

L'EXPERIENCE OLFACTIVE DES EMBRYONS INFLUENCE LES COMPORTEMENTS ALIMENTAIRES DES JEUNES POULETS

Bertin Aline¹, Calandreau Ludovic¹, Arnould Cécile¹, Bouvarel Isabelle², Mercierand Frédéric³, Noirot Virginie⁴, Leterrier Christine¹

¹ INRA, UMR 85, CNRS UMR 6175, Physiologie de la Reproduction et des Comportements– Université François Rabelais de Tours -IFCE, 37380 Nouzilly,

²ITAVI, UR83 Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly,

³UE PEAT, 37380 Nouzilly,

⁴Laboratoires Phodé, 81150 Albi-Terssac

aline.bertin@tours.inra.fr

RÉSUMÉ

Longtemps sous estimé, de nombreuses études physiologiques et comportementales montrent à présent que le sens olfactif des oiseaux est particulièrement bien développé même chez les volailles. L'objectif de nos travaux a été de rechercher une potentielle influence de l'expérience chimiosensorielle prénatale sur les futurs comportements alimentaires des poulets. Nos résultats montrent que des odeurs présentes au moment de l'incubation influencent les futurs choix alimentaires des jeunes poulets. L'influence de ces odeurs dépend de la concentration utilisée. Lors de tests de choix de courte durée, les jeunes (4-5 jours d'âge) exposés *in ovo* à une faible concentration de l'odeur vont présenter une attraction pour les aliments contenant cette odeur. A l'inverse, les jeunes exposés à une concentration plus forte de l'odeur vont présenter une aversion. Nos résultats montrent aussi que les odeurs présentes lors de l'incubation, dès les premiers stades du développement du système olfactif lorsque les embryons n'ont pas encore adopté une respiration aérienne, peuvent influencer les futures préférences alimentaires des jeunes. Les embryons de poulets semblent donc capables, comme les mammifères, de mémoriser les propriétés chimiosensorielles de leur environnement et d'utiliser ces informations pour orienter leur futur comportement alimentaire.

ABSTRACT

***In ovo* olfactory experience influences the feeding behaviour of young domestic chicken.**

The sense of smell in birds has been widely underestimated and overlooked. In the domestic chicken both physiological and behavioural data demonstrated that olfaction is functional and well developed. Our aim was to investigate the hypothesis that *in ovo* exposure to olfactory signals may guide the feeding behaviour of domestic chicks. Our results show that olfactory stimuli surrounding the eggs during incubation influence the later feeding preferences of young chicks. In short term choice tests at day 4 and 5, chickens previously exposed to a low concentration of the olfactory stimulus spent a higher proportion of time eating foods bearing the olfactory stimulus compared to non-exposed control chickens. Conversely, chickens previously exposed to a high concentration of the olfactory stimulus were found to avoid all foods bearing the olfactory stimulus. We also showed that olfactory stimuli surrounding the egg during incubation could affect the later reaction and orientation of chicks toward food items as soon as mid-embryonic life (before embryos actually start breathing with their lungs). We demonstrated that chickens can utilize information from their prehatch chemosensory environment to guide their later feeding behaviour.

INTRODUCTION

Chez les mammifères les fœtus baignent dans le liquide amniotique dont les propriétés olfactives et gustatives dépendent de l'alimentation de la mère. Après la naissance, cette expérience prénatale conduit à une préférence envers ces mêmes odeurs/goûts (Schaal et al., 2001).

Ce phénomène reste très peu exploré chez les oiseaux d'élevage. Pourtant les embryons perçoivent les odeurs provenant de l'environnement. Par exemple, des poussins exposés à une odeur de fraise dans l'œuf présentent une attraction pour de l'eau aromatisée à la fraise par rapport à des poussins non-exposés (Sneddon et al., 1998).

Les aviculteurs étant confrontés à des problèmes de rejet des aliments liés à la peur de la nouveauté (Murphy, 1977), nous nous sommes donc demandés si l'expérience des embryons de poulets avec des odeurs pouvait réduire ces comportements de refus. L'hypothèse est qu'une odeur familière devrait guider les jeunes vers des aliments familiers ou non familiers contenant cette odeur. Afin de tester cette hypothèse nous avons exposé des embryons de poulets à un stimulus olfactif et analysé leur comportement alimentaire après éclosion. Deux expériences ont été réalisées. La première expérience avait pour objet d'étudier l'effet de l'intensité du stimulus olfactif ; la deuxième avait pour objet d'étudier l'influence de la période d'exposition.

1. MATERIELS ET METHODES

Pour chacune des expériences, nous avons placé 200 œufs de poulets TN T451NA (Boyé accoupage, France) à incuber à $37,6^{\circ}\text{C} \pm 0,2$ et 50% d'humidité. Le stimulus olfactif utilisé était composé d'un mélange d'huile essentielle d'orange et de vanilline (produit préparé par les laboratoires Phodé, Terssac, France). Ces huiles essentielles ont été précédemment utilisées sur des poussins par de nombreux auteurs et ne présentent pas de propriétés spontanément aversives ou attractives (Jones et Roper, 1997). Pour chacune des expériences, le stimulus olfactif a été placé dans deux tubes en verre de 2 ml attachés sur les parois latérales des incubateurs. Seuls les poussins éclos le 21^{ème} jour d'incubation ont été conservés pour l'analyse. A l'éclosion les poussins ont été élevés en paires d'animaux ayant reçu le même traitement et nourris *ad libitum* avec de l'aliment démarrage standard préparé par l'unité expérimentale PEAT (INRA, centre de Tours).

1.1. Expérience 1

Trois groupes expérimentaux ont été constitués ($N = 23$ paires par groupe expérimental). Le premier groupe était constitué d'embryons non-exposés au stimulus olfactif. Le deuxième groupe a été exposé à une concentration de 0,37% du stimulus olfactif du 13^{ème} au 20^{ème} jour d'incubation (éclosion le 21^{ème} jour). À 13 jours d'incubation les embryons disposent de neurones olfactifs fonctionnels (Laloué et al., 2003). Le troisième groupe a été exposé à une concentration de 37% du 13^{ème} au 20^{ème} jour d'incubation.

À 4 jours d'âge les paires d'animaux ont été soumises à un test de choix d'une durée de 3 minutes. Après 1h de privation alimentaire, chaque paire de poussin a eu accès simultanément à deux mangeoires. L'une contenait l'aliment démarrage familier, l'autre contenait l'aliment démarrage odorisé avec le stimulus olfactif. À 5 jours d'âge, les animaux ont à nouveau été soumis à un test de choix de 3 minutes avec cette fois-ci le choix entre des graines de millet odorisées ou non-odorisées. Ces graines ont été choisies pour leur taille qui est assez petite pour être ingérée par des poussins âgés de quelques jours. De plus, leur aspect lisse et brillant contraste avec l'aliment familier. Pour chaque test, un observateur dissimulé derrière un rideau a suivi, en continu, les comportements d'un poussin par paire choisi au hasard. Nous avons relevé le temps passé à manger chaque type d'aliment car, sur une durée de 3 minutes, le faible poids de l'aliment ne permet pas une mesure fiable de la consommation. Plus de détails sur le protocole et les paramètres relevés sont disponibles dans Bertin et al. (2010).

1.2. Expérience 2

Trois groupes expérimentaux ont été constitués ($N = 23$ paires par groupe expérimental). Le premier groupe était constitué d'embryons non-exposés au stimulus olfactif. Le deuxième groupe a été exposé à une concentration de 0,37% du stimulus olfactif du 13^{ème} au 16^{ème} jour d'incubation (groupe J13-J16). A ce stade, le bulbe olfactif est en phase de croissance (Laloué et al., 2003). Le troisième groupe a été exposé à la même concentration du stimulus olfactif du 17^{ème} au 20^{ème} jour d'incubation (groupe J17-J20). Ce stade correspond à la mise en place de la respiration aérienne (Romanoff, 1960).

À 4 jours d'âge les paires d'animaux ont été testées dans un test de choix avec de l'aliment familier odorisé ou non comme décrit dans l'expérience 1. À 8 jours d'âge, les animaux ont à nouveau été testés dans un test de choix de 3 minutes avec cette fois-ci le choix entre un mélange de blé et de maïs concassé odorisé ou non-odorisé. Nous avons choisi ces céréales parce qu'elles engendrent une néophobie moins forte par rapport aux graines de millet utilisées dans l'expérience 1 (très peu de temps passé à manger l'aliment nouveau avait été observé). Pour chaque

test, le temps passé à manger chaque type d'aliment a été relevé.

1.3. Analyses statistiques

Des tests de Cochran and Shapiro–Wilk ont été utilisés pour tester la normalité et l'égalité des variances de nos données. Pour mettre en avant l'existence de préférences pour l'aliment odorisé ou non-odorisé au sein de chaque groupe expérimental et pour chaque test de choix, nous avons utilisé des tests paramétriques ou non paramétriques en fonction de la distribution des données. Dans le cas d'une distribution normale avec égalité des variances, des tests *t* de Student sur données appariées ont été utilisés. Pour évaluer l'effet du traitement sur la consommation de l'aliment odorisé (comparaisons inter groupes), des ANOVAs suivies de tests *post hoc* de Fisher ont été utilisées sur la proportion de temps passé à manger l'aliment odorisé (temps passé à manger l'aliment odorisé / temps total passé à manger durant le test). Dans le cas de données ne pouvant répondre aux exigences des tests paramétriques, nous avons utilisé des tests non-paramétriques de Wilcoxon (comparaisons intra-groupe) sur les temps passés à manger l'aliment odorisé ou non-odorisé. Des tests de Kruskal-Wallis suivis de tests *post hoc* de Mann-Whitney ont été utilisés pour les comparaisons inter-groupes sur la proportion de temps passé à manger l'aliment odorisé. Nous avons utilisé le logiciel Statview (version 5.0). Plus de précisions sont disponibles dans Bertin et al. (2010).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Expérience 1

À 4 jours d'âge, les poussins exposés *in ovo* à une forte concentration de l'odeur (37%) passent significativement moins de temps à manger l'aliment odorisé que l'aliment non-odorisé (Figure 1). Il n'y a pas de différence significative observée entre le temps passé à manger l'aliment odorisé et celui passé à manger l'aliment non-odorisé chez les poussins témoins ou ceux exposés *in ovo* à une faible dose. L'expérience olfactive *in ovo* a influencé de manière significative la proportion de temps passé à manger l'aliment odorisé au cours du test (ANOVA, $F_{2,41} = 4,97$, $P = 0,01$). Les poussins exposés à une faible concentration présentent une proportion de temps passé à manger l'aliment odorisé significativement plus élevée que les poussins exposés à une plus forte concentration ($0,61 \pm 0,1$ vs. $0,18 \pm 0,09$, test de Fisher, $P < 0,01$) ou que les poussins témoins ($0,61 \pm 0,1$ vs. $0,31 \pm 0,1$, test de Fisher, $P = 0,04$). Le temps total passé à manger pendant le test ne diffère pas entre les groupes (ANOVA, $F_{2,41} = 0,16$, $P = 0,85$).

Lors du test avec un aliment nouveau (5 jours d'âge), quel que soit le groupe expérimental, les poussins ont passé moins de temps à manger par rapport au test de choix avec l'aliment familier (cf. Figure 1 et Figure 2). Le temps passé à manger l'aliment odorisé ou non-odorisé ne diffère pas au sein de chaque groupe expérimental (Figure 2). Cependant, la proportion de temps passé à manger l'aliment odorisé diffère entre les groupes (Kruskal–Wallis, $H = 7,35$, $P = 0,02$). Elle est significativement plus importante chez les poussins exposés *in ovo* à une faible concentration de l'odeur par rapport aux poussins témoins ($0,42 \pm 0,23$ s vs. $0,02 \pm 0,02$ s, $U = 73$, $P = 0,02$), ou aux poussins exposés à une plus forte concentration ($0,42 \pm 0,23$ s vs. $0,16 \pm 0,16$ s, $U = 77$, $P = 0,04$). Le temps total passé à manger ne diffère pas entre les groupes (Kruskal–Wallis, $P > 0,05$). Ces résultats montrent que les embryons sont sensibles à leur environnement olfactif. L'effet des stimulations olfactives sur les futures préférences alimentaires dépend de l'intensité du stimulus.

2.2. Expérience 2

A 4 jours d'âge et à 8 jours d'âge, les poussins témoins non-exposés à l'odeur passent significativement moins de temps à manger respectivement l'aliment familier odorisé et l'aliment nouveau odorisé que l'aliment non-odorisé ($P < 0,05$; Figures 3 et 4). Ces poussins montrent donc un évitement de l'aliment familier odorisé ou de l'aliment nouveau odorisé. Les poussins exposés *in ovo* du 13^{ème} au 16^{ème} jour d'incubation ou du 17^{ème} au 20^{ème} jour ne montrent pas cet évitement à 4 ou 8 jours d'âge; ils passent autant de temps à manger l'aliment odorisé que l'aliment non-odorisé ($P > 0,05$). Ces résultats confirment la sensibilité des embryons à leur environnement olfactif. Quelle que soit la période d'exposition, les poussins exposés *in ovo* à un stimulus olfactif ne vont pas éviter les aliments (nouveau ou non) contenant l'odeur. Cependant, quel que soit l'aliment utilisé, la proportion de temps passé à manger l'aliment odorisé ne diffère pas de manière significative entre les groupes. (Test de choix avec aliment familier : témoins : $0,28 \pm 0,08$; groupe J13-16: $0,29 \pm 0,09$; groupe J17-20 : $0,47 \pm 0,12$; Kruskal-Wallis, $H = 1,13$, $P = 0,56$; test avec aliment nouveau : témoins: $0,26 \pm 0,09$; groupe J13-16: $0,37 \pm 0,11$; groupe J17-20: $0,33 \pm 0,12$; Kruskal-Wallis, $H = 2,65$, $P = 0,26$).

CONCLUSION

L'exposition des embryons à une odeur influence le comportement alimentaire des poussins après l'éclosion. En fonction de la concentration de l'odeur et de la période d'exposition, les jeunes oiseaux peuvent montrer une attraction, une aversion ou simplement ne pas éviter les aliments contenant cette

odeur. Ces résultats suggèrent que les propriétés olfactives des œufs pourraient en partie conditionner la capacité des jeunes oiseaux à consommer des aliments de composition ou d'apparence nouvelle. Sachant que l'alimentation de la mère détermine les propriétés sensorielles des œufs, établir une continuité

olfactive entre l'alimentation de la mère et l'alimentation des jeunes pourrait réduire l'apparition de la néophobie alimentaire (rejet des aliments nouveaux).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bertin A., Calandreau L., Arnould C., Nowak R., Levy F., Noirot V., Bouvarel I., Leterrier C., 2010. *Ethology*, 116, 2027-2037.
- Jones R.B., Roper T.J. 1997. *Physiol. Behav.* 62, 1009-1018.
- Lalloué F.L., Ayer-Le-Lièvre C.S., Sicard G. 2003. *Chem. Senses*, 28, 729-737.
- Murphy, L. 1977. *Appl. Anim.*, 3, 335-349.
- Romanoff, A.L. 1960. *The avian embryo*. New York: Macmillan.
- Schaal B., Coureaud G., Marlier L., Soussignan, R., .2001. *Chem. Signals Vertebr.*, 9, 197-204.
- Sneddon H., Hadden R., Hepper P.G., 1998. *Physiol. Behav.*, 64, 133-139.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé par le département PHASE de l'INRA.

Figure 1. Temps passé à manger (s) l'aliment odorisé ou non-odorisé lors du test de choix avec l'aliment familier (expérience 1). (test t de Student* P < 0.05)

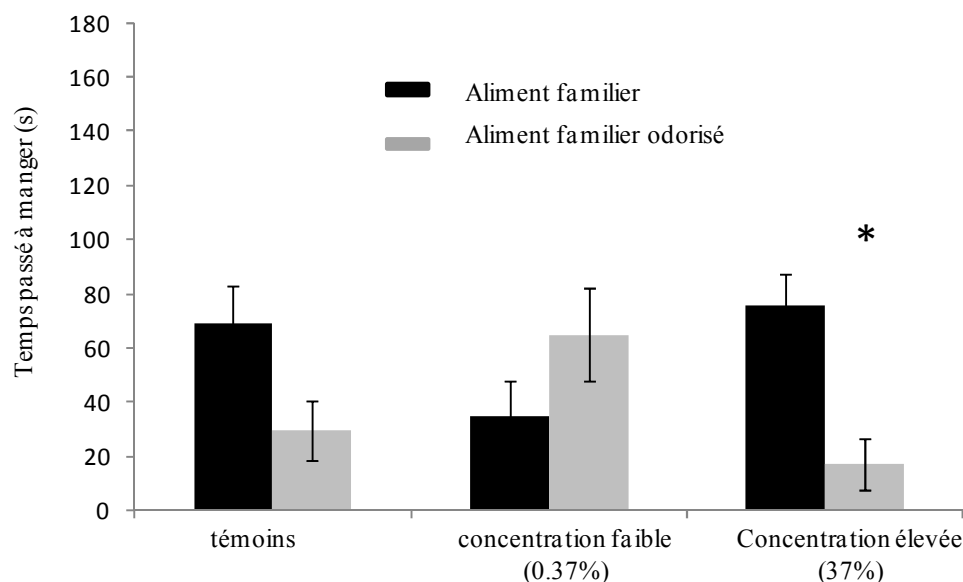


Figure 2. Temps passé à manger (s) l'aliment odorisé ou non-odorisé lors du test de choix avec l'aliment nouveau (expérience 1)

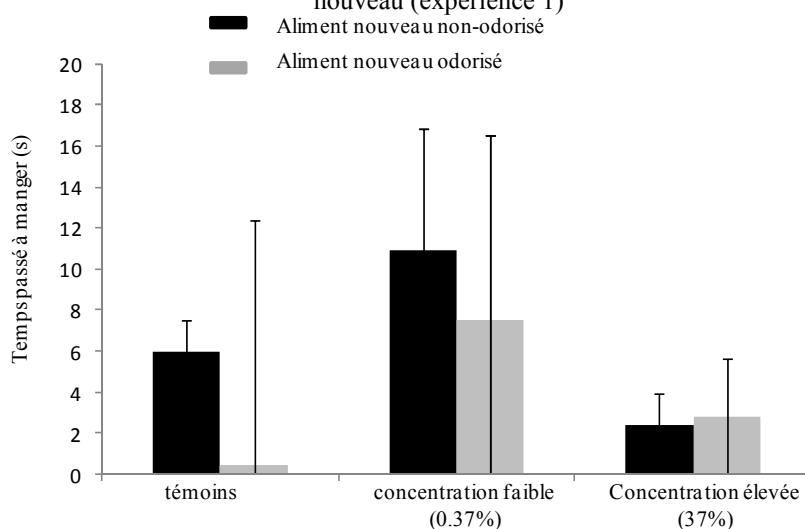


Figure 3. Temps passé à manger (s) l'aliment odorisé ou non-odorisé lors du test de choix avec l'aliment familier (expérience 2). (Wilcoxon, * $P < 0.05$)

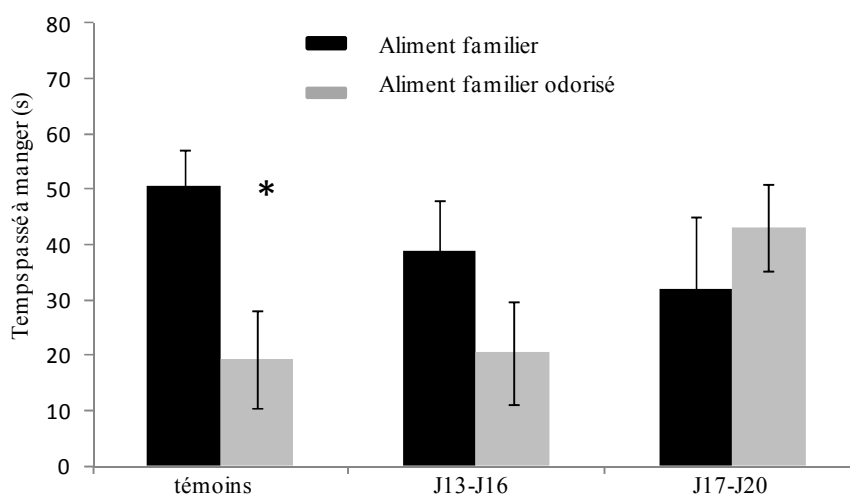


Figure 4. Temps passé à manger (s) l'aliment odorisé ou non-odorisé lors du test de choix avec l'aliment nouveau (expérience 2). (Wilcoxon, * $P < 0.05$).

