

ROBUSTESSE ET PRODUCTION DURABLE : HYPOTHÈSES PHYSIOPATHOLOGIQUES ET MOLÉCULAIRES

ROBUSTNESS AND SUSTAINABLE BREEDING: PATHOPHYSIOLOGICAL AND MOLECULAR HYPOTHESES

Par Pierre MORMÈDE et Aline FOURY ⁽¹⁾
(Communication présentée le 1^{er} octobre 2009)

RÉSUMÉ

L'axe corticotrope est le système neuroendocrinien le plus important dans les réponses de stress. Le cortisol (ou la corticostérone) libéré par le cortex des glandes surrénales exerce de nombreux effets sur les métabolismes, le système immunitaire et les processus inflammatoires, ainsi que sur les fonctions cérébrales. Il existe une large variabilité interindividuelle dans le fonctionnement de cet axe, avec des conséquences fonctionnelles importantes. En termes de production animale, des niveaux élevés de cortisol ont des effets négatifs sur la vitesse de croissance, l'efficacité alimentaire ou la composition de carcasse. Au contraire, le cortisol a des effets positifs sur les caractères de robustesse et d'adaptation comme la survie des nouveaux-nés ou la résistance à la chaleur. Au cours des dernières décennies, une intense sélection sur la production de tissu maigre chez le Porc a réduit concomitamment l'activité de l'axe corticotrope, avec des conséquences négatives sur la survie des nouveau-nés par exemple. Une importante variabilité génétique est présente dans toutes les composantes de l'axe corticotrope. La recherche des mécanismes moléculaires de cette variabilité est très active et devrait ouvrir la voie à une sélection sur marqueurs, en vue d'optimiser le fonctionnement de l'axe corticotrope pour maximiser les effets favorables sur la robustesse des animaux, tout en préservant leur potentiel de production, objectif de sélection prioritaire dans le cadre du développement d'un élevage « durable ».

Mots clés : stress, robustesse, cortisol, génétique, sélection sur marqueurs.

SUMMARY

The hypothalamic-pituitary adrenocortical (HPA) axis is the most important stress-responsive neuroendocrine system. Cortisol (or corticosterone) released by the adrenal cortices exerts a large range of effects on the metabolisms, the immune system, inflammatory processes, and brain function, for example. Large individual variations have been described in HPA axis activity, with important physiopathological consequences. In terms of animal production, higher cortisol levels have negative effects on growth rate and feed efficiency and increases the fat/lean ratio of carcasses. On the contrary, cortisol has positive effects on traits related to robustness and adaptation, such as newborn survival or tolerance to heat stress. Intense selection for lean tissue during the last decades has reduced concomitantly the activity of the corticotropic axis, with negative consequences of selection on piglet survival for instance. One strategy to improve robustness is to select animals with higher HPA axis activity. Research on the molecular mechanisms of this variability is very active. The objective is to identify markers that could be used to select animals with higher HPA axis activity, and thus improve their robustness without damaging their production potential, which is the primary selection objective in the development of "sustainable" farming.

Key words: stress, robustness, cortisol, genetics, marker-assisted selection.

(1) Laboratoire PsyNuGen, équipe Neurogénétique et Stress, INRA UMR1286, Université de Bordeaux. Adresse postale : Université de Bordeaux 2, case courrier 34, 146 rue Léo Saignat, 33076 Bordeaux cedex. Courriel : Pierre.Mormede@bordeaux.inra.fr, Aline.Foury@bordeaux.inra.fr

LA NOTION DE ROBUSTESSE

La notion de robustesse a été définie par Knap (2005) comme « La capacité à combiner un potentiel de production élevé avec la résistance au stress, afin de permettre l'expression d'un potentiel de production élevé dans une grande variété d'environnement » (« *The ability to combine a high production potential with resilience to stressors, allowing for unproblematic expression of a high production potential in a wide variety of environmental conditions* »). De fait, le progrès génétique réalisé par sélection sur les caractères de production dans les noyaux de sélection peut être compromis lorsque les animaux sont introduits dans les élevages commerciaux dont les conditions ne sont pas toujours optimales. La robustesse peut ainsi être considérée comme une mesure globale – en termes de production par exemple – de la sensibilité de l'animal aux facteurs d'environnement, comme par exemple les températures élevées, dont l'importance s'accroît avec le réchauffement climatique, le microbisme ou des conditions d'élevage sub-optimales. Ce concept inclut également quelques caractères spécifiques qui se manifestent particulièrement lorsque les conditions d'environnement sont dégradées, comme la qualité des aplombs, la survie des nouveau-nés, la résistance aux maladies, la longévité de production, regroupés sous le terme de caractères fonctionnels (*functional traits*), importants non seulement pour la production mais aussi la santé et le bien-être des animaux (Knap 2009).

LA ROBUSTESSE COMME OBJECTIF DE SÉLECTION

La plateforme technologique européenne FABRE a ainsi défini comme l'un des principaux objectifs de sélection à l'horizon 2025 l'obtention d'animaux robustes, adaptés et en bonne santé (« *Sustainable Animal Breeding and Reproduction – a Vision for 2025 FABRE Technology Platform – February 2006* » sur le site web www.fabretp.org). Actuellement, ces caractères de robustesse prennent une part croissante dans les objectifs de sélection, afin d'obtenir des animaux dont le niveau de production puisse se maintenir dans une large gamme de conditions climatiques et de systèmes d'élevage, tout en optimisant le bien-être des animaux. « Les objectifs de sélection des animaux pour un élevage dit « durable » combinent les caractères de robustesse et de production de telle sorte que la sélection balance les modifications génétiques du potentiel de production avec les modifications génétiques de sensibilité à l'environnement » (« *Sustainable breeding goals combine robustness traits with production traits to such an extent that selection balances genetic change in production potential with genetic change in environmental sensitivity* ») (Knap 2009). De fait, la sélection génétique intense menée depuis plus de 20 ans, principalement sur des caractères de production (vitesse de croissance, efficacité alimentaire, prolificité, niveau de production de viande maigre, de lait, d'œufs, etc.), a souvent été rendue responsable d'une certaine diminution des qualités générales des animaux (importance de la fréquence des problèmes locomoteurs, augmentation de

la mortalité périnatale, diminution de la durée de vie productive, sensibilité aux maladies) et de la dégradation concomitante de leur bien-être (Rauw *et al.* 1998; Star *et al.* 2008). L'évolution en cours des systèmes d'élevage dans lesquels l'intervention humaine ne pourra que diminuer, l'augmentation des exigences de production dans des milieux diversifiés et l'évolution prévisible des caractéristiques de l'environnement – en particulier le réchauffement global – donnent une acuité particulière aux études visant à restaurer des capacités d'adaptation satisfaisantes sans pour autant compromettre le niveau de production... ou à augmenter la productivité de races locales, bien adaptées à leur milieu mais dont le niveau de production est souvent faible.

STRATÉGIES GÉNÉTIQUES POUR L'OBTENTION D'ANIMAUX ROBUSTES

Plusieurs stratégies de sélection sont possibles pour améliorer la robustesse des animaux. La sensibilité globale à l'environnement peut s'évaluer par des approches telles l'analyse des normes de réaction en comparant des animaux de même génotype dans des milieux différents (Knap 2009). Ce travail est difficile et l'héritabilité du caractère est faible. Il est également possible d'inclure dans les critères de sélection des caractères directement liés à la robustesse, comme la qualité des aplombs ou la mortalité périnatale. Une telle démarche est mise en œuvre depuis une dizaine d'années et donne des résultats intéressants (Knap 2009). Cependant d'autres caractères comme la résistance aux maladies ou aux facteurs de stress en général sont beaucoup plus difficiles à mesurer et ne peuvent donc pas être introduits dans les schémas de sélection, sauf cas particuliers comme la numération cellulaire dans le lait, qui a été prise en compte dans le schéma de sélection des bovins, ainsi que la longévité de production et la fertilité, en tant que caractères fonctionnels (Colleau & Regaldo, 2001). Les travaux actuellement en cours visent à mettre en évidence les polymorphismes génétiques sous-tendant ces variations fonctionnelles, qui permettront peut-être ultérieurement une sélection par l'utilisation de marqueurs moléculaires. L'objectif principal de cette communication est de présenter une troisième stratégie basée sur les données récentes qui concernent la génétique moléculaire des réponses de stress et en particulier de l'axe corticotrope. Les arguments proviennent essentiellement des travaux réalisés chez le Porc, mais quelques exemples disponibles dans d'autres espèces tendent à montrer leur généralité.

L'AXE CORTICOTROPE

L'axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien (ou axe corticotrope) est au cœur des réponses biologiques de stress et de résilience, de concert avec le système nerveux autonome et les processus comportementaux d'adaptation. La principale hormone active de cet axe est le cortisol (Porc, bovins, poissons) ou la corticostérone (volailles) sécrété par le cortex surrénalien

en réponse à l'ACTH (hormone adrénocorticotrope) libérée par l'hypophyse antérieure, sous contrôle de neurohormones hypothalamiques (corticotropine [CRH] et vasopressine). Le cortisol agit sur un grand nombre de cellules et tissus par l'intermédiaire de deux récepteurs, glucocorticoïde (GR) et minéralocorticoïde (MR) qui diffèrent par leurs caractéristiques fonctionnelles. Ils exercent de nombreux effets sur les métabolismes, le système immunitaire, les processus inflammatoires et les fonctions cérébrales, pour citer les plus importants (Ulrich-Lai & Herman, 2009).

CORTISOL, PRODUCTION ET ROBUSTESSE

Cortisol et caractères de production

Le cortisol a des effets complexes sur les caractères d'intérêt chez les animaux d'élevage. Il exerce une influence négative sur d'importants caractères de production. Dans des travaux pionniers des années 1980, Hennessy et collaborateurs ont montré chez le Porc que la réponse de la glande surrénale à l'ACTH était une caractéristique individuelle héritable (Hennessy *et al.* 1988), et que la vitesse de croissance et l'efficacité alimentaire des animaux étaient inversement proportionnelles à l'intensité de cette réponse (Hennessy & Jackson, 1987). Des résultats identiques ont été obtenus chez le mouton, la consommation alimentaire résiduelle, définie par la différence entre la consommation moyenne journalière (CMJ) observée et une CMJ théorique, estimée à partir des besoins d'entretien et de production, étant directement proportionnelle à la sensibilité de la glande surrénale à l'ACTH (Knott *et al.* 2008). Plusieurs expériences montrent par ailleurs que la composition de carcasse (rapport gras / maigre) est influencée par le niveau de production de cortisol, ainsi qu'on peut le mesurer par les niveaux d'excrétion dans l'urine par exemple. Une activité élevée de l'axe corticotrope induit une forte adiposité des carcasses (Foury *et al.* 2005 & 2007). Ceci est cohérent avec les effets métaboliques du cortisol qui augmente le stockage lipidique au détriment des tissus protéiques (Devenport *et al.* 1989).

Cortisol et robustesse

Par contre, le cortisol exerce des effets favorables sur plusieurs caractères de robustesse, même si les arguments expérimentaux sont encore fragmentaires chez les animaux d'élevage. C'est ainsi que le cortisol favorise les processus d'adaptation. Dans le cas du stress thermique par exemple, Michel et collaborateurs ont montré chez le Rat que les animaux dont la réponse de l'axe corticotrope à la chaleur était la plus forte présentaient aussi la meilleure adaptation physiologique en terme d'augmentation de la température centrale, d'hémococoncentration et de réponse inflammatoire dans le cerveau (Michel *et al.* 2006). Un autre exemple des effets favorables du cortisol est fourni par les travaux réalisés sur la survie des porcelets. Leenhouwers *et al.* (2002) ont montré que les caractéristiques génétiques du nouveau-né influençaient sa propre survie. Dans ce travail, les seuls facteurs biologiques corrélés (positivement) à la valeur géné-

rique du nouveau-né étaient la taille des surrénales et la concentration de cortisol dans le sang du cordon à la naissance, associées à des réserves de glycogène plus élevées dans le foie (effet gluconéogénétique du cortisol). Finalement, il existe quelques données chez les volailles montrant que la sélection génétique divergente (qui sélectionne les phénotypes extrêmes au cours des générations successives) pour l'intensité de la réponse au stress influence – de façon complexe – les réponses immunitaires et la résistance aux maladies, en particulier la résistance aux parasites (voir par exemple Gross 1976). Ces différences reflètent les actions des hormones glucocorticoïdes sur le système immunitaire et les processus inflammatoires. Considérant les perspectives telles que le réchauffement climatique (stress thermique), l'évolution des systèmes d'élevage vers une diminution de l'intervention de l'Homme (survie du nouveau-né), la régression de l'élevage hors sol (résistance aux infestations parasitaires), il est important d'approfondir les effets des glucocorticoïdes sur ces caractères de robustesse chez les animaux d'élevage.

Le cortisol au cœur du compromis entre production et robustesse

Chez le porc Large White, la comparaison des produits issus de verrats nés en 1977 (semence congelée) ou 1998 nous a permis de montrer qu'il y a eu au cours de ces années une diminution de la production de cortisol, parallèlement au progrès génétique réalisé sur les critères de sélection pour une croissance rapide, une efficacité alimentaire élevée et des carcasses plus maigres (Foury *et al.* 2009). Ce résultat n'est pas surprenant dans la mesure où le cortisol influence de façon négative ces caractères de production. Cependant, on peut faire l'hypothèse que cette diminution d'activité de l'axe corticotrope participe à la diminution de la robustesse des animaux qui est souvent invoquée (Rauw *et al.* 1998; Star *et al.* 2008) comme conséquence de la sélection génétique menée exclusivement sur les caractères de production, dans le cadre de la théorie de l'allocation des ressources (Glazier 2009). Cette théorie stipule que les ressources énergétiques disponibles pour un individu sont limitées. Leur répartition entre les différentes fonctions est optimisée dans le cadre d'une adaptation de l'individu à son environnement (*fitness*), mais une sélection génétique intense sur des critères de production peut orienter les ressources vers cette production au détriment d'autres caractères comme ceux participant à la robustesse des animaux et ceci, en particulier, lorsque les ressources sont insuffisantes pour que s'exprime au maximum le potentiel génétique. L'axe corticotrope pourrait ainsi être l'un des mécanismes physiologiques du compromis (*trade off*) entre caractères de production et de robustesse. Une stratégie pour restaurer la robustesse des animaux serait donc d'augmenter l'activité de l'axe corticotrope, sans pour autant réduire la productivité des animaux. Cet objectif paraît accessible. En effet, la variabilité fonctionnelle de l'axe corticotrope est importante, même dans des populations génétiquement homogènes. À l'intérieur des races que nous avons étudiées, la variation de la cortisolurie entre les animaux extrêmes est couramment de 30 fois, ce qui est consi-

dérablement plus élevé que la variabilité des caractères de production (Foury *et al.* 2009). Dans l'expérience de « progrès génétique » décrite ci-dessus, le coefficient de corrélation entre cortisolurie et composition de la carcasse en viande maigre était de -0,27, ce qui signifie que le niveau d'excrétion du cortisol explique moins de 10 % de la variabilité de la composition de carcasse. Il est donc envisageable de sélectionner des animaux sur la base d'une activité plus élevée de l'axe corticotrope tout en préservant le niveau de production.

GÉNÉTIQUE ET AXE CORTICOTROPE

L'activité de base de l'axe corticotrope et sa réponse au stress sont largement influencées par des facteurs génétiques. D'importantes variations fonctionnelles peuvent être observées entre types génétiques (exemple : Geverink *et al.* 2006 ; Foury *et al.* 2007, chez le Porc), et des sélections divergentes ont été réalisées chez de nombreuses espèces sur la base de la réponse de l'axe corticotrope à diverses stimulations : truie (stress de confinement), poulet (réponse à l'ACTH, stress social), dinde (stress au froid), caille (stress d'immobilisation), canard (stress de suspension), souris (stress de contrainte) (voir Mormède *et al.* 2002 pour revue). La réponse à la sélection est le plus souvent rapide et forte, avec une héritabilité réalisée de l'ordre de 0,4 (Touma *et al.* 2008).

La variabilité génétique est présente dans toutes les composantes de l'axe :

- dans le niveau de production des hormones glucocorticoïdes, régulé principalement par la sensibilité de la glande surrénale à l'ACTH. Les mécanismes moléculaires sous-jacents sont recherchés par études d'expression différentielle des gènes dans la glande surrénale en réponse à l'ACTH chez le Porc (Hazard *et al.* 2008 ; Jouffe *et al.* 2009) ou le poulet (Bureau *et al.* 2009) ;
- dans la biodisponibilité des hormones, influencée par le niveau de sa protéine de transport, la transcortine (Désautés

et al. 2002 ; Geverink *et al.* 2006 ; Guyonnet-Duperat *et al.* 2006 ; Moisan 2010), et par l'activité des enzymes de leur métabolisme ;

- et enfin dans l'efficacité des récepteurs et des mécanismes de transduction (voir par exemple Harizi *et al.* 2007, chez la souris), domaine peu exploré chez les animaux domestiques (Perreau *et al.* 1999).

De nombreuses données expérimentales montrent que ces différentes sources de variabilité de l'axe corticotrope ont des conséquences fonctionnelles, en particulier sur les caractères qui nous intéressent dans le cadre de la production et de la robustesse.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'axe corticotrope est un système neuroendocrinien de première importance dans la régulation du métabolisme énergétique et les réponses de stress. En conséquence, son niveau d'activité influence tout à la fois les caractères de production (de façon négative) et les caractères de robustesse (de façon positive). Le processus de sélection effectué durant les dernières décennies sur des critères d'efficacité alimentaire élevée, de croissance rapide et de faible teneur des carcasses en graisse a probablement contribué à une réduction de l'activité corticotrope et partant, de la robustesse des animaux. Dans le contexte d'un élevage dit « durable », l'objectif de sélection vise à mieux balancer les caractères de production et de robustesse. Dans cette perspective, il apparaît donc souhaitable d'augmenter l'activité corticotrope pour améliorer la robustesse des animaux, tout en préservant cependant leur potentiel de production. La variabilité génétique de l'axe corticotrope est très importante et s'exerce à de nombreux niveaux. La recherche des mécanismes moléculaires de cette variabilité est très active et devrait ouvrir la voie à une sélection sur marqueurs en vue d'optimiser le fonctionnement de l'axe corticotrope en fonction d'objectifs de sélection qui combinent production et robustesse.

BIBLIOGRAPHIE

- Bureau, C., Hennequet-Antier, C., Couty, M., Guémené, D. 2009. Gene array analysis of adrenal glands in broiler chickens following ACTH treatment. *BMC Genomics* 10: 430.
- Colleau, J.J. & Regaldo, D. 2001. Etablissement de l'objectif de sélection dans les races bovines laitières. Papier présenté aux 8^e Rencontres Recherches Ruminants, Paris (http://www.journees3r.fr/texte.php?id_article=777).
- Désautés, C., Bidanel, J.P., Milan, D., Iannuccelli, N., Amigues, Y., Bourgeois, F., Caritez, J.C., Renard, C., Chevalet, C., Mormède, P. 2002. Genetic linkage mapping of quantitative trait loci for behavioral and neuroendocrine stress response traits in pigs. *J Anim Sci.* 80: 2276–2285.
- Désautés, C., Sarrieau, A., Caritez, J.C., Mormède, P. 1999. Behavior and pituitary-adrenal function in Large White and Meishan pigs. *Domest Anim Endocrinol.* 16: 193–205.
- Devenport, L., Knehans, A., Sundstrom, A., Thomas, T. 1989. Corticosterone's dual metabolic actions. *Life Sciences* 45: 1389–1396.
- Foury, A., Devillers, N., Sanchez, M.P., Griffon, H., Le Roy, P., and Mormède, P. 2005. Stress hormones, carcass composition and meat quality in Large White x Duroc pigs. *Meat Science* 69: 703–707.
- Foury, A., Geverink, N.A., Gil, M., Gispert, M., Hortos, M., Font i Furnols, M., Carrion, D., Blott, S.C., Plastow, G.S., Mormède, P. 2007. Stress neuroendocrine profiles in five pig breeding lines and the relationship with carcass composition. *Animal* 1: 973–982.
- Foury, A., Tribout, T., Bazin, C., Billon, Y., Bouffaud, M., Gogué, J.M., Bidanel, J.P., Mormède, P. 2009. Estimation of genetic trends from 1977 to 2000 for stress-responsive systems in French Large White and Landrace pig populations using frozen semen. *Animal* (in press).
- Geverink, N., Foury, A., Plastow, G.S., Gil, M., Gispert, M., Hortos, M., Font i Furnols, M., Gort, G., Moisan, M.P., and Mormède, P. 2006. Cortisol-binding globulin and meat quality in five European lines of pigs. *J Anim Sci.* 84: 804–811.
- Glazier, D.D. 2009. Trade-offs. In *Resource Allocation Theory Applied to farm Animal Production* (ed. W.M. Rauw), pp. 44–60. CAB International, Wallingford, Grande-Bretagne.
- Gross, W.B. 1976. Plasma steroid tendency, social environment and Eimeria necatrix infection. *Poult Sci.* 55: 1508–1512.
- Guyonnet-Duperat, V., Geverink, N., Plastow, G.S., Evans, G., Ousova, O., Croisetière, C., Foury, A., Richard, E., Mormède, P., Moisan, M.P. 2006. Functional implication of an Arg307Gly substitution in corticosteroid-binding globulin, a candidate gene for a quantitative trait locus associated with cortisol variability and obesity in pig. *Genetics* 173: 2143–2149.
- Harizi, H., Homo-Delarche, F., Amrani, A., Coulaud, J., Mormède, P. 2007. Marked genetic differences in the regulation of blood glucose under immune and restraint stress in mice reveals a wide range of corticosenstivity. *J Neuroimmunol.* 189: 59–68.
- Hazard, D., Liaubet, L., Sancristobal, M., Mormède, P. 2008. Gene array and real time PCR analysis of the adrenal sensitivity to adrenocorticotrophic hormone in pig. *BMC Genomics* 9: 101.
- Hennessy, D.P. & Jackson, P.N. 1987. Relationship between adrenal responsiveness and growth rate. In *Manipulating Pig Production I*, p. 23. Australian Pig Science Association, Werribee, Australie.
- Hennessy, D.P., Stelmasiak, T., Johnston, N.E., Jackson, P.N., Outch, K.H. 1988. Consistent capacity for adrenocortical response to ACTH administration in pigs. *American Journal of Veterinary Research* 49: 1276–1283.
- Jouffe, V., Rowe, S.J., Liaubet, L., Buitenhuis, B., H., H., Sancristobal, M., Mormède, P., De Koning, D.J. 2009. Using microarrays to identify positional candidate genes for QTL: the case study of ACTH response in pigs. *BMC Proceedings* 3(S4): S14.
- Knap, P.W. 2005. Breeding robust pigs. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 45: 763–773.
- Knap, P.W. 2009. Robustness. In *Resource Allocation Theory Applied to farm Animal Production* (ed. W.M. Rauw), pp. 288–301. CAB International, Wallingford, Grande-Bretagne.
- Knott, S.A., Cummins, L.J., Dunshea, F.R., Leury, B.J. 2008. Rams with poor feed efficiency are highly responsive to an exogenous adrenocorticotropin hormone (ACTH) challenge. *Domest Anim Endocrinol.* 34: 261–268.
- Leenhouders, J.I., Knol, E.F., de Groot, P.N., Vos, H., van der Lende, T. 2002. Fetal development in the pig in relation to genetic merit for piglet survival. *J Anim Sci.* 80: 1759–1770.
- Michel, V., Peinnequin, A., Alonso, A., Buguet, A., Cespuglio, R., Canini, F. 2007. Decreased heat tolerance is associated with hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis impairment. *Neuroscience* 147: 522–531.
- Moisan, M.P. 2010. Genotype-phenotype associations in understanding the role of corticosteroid-binding globulin in health and disease animal models. *Mol Cell Endocrinol.* 316: 35–41.
- Mormède, P., Courvoisier, H., Ramos, A., Marissal-Arvy, N., Ousova, O., Désautés, C., Duclos, M., Chaouloff, F., Moisan, M.P. 2002. Molecular genetic approaches to investigate individual variations in behavioral and neuroendocrine stress responses. *Psychoneuroendocrinology* 27: 563–583.
- Perreau, V., Sarrieau, A., Mormède, P. 1999. Characterization of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in pigs: comparison of Meishan and Large White breeds. *Life Sciences* 64: 1501–1515.
- Rauw, W.M., Kanis, E., Noordhuizen-Stassen, E.N., Grommers, F.J. 1998. Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. *Livestock Production Science* 56: 15–33.
- Star, L., Ellen, E.D., Uitdehaag, K., Brom, F.W.A. 2008. A plea to implement robustness into a breeding goal: Poultry as an example. *Journal of Agricultural & Environmental Ethics* 21: 109–125.
- Touma, C., Bunck, M., Glasl, L., Nussbaumer, M., Palme, R., Stein, H., Wolfstatter, M., Zeh, R., Zimbelmann, M., Holsboer, F. *et al.* 2008. Mice selected for high versus low stress reactivity: A new animal model for affective disorders. *Psychoneuroendocrinology* 33: 839–862.
- Ulrich-Lai, Y.M. & Herman, J.P. 2009. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci.* 10: 397–409.