

INFLUENCE DE L'AXE MICROBIOTE-INTESTIN-CERVEAU SUR LES COMPORTEMENTS ÉMOTIONNELS ET LA MÉMOIRE DE LA CAILLE JAPONAISE (*COTURNIX JAPONICA*)

INFLUENCE OF THE MICROBIOTA-GUT-BRAIN AXIS ON EMOTIONAL BEHAVIORS AND MEMORY OF THE JAPANESE QUAIL (*COTURNIX JAPONICA*)

Narjis KRAIMI¹ , Flore LORMANT², Ludovic CALANDREAU³ , Sylvie RABOT⁴ , Olivier ZEMB⁵ ,
Christine LETERRIER⁶ 

Manuscrit initial reçu le 26 février 2025, manuscrit révisé reçu le 14 mars 2025 et accepté le 16 mars 2025, révision éditoriale le 7 août 2025

Communication présentée le 12 septembre 2024 lors de la séance thématique de l'Académie vétérinaire de France
« Communication entre le microbiote intestinal et le cerveau »

RÉSUMÉ

Les preuves du rôle du microbiote intestinal dans les fonctions cérébrales et comportementales de son hôte sont de plus en plus nombreuses chez le rongeur et l'humain, faisant de l'axe microbiote-intestin-cerveau un sujet de recherche en pleine expansion. À l'inverse, chez les oiseaux, les données sur le sujet sont rares. Le but de cette étude a donc été de tester l'hypothèse d'une influence du microbiote intestinal de la caille japonaise (*Coturnix japonica*) sur ses comportements émotionnels et sa mémoire. Nous avons démontré que l'absence de microbiote intestinal conduit à une diminution de la réactivité émotionnelle chez les cailles. Nous avons également montré que deux microbiotes distincts pouvaient avoir des effets différents sur les comportements émotionnels. Enfin, nous avons mis en évidence une influence du microbiote intestinal sur les performances de mémoire des cailles. Ainsi, ces résultats nous permettent d'affirmer l'existence d'un axe microbiote-intestin-cerveau chez l'oiseau.

Mots-clés : microbiote intestinal, oiseau, réactivité émotionnelle, mémoire, axe microbiote-intestin-cerveau, *Coturnix japonica*

ABSTRACT

Evidence of the role of the gut microbiota in brain function and behaviour of its host is increasing in rodents and humans, making the microbiota-gut-brain axis a growing research topic. Conversely, in birds, data on the subject are missing. The aim of this study was, therefore, to test the hypothesis of an influence of the gut microbiota of the Japanese quail (*Coturnix japonica*) on its emotional behaviour and memory. First, we demonstrated that the absence of gut microbiota leads to a decrease in emotional reactivity in quails. We also showed that two gut microbiota with a distinct bacterial composition could affect emotional behavior differently. Finally, we highlighted an influence of the gut microbiota on memory performances in quails. Thus, these results allow us to affirm the existence of a microbiota-gut-brain axis in birds.

Keywords: gut microbiota, bird, emotional reactivity, memory, microbiota-gut-brain axis, *Coturnix japonica*

1- PhD, Farncombe Institute, McMaster University, Hamilton, ON, Canada. E-mail : narjis.kraimi@gmail.com

2- PhD, CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, 37380 Nouzilly, France. E-mail : flore.lormant@orange.fr

3- PhD, CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, 37380 Nouzilly, France. E-mail : ludovic.calandreau@inrae.fr

4- DVM, PhD, Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, Micalis Institute, 78350 Jouy-en-Josas, France. E-mail : sylvie.rabot@inrae.fr

5- PhD, INRAE-INPT-ENSAT, Université de Toulouse, GenPhySE, 31326 Castanet-Tolosan, France. E-mail : olivier.zemb@inrae.fr

6- DVM, PhD, CNRS, IFCE, INRAE, Université de Tours, PRC, 37380 Nouzilly, France. E-mail : c.letterrier@yahoo.fr



INTRODUCTION

Le microbiote intestinal, défini comme l'ensemble des micro-organismes colonisant l'organisme d'un individu hôte, suscite un intérêt croissant depuis de nombreuses années, car une multitude d'études ont mis en évidence son rôle crucial dans des processus critiques, tels que la digestion et l'absorption des nutriments (Hooper & Gordon 2001), la maturation et le développement du système immunitaire (Backhed 2005 ; Hooper & MacPherson 2010), la croissance (Nicholson *et al.* 2012), la différenciation des tissus du tube digestif, le développement osseux (Sommer & Backhed 2013) et les fonctions métaboliques (Tremaroli & Backhed 2012).

En revanche, l'intervention du microbiote intestinal dans le fonctionnement du système nerveux central (SNC) est une aire de recherche plus récente. En effet, les dernières décennies ont été marquées par « l'explosion » d'études démontrant l'existence d'une communication entre le microbiote intestinal et le SNC, nommée axe microbiote-intestin-cerveau (Collins *et al.* 2012 ; Fröhlich *et al.* 2016 ; Sherwin *et al.* 2017). Le microbiote intestinal peut communiquer avec le SNC grâce aux molécules structurales de la cellule bactérienne (ex. : lipopolysaccharides [LPS]) ou aux métabolites que ces cellules produisent (ex. : acides gras à chaîne courte, catécholamines, indole, etc.) qui, pour toucher le SNC, (i) utilisent la voie sanguine, (ii) interagissent avec le système immunitaire en induisant la production de cytokines pro-inflammatoires, (iii) entraînent la sécrétion de neuropeptides par les cellules entéro-endocrines, ou (iv) stimulent directement la voie neurale (nerf vague ou nerf spinal) (Collins *et al.* 2012 ; Cryan *et al.* 2019). Par ailleurs, le microbiote intestinal exerce une influence sur plusieurs fonctions cérébrales essentielles, telles que la neurogenèse dans l'hippocampe de l'adulte, la myélinisation, l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS), la régulation de la microglie ou des systèmes monoaminergiques, entraînant ainsi des modifications des réponses comportementales de l'hôte (Bienenstock *et al.* 2015 ; Hoban *et al.* 2016 ; Ogonnaya *et al.* 2015 ; Rabot *et al.* 2016). Dans la littérature, la comparaison de rongeurs axéniques (c'est-à-dire dépourvus de micro-organismes vivants détectables) et de rongeurs hébergeant leurs microbiotes naturels a constitué l'une des premières preuves de l'influence du microbiote intestinal sur le SNC et les comportements. En effet, les rongeurs axéniques présentent une intensification de l'activité de l'axe HHS, ainsi que des altérations des comportements de type anxieux et des altérations de la mémoire (Arentsen *et al.* 2015 ; Campos *et al.* 2016 ; Clarke *et al.* 2012 ; Crumeyrolle-Arias *et al.* 2014 ; Gareau *et al.* 2011 ; Heijtz *et al.* 2011 ; Lu *et al.* 2018 ; Neufeld *et al.* 2011 ; Sudo *et al.* 2004).

Chez l'oiseau, les rares travaux existant dans la littérature se sont concentrés sur les effets d'infections avec des agents pathogènes ou de suppléments en probiotiques (Abdel Azeem 2013 ; Parois *et al.* 2017 ; Toscano *et al.* 2010), mais aucune information n'est disponible sur les effets de l'absence de microbiote intestinal sur le comportement. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude a été de tester chez l'oiseau l'hypothèse selon laquelle le microbiote intestinal aurait une influence sur sa réactivité émotionnelle¹ et pourrait également affecter ses capacités mnésiques. Nous avons choisi d'utiliser la caille japonaise (*Coturnix japonica*) comme modèle, car cette espèce nidifuge peut être élevée en l'absence de la mère, et sa petite taille facilite son étude en isolateurs stériles, dispositifs nécessaires pour contrôler strictement l'environnement microbien, mais dans lesquels l'espace est contraint (Leterrier *et al.* 2016, 2022).

Nous avons tout d'abord étudié le comportement de cailles axéniques (groupe GF ; Germ-Free) et de cailles colonisées avec un microbiote intestinal (groupe COL). La réactivité émotionnelle des deux groupes a été comparée à l'aide de plusieurs tests comportementaux réalisés dans les isolateurs d'élevage (expérience no1 ; Kraimi *et al.* 2018).

La seconde partie de l'étude a consisté à déterminer si des microbiotes de compositions différentes pouvaient avoir des effets différents sur les réponses émotionnelles des cailles. Nous avons utilisé deux lignées de cailles sélectionnées pour leur niveau de réactivité émotionnelle plus (E+) ou moins élevé (E-), pour lesquelles il a été démontré qu'elles hébergeaient des microbiotes intestinaux distincts (Kraimi *et al.* 2019a). Nous avons réalisé un transfert de microbiote au cours duquel des cailles axéniques issues de la lignée E+ ont été colonisées soit avec le microbiote intestinal de cette lignée (groupe M+), soit avec le microbiote intestinal de la lignée E- (groupe M-). Là encore, nous avons réalisé une série de tests comportementaux afin de mesurer les effets de ce transfert de microbiote sur la réactivité émotionnelle de notre modèle (expérience no2 ; Kraimi *et al.* 2019a).

Enfin, dans la dernière partie de cette étude, nous avons testé l'effet du microbiote intestinal sur les performances de mémoire des cailles. Pour cela, après avoir vérifié que des cailles ayant ou non subi une procédure de stress chronique avaient des microbiotes intestinaux distincts, nous avons colonisé des cailles axéniques avec le microbiote intestinal provenant soit d'un individu témoin (groupe CONTROL T), soit d'un individu stressé (groupe STRESS T). Puis, nous les avons soumises à un test de mémoire spatiale (expérience no3 ; Kraimi *et al.* 2022).

L'ensemble de ces travaux a permis, pour la première fois, d'apporter un éclairage sur l'existence d'un axe microbiote-intestin-cerveau chez l'oiseau.

1- L'expression « réactivité émotionnelle » désigne la capacité à percevoir, interpréter et réagir aux stimuli environnementaux avec des réponses comportementales et physiologiques reflétant l'état émotionnel.



MATÉRIEL ET MÉTHODES

Animaux et conditions d'hébergement

Les expériences se sont déroulées à la Plate-Forme d'Infectiologie Expérimentale (PFIE, UE 1277) du Centre Val de Loire d'INRAE, à Nouzilly (France).

Après désinfection des œufs de caille japonaise (*Coturnix japonica*) selon la procédure décrite par ailleurs (Kraimi et al. 2018 ; 2019a ; 2022), puis éclosion en conditions contrôlées dans des isolateurs stériles, les cailliteaux ont été transférés deux jours après leur naissance (J2) dans de grands isolateurs stériles, tous de taille identique, où ont été réalisés les tests comportementaux (Figure 1). Le statut axénique a été contrôlé chaque semaine par culture aérobie et anaérobie d'échantillons de matières fécales fraîchement recueillies. Toutes les cailles ont eu un accès *ad libitum* à de l'eau stérilisée par autoclavage et à de la nourriture en granulés stérilisée par irradiation γ (40-45 kGy).

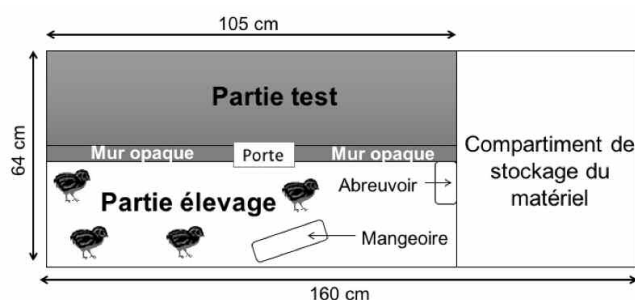


Figure 1. Organisation d'un isolateur. La zone de test est séparée de la zone d'élevage, qui contient la nourriture et l'eau, par une paroi opaque.

Colonisation bactérienne

Immédiatement après leur transfert dans les grands isolateurs d'élevage à J2, les cailliteaux du groupe COL (expérience no1) ont été colonisés par introduction d'un pool de fientes de femelles adultes conventionnelles. Celui-ci a été ajouté à l'eau de boisson et à la nourriture, afin de se rapprocher le plus possible du mode de colonisation rencontré en conditions naturelles après l'éclosion. Les poussins ont été mis à jeun pendant 90 min avant l'ajout du pool de fientes pour favoriser la prise alimentaire et, par conséquent, une colonisation rapide de leur tube digestif.

Les cailliteaux des groupes M+ et M- (expérience no2) ont également été colonisés à J2, par gavage oral avec le microbiote cæcal (100 μ L/cailliteau) d'un donneur adulte, soit de la lignée E+, soit de la lignée E-. Les cailliteaux des groupes CONTROL T et STRESS T (expérience no3) ont aussi été colonisés à J2 par gavage oral avec le microbiote cæcal (100 μ L/cailliteau) soit d'un donneur adulte témoin, soit d'un donneur adulte ayant subi une procédure de stress chronique (Lormant et al. 2020 ; 2021).

Tests comportementaux

Selon l'expérience, trois tests évaluant la réactivité émotionnelle et un test de mémoire spatiale ont été réalisés, dont les principes et les modalités de mise en œuvre sont décrits ci dessous.

Test d'immobilité tonique

Pour évaluer la réactivité émotionnelle des cailles japonaises, le test robuste et standard d'immobilité tonique (Mills & Faure 1991) a été utilisé. Durant ce test, chaque caille est placée sur le dos dans un berceau en plastique en forme de U et immobilisée pendant 10 secondes (avec une main sur le sternum, l'autre tenant légèrement la tête de la caille). Après ces 10 secondes, la durée d'immobilité tonique (durée pendant laquelle la caille reste immobile) est enregistrée. Plus la caille reste longtemps en immobilité tonique, plus elle est considérée comme exprimant une réactivité émotionnelle élevée. À l'inverse, une caille qui se redresse rapidement est considérée comme ayant une faible réactivité émotionnelle. C'est principalement en utilisant ce test que sont sélectionnées les lignées de cailles E+ et E- depuis de nombreuses générations au Centre Val de Loire d'INRAE.

Test de séparation sociale



Le test de séparation sociale mesure la réactivité émotionnelle des cailles pendant la situation stressante de séparation d'avec leurs congénères. Pour ce faire, chaque caille est placée seule dans le compartiment « test » de l'isolateur (Figure 1) pendant 10 min et la distance qu'elle parcourt pendant cette période est mesurée. En effet, cette distance est utilisée comme indicateur pertinent de la réactivité émotionnelle, car elle augmente à mesure que la caille s'agite davantage pour tenter de retrouver ses congénères. Les distances parcourues ont été calculées à l'aide du logiciel Ethovision XT (version 7.1).

Test de l'objet nouveau

Pour tester la réactivité émotionnelle des cailles en réponse à la nouveauté, nous avons enregistré leur comportement en présence d'un objet nouveau. Deux cailles (pour limiter la composante d'isolement social) ont été placées simultanément dans le compartiment « test » contenant au centre un ver en plastique rose préalablement stérilisé par irradiation γ . En définissant des zones autour de l'objet grâce au logiciel The Observer XT (version 12.5), le temps passé à proximité ou loin de l'objet a été enregistré. Plus le temps passé loin de l'objet est long, plus la caille est considérée comme exprimant une réactivité émotionnelle élevée.

Test de mémoire spatiale

Avant la réalisation du test, les cailles ont été habituées à l'arène où il allait se dérouler, grâce à une phase d'entraînement durant laquelle sept pots étaient recouverts de papier blanc et un pot, contenant une récompense sous forme de vers de farine vivants (pot dit « récompensé »), était recouvert de papier noir. L'emplacement de ce pot est resté le même pendant toute la période d'entraînement. L'enjeu était d'entraîner les cailles à retrouver le pot noir « récompensé » le plus rapidement possible et en faisant le moins d'erreurs possible (visites dans les pots blancs « non récompensés »). Après plusieurs jours d'entraînement, les cailles ont été soumises au test de mémoire spatiale. Dans ce test, aucun ver de farine n'était déposé dans les pots afin d'éviter tout signal olfactif, et tous les pots étaient de couleur blanche afin d'évaluer les performances de mémoire spatiale des cailles pour localiser l'emplacement du pot habituellement « récompensé » lors de l'entraînement. La latence à retrouver le pot et le nombre d'erreurs ont été enregistrés.

Analyse de la composition du microbiote intestinal

Le contenu cæcal et les fèces collectés ont été congelés et conservés à -80°C pour analyse de la composition du microbiote intestinal par séquençage du gène codant l'ARNr 16S. Les étapes d'extraction de l'ADN bactérien, d'amplification par PCR du gène codant l'ARNr 16S, puis du séquençage et de l'analyse bio-informatique des séquences, ont été réalisées selon la procédure décrite par Kraimi et al. (2019a ; 2022).

Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel RStudio (version 1.1.463). Les données comportementales ont été analysées en utilisant des modèles mixtes linéaires généralisés (*Generalized Linear Mixed Models* [GLMM], package « lme4 » dans RStudio) avec le groupe (ou traitement), le sexe et l'interaction entre le traitement et le sexe comme effets fixes, et avec l'ordre dans lequel les cailles ont été testées comme effet aléatoire. En ce qui concerne les données sur le microbiote, les abondances relatives de chaque phylum ont été comparées à l'aide des tests de Wilcoxon-Mann-Whitney. Les résultats sont présentés sous forme de moyennes $\pm$ SEM.

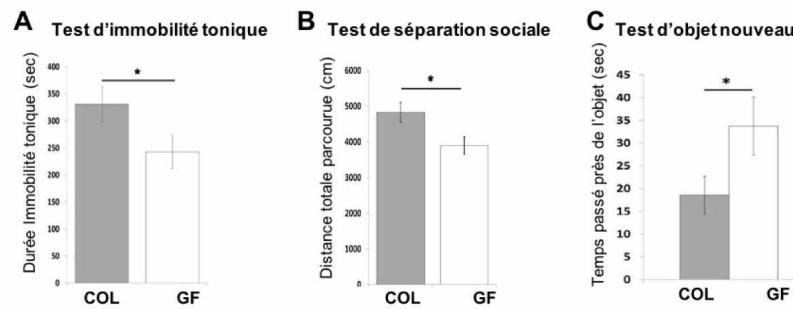
RÉSULTATS

Le microbiote intestinal influence la réactivité émotionnelle de la caille japonaise

Lors de l'expérience no1, les cailles axéniques du groupe GF ont passé moins de temps en immobilité tonique que les cailles du groupe COL, colonisées avec un microbiote intestinal (Figure 2A), ce qui correspond à une réactivité émotionnelle moins élevée lors de cet événement de contention. Durant le test de séparation sociale, les cailles axéniques ont été moins agitées que les cailles colonisées. En effet, les cailles axéniques ont parcouru moins de distance dans l'ensemble du compartiment « test », séparé du compartiment « élevage » de leurs congénères (Figure 1), indiquant une réactivité émotionnelle moins forte que les cailles COL lors de ce test de séparation sociale (Figure 2B). Enfin, les cailles GF ont passé davantage de temps près du nouvel objet que les cailles COL lors des premières minutes du test (Figure 2C), révélant, encore une fois, une réactivité émotionnelle moins importante.

Figure 2. Expérience no1. Durée d'immobilité tonique durant le test d'immobilité tonique (A), distance totale parcourue durant le test de





séparation sociale (B) et temps passé près de l'objet durant le test d'objet nouveau (C) par les caillles des groupes COL ($n = 36$) et GF ($n = 36$). * $p \leq 0,05$.

Les résultats du transfert de microbiote effectué au cours de l'expérience no2 ont montré que les caillles du groupe M- ayant reçu le microbiote issu de la lignée E- ont exprimé une réactivité émotionnelle moins élevée à l'âge de 15 jours (J15), en passant moins de temps en immobilité tonique que les caillles du groupe M+ colonisées avec le microbiote de la lignée E+ (Figure 3A). Cependant, ce résultat s'est inversé à l'âge de 29 jours (J29), lors d'un second test d'immobilité tonique durant lequel les caillles du groupe M- ont passé plus de temps en immobilité tonique, signe d'une réactivité émotionnelle plus élevée, que les caillles du groupe M+ (Figure 3B).

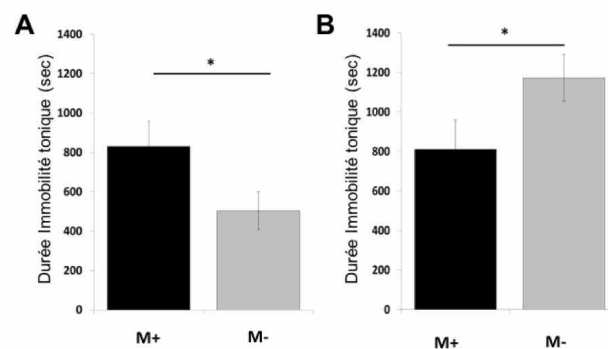


Figure 3. Expérience no2. Durée d'immobilité tonique durant le test d'immobilité tonique à J15 (A) et J29 (B) des caillles des groupes M+ ($n = 18$) et M- ($n = 18$). * $p \leq 0,05$.

De la même manière, alors que l'analyse de la composition du microbiote chez les groupes M+ et M- a révélé des différences significatives d'abondances relatives des phyla à l'âge de 21 jours (J21) (Figure 4A), ces différences ont disparu à l'âge de 35 jours (J35) (Figure 4B).

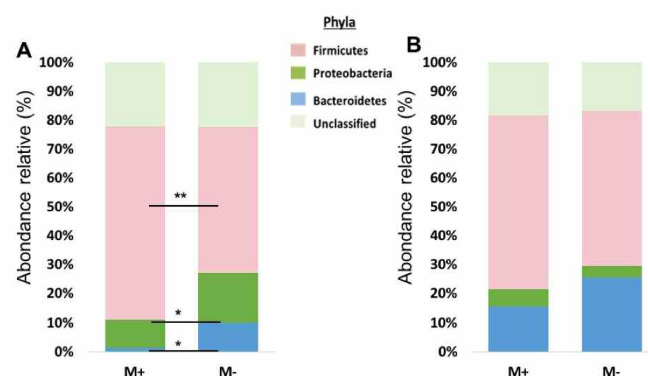


Figure 4. Expérience no2. Abondances relatives des phyla majeurs de bactéries dans les fèces des caillles des groupes M+ ($n = 18$) et M- ($n = 18$) à J21 (A) et J35 (B). * $p \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$.



Le microbiote intestinal influence la mémoire de la caille japonaise

Lors de l'expérience no3, les résultats du test de mémoire ont révélé une altération des performances de mémoire spatiale chez les cailles du groupe STRESS T, qui avaient reçu le microbiote d'un animal stressé, avec une latence plus longue (Figure 5A) et un nombre d'erreurs avant de trouver l'emplacement du pot plus élevé (Figure 5B) par rapport aux cailles du groupe CONTROL T, qui avaient reçu le microbiote d'un animal témoin, non stressé.

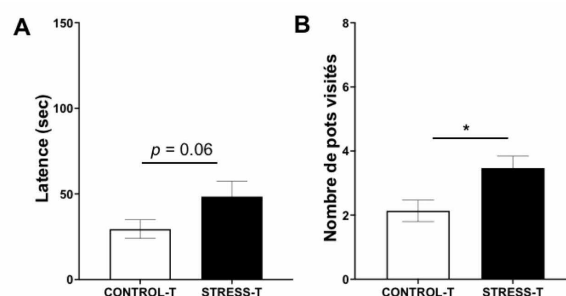


Figure 5. Expérience no3. Latence (A) et nombre de pots visités (B) avant de trouver l'emplacement du pot habituellement « récompensé » durant le test de mémoire spatiale des cailles des groupes CONTROL T (n = 15) et STRESS T (n = 15). * $p \leq 0,05$.

Enfin, l'analyse par séquençage du gène codant l'ARNr 16S a permis d'identifier une abondance relative du phylum *Firmicutes* moins élevée ($p < 0,01$) et une abondance relative du phylum *Bacteroidetes* plus élevée ($p < 0,05$) chez les cailles donneuses stressées comparées aux cailles donneuses témoins (Figure 6A). De façon intéressante, les mêmes différences de composition du microbiote ont été retrouvées entre les cailles receveuses des groupes STRESS T et CONTROL T (Figure 6B).

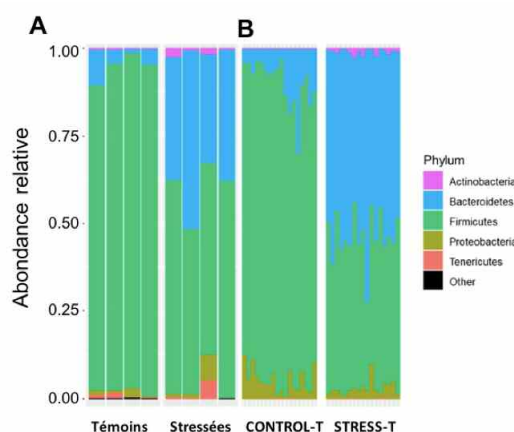


Figure 6. Expérience no3. Abondances relatives des phyla majeurs de bactéries dans les cæca des cailles donneuses témoins (n = 4) et stressées (n = 4) (A) et des cailles receveuses des groupes CONTROL T (n = 18) et STRESS T (n = 17) (B).

Aucun effet du sexe statistiquement significatif n'a été détecté dans les trois expériences.

DISCUSSION

Dans chacune des situations de tests, les cailles axéniques ont exprimé une réactivité émotionnelle moins importante que les cailles colonisées avec un microbiote intestinal, ce qui représente la première preuve de l'importance de la présence d'un microbiote intestinal pour un développement comportemental normal chez une espèce d'oiseau. Plusieurs travaux utilisant des rongeurs axéniques ont mis en évidence des résultats similaires, se traduisant par une diminution des comportements de type anxieux chez ces animaux dépourvus de microbiote (Arentsen et al. 2015 ; Clarke et al. 2012 ; Heijtz et al. 2011 ; Neufeld et al. 2011). Il est important de noter qu'à l'inverse, d'autres études ont rapporté une augmentation des comportements de type anxieux chez les rongeurs axéniques (Crumeyrolle-Arias et al. 2014 ; Nishino et al. 2013). Bien que nous pensons que l'animal axénique est un modèle nécessaire pour enrichir les connaissances sur les fonctions du microbiote intestinal, son utilisation présente des limites, en raison de son éloignement de la réalité et des altérations physiologiques qui l'accompagnent (Braniste et al. 2014 ; Grover & Kashyap 2014 ; Luczynski et al. 2016).



De ce fait, dans la suite de nos travaux, nous avons utilisé nos lignées de cailles sélectionnées depuis de nombreuses générations sur leur niveau de réactivité émotionnelle, et qui présentent des microbiotes de compositions différentes, afin de montrer que la colonisation avec le microbiote intestinal de la lignée à faible réactivité émotionnelle (E-) réduit la réactivité émotionnelle de la lignée à forte réactivité émotionnelle (E+). En effet, nous avons révélé une réduction de l'immobilité tonique chez les cailles colonisées avec le microbiote intestinal E- en début d'expérience, conformément à notre hypothèse. De manière plus surprenante, ce résultat s'est inversé plus tard dans l'étude et les cailles ayant reçu le microbiote intestinal E- ont exprimé une immobilité tonique plus longue que les cailles colonisées avec un microbiote E+. Il semblerait donc que la colonisation avec le microbiote intestinal E- ait réduit la réactivité émotionnelle des cailles en début de vie, avant de l'exacerber par la suite. De manière intéressante, la composition du microbiote intestinal a aussi évolué au cours du temps. En effet, les différences d'abondance relative des phyla *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* et *Firmicutes* observées entre les groupes M+ et M- à J21 ont disparu à J35. Plusieurs études ont montré que la composition du microbiote intestinal était influencée par le génotype de l'hôte et que des pressions sélectives distinctes étaient imposées dans l'habitat intestinal de chaque hôte, conduisant à la sélection de micro-organismes spécifiques (Kurilshikov et al. 2017). Un transfert de microbiotes intestinaux entre des souris et des poissons-zèbres axéniques illustre également bien cette notion (Rawls et al. 2006). En effet, après le transfert, les auteurs ont observé que les souris recevant le microbiote de poissons-zèbres ont reformé leur microbiote d'origine en termes d'abondances relatives des communautés microbiennes. De la même manière, le microbiote murin administré aux poissons-zèbres a évolué pour aboutir à une composition se rapprochant de celle du microbiote spécifique de cette espèce animale. Il est donc possible, que, dans notre cas, les cailles E+ aient peu à peu modifié le microbiote intestinal implanté, en l'orientant vers une composition plus proche de celle de leur lignée, expliquant cet inversement d'effets sur le comportement.

Prenant en compte cette idée de sélection sous l'influence du génome de l'hôte, nous avons, dans notre dernière étude, réalisé des transferts de microbiotes entre des cailles provenant de la même lignée génétique. Des cailles de la lignée E+ ont été colonisées avec le microbiote intestinal d'individus de la même lignée E+, mais ayant subi, ou non, une procédure de stress chronique. Le stress chronique est connu pour modifier la composition du microbiote (Bharwani et al. 2016 ; Pusceddu et al. 2015). Cela s'est vérifié dans notre modèle, chez lequel nous avons observé que le microbiote cæcal de cailles soumises à une procédure de stress chronique différait de celui de cailles non stressées. Les principales différences concernaient les phyla *Bacteroidetes* et *Firmicutes*, connus pour être altérés par diverses formes de stress (Bharwani et al. 2016 ; Pusceddu et al. 2015). De façon intéressante, l'analyse de microbiote réalisée chez les cailles des groupes STRESS T et CONTROL T, ayant reçu respectivement le microbiote de cailles donneuses stressées ou non stressées, a conduit à des résultats très similaires à ceux observés chez les cailles donneuses, ce qui suggère un transfert de microbiote réussi. Le stress chronique est également connu pour influencer les processus de mémoire et il est largement admis que l'hippocampe est une cible privilégiée du stress chronique. Ainsi, la mémoire spatiale, qui est une forme de mémoire hippocampo-dépendante, est très souvent altérée par le stress chronique, comme l'ont montré plusieurs études chez les oiseaux et les mammifères (Lindqvist et al. 2007 ; Lindqvist & Jensen 2009 ; Moreira et al. 2016). Dans notre étude, les cailles du groupe STRESS T colonisées avec un microbiote intestinal provenant d'un individu stressé chroniquement ont présenté des déficits de mémoire spatiale. De façon remarquable, cela signifie que les altérations de mémoire observées chez les individus réellement soumis à la procédure de stress chronique (Lormant et al. 2020) ont pu être reproduites grâce au transfert de microbiote intestinal. Si les effets du microbiote intestinal sur la mémoire ont déjà été démontrés chez les mammifères (Bruce-Keller et al. 2015 ; Desbonnet et al. 2015 ; Gareau et al. 2011 ; Savignac et al. 2015 ; Val-Laillet et al. 2017), seule une étude réalisée dans notre laboratoire chez la caille japonaise avait jusqu'alors montré une amélioration des capacités de mémoire spatiale, suite à une supplémentation avec le probiotique *Pediococcus acidilactici* (Parois et al. 2017). Notre étude apporte donc de nouvelles preuves de l'influence du microbiote intestinal sur les capacités mnésiques des oiseaux.

En conclusion, nos travaux ont permis de mettre en évidence une influence du microbiote intestinal sur les comportements émotionnels et la mémoire de la caille japonaise, conformément à notre hypothèse initiale. Bien que les mécanismes d'action restent à explorer, cette étude a représenté la première preuve de l'existence d'un axe microbiote-intestin-cerveau chez l'oiseau. À l'échelle zootechnique, la prise en compte d'un tel concept peut servir à des fins de lutte contre les comportements délétères communément observés dans les élevages aviaires, tels que le picage des plumes ou des stéréotypies marquées. L'intérêt d'explorer l'influence du microbiote intestinal sur le comportement des animaux d'élevage a d'ailleurs fait l'objet de revues scientifiques récentes (Chen et al. 2022 ; Hillerer & Gimsa 2024 ; Kraimi et al. 2019 b).

REMERCIEMENTS

Nous remercions Sébastien Lavillatte, Thierry Chaumeil, Patrice Cousin, Olivier Dubes, Maud Renouard et Edouard Guitton (PFIE, INRAE Centre Val de Loire), chargés de la maintenance des isolateurs et des soins aux animaux. Nous remercions Christèle Dupont pour son aide aux étapes d'extraction de l'ADN microbien et de PCR. Nous remercions Julie Lemarchand, Paul Constantin, Manon Biesse et Céline Parias (UMR PRC, Centre INRAE Val de Loire) pour leur aide lors des expérimentations.



CONFLITS D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont aucun conflit d'intérêt.

COMITÉ D'ÉTHIQUE

Toutes les procédures d'expérimentation sur les animaux ont été réalisées conformément aux lignes directrices fixées par la directive du Conseil des Communautés européennes et à la législation française sur la recherche animale. De plus, les protocoles ont été autorisés par le ministère français de l'Éducation nationale, de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (n° d'autorisation 4191 2016022215316642, 201707131037724.V2 10607 et 201707131037724.V3 10607).

RÉFÉRENCES

- Abdel-Azeem NM. Do probiotics affect the behavior of turkey poults? *J Vet Med Anim Health*. 2013; 5(5): 144–148. <https://doi.org/10.5897/JVMAH2012.0196>
- Arentsen T, Raith H, Qian Y, Forssberg H, Heijtz RD. Host microbiota modulates development of social preference in mice. *Microb Ecol Health Dis*. 2015; 26(1): 1–8. <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.29719>
- Backhed F (2005). Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine. *Science*. 2005; 307(5717): 1915–1920. <https://doi.org/10.1126/science.1104816>
- Bharwani A, Firoz Mian M, Foster JA, Surette MG, Bienensstock J, Forsythe P. Structural & functional consequences of chronic psychosocial stress on the microbiome & host. *Psychoneuroendocrinology*. 2016; 63: 217–227. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.10.001>
- Bienenstock J, Kunze W, Forsythe P. Microbiota and the gut-brain axis. *Nutr Rev*. 2015; 73(S1): 28–31. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv019>
- Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Toth M et al. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med*. 2014; 6(263): 263ra158. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009759>
- Bruce-Keller AJ, Salbaum JM, Luo M, Blanchard E, Taylor CM, Welsh DA et al. Obese-type gut microbiota induce neurobehavioral changes in the absence of obesity. *Biol Psychiatry*. 2015; 77(7): 607–615. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.07.012>
- Campos AC, Rocha NP, Nicoli JR, Vieira LQ, Teixeira MM, Teixeira AL. Absence of gut microbiota influences lipopolysaccharide-induced behavioral changes in mice. *Behav Brain Res*. 2016; 312: 186–194. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.06.027>
- Chen S, Luo S, Yan C. Gut microbiota implications for health and welfare in farm animals: A review. *Animals*. 2022; 12(1): 1–14. <https://doi.org/10.3390/ani12010093>
- Clarke G, Grenham S, Scully P, Fitzgerald P, Moloney R, Shanahan F et al. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol Psychiatry*. 2012; 18(10): 666–673. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.77>
- Collins SM, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nat Rev Microbiol*. 2012; 10(11): 735–742. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2876>
- Crumeyrolle-Arias M, Jaglin M, Bruneau A, Vancassel S, Cardona A, Daugé V et al. Absence of the gut microbiota enhances anxiety-like behavior and neuroendocrine response to acute stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2014; 42: 207–217. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.01.014>
- Cryan J F, O'Riordan KJ, Cowan CSM, Sandhu KV, Bastiaansen TFS, Boehme M et al. The microbiota-gut-brain axis. *Physiol Rev*. 2019; 99(4): 1877–2013. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>
- Desbonnet L, Clarke G, Traplin A, O'Sullivan O, Crispie F, Moloney RD et al. Gut microbiota depletion from early adolescence in mice: Implications for brain and behaviour. *Brain Behav Immun*. 2015; 48: 165–173. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.04.004>
- Fröhlich EE, Farzi A, Mayerhofer R, Reichmann F, Jačan A, Wagner B et al. Cognitive impairment by antibiotic-induced gut dysbiosis: Analysis of gut microbiota-brain communication. *Brain Behav Immun*. 2016; 56: 140–155. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.02.020>
- Gareau MG, Wine E, Rodrigues DM, Cho JH, Whary MT, Philpott DJ et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut*. 2011; 60(3): 307–317. <https://doi.org/10.1136/gut.2009.202515>
- Grover M, Kashyap PC. Germ-free mice as a model to study effect of gut microbiota on host physiology. *Neurogastroenterol Motil*. 2014; 26(6): 745–748. <https://doi.org/10.1111/nmo.12366>
- Heijtz DR, Wang S, Anuar F, Qian Y, Björkholm B, Samuelsson A et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108(7): 3047–3052. <https://doi.org/10.1073/pnas.1010529108>
- Hillerer KM, Gimsa U. Adult neurogenesis and the microbiota-gut-brain axis in farm animals: underestimated and understudied parameters for improving welfare in livestock farming. *Front Neurosci*. 2024; 18: 1493605. <https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1493605>
- Hoban AE, Stilling RM, Ryan FJ, Shanahan F, Dinan TG, Claesson MJ et al. Regulation of prefrontal cortex myelination by the microbiota. *Transl Psychiatry*. 2016; 6(4): e774. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.42>
- Hooper LV, Gordon JI. Commensal Host-Bacterial Relationships in the Gut. *Science*. 2001; 292(10): 1115–1118. <https://doi.org/10.1126/science.1058709>
- Hooper LV, MacPherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nat Rev Im-*



Bull. Acad. Vét. France — 2025

<http://www.academie-veterinaire-defrance.org/>



Cet article est publié sous licence creative commons CC-BY-NC-ND 4.0

munol. 2010; 10(3): 159–169. <https://doi.org/10.1038/nri2710>

- Kraimi N, Calandreau L, Biesse M, Rabot S, Guitton E, Velge P *et al.* Absence of gut microbiota reduces emotional reactivity in Japanese quails (*Coturnix japonica*). Front Physiol. 2018; 9: 1–9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00603>
- Kraimi N, Calandreau L, Zemb O, Germain K, Dupont C, Velge P *et al.* Effects of gut microbiota transfer on emotional reactivity in Japanese quails (*Coturnix japonica*). J Exp Biol. 2019a; 222(10): jeb202879. <https://doi.org/10.1242/jeb.202879>
- Kraimi N, Dawkins M, Gebhardt-Henrich SG, Velge P, Rychlik I, Volf J *et al.* Influence of the microbiota-gut-brain axis on behavior and welfare in farm animals: A review. Physiol Behav. 2019b; 210: 112658. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112658>
- Kraimi N, Lormant F, Calandreau L, Kempf F, Zemb O, Lemarchand J *et al.* Microbiota and stress: a loop that impacts memory. Psychoneuroendocrinology. 2022; 136: 105594. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2021.105594>
- Kurilshikov A, Wijmenga C, Fu J, Zhernakova A. Host Genetics and Gut Microbiome: Challenges and Perspectives. Trends Immunol. 2017; 38(9): 633–647. <https://doi.org/10.1016/j.it.2017.06.003>
- Leterrier C, Lemarchand J, Cornilleau F, Richard S, Calandreau L, Rivière S. La caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*) : un modèle pour des études dans de nombreuses disciplines. STAL. 2022; 50: 46–51. <https://hal.inrae.fr/hal-04179448>
- Leterrier C, Kraimi N, Velge P, Menanteau P, Guitton E, Lavillatte S *et al.* Intérêt des études sur le microbiote intestinal chez l'oiseau. In : Microbiote et Modèles animaux. 2016; 42: p. 49. Colloque annuel de l'AFSTAL, Nantes, France, 12-14 décembre 2016.
- Lindqvist C, Janczak AM, Nätt D, Baranowska I, Lindqvist N, Wichman A *et al.* Transmission of stress-induced learning impairment and associated brain gene expression from parents to offspring in chickens. PLoS One. 2007; 2(4): e364. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000364>
- Lindqvist C, Jensen P. Domestication and stress effects on contrafreeloading and spatial learning performance in red jungle fowl (*Gallus gallus*) and White Leghorn layers. Behav Processes. 2009; 81(1): 80–84. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2009.02.005>
- Lormant F, Bessa Ferreira VH, Lemarchand J, Cornilleau F, Constantin P, Parias C *et al.* Training level reveals a dynamic dialogue between stress and memory systems in birds. Behav Brain Res. 2021; 408: 113280. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113280>
- Lormant F, Ferreira VHB, Meurisse M, Lemarchand J, Constantin P, Morisse M *et al.* Emotionality modulates the impact of chronic stress on memory and neurogenesis in birds. Sci Rep. 2020; 10(1): 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71680-w>
- Lu J, Synowiec S, Lu L, Yu Y, Bretherick T, Takada S *et al.* Microbiota influence the development of the brain and behaviors in C57BL/6J mice. PLoS One. 2018; 13(8): e0201829. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201829>
- Luczynski P, McVey Neufeld KA, Oriach CS, Clarke G, Dinan TG, Cryan, JF. Growing up in a bubble: Using germ-

free animals to assess the influence of the gut microbiota on brain and behavior. Int J Neuropsychopharmacol. 2016; 19(8): pyw020. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw020>

- Mills AD, Faure JM. Divergent Selection for Duration of Tonic Immobility and Social Reinstatement Behavior in Japanese Quail (*Coturnix Coturnix Japonica*) Chicks. J Comp Psychol. 1991; 105(1): 25–38. <https://doi.org/10.1037/0735-7036.105.1.25>
- Moreira PS, Almeida PR, Leite-Almeida H, Sousa N, Costa P. Impact of chronic stress protocols in learning and memory in rodents: Systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2016; 11(9): e0163245. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163245>
- Neufeld KM, Kang N, Bienenstock J, Foster JA. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. Neurogastroenterol Motil. 2011; 23(3): 255–265. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2010.01620.x>
- Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W *et al.* Host-Gut Microbiota Metabolic Interactions. Science. 2012; 336(6086): 1262–1267. <https://doi.org/10.1126/science.1223813>
- Nishino R, Mikami K, Takahashi H, Tomonaga S, Furuse M, Hiramoto T *et al.* Commensal microbiota modulate murine behaviors in a strictly contamination-free environment confirmed by culture-based methods. Neurogastroenterol Motil. 2013; 25(6): 521–528. <https://doi.org/10.1111/nmo.12110>
- Ogbonnaya ES, Clarke G, Shanahan F, Dinan TG, Cryan JF, O'Leary OF. Adult Hippocampal Neurogenesis Is Regulated by the Microbiome. Biol Psychiatry. 2015; 78(4): e7–e9. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.12.023>
- Parois S, Calandreau L, Kraimi N, Gabriel I, Leterrier C. The influence of a probiotic supplementation on memory in quail suggests a role of gut microbiota on cognitive abilities in birds. Behav Brain Res. 2017; 331: 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.05.022>
- Pusceddu MM, El Aidy S, Crispie F, O'Sullivan O, Cotter P, Stanton C *et al.* N-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) reverse the impact of early-life stress on the gut microbiota. PLoS One. 2015; 10(10): e0139721. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139721>
- Rabot S, Jaglin M, Dugé V, Naudon L. Impact of the gut microbiota on the neuroendocrine and behavioural responses to stress in rodents. OCL. 2016; 23 (1): D116. <https://doi.org/10.1051/ocl/2015036>
- Rawls JF, Mahowald MA, Ley RE, Gordon JI. Reciprocal Gut Microbiota Transplants from Zebrafish and Mice to Germ-free Recipients Reveal Host Habitat Selection. Cell. 2006; 127(2): 423–433. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.08.043>
- Savignac HM, Tramullas M, Kiely B, Dinan TG, Cryan JF. Bifidobacteria modulate cognitive processes in an anxious mouse strain. Behav Brain Res. 2015; 287: 59–72. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.02.044>
- Sherwin E, Dinan TG, Cryan, JF. Recent developments in understanding the role of the gut microbiota in brain health and disease. Ann N Y Acad Sci. 2018; 1420(1): 5–25. <https://doi.org/10.1111/nyas.13416>
- Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota--masters of host development and physiology. In Nat Rev Microbiol. 2013;



11(4): 227–238). <https://doi.org/10.1038/nrmicro2974>

• Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu X-N *et al.* Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic—pituitary—adrenal system for stress response in mice. *J Physiol.* 2004; 558(1): 263–275.

<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063388>

• Toscano MJ, Sait L, Jørgensen F, Nicol CJ, Powers C, Smith AL *et al.* Sub-clinical infection with *Salmonella* in chickens differentially affects behaviour and welfare in three inbred strains. *Br Poult Sci.* 2010; 51(6): 703–713.

<https://doi.org/10.1080/00071668.2010.528748>

• Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature.* 2012; 489(7415): 242–249. <https://doi.org/10.1038/nature11552>

• Val-Laillet D, Besson M, Gu S, Coquery N, Kanzari A, Bonhomme N *et al.* A maternal Western diet during gestation and lactation modifies offspring's microbiota activity, blood lipid levels, cognitive responses, and hippocampal neurogenesis in Yucatan pigs. *FASEB J.* 2017; 31(8): 1–14.

<https://doi.org/10.1096/fj.201601015R>

