. *Physiology & Behavior* 93, 529–536.
- Siviter, H., Charles Deeming, D., Rosenberger, J., Burman, O.H.P., Moszuti, S.A., and Wilkinson, A. (2017). The impact of egg incubation temperature on the personality of oviparous reptiles. *Anim Cogn* 20, 109–116.

- Skinner, M.K. (2008). What is an epigenetic transgenerational phenotype? F3 or F2. *Reprod Toxicol* 25, 2–6.
- Skinner, M.K. (2011). Environmental epigenetic transgenerational inheritance and somatic epigenetic mitotic stability. *Epigenetics* 6, 838–842.
- Skinner, M.K., Anway, M.D., Savenkova, M.I., Gore, A.C., and Crews, D. (2008). Transgenerational Epigenetic Programming of the Brain Transcriptome and Anxiety Behavior. *PLoS ONE* 3, e3745.
- Slagsvold, T., Hansen, B.T., Johannessen, L.E., and Lifjeld, J.T. (2002). Mate choice and imprinting in birds studied by cross-fostering in the wild. *Proc. R. Soc. Lond. B* 269, 1449–1455.
- Slaugh, B.T., Flinders, J.T., Roberson, J.A., and Johnston, N.P. (1992). Effect of rearing method on chukar survival. *The Great Basin Naturalist* 52, 25–28.
- Smith, B.R., and Blumstein, D.T. (2008). Fitness consequences of personality: a meta-analysis. *Behavioral Ecology* 19, 448–455.
- Smith, B.R., and Blumstein, D.T. (2010). Behavioral types as predictors of survival in Trinidadian guppies (*Poecilia reticulata*). *Behavioral Ecology* 21, 919–926.
- Smith, S., Fusani, L., Boglarka, B., Sanchez-Donoso, I., and Marasco, V. (2018). Lack of introgression of Japanese quail in a captive population of common quail. *Eur J Wildl Res* 64, 51.
- Sneddon, H., Hadden, R., and Hepper, P.G. (1998). Chemosensory Learning in the Chicken Embryo. *Physiology & Behavior* 64, 133–139.
- Snyder, N.F.R., Derrickson, S.R., Beissinger, S.R., Wiley, J.W., Smith, T.B., Toone, W.D., and Miller, B. (1996). Limitations of Captive Breeding in Endangered Species Recovery. *Conservation Biology* 10, 338–348.
- Sockman, K.W., and Schwabl, H. (2000). Yolk androgens reduce offspring survival. *Proc. R. Soc. Lond. B* 267, 1451–1456.
- Sorci, G., and Clobert, J. (1995). Effects of maternal parasite load on offspring life-history traits in the common lizard (*Lacerta vivipara*). *Journal of Evolutionary Biology* 8, 711–723.
- Spanó, S., and Csermely, D. (1985). Male brooding in the red-legged partridge *Alectoris rufa*. *Bolletino Di Zoologia* 52, 367–369.
- Sparling, J.E., Barbeau, K., Boileau, K., and Konkle, A.T.M. (2020). Environmental enrichment and its influence on rodent offspring and maternal behaviours, a scoping style review of indices of depression and anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 197, 172997.
- St-Cyr, S., Abuaish, S., Spinieli, R.L., and McGowan, P.O. (2018). Maternal Predator Odor Exposure in Mice Programs Adult Offspring Social Behavior and Increases Stress-Induced Behaviors in Semi-Naturalistic and Commonly-Used Laboratory Tasks. *Front. Behav. Neurosci.* 12.
- van Steenwyk, G., and Mansuy, I.M. (2021). Epigenetics and the Impact of Early-Life Stress Across Generations. In *Stress: Genetics, Epigenetics and Genomics*, (Elsevier), pp. 297–307.
- van Steenwyk, G., Roszkowski, M., Manuella, F., Franklin, T.B., and Mansuy, I.M. (2018). Transgenerational inheritance of behavioral and metabolic effects of paternal exposure to traumatic stress in early postnatal life: evidence in the 4th generation. *Environmental Epigenetics* 4.

- Steingrund, P., and Fernö, A. (1997). Feeding behaviour of reared and wild cod and the effect of learning: two strategies of feeding on the two-spotted goby. *Journal of Fish Biology* 51, 334–348.
- Storm, J.J., and Lima, S.L. (2010). Mothers Forewarn Offspring about Predators: A Transgenerational Maternal Effect on Behavior. *The American Naturalist* 175, 382–390.
- Suomi, S.J., Harlow, H.F., and Kimball, S.D. (1971). Behavioral Effects of Prolonged Partial Social Isolation in the Rhesus Monkey. *Psychol Rep* 29, 1171–1177.
- Tanvez, A., Parisot, M., Chastel, O., and Leboucher, G. (2008). Does maternal social hierarchy affect yolk testosterone deposition in domesticated canaries? *Animal Behaviour* 75, 929–934.
- Tatemoto, P., Bernardino, T., Alves, L., Cristina de Oliveira Souza, A., Palme, R., and José Zanella, A. (2019). Environmental enrichment for pregnant sows modulates HPA-axis and behavior in the offspring. *Applied Animal Behaviour Science* 220, 104854.
- Teixeira, C.P., de Azevedo, C.S., Mendl, M., Cipreste, C.F., and Young, R.J. (2007). Revisiting translocation and reintroduction programmes: the importance of considering stress. *Animal Behaviour* 73, 1–13.
- Terry, L.M., and Johanson, I.B. (1996). Effects of altered olfactory experiences on the development of infant rats' responses to odors. *Developmental Psychobiology* 29, 353–377.
- Thompson, R.P., Nilsson, E., and Skinner, M.K. (2020). Environmental epigenetics and epigenetic inheritance in domestic farm animals. *Animal Reproduction Science* 106316.
- Thorhallsdottir, A.G., Provenza, F.D., and Balph, D.F. (1990). Ability of lambs to learn about novel foods while observing or participating with social models. *Applied Animal Behaviour Science* 25, 25–33.
- Tinbergen, N. (1963). On aims and methods of Ethology. *Zeitschrift Für Tierpsychologie* 20, 410–433.
- Tobi, E.W., Lumey, L.H., Talens, R.P., Kremer, D., Putter, H., Stein, A.D., Slagboom, P.E., and Heijmans, B.T. (2009). DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Human Molecular Genetics* 18, 4046–4053.
- Tschirren, B., Richner, H., and Schwabl, H. (2004). Ectoparasite-modulated deposition of maternal androgens in great tit eggs. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 271, 1371–1375.
- Tzschentke, T.M. (2007). Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade. *Addict Biol* 12, 227–462.
- Uller, T. (2008). Developmental plasticity and the evolution of parental effects. *Trends in Ecology & Evolution* 23, 432–438.
- Vallée, M., Mayo, W., Dellu, F., Le Moal, M., Simon, H., and Maccari, S. (1997). Prenatal Stress Induces High Anxiety and Postnatal Handling Induces Low Anxiety in Adult Offspring: Correlation with Stress-Induced Corticosterone Secretion. *J. Neurosci.* 17, 2626–2636.
- Vargas, J.M., Guerrero, J.C., Farfán, M.A., Barbosa, A.M., and Real, R. (2006). Land use and environmental factors affecting red-legged partridge (*Alectoris rufa*) hunting yields in southern Spain. *Eur J Wildl Res* 52, 188–195.
- Verboven, N., Monaghan, P., Evans, D.M., Schwabl, H., Evans, N., Whitelaw, C., and Nager, R.G. (2003). Maternal condition, yolk androgens and offspring performance: a supplemental feeding

experiment in the lesser black-backed gull (*Larus fuscus*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270, 2223–2232.

Voiculescu, S.E., Rosca, A.E., Zeca, V., Zagrean, L., and Zagrean, A.M. (2015). Impact of maternal melatonin suppression on forced swim and tail suspension behavioral despair tests in adult offspring. *Journal of Medicine and Life* 8, 5.

Voiculescu, S.E., Le Duc, D., Roșca, A.E., Zeca, V., Chițimuş, D.M., Arsene, A.L., Drăgoi, C.M., Nicolae, A.C., Zăgrean, L., Schöneberg, T., et al. (2016). Behavioral and molecular effects of prenatal continuous light exposure in the adult rat. *Brain Research* 1650, 51–59.

Vossen, Timmermans, and Albers (1999). EVIDENCE FOR THE EXISTENCE OF MOTHERING STYLES IN GUINEA PIGS (*CAVIA APEREA F. PORCELLUS*). *Behaviour* 136, 469–479.

Wang, N., Kimball, R.T., Braun, E.L., Liang, B., and Zhang, Z. (2013). Assessing Phylogenetic Relationships among Galliformes: A Multigene Phylogeny with Expanded Taxon Sampling in Phasianidae. *PLOS ONE* 8, e64312.

Ward, I.D., Zucchi, F.C.R., Robbins, J.C., Falkenberg, E.A., Olson, D.M., Benzie, K., and Metz, G.A. (2013). Transgenerational programming of maternal behaviour by prenatal stress. *BMC Pregnancy Childbirth* 13, S9.

Watson, M., Aebischer, N.J., and Cresswell, W. (2007). Vigilance and fitness in grey partridges *Perdix perdix*: the effects of group size and foraging-vigilance trade-offs on predation mortality. *J Anim Ecology* 76, 211–221.

Wauters, A.M., Richard-Yris, M.A., Pierre, J.S., Lunel, C., and Richard, J.P. (1999). Influence of Chicks and Food Quality on Food Calling in Broody Domestic Hens. *Behaviour* 136, 919–933.

Wauters, A.-M., Richard-Yris, M.-A., and Tavec, N. (2002). Maternal Influences on Feeding and General Activity in Domestic Chicks. *Ethology* 108, 529–540.

Weaver, I.C.G., Cervoni, N., Champagne, F.A., D’Alessio, A.C., Sharma, S., Seckl, J.R., Dymov, S., Szyf, M., and Meaney, M.J. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat Neurosci* 7, 847–854.

Weaver, I.C.G., D’Alessio, A.C., Brown, S.E., Hellstrom, I.C., Dymov, S., Sharma, S., Szyf, M., and Meaney, M.J. (2007). The Transcription Factor Nerve Growth Factor-Inducible Protein A Mediates Epigenetic Programming: Altering Epigenetic Marks by Immediate-Early Genes. *J Neurosci* 27, 1756–1768.

Wehmer, F., Porter, R.H., and Scales, B. (1970). Pre-mating and Pregnancy Stress in Rats affects Behaviour of Grandpups. *Nature* 227, 622–622.

Weinstock, M. (2007). Gender Differences in the Effects of Prenatal Stress on Brain Development and Behaviour. *Neurochem Res* 32, 1730–1740.

Weinstock, M. (2008). The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 32, 1073–1086.

Weinstock, M. (2017). Prenatal stressors in rodents: Effects on behavior. *Neurobiology of Stress* 6, 3–13.

Welberg, L. a. M., and Seckl, J.R. (2001). Prenatal Stress, Glucocorticoids and the Programming of the Brain. *Journal of Neuroendocrinology* 13, 113–128.

Wells, D.L., and Hepper, P.G. (2006). Prenatal olfactory learning in the domestic dog. *Animal*

Behaviour 72, 681–686.

Wetherbee, D.K. (1961). Investigations in the Life History of the Common Coturnix. *American Midland Naturalist* 65, 168.

Wetmore, A. (1952). A revised classification for the birds of the world. *Smithsonian Miscellaneous Collections* 117, 24.

White, G.C., and Garrott, R.A. (2012). *Analysis of Wildlife Radio-Tracking Data* (Elsevier).

White, N., and McDonald, R. (1993). Acquisition of a spatial conditioned place preference is impaired by amygdala lesions and improved by fornix lesions. *Behavioural Brain Research* 55, 269–281.

Whiteside, M.A., Sage, R., and Madden, J.R. (2015). Diet complexity in early life affects survival in released pheasants by altering foraging efficiency, food choice, handling skills and gut morphology. *J Anim Ecol* 84, 1480–1489.

Whiteside, M.A., Sage, R., and Madden, J.R. (2016). Multiple behavioural, morphological and cognitive developmental changes arise from a single alteration to early life spatial environment, resulting in fitness consequences for released pheasants. *Royal Society Open Science* 3, 160008.

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

Widman, N., Feng, S., Jacobsen, S.E., and Pellegrini, M. (2014). Epigenetic differences between shoots and roots in *Arabidopsis* reveals tissue-specific regulation. *Epigenetics* 9, 236–242.

Willems, E., Decuypere, E., Buyse, J., and Everaert, N. (2014). Importance of albumen during embryonic development in avian species, with emphasis on domestic chicken. *World's Poultry Science Journal* 70, 503–518.

Wingfield, J.C., Vleck, C.M., and Moore, M.C. (1992). Seasonal changes of the adrenocortical response to stress in birds of the Sonoran desert. *Journal of Experimental Zoology* 264, 419–428.

Wingfield, J.C., Maney, D.L., Breuner, C.W., Jacobs, J.D., Lynn, S., Ramenofsky, M., and Richardson, R.D. (1998). Ecological Bases of Hormone—Behavior Interactions: The “Emergency Life History Stage.” *Am Zool* 38, 191–206.

WWF (2018). *Living Planet Report 2018 - Risk and resilience in a new era.* (Gland, Switzerland: World Wildlife Fund International).

Yao, Y., Robinson, A.M., Zucchi, F.C., Robbins, J.C., Babenko, O., Kovalchuk, O., Kovalchuk, I., Olson, D.M., and Metz, G.A. (2014). Ancestral exposure to stress epigenetically programs preterm birth risk and adverse maternal and newborn outcomes. *BMC Medicine* 12, 121.

Yeshurun, S., Short, A.K., Bredy, T.W., Pang, T.Y., and Hannan, A.J. (2017). Paternal environmental enrichment transgenerationally alters affective behavioral and neuroendocrine phenotypes. *Psychoneuroendocrinology* 77, 225–235.

Youngson, N.A., and Whitelaw, E. (2008). Transgenerational Epigenetic Effects. *Annu. Rev. Genom. Hum. Genet.* 9, 233–257.

Zhang, X., and Ho, S.-M. (2011). Epigenetics meets endocrinology. *J Mol Endocrinol* 46, R11–R32.

Zipple, M.N., Archie, E.A., Tung, J., Altmann, J., and Alberts, S.C. (2019). Intergenerational effects of early adversity on survival in wild baboons. *ELife* 8, e47433.

Annexes

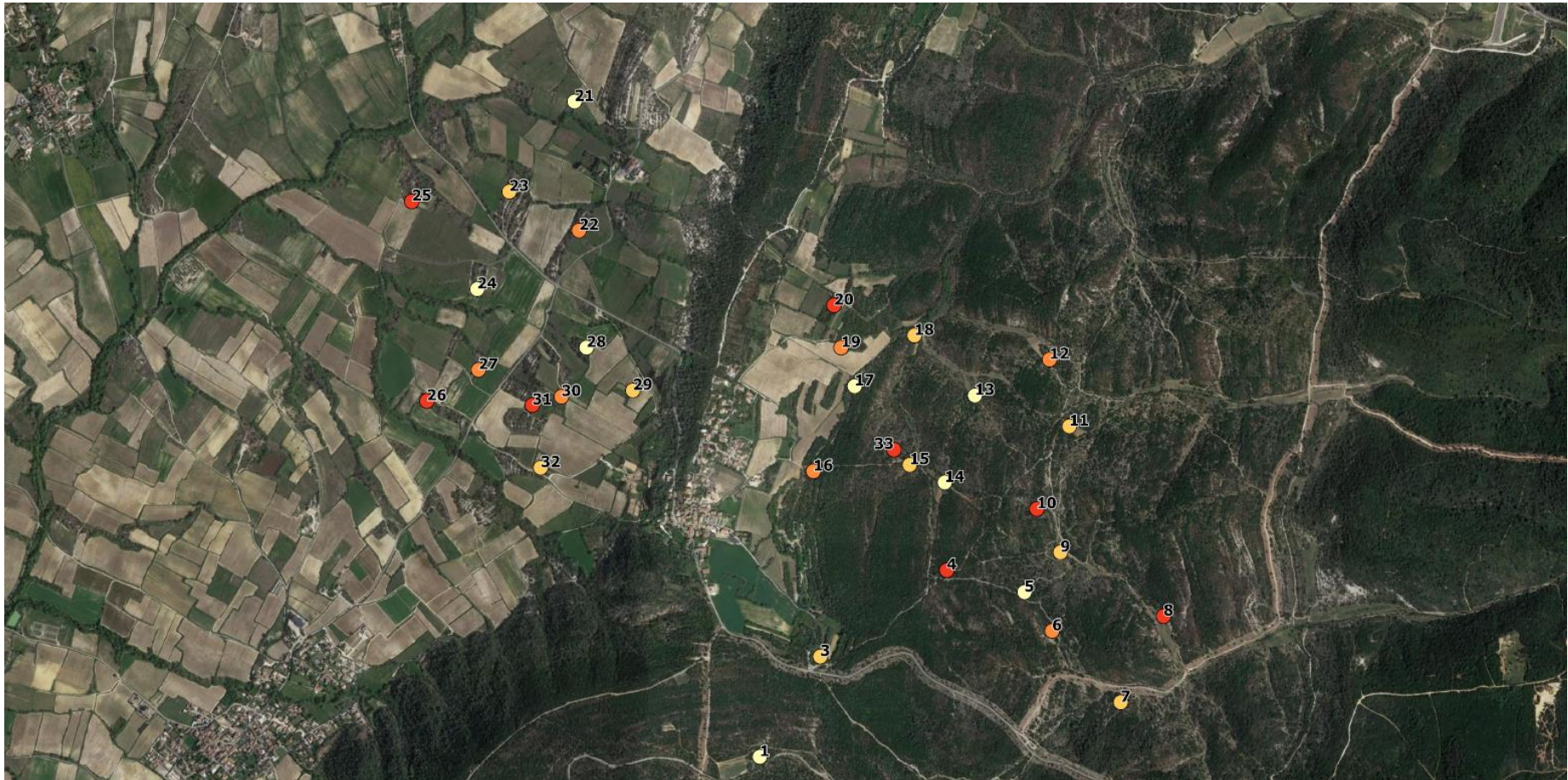
Annexe I - Caractéristiques des territoires de mise en nature

En août 2019 et 2020, 400 perdrix ont été mises en nature sur chacun des territoires présentés ci-après. Les informations correspondantes aux années 2019 et 2020 sont présentées sous la forme « 2019 - 2020 ». GA = GibAdapt ou perdrix mise en nature dans le cadre de nos expériences. FDC = Perdrix mises en nature par la FDC. Tirs = Perdrix lâchées tout au long de la saison de chasse, perdrix grises et rouges confondues. PMA = Prélèvement Maximum Autorisé. IKA = Indice Kilométriques d'Abondance.

	DRÔME	GARD	VENDÉE
CARACTÉRISTIQUES DU TERRITOIRE			
Surface (ha)	3645.71	870	1182
Dont réserve de chasse (ha)	-	-	120
Altitude min - max (m)	487 à 1501	85 à 280	0 à 38
Précipitations annuelles (mm)	755 - 857.6	516.1 - 502.2	835.6 - ?
Température annuelle moyenne (°C)	14.4 - 14.8	16.6 - 16.5	13.5 - 14.6
TYPLOGIE DU MILIEU (%)			
Céréales et autres cultures	9.18	10.07	46.53
Vergers et oliveraies	2.34	0.05	-
Vignes	2.98	9.72	-
Bande enherbées et pâturage	16.64	3.24	-
Friche	-	7.754	29.61
Steppes méditerranéennes	-	5.324	-
Garrigues	-	60.99	-
Landes et broussailles	1.86	-	-
Zone boisée	67.0	0.18	13.79
Zone humide	-	-	10.07
Tissu urbain	-	2.661	-
PRESSION DE CHASSE			
Chasseurs	61	10 à 15	85
Jours de chasse à la perdrix / semaine	3	2	1 + jours fériés
PMA / chasseurs / saison	-	15	-
PMA / chasseurs / jours de chasse	-	3 - 2	2
PERDRIX			
Mise en nature	400 GA - 400 GA	400 GA - 400 GA	400 GA - 400 GA ; 216 FDC - 200 FDC ; 900 tir - 600 tir
Autochtones (couples / 100 ha)	< 5	2.67 - 7 à 9	1 à 2
DENSITÉ DE PRÉDATEURS			
Rapaces	-	0.62 (nb / 100 ha)	3-4 (couples / 100 ha)
Renards	0.1658 - 0.2842 (IKA)	-	-
Sangliers	0.0237 - 0.0947 (IKA)	-	-
Fouines et martres	0.0000 - 0.0000 (IKA)	-	-
Blaireaux	0.1184 - 0.2131 (IKA)	-	-
Contrôle des prédateurs	Oui	Oui	Oui
AMÉNAGEMENT DU TERRITOIRE			
Abreuvoirs (nb / 100 ha)	-	6.8	4
Agrainoirs (nb / 100 ha)	-	7.9	4
Cultures à gib. et vignesensemencées (ha)	0 - 6	7.38 - 7.38	4.32 - 3.10

Annexe II - Répartition des parquets et volières de pré-lâcher

Cartographie du territoire de Montagnac (Gard) où 400 perdrix ont été mises en nature en 2019 et en 2020. Les points et les numéros associés représentent les parquets de pré-lâcher utilisés pour la mise en nature des oiseaux. La couleur des points correspond aux parquets de pré-lâcher attribués aux perdrix des groupes PRE-POST, T-POST, PRE-T et T-T (CHAPITRE - IVB). Carte réalisée avec le logiciel QGIS 2.18.20.



Annexe III - Traitement prénatal mis en place chez les perdrix F0

Exemple d'une semaine type du traitement mis en place chez les perdrix F0. Chaque jour, pendant 30 jours, les perdrix F0 étaient exposées à une à trois stimulations quotidiennes permettant de stimuler l'expression de leurs comportements anti-prédateur (orange) ainsi que leurs comportements de confort (jaune), de recherche alimentaire (vert) et d'exploration (bleu).

	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jour 6	Jour 7
08:00-09:00			Astroturf <i>Aliment coloré</i> <i>Vers</i>				
09:00-10:00					Buse - Leurre	Bain de poussière <i>Sable</i>	
10:00-11:00	Buse - Leurre - Bâton						
11:00-12:00					Paille <i>Fagot</i>		
12:00-13:00	Bain de poussière <i>Copeaux</i>						
13:00-14:00				Carton			Buse - Leurre - Bâton
14:00-15:00		Planche à trous <i>Aliment</i> <i>Vers</i>			Astroturf <i>Aliment coloré</i> <i>Vers</i>	Petits pots <i>Aliment coloré</i> <i>Vers</i>	
15:00-16:00							
16:00-17:00	Petit pot <i>Aliment coloré</i>		Buse - Leurre	Carton alvéolé <i>Aliment coloré</i>			
17:00-18:00							
18:00-19:00							
19:00-20:00							

Annexe IV - Liste des publications

Articles en préparation ou en révision pour publication

- **Charrier, M.**, Lumineau, S., Georgelin, M., Meurisse, M., Palme, R., Angelier, F., Cornilleau, F., Constantin, P., Coustham, V., Nicolle, C., Bertin, A., Darmaillacq, A.S., Dickel, L., Guémené, D., Calandreau, L., Houdelier, C. (*submitted*). Prenatal maternal stress is associated with behavioural and epigenetic changes in Japanese quail.
- **Charrier, M.**, Lumineau, S., George, I., Georgelin, M., Meurisse, M., Palme, R., Angelier, F., Coustham, V., Nicolle, C., Bertin, A., Darmaillacq, A.S., Dickel, L., Guémené, D., Calandreau, L., Houdelier, C. (*in prep.*). When ancestors transmit their stress: prenatal maternal stress transmission across generations in a precocial bird.

Publications avec comité de lecture dans des actes de colloque

- **Charrier, M.**, Lumineau, S., Nicolle, C., Lormant, F., Bertin, A., Arnould, C., Darmaillacq, A.S., Dickel, L., Calandreau, L., Houdelier, C. (2019). Le stress maternel prénatal module le développement des capacités cognitives chez la caille japonaise. 13èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras (JRA-JRFG), p. 370-374.

Annexe V - Communications nationales et internationales

Communications orales dans des colloques

- **Charrier, M.**, George, I., Nicolle, C., Calandreau, L., Bertin, L., Lumineau, S., Houdelier, C. (2017). Vers une transmission épigénétique du stress prénatal chez la caille ? 47^{ème} colloque de la Société Française pour l'Etude du Comportement Animal, 15-17 Mai 2017, Gif-Sur-Yvette, France.
- **Charrier, M.**, Lumineau, S., Nicolle, C., Lormant, F., Bertin, A., Arnould, C., Darmaillacq, A.S., Dickel, L., Calandreau, L., Houdelier, C. (2019). Le stress maternel prénatal module le développement des capacités cognitives chez la caille japonaise. 13^{èmes} Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras (JRA-JRFG), 20-21 Mars 2019, Tours, France.

Communications affichées dans des colloques

- **Charrier, M.**, Georgelin, M., Meurisse, M., Constantin, P., Lormant, F., Nicolle, C., Bertin, A., Lumineau, S., Calandreau, L., Houdelier, C. (2018). Impact neurobiologique et comportemental du stress prénatal chez la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*). 48^{ème} colloque de la Société Française pour l'Etude du Comportement Animal, 19-21 Juin 2018, Rennes, France.
- **Charrier, M.**, Lumineau, S., Nicolle, C., Bertin, A., Arnould, C., Darmaillacq, A.S., Dickel, L., Calandreau, L., Houdelier, C. (2018). Prenatal maternal stress impairs the development of cognitive abilities in Japanese quail (*Coturnix c. japonica*). 9th European Conference on Behavioural Biology (ECBB), 09-12 Août 2018, Liverpool, Angleterre.
- **Charrier, M.**, Georgelin, M., Meurisse, M., Constantin, P., Lormant, F., Nicolle, C., Bertin, A., Lumineau, S., Calandreau, L., Houdelier, C. (2019). Behavioural and neurobiological impact of prenatal maternal stress in the Japanese quail (*Coturnix c. japonica*). Journées scientifiques de l'école doctorale Biologie Santé (BS), 10-11 Décembre 2019, Angers, France.

- **Charrier, M.**, George, I., Nicolle, C., Calandreau, L., Bertin, L., Lumineau, S., Houdelier, C. (2020). Towards an epigenetic transmission of prenatal stress in quails? 26th World's Poultry Congress (WPC), 16-20 Août 2020, Paris, France. *Reporté du 07 au 11 Août 2022 en raison de la COVID-19.*

Communications orales à destination du monde professionnel

- **Charrier, M.** (2018). Rôle des influences maternelles prénatales sur le développement des descendants, sa transmission épigénétique et ses conséquences adaptatives. Assemblée générale d'Interprochasse, 20 septembre 2018, Paris, France.
- **Charrier, M.** (2019). Le projet GibAdapt - Optimisation des comportements d'adaptation du gibier d'élevage. Assemblée générale du Syndicat National des Producteurs de Gibier de Chasse (SNPGC), 01 Mars 2019, Paris, France.
- **Charrier, M.** (2019). Le projet GibAdapt - Optimisation des comportements d'adaptation du gibier d'élevage. Rencontre avec les professionnels de l'élevage de gibier, 15 Avril 2019, Chambretaud, France.
- **Charrier, M.**, Chastang, J.C. (2019). Le projet GibAdapt - Optimisation des comportements d'adaptation du gibier d'élevage. Rencontre avec les Fédérations Départementales des Chasseurs de la Drôme et de l'Ardèche et l'Association Communale de Chasse Agréée de Menglon, 20 Juin 2019, Crest, France.
- **Charrier, M.** (2019). Le projet GibAdapt - Optimisation des comportements d'adaptation du gibier d'élevage. Rencontre avec la Fédération Départementale des Chasseurs de Vendée, 21 juin 2019, Chambretaud, France.
- **Charrier, M.** (2019). Le projet GibAdapt - Présentation du protocole de remise en nature. Rencontre avec l'IMPCF et les Fédérations Départementales des Chasseurs de l'Ardèche, de la Drôme et de Vendée, 12 juillet 2019, Chambretaud, France.

- **Charrier, M.** (2019). Le projet GibAdapt - Optimisation des comportements d'adaptation du gibier d'élevage et la société de chasse de Bretignolles-sur-mer, 25 Juillet 2019, Bretignolles-sur-mer, France.
- **Charrier, M.** (2019). Le projet GibAdapt - Optimisation des comportements d'adaptation du gibier d'élevage. Assemblée Générale de la société de chasse de Bretignolles-sur-Mer, 01 Septembre 2019, Bretignolles-sur-Mer, France.
- **Charrier, M.** (2020). Le projet GibAdapt - Conséquences adaptatives d'une transmission épigénétique d'effets maternels chez la caille japonaise et la perdrix rouge. 3^{èmes} Journées Techniques Inter-filières du SYSAAF, 08-09 Décembre 2020, visioconférence.
- **Charrier, M.** (2021). Le projet GibAdapt - Optimisation des comportements d'adaptation du gibier d'élevage. Assemblée générale du Syndicat National des Producteurs de Gibier de Chasse (SNPGC), 20 Mai 2021, visioconférence.
- **Charrier, M.** (2021). Le projet GibAdapt - Optimisation des comportements d'adaptation du gibier d'élevage. Bilan des résultats. Rencontre avec les professionnels de l'élevage de gibier, 03 Septembre 2021, Chambretaud, France.

Annexe VI - Activités d'enseignement et de co-encadrement

- Octobre 2018 et Novembre 2020 | **Intervention lors de l'U.E. Projet Professionnel** - Présentation du doctorat, rencontre et échanges avec les étudiants du M1 Comportement Animal et Humain.
- 2020 | **Missions d'enseignement** - Travaux pratiques - Université de Rennes 1, UFR Sciences de la Vie et de l'Environnement.
 - U.E. Ethologie et Physiologie Animale - Licence 1 - 16 heures.
 - U.E. Cerveau, Cognition, Comportements - Master 1 - 8 heures.
- Avril - Mai 2019 | **Co-encadrement de Cyrielle Garenq** - Licence 3 Sciences de la biodiversité, Université Lyon 1 - Influence de l'environnement de vie sur le phénotype comportemental chez deux espèces de galliformes : la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*) et la perdrix rouge (*Alectoris rufa*).
- Avril - Mai 2020 | **Co-encadrement de Noémie Pantel** - Master 1 Comportement Animal et Humain, Université de Rennes 1 - Transmission trans-générationnelle des influences maternelles prénatales chez la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*).
- Janvier - Juin 2021 | **Co-encadrement de Clémentine Tchadjiane** - Master 2 Ethologie, Université Paris 13 - Effets trans-générationnels des influences maternelles prénatales sur les capacités d'apprentissage chez la caille japonaise.
- Janvier - Juin 2021 | **Co-encadrement de Audrey Bailly** - Master 2 Ecophysiologie, Ecologie et Ethologie, Université de Strasbourg - Effets trans-générationnels des influences maternelles prénatales sur les capacités d'adaptation des perdrix rouges en nature.

Annexe VII - Activités de vulgarisation scientifique

- Octobre 2019 et 2020 | **Fêtes de la Science 2019 et 2020** - Village des Sciences - Préparation des activités et animation des stands - UMR 6552 EthoS et association LUCA.
- Février 2020 | **Doct-Oral** - Soirée de vulgarisation scientifique organisée par l'association LUCA - Présentation « Influences maternelles prénatales chez les oiseaux ».
- Mai 2020 | **Festival Pint of Science** - Présentation « Surprenantes mamans » - *Annulé en raison de la COVID-19.*
- Février 2021 | **Ambassadrice lors du festival Declics** - Journée de dialogues entre les personnels de recherche et les lycéens - *Annulé en raison de la COVID-19.*

Annexe VIII - Responsabilités collectives et vie associative

- Novembre 2018 - Juin 2021 | **Membre du bureau de l'association des doctorants en Biologie-Santé, LUCA.**
- Juin 2019 - Octobre 2020 | **Membre du Conseil d'Unité de l'UMR 6552 EthoS** - Représentante du collège doctoral, postdoctoral et ATER.
- Janvier 2019 - Juin 2021 | **Journal Club de l'UMR 6552 EthoS** - Co-crédation et co-animation.

Annexe IX - Formations suivies

- Juillet 2018 | Formation aux modèles mixtes linéaires et non linéaires - ANASTATS.
- Octobre 2019 | J'utilise Twitter et TweetDeck pour ma veille - Les ateliers du MIDI.
- Novembre 2019 | Introduction à l'éthique de la recherche et à l'intégrité scientifique - Ecole doctorale Biologie Santé.
- Mars - Mai 2020 | **Vivre avec les autres animaux** - MOOC avec certification - Université Virtuelle Environnement et Développement durable (UVED).
- Septembre - Octobre 2020 | **Formation à l'expérimentation animale** - Niveau 1 : Concepteur de procédures expérimentales - ONIRIS.
- Février 2021 | **Modèles de durée** - MOOC sans certification

Titre : Rôle des influences maternelles prénatales sur le développement des descendants, sa transmission épigénétique et ses conséquences adaptatives.

Mots clés : effets maternels prénatals, comportement, mécanismes de transmission, adaptation, oiseaux nidifuges

Résumé : Les influences maternelles prénatales ont des conséquences majeures sur l'ontogenèse comportementale des individus. Cela a largement été démontré chez les jeunes de première génération mais aussi plus récemment chez les jeunes des générations suivantes. La capacité des effets maternels prénatals à moduler à travers les générations, le phénotype comportemental des descendants questionne quant à leur potentiel adaptatif. Ainsi, l'objectif de ce travail de thèse est de caractériser les effets inter- (F1), multi- (F2) et trans-générationnels (F3) de l'environnement maternel sur le développement comportemental des descendants, d'identifier les mécanismes impliqués dans la transmission de ces effets et d'en évaluer le potentiel adaptatif. Dans un premier temps, nous avons montré chez la caille japonaise (*Coturnix c. japonica*), qu'un stress chronique de la femelle pondeuse augmente la réactivité émotionnelle des jeunes de la génération F1 mais n'influence que peu les capacités d'apprentissage testées. De tels résultats ont aussi été observés chez les descendants des générations F2 et F3, témoignant d'effets maternels trans-générationnels.

Les stéroïdes sexuels présents *in ovo* et certaines marques épigénétiques pourraient être impliqués dans la transmission de ces effets. Dans un second temps, nous avons testé le potentiel adaptatif d'un environnement maternel plus complexe et plus variable. Nous avons montré en laboratoire que la complexification de l'environnement de la femelle pondeuse module la réactivité émotionnelle des jeunes des générations F1 et F3 mais pas leurs capacités d'apprentissage. Nous avons appliqué ce même protocole en élevage dans l'objectif d'améliorer la survie en nature d'une espèce de gibier, la perdrix rouge (*Alectoris rufa*). Nous avons montré que notre traitement prénatal, seul ou en interaction avec la complexification de l'environnement postnatal des perdrix, module le phénotype comportemental des jeunes F1 et F2. Cela n'a cependant pas permis d'améliorer leur survie en nature. L'ensemble de ce travail souligne donc l'influence fondamentale des effets maternels prénatals à travers les générations et ouvre de nouvelles perspectives quant à leur considération dans des programmes de réintroduction.

Title : Prenatal maternal influences on offspring development, its epigenetic transmission and adaptive consequences.

Keywords : prenatal maternal effects, behaviour, transmission mechanisms, adaptation, precocial birds

Abstract : Prenatal maternal effects have major consequences on the behavioural development of individuals. This has been widely demonstrated in the first generation of offspring but also more recently in subsequent generations. The ability of prenatal maternal effects to influence the behavioural phenotype of offspring across generations raises questions about their adaptive potential. Thus, the objective of this thesis is to characterise the inter- (F1), multi- (F2) and trans-generational (F3) effects of the maternal environment on the behavioural development of the offspring, to identify the mechanisms involved in the transmission of these effects and to evaluate their adaptive potential. First, we have shown that chronic stress in the laying female quail (*Coturnix c. japonica*) increases the emotional reactivity of the F1 offspring but has little influence on the learning abilities tested. Similar results were observed in the F2 and F3 generations, indicating trans-generational maternal

effects. Sex steroids present *in ovo* and certain epigenetic marks could be involved in the transmission of these effects. Second, we tested the adaptive potential of a more complex and variable maternal environment. We have shown in the laboratory, that a more complex environment affects the emotional reactivity of the F1 and F3 generations but not their learning abilities. We applied this same protocol in a breeding program to improve the survival of a game bird species, the red-legged partridge (*Alectoris rufa*). We showed that our prenatal treatment, alone or in interaction with the complexification of the postnatal environment of the partridges, affects the behavioural phenotype of the F1 and F2 offspring. However, it did not improve their survival in the wild. This work highlights the fundamental influence of prenatal maternal effects across generations and opens new perspectives for their consideration in reintroduction programs.