

**ARCHITECTURE GENETIQUE DES COMPORTEMENTS SOCIAUX ET DE PEUR
EN RELATION AVEC LES CARACTERES DE PRODUCTION
CHEZ LA CAILLE JAPONAISE.**

Recoquillay Julien¹, Pitel Frédérique², Arnould Cécile³, Leroux Sophie², Dehais Patrice^{2,4}, Moréno Carole², Calandreau Ludovic³, Bertin Aline³, Gourichon David⁵, Bouchez Olivier^{2,6}, Vignal Alain², Fariello Maria Ines², Minvielle Francis⁷, Beaumont Catherine¹, Leterrier Christine³, Le Bihan-Duval Elisabeth¹

¹INRA - UR83 Recherches Avicoles - 37380 NOUZILLY

²UMR1388 INRA/INPT ENSAT/INPT ENVT - Génétique Physiologie et Systèmes d'élevage - 31326 CASTANET TOLOSAN

³UMR85 INRA/CNRS/Université de Tours - Physiologie de la Reproduction et des Comportements - 37380 NOUZILLY

⁴INRA - Sigenae UR875 Biométrie et Intelligence Artificielle - 31326 CASTANET-TOLOSAN

⁵INRA - UE1295 Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours - 37380 NOUZILLY

⁶INRA - GeT-PlaGe Genotoul - 31326 CASTANET-TOLOSAN

⁷INRA - UMR1313 GABI Génétique Animale et Biologie Intégrative - 78530 JOUY-EN-JOSAS

Elisabeth.Duval@tours.inra.fr

RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude était de réaliser la première détection à l'échelle du génome des QTL de comportements sociaux et de peur en relation avec la production chez l'oiseau. C'est dans ce but qu'a été mis en place un croisement de seconde génération entre deux lignées de cailles divergentes pour la motivation sociale sélectionnées par le test du tapis roulant. En préalable à la détection des QTL, l'étude a permis la construction de la première carte génétique de moyenne densité à l'aide de marqueurs SNP chez la caille. Avec 1479 marqueurs répartis sur 28 groupes de liaison, elle couvre un total de 3057 cM avec un intervalle moyen entre marqueurs de 2,1 cM. À l'exception de quelques régions, l'ordre des marqueurs était le même entre la caille japonaise et le poulet, confirmant une synténie bien conservée entre les deux espèces. Les analyses de liaison à l'aide du logiciel QTLMAP ont révélé un total de 45 QTL dont 23 pour les caractères comportementaux et 22 pour ceux de production. Les QTL les plus nombreux (15) sont ceux de la motivation sociale, les réponses au test du tapis roulant et de l'isolement social étant contrôlées par des loci différents. Par ailleurs, les analyses révèlent de possibles régions pléiotropes contrôlant à la fois la réactivité émotionnelle et le poids (sur les chromosomes 5 et 8) ou la sociabilité et l'âge au premier œuf (sur le chromosome 19). Plusieurs gènes candidats impliqués dans le métabolisme des neurotransmetteurs ont été suggérés.

ABSTRACT

The aim of this study was to perform the first genome-wide QTL analysis for social and fear behaviors in relation to production traits in birds. It was based on the study of a second generation cross between two lines of Japanese Quail divergently selected for their social motivation by the treadmill test. As a prerequisite to the detection of QTL, the study allowed the construction of the first genetic map of average density using SNP markers in quail. With 1479 markers positioned on 28 different linkage groups, the sex-averaged linkage map spanned a total of 3057 cM with an average marker spacing of 2.1 cM. With the exception of a few regions, the marker order was the same between the Japanese Quail and the chicken, confirming a well conserved synteny between the two species. The linkage analyses performed by QTLMAP revealed a total of 45 QTL related either to behavioral (23) or production (22) traits. The most numerous QTL (15) are those of social motivation, the answers in the tests of the treadmill and social isolation being controlled by different loci. Interestingly, our results pinpointed putative pleiotropic regions which controlled emotional reactivity and body-weight of birds (on chromosomes 5 and 8) or their social motivation and the onset of egg laying (on chromosome 19). Several candidate genes involved in neurotransmitter metabolism have been suggested.

INTRODUCTION

Les conditions d'élevage modernes présentent un environnement social particulier avec des effectifs souvent très importants, pouvant aller jusqu'à plusieurs milliers d'individus dans le cas des productions avicoles. Ces effectifs, du fait d'une instabilité sociale induite par la mise en contact avec un grand nombre d'individus inconnus, peuvent entraîner la mise en place d'un état de stress social (Veissier et Boissy, 2007) favorisant l'expression de comportements délétères tels que le picage ou, dans le pire des cas, le cannibalisme chez les oiseaux (Mignon-Grasteau et Faure, 2002). De même, les comportements de peur, à cause notamment des mouvements de panique qu'ils peuvent entraîner, sont associés à des problèmes de bien-être animal. Assez tôt, des travaux se sont intéressés à l'impact de la génétique sur les capacités d'adaptation des animaux aux contraintes de l'environnement, montrant par exemple l'efficacité de sélections divergentes sur la sociabilité ou la réactivité émotionnelle chez la Caille (Mills et Faure, 1991). L'objectif de cette étude était d'aller plus loin dans la compréhension de l'architecture génétique de ces capacités d'adaptation au travers de la détection de QTL (Quantitative Trait Loci) des comportements sociaux et de peur chez la Caille.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif animal

L'analyse a porté sur des individus issus d'un croisement de seconde génération (F2) entre deux lignées de cailles sélectionnées de façon divergente sur la motivation sociale grâce au test du tapis roulant (Mills et Faure, 1991). Les deux lignées issues de cette sélection, HSR (Forte motivation sociale) et LSR (Faible motivation sociale), présentent des différences pour la motivation sociale dans plusieurs conditions expérimentales telles que l'isolement social (Mills et al., 1993), les interactions inter-individus (Launay et al., 1991) ou les comportements sexuels (Burns et al., 1998). La population F2 a été obtenue en réalisant une première génération de croisement (F1) entre quatre mâles HSR et quatre femelles LSR et entre quatre mâles LSR et quatre femelles HSR, donnant respectivement les croisements H/L et L/H. A partir de cette génération F1, trois mâles H/L ont été accouplés avec deux femelles H/L et deux femelles L/H. Trois autres mâles L/H ont été accouplés avec deux femelles H/L ou L/H. De ces accouplements ont résulté 912 individus F2 (comprenant 452 mâles et 460 femelles) produits en six lots espacés de quatre semaines. En moyenne, chaque femelle F1 a produit 40 descendants et chaque mâle F1, 160.

1.2. Mesures comportementales et de production

Plusieurs tests comportementaux ont été effectués et, pour chacun, plusieurs mesures ont été réalisées. Les mesures intra-tests étant fortement corrélées, une seule mesure par test a été retenue pour la suite des analyses.

Isolement social (jours 1-3) : Les cailleteaux étaient familiarisés en groupe de 20 individus dans une cage en bois puis placés seuls dans une cage similaire. Leur comportement était analysé durant 3 minutes à l'aide d'un logiciel de suivi des mouvements. La distance parcourue en périphérie de la cage (DistIso) a été conservée comme mesure de la motivation sociale.

Motivation sociale et immobilité tonique (jours 6-10) : Les procédures utilisées sont celles décrites par Mills et Faure (1991) pour la sélection des lignées : test du tapis roulant pour estimer la motivation sociale et induction d'immobilité tonique (inhibition comportementale induite par une contention de l'animal) pour estimer la peur. Les variables retenues étaient la distance parcourue sur le tapis roulant (DistTR) et la durée d'immobilité tonique (IT).

Réaction face à un objet nouveau (jours 37-38) : Un objet inconnu a été placé devant la cage, de façon à ne pas être vu par les individus des autres cages. L'observateur notait toutes les 10 secondes la réaction de l'individu testé envers l'objet. Le nombre de sorties de tête hors de la cage (SortTêteON) a été retenu pour les analyses. Il est considéré que plus l'individu est effrayé par l'objet, moins il sort la tête.

Comportements agressifs des mâles (jours 55-56) : Afin d'éviter les confrontations entre cailles, nous avons utilisé un miroir. Les individus ont été testés dans une arène dont l'un des côtés était un miroir. Les interactions avec celui-ci ont été enregistrées pendant deux minutes. L'observateur a noté toutes les 10 secondes le comportement de l'individu. Les variables conservées pour les analyses étaient la fréquence des coups de becs agressifs (CdbAgr) et celle des coups de becs doux (CdbDoux), représentant respectivement un comportement agonistique ou de recherche d'interactions positives entre individus.

Motivation sexuelle des mâles (jour 62) : Ce test s'est déroulé dans le même environnement que le test d'agressivité, à la différence que le miroir a été retiré et remplacé par une caille femelle taxidermée. Le test durait 2 minutes durant lesquelles les interactions avec le leurre ont été enregistrées. Le nombre de montes (Monte) a été retenu comme mesure de la motivation sexuelle.

Croissance et production d'œufs : Les poids à 17 et à 65 jours ont été mesurés pour tous les individus. Pour les femelles, l'âge au premier œuf, le nombre d'œufs pondus jusqu'à 24 semaines ainsi que le poids moyen des œufs (calculé à partir d'un échantillonnage de trois œufs collectés entre la douzième et la treizième semaine) ont également été mesurés.

1.3. Carte génétique et détection des QTL

En l'absence d'une carte consensus chez la Caille, une carte génétique a été établie grâce au logiciel CriMap à partir de 2145 marqueurs SNPs génotypés chez les individus F0, F1 et F2 du dispositif. Leur informativité a été optimisée en choisissant des marqueurs issus du séquençage (Illumina HiSeq) de pools d'individus HSR ou LSR (parents des F1) et spécifiques de chaque lignée (fréquences de 0 et de 1 selon le pool). Seuls des marqueurs présents sous forme bi-allélique, hors de régions répétées, et indépendants d'un événement d'insertion/délétion ont été retenus. De même, des marqueurs trop proches (moins de 120 pb) ont été exclus. Enfin, le choix final a été effectué en cherchant à maximiser la couverture du génome en prenant pour référence la poule. Des détections de QTL par analyse de liaison ont été réalisées grâce au logiciel QTLMap adapté au cas de populations non-consanguines (Elsen et al., 1999). Deux modèles ont été utilisés : un modèle « Père » testant la ségrégation du QTL chez les six pères F1, et un modèle « Père-Mère » testant la ségrégation chez l'ensemble des parents ayant un minimum de vingt descendants (soit six pères et dix-neuf mères). En se limitant aux pères qui présentent de nombreux descendants, le premier modèle améliore la précision de l'estimation des effets des QTLs. En augmentant le nombre de parents potentiellement informatifs, le second modèle augmente en théorie les chances de détecter les QTLs.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Carte génétique chez la Caille.

L'étude a permis la construction de la première carte génétique de moyenne densité à l'aide de marqueurs SNP chez la caille : avec 1479 marqueurs répartis sur 28 groupes de liaison, elle couvre un total de 3057 cM avec un intervalle moyen entre marqueurs de 2,1 cM. Sa comparaison avec le génome de la poule confirme une relative bonne conservation de la synténie entre les deux espèces. En effet, nos résultats n'ont mis en évidence aucun remaniement inter-chromosomique mais indiquent dix-neuf remaniements intra-chromosomiques. Parmi ceux-ci, quinze représentent des blocs de marqueurs inversés et quatre semblent être des translocations intra-chromosomiques. Certains de ces remaniements ont déjà été identifiés, notamment sur les macrochromosomes CJA1, CJA2, CJA3, CJA5 et CJA8 (Shibusawa et al., 2001 ; Sasazaki et al., 2006 ; Galkina et al., 2006 ; Kayang et al., 2006).

2.2. QTL des caractères de sociabilité et de réactivité émotionnelle.

Les analyses de liaison avec les deux modèles ont révélé un total de 45 QTL dont 23 pour les caractères

comportementaux et 22 pour ceux de production. Ce sont pour les critères de motivation sociale que les QTL sont les plus nombreux (Tableau 1), montrant l'intérêt des lignées divergentes pour ce type de recherche. Les réponses au test du tapis roulant et de l'isolement social sont contrôlées par des loci différents renforçant l'hypothèse d'indépendance génétique déjà suggérée par l'absence de corrélation significative entre les deux variables (Recoquilly et al., 2013). Ces deux tests évalueraient donc deux composantes différentes de la sociabilité, suivant que l'animal est en contact visuel et auditif avec ses congénères (dans le cas du test du tapis roulant) ou pas (dans le test d'isolement social). Même si l'identification de gènes candidats reste délicate à ce stade, une première exploration des QTL de motivation sociale a suggéré plusieurs gènes d'intérêt. Ainsi, le QTL contrôlant DistTR sur CJA2 contient le gène *DDC* codant pour la Dopa Décarboxylase qui est impliquée dans le métabolisme des neurotransmetteurs que sont la dopamine, la sérotonine et la norépinéphrine. Chez l'homme, des polymorphismes de ce gène sont associés au Trouble du Déficit de l'Attention avec Hyperactivité (Banaschewski et al., 2010). Le gène *HTR2B*, présent dans le QTL de DistTR sur CJA11, code quant-à-lui pour un récepteur à la sérotonine. Le lien entre un variant de ce gène et l'impulsivité a été montré chez l'homme, et les souris Knock-Out montrent une augmentation des comportements impulsifs et de recherche de nouveautés (Bevilacqua, et al., 2010). Par ailleurs, le QTL de réaction à l'isolement social identifié sur CJA19, porte les gènes *GTF2I* et *GTF2IDR1* qui, chez l'Homme, sont positionnés au sein du locus 7q11.23 du chromosome 7. La délétion de ce locus (qui contient plus d'une vingtaine de gènes) est à l'origine du syndrome de Williams et Beuren (Peoples et al., 2000) dont le phénotype le plus marquant est une hyper-sociabilité maintenue à l'âge adulte (Jones et al., 2000).

D'autres QTLs d'intérêt ont pu être identifiés pour la réactivité émotionnelle évaluée par la durée d'immobilité tonique (sur CJA5 et CJA11) ou la réponse à l'objet nouveau (sur CJA1, CJA8 ou CJA23), ainsi que pour l'agressivité (sur CJA1 et CJA2). De façon intéressante, le QTL d'agressivité sur CJA1 correspond à une région homologue chez le poulet contenant un QTL pour le nombre de coups de bec reçus (Buitenhuis et al., 2003). Cette région contient le gène *MAOA* codant la monoamine oxydase A impliquée dans le métabolisme des neurotransmetteurs et dont le Knock-Out chez la souris conduit à une augmentation de l'agressivité (Cases et al., 1995). Une étude chez la poule a récemment mis en évidence une association significative entre un polymorphisme au sein de *MAOA* et la qualité du plumage en lien avec la propension à être piqué. Ce locus suggère donc un lien possible entre agressivité et picage.

L'analyse du dispositif a par ailleurs permis d'identifier plusieurs régions où co-localisent différents QTL. Une première, mise en évidence sur CJA2, affecterait à la fois la distance parcourue sur le tapis roulant et le nombre de coups de becs agressifs. Deux autres, identifiées sur CJA3 et CJA18, auraient un effet conjoint sur le poids adulte des animaux et le poids ou le nombre d'œufs. Enfin les trois dernières, observées sur CJA5, CJA8 et CJA19, affecteraient à la fois des caractères de production et du comportement. La région observée sur CJA19 porte des QTLs pour la motivation sociale évaluée par la variable DistIso et l'âge au premier œuf. Sur CJA5 et CJA8, on observe la co-localisation de QTLs affectant la réactivité émotionnelle mesurée par la réponse à l'objet nouveau (CJA8) ou la durée d'immobilité tonique (CJA5) et la croissance mesurée par le poids à 17 jours. Cette co-localisation sur CJA5 est cohérente avec la forte relation génétique (0.76) établie entre durée d'immobilité tonique et poids à 17 jours dans notre dispositif expérimental (Recoquillay et al., 2013). De plus, des régions pléiotropes affectant la réactivité émotionnelle et le poids ont déjà été

observées chez la poule (Schütz et al., 2004 ; Wiren et Jensen, 2011). Un raffinement de ces régions serait nécessaire pour confirmer le caractère pléiotrope des QTLs identifiés et, le cas échéant, aller rechercher les acteurs moléculaires à l'origine des relations entre productivité et sociabilité ou émotivité.

CONCLUSION

Appliquée sur un modèle animal original, cette étude a permis d'identifier de nouvelles régions d'intérêt contribuant à la variabilité génétique des capacités d'adaptation comportementale chez la Caille. Plusieurs des gènes candidats suggérés font écho à des troubles du comportement décrits chez l'homme en lien avec le métabolisme des neurotransmetteurs. Ceci ouvre de nouvelles perspectives de recherche pour confirmer ou infirmer leur rôle sur les réactions comportementales étudiées dans notre dispositif.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Banaschewski T., Becker K., Scherag S., Franke B., Coghill D., 2010. Eur Child Adolesc Psychiatry, (19), 237-257.
2. Bevilacqua L., Doly S., Kaprio J., Yuan Q.P., Tikkanen R., Paunio T., Zhou Z.F., Wedenoja J., Maroteaux L., Diaz S., et al, 2010. Nature, (468), 1061-1066.
3. Buitenhuis A.J., Rodenburg T.B., Siwek M., Cornelissen S.J.B., Nieuwland M.G.B., Crooijmans R., Groenen M.A.M., Koene P., Bovenhuis H., van der Poel J.J., 2003. Poultry Science, (82), 1661-1667.
4. Burns M., Domjan M., Mills A.D., 1998. Psychobiology, (26), 249-257.
5. Cases O., Seif I., Grimsby J., Gaspar P., Chen K., Pournin S., Muller U., Aguet M., Babinet C., Shih J.C., Demayer E., 1995. Science, (268), 1763-1766.
6. Elsen J.M., Mangin B., Goffinet B., Boichard D., Le Roy P., 1999. Genetics Selection Evolution, (31), 213-224.
7. Galkina S., Deryusheva S., Fillon V., Vignal A., Crooijmans R., Groenen M., Rodionov A., Gaginskaya E., 2006. Genetica, (128), 241-251.
8. Jones W., Bellugi U., Lai Z., Chiles M., Reilly J., Lincoln A., Adolphs R., 2000. Journal of Cognitive Neuroscience, (12), 30-46.
9. Kayang B.B., Fillon V., Inoue-Murayama M., Miwa M., Leroux S., Fève K., Monvoisin J.L., Pitel F., Vignoles M., Mouilhayrat C., et al, 2006. BMC Genomics, (7), 18.
10. Launay F., Mills A.D., Faure J.M., 1991. Behavioural Processes, (24), 95-110.
11. Mignon-Grasteau S., Faure J.M., 2002. INRA Productions Animales, (15), 357-364.
12. Mills A.D., Faure J.M., 1991. J Comp Psychol, (105), 25-38.
13. Mills A.D., Jones R.B., Faure J.M., Williams J.B., 1993. Physiol Behav, (53), 183-189.
14. Peoples R., Franke Y., Wang Y.K., Perez-Jurado L., Paperna T., Cisco M., Francke U., 2000. Am J Hum Genet, (66), 47-68.
15. Recoquillay J., Leterrier C., Calandreau L., Bertin A., Pitel F., Gourichon D., Vignal A., Beaumont C., Le Bihan-Duval E., Arnould C., 2013. Plos One, 8:e8215.
16. Sasazaki S., Hinenoya T., Lin B., Fujiwara A., Mannen H., 2006. Animal Genetics, (37), 316-320.
17. Shibusawa M., Minai S., Nishida-Umehara C., Suzuki T., Mano T., Yamada K., Namikawa T., Matsuda Y., 2001. Cell Genet, (95), 103-109.
18. Schütz K.E., Kerje S., Jacobsson L., Forkman B., Carlborg O., Andersson L., Jensen P., 2004. Behav Gen, (34), 121-130.
19. Veissier I., Boissy A., 2007. Physiology & Behavior, (92), 429-433.
20. Wiren A., Jensen P., 2011. Behav Genet, (41), 303-311.

Tableau 1. QTLs détectés pour les variables DistTR et DistIso de motivation sociale.

Caractère	Chromosome	Position (cM)	Intervalle de confiance (cM)	Marqueurs proches	Modèle	Niveau de significativité au niveau du chromosome	Effet du QTL*
DistTR	CJA1	281	278-285	snp_soc_4666-snp_soc_2881	P+M	P=0.037	0.31
	CJA2	149	146-155	snp_soc_1978-snp_soc_3824	P+M	P=0.043	0.36
		155	152-159	snp_soc_4405-snp_soc_3819	P	P=0.024	0.22
	CJA9	42	39-53	snp_soc_1270-snp_soc_0268	P+M	P<0.01	0.43
		55	37-60	snp_soc_2491-snp_soc_0558	P	P=0.016	0.28
	CJA11	47	34-49	snp_soc_1642-snp_soc_1220	P	P=0.023	0.21
	CJA13	4	0-15	snp_soc_0855-snp_FSIEL0M02D43ZD_185	P	P=0.031	0.21
DistIso	CJA26	21	19-27	snp_FQU5R7M02I6ZE8-0_225-snp_soc_1180	P	P=0.025	0.30
	CJA2	319	302-337	snp_soc_3054-snp_soc_0012	P	P=0.038	0.21
	CJA4	105	100-118	snp_soc_2929-snp_soc_3811	P+M	P<0.01†	0.26
	CJA7	96	92-99	snp_soc_2405-snp_soc_1537	P+M	P<0.01	0.29
	CJA10	11	8-13	snp_soc_2706-snp_soc_0126	P+M	P=0.035	0.36
	CJA15	63	60-65	snp_soc_1598-snp_ble_0416	P	P=0.033	0.31
	CJA19	8	6-16	snp_soc_0715-snp_soc_0483	P+M	P=0.020	0.29
		14	0-20	snp_soc_0396-snp_soc_1227	P	P=0.039	0.23

† Le QTL est également significatif au niveau du génome. * Effet de substitution allélique (exprimé en écart-type phénotypique) calculé à partir des parents hétérozygotes au QTL.