ECOLE NATIONALE SUPERIEURE D'AGRONOMIE
Montpellier SupAgro

ECOLE DOCTORALE GAIA

THÈSE

Présentée par : Moutaz ALHAMADA

Pour obtenir le grade de : Docteur de Montpellier SupAgro

Soutenue le 16 décembre 2016

Discipline/ Spécialité :

Écologie Fonctionnelle et Sciences Agronomiques

Les chevauchements, enregistrés automatiquement lors de la reproduction des ovins, sont des indicateurs de la libido des béliers et de la valeur reproductive des brebis

Membres du jury :

M. CHEMINEAU Philippe	Directeur de Recherches, INRA, Rapporteur.
M. ZARAZAGA Luis Ángel	Professeur, Université De Huelva, Espagne, Rapporteur
Mme BLANC Fabienne	Professeur, VetAgroSup Clermont-Ferrand, Examinatrice
Mme FABRE-NYS Claude	Chargée de Recherche, HDR, CNRS, Tours, Examinatrice
M. BOCQUIER François	Professeur, Montpellier SupAgro, Dir. thèse

Thèse dirigée par :

M. BOCQUIER François	Professeur, Montpellier SupAgro

Thèse co-encadrée par :

Mme DEBUS Nathalie	Ingénieure de Recherche, INRA, Montpellier
Mme LURETTE Amandine	Chargée de Recherche, INRA, Montpellier

Contenu

Résumé : 4

Abstract: 5

Liste des tableaux et figures (hors publications) 7

Liste des abréviations 8

Introduction générale 9

Chapitre 1. Etude Bibliographique 11

1. Biologie de la reproduction chez les ovins 11

i. Œstrus des brebis 11

ii. Comportement des béliers 12

iii. Voies de communication *mâles/femelles* 13

2. Méthodes d'évaluation de l'activité sexuelle 15

i. Chez la femelle : Attractivité, Proceptivité et Réceptivité 15

ii. Chez le mâle : La libido 17

3. Facteurs de variation de la reproduction des ovins 19

i. Race 19

ii. Nutrition et alimentation 19

iii. Facteur sociaux 22

4. Management et choix des reproducteurs 23

i. Traitement hormonaux 23

ii. Choix des animaux de renouvellement 24

5. Elevage de la précision et détection des chaleurs 26

6. Questions de recherche 29

Chapitre 2 : Validation du détecteur automatisé de chevauchement pour la détection des chaleurs (Publication 1 ; P1). 31

Chapitre 3 : Les caractéristiques des cycles sexuels chez la brebis (Publication 2 ; P2). 34

Chapitre 4 : Comparaison de l'évaluation du comportement sexuel des mâles en test ou lors de la reproduction en troupeau. (Publication 3 ; P3) 36

Chapitre 5 : Importance du comportement sexuel de la brebis dans la reproduction (publication 4 ; P4) 39

Chapitre 6. Discussion générale et conclusions 42

1- Les conditions d'utilisation du détecteur électronique de chevauchements 42

2- La variabilité des comportements sexuels des béliers de reproduction 45

3- L'importance du rôle des brebis dans les processus comportementaux lors de la mise à la reproduction 47
Conclusion générale 52
Références 53
Annexe 1 : Communication Rencontre Recherches Ruminants 2015 60
Annexe 2 : Communication ICAR Tours 2016 61

Résumé :

La demande en produits animaux de qualité pousse les éleveurs à réduire les intrants et supprimer les traitements hormonaux utilisés en reproduction ovine. Ces exigences relancent des méthodes qui s'appuieraient davantage sur les comportements spontanés des mâles et des femelles. Le détecteur électronique des chaleurs, développé par l'UMR Selmet, semblait prometteur et il fallait l'accompagner de validations expérimentales.

Nos études ont été réalisées en race Mérinos d'Arles au Domaine du Merle. Ces ovins sont élevés en système extensif et se reproduisent à contre saison. Nous avons tout d'abord validé ce détecteur sur des brebis (n=6 x 2) suivies par vidéo. Nous montrons que 93% des chevauchements sont effectivement enregistrés et comme les brebis en œstrus acceptent plusieurs chevauchements : toutes les brebis sont détectées. Dans une deuxième étape nous avons utilisés plusieurs béliers avec des effectifs de brebis plus importants (n=60). Nous confirmons chez la brebis des fortes variabilités 1) de la réponse aux traitements hormonaux, 2) de la durée des chaleurs et 3) du nombre de chevauchements par brebis. Chez les béliers, nous observons une forte dispersion du nombre de chevauchements. Toutefois le classement des béliers s'est répété au cours des cycles suivants.

Nous avons étudié précisément le comportement sexuel des béliers en les plaçant en tests visuels (méthode de référence) avec quelques brebis en chaleur. Pour cela nous avons évalué 6 béliers entiers et 6 vasectomisés, à un an d'intervalle lors des luttes de printemps et une seule fois à l'automne. Nous montrons que la somme des deux activités qui composent la libido des béliers (Act. Consommatoires et Act. Exploratoires) est très corrélée (r=+0,80 ; n=18) au nombre de chevauchements que les béliers réalisent en troupeau. Ainsi la libido des béliers peut être facilement mesurée automatiquement et sans manipulation. Le classement des béliers selon leur libido est très répétable intra-saison (d'un cycle à l'autre) et inter-saisons (d'une saison à l'autre). A un an d'intervalle la répétabilité a été meilleure (94%) avec les chevauchements mesurés automatiquement qu'avec les mesures des tests (80%).

Sachant que la fertilité des brebis sous-alimentées est plus faible, nous avons étudié les comportements de brebis ayant subi 3 régimes alimentaires contrastés appliqués pendant 3 mois. Nous montrons que la réceptivité et la proceptivité de brebis ne changent pas selon leur état nutritionnel, par contre leur capacité à attirer les béliers (attractivité) est d'autant plus forte qu'elles sont plus lourdes et/ou qu'elles ont des profils métaboliques favorables (métabolites et hormones). Ces données, obtenues en lots expérimentaux par des méthodes de référence ont été validées en troupeau avec le détecteur électronique.

Dans cette thèse nous montrons qu'en système d'élevage extensif, les brebis jouent un rôle central dans l'attraction, ou pas, des béliers. Ces béliers, bien que choisis pour la reproduction, ont des libidos très différentes mais répétables. Le détecteur de chaleur, inclus dans un système d'élevage de précision, pourrait servir en élevage pour améliorer la reproduction des ovins en s'appuyant sur ces connaissances.

Mots clés *: Comportement sexuel, Accouplement préférentiel, Libido, Attractivité, élevage de précision.*

Title: **Automatically recorded mountings of rams provide information on their libido and breeding value of ewes. corrigé**

Abstract: The demand for livestock products pushes farmers to reduce inputs and remove hormonal treatments used to control ewe's reproduction. These trends put forward research lines that are aimed to study sexual behaviours of both rams and ewes. The electronic oestrus detector, developed by UMR Selmet, looked promising but still has to be accompanied by further experimental validation. Our studies were conducted on Merino's d'Arles sheep of Domaine de Merle, which are bred in an extensive farming system with a mating period occurring in spring as many other Mediterranean breeds. Our first step was to validate the electronic detector on ewes by comparison to video observation. We showed that 93% of mounts are registered, and as ewes in oestrus accept multiple mounts: all the ewes were detected with this device. In a second step we used several rams (n=6) with a larger number of ewes (n = 60). This confirmed that ewes express a strong variability 1) of the timed response to hormonal treatments, 2) of the oestrus duration and 3) on the total number of mounts per ewe. We also demonstrated that the wide dispersion of the number of mounts done by rams was however repeated, with the same flock, in subsequent cycles.

Then, we focussed on ram sexual behaviour by placing them with few oestrus ewes under visual test (the reference method). We evaluated 6 intact Merino rams and 6 vasectomized rams of the Mourerous breed, this test was done thrice: at spring one year apart and also at the autumn. We found conventional amplitude of seasonal variations on the activities of rams during the three seasons. We demonstrated that male libido, defined by the sum of their pre-copulatory and copulatory activity, was well correlated ($r = + 0.80$, $n = 18$) with the counted mounts by the detector on the same rams but with several hundreds of ewes. Therefore, the libido can be automatically estimated by numbers of mounts. In addition, we get a clear correlation between the observed copulatory activities and automatically collected mounts within a flock of ewes. We found that ranked rams' libido scores are repeated. This is very stable within-season (one cycle) and between-seasons (from one season to the next). A one year apart repeatability of mounts was better (94%) within the flock than when measured by mounts number during tests (80%). Given that fertility of undernourished ewes is lower, we studied the behavior of ewes that underwent three contrasting diets applied for 3 months. We observed that receptivity and proceptivity of ewes did not change according to their nutritional status, through against their ability to attract the rams (attractiveness) is much stronger if they are heavier and/or had favorable metabolic profiles (metabolites and hormones). These results were further confirmed within rams' mating flock (when bodyweight are widespread).

In the discussion, we resume our results that show that within extensive livestock system, ewe plays a central role in attracting or not the rams. These rams, although chosen for breeding, have very variable but repeated libido score. The electronic oestrus detector, included in a precision farming system, could be used to improve the breeding of sheep, based on this knowledge.

Keywords: *sexual behaviour, preferential mating, libido, attractiveness, receptiveness, proceptivity and precision farming.*

à mes Parents

à mon amour Hadil

à ma petite princesse Hanin

à ma Sœur

à mes frères

إلى والديّ

إلى زوجتي

إلى ابنتي

إلى أختي

إلى أخوتي

à la Syrie

Remerciements,

Ce travail de thèse n'aurait pas pu aboutir sans l'aide et le soutien de nombreuses personnes auxquelles j'aimerais adresse toute ma reconnaissance.

Merci chaleureusement aux membres de mon jury de thèse et aux rapporteurs d'avoir accepté d'évaluer mon travail : Philippe Chemineau, Luis Angel Zarazaga, Fabienne Blanc, Claude Fabre-Nys et et Charles-Henri Moulin.

En premier lieu, je souhaiterais exprimer ma profonde gratitude à mon directeur de thèse, Monsieur François Bocquier qui m'a accueilli depuis mon arrivé en master et qui n'a pas cessé de m'accorder sa confiance en acceptant d'encadrer mes projets de recherches en master et en doctorant. Merci pour ta confiance, ton soutien et tes encouragements quotidiens, tes précieux conseils, ta patience et ta générosité par rapport au temps précieux qu'il a consacré à diriger cette thèse. J'aimerais également lui dire à quel point j'ai apprécié ses qualités humaines, sa sensibilité vis-à-vis des problèmes que j'ai rencontrés tout au long de mon séjour en France.

Un grand merci à Nathalie Debus et Amandine Lurette ; les deux co-encadrantes de ma thèse. Merci pour la confiance que vous m'avez accordé, merci pour les conseils et l'accompagnement scientifiques et au cours de cette longue période, j'ai beaucoup appris grâce à vous !

Je tiens à remercier les membres de mon comité de thèse Sandrine Freret et Audrey Chanvallon, pour tous leurs conseils avisés et suggestions utiles sur mon projet.

J'en profite également pour remercier Eliel Gonzales-Garcia et Philippe Hassoun pour l'aide qu'ils m'ont régulièrement apporté notamment lors de l'élaboration et la réalisation de mes protocoles.

Tous les remerciements et la reconnaissance et le respect, pour mes vrai-faux correcteurs de français ; Danièle Montagnac et Anne Tesniere. Je vous remercie pour toutes vos corrections, et pour le temps que nous avons passé à discuter de la révolution syrienne.

Un autre facteur très important qui a contribué à la réussite de mon travail a été les nombreuses personnes du laboratoire SELMET à Montpellier qui m'ont aidé à me déplacer et à organiser mes expériences; Anne Tesniere, Gilles Viudes et Carlos Trives, et ceux qui m'ont permis de recueillir les données expérimentales au Domaine de Merle ; Céline Maton, Jean-Dominique Guyonneau et Denis Montier. Un remerciement spécial à Pierre-Marie Bouquet le directeur de Domaine.

Je tiens aussi à remercier toute l'équipe de SELMET, les chercheurs, les enseignants et les secrétaires qui m'ont accompagné durant ces années pour leur aide et leur soutien, et m'ont fourni une assistance directe ou indirecte.

Sans doute, à mon amour Hadil, mama de ma petite princesse Hanin, tu es toujours là pour moi, tu m'écoutes quand je te raconte mes soucis, tu me remontes le moral quand je suis triste et fatiguer, tu m'encourages quand je baisse les bras, et tu me consoles quand je subis un échec.

Avant tout, J'adresse une pensée particulière à ma famille en Syrie, qui m'a soutenue par ses encouragements et ses invocations. Mon père, Ma mère, Mes frères, ma sœur et toute ma grande famille, Je vous remercie de tout mon cœur et j'espère que vous serez fiers de moi.

Dans l'espoir de nous retrouver un jour, j'espère bientôt.

Liste des publications

Liste des publications.

Publications avec comité de lecture international

Publication 1 (P1)

Alhamada M., Debus N., Lurette A., Bocquier F. 2016.
Validation of automated electronic oestrus detection in sheep as an alternative to visual observation.
Small Ruminant Research, Volume 134, 97-104. **Publiée**

Publication 2 (P2)

Alhamada M., Debus N., Lurette A., Bocquier F. 2017
Automatic oestrus detection system enables monitoring of sexual behaviour in sheep
Small Ruminant Research
Sous presse, le 06/02/2017

Publication 3 (P3)

Alhamada M., Debus N., Bocquier F. 2017
Factors affecting ram libido and outlook for its automated evaluation
Animal,
Révisions mineures, le 06/02/2017

Publication 4 (P4)

Alhamada M., Debus N., Gonzales-Garcia E., Bocquier F. 2017.
Sheep sexual behaviour is driven by body condition and the related nutritional and metabolic status.
Applied Animal Behaviour Science
Sous presse, le 06/02/2017

Publication 5 (P5)

González-García E., Alhamada M., Debus N., Ménassol J.B., Tesniere A., Gonçalves-Véro J., Bocquier F, 20XX. Energy metabolism of adult Mérinos d'Arles ewes submitted to different nutritional diets.
Soumis à Livestock Science, le 10/07/2016

Congrès

C1 : Alhamada M., Debus N., Lurette A., Guyonneau J.D., Maton C., Bocquier F. 2015. Le comportement sexuel des béliers en confinement est fortement influencé par la race des brebis. Rencontres Recherches Ruminants, 22 : 219

C2: Alhamada M., Debus N., González-García E., Bocquier F. 2016. Mating rams clearly prefer heavy ewes. 18th International Congress on Animal Reproduction. Tours, France.

Liste des tableaux et figures (hors publications)

Figure 1. Représentation schématique des effets de la nutrition sur la reproduction des ruminants domestiques (Bocquier, Doc. cours).

Figure 2. Effet de la sous-alimentation, suivie d'une réalimentation sur la composante comportementale de l'œstrus de la brebis Mérinos d'Arles.

Figure 3. Représentation schématique des facteurs conduisant à la reproduction des ovins (Q1,Q2, Q3 et Q4, sont mes questions de recherche)..

Figure 4. Relation entre le poids vif moyen et le nombre de chevauchements par les 6 béliers vasectomisés. Les écart-types du nombre de chevauchements sont indiqués sur la figure.

Figure 5. Représentation des relations entre les béliers et les brebis au sein d'un lot de reproduction (150 brebis et 6 béliers). Chaque trait représente les chevauchements effectués par un bélier sur une brebis. Au centre, les brebis chevauchées par la totalité des béliers, à la périphérie celles qui sont moins chevauchées.

Figure 6. Représentation schématique des facteurs comportementaux qui interviennent lors des accouplements préférentiels des béliers avec certaines brebis en œstrus. Nous montrons que l'attractivité des brebis est centrale dans le déclenchement des chevauchements par les béliers. Nous montrons que certaines mesures sont maintenant automatisées (**), alors que d'autres sont encore visuelles (*).

Tableau 1. Comparaison des différents dispositifs utilisés pour aider à détecter les femelles en œstrus. Le classement du tableau est organisé selon le type d'animal équipé (mâle ou femelle), le comportement recherché (chevauchement ou autre activité), et selon qu'il est automatisé ou pas.

Photo 1. Un bélier équipé du Détecteur Alpha en train de chevaucher une brebis Mérinos d'Arles.

Liste des abréviations

AD : Alpha Détecteur
AGNE : Acides Gras Non Estérifiés
β OHB : beta-Hydroxy-Butyrate
INS : Insuline
GLU : Glucose
LEP : Leptine
PDI : Protéines Digestibles au niveau de l'Intestin (protéines INRA)
PROL : Prolactine
T4 : Testostérone
UFL : Unité Fourragère Lait (énergie nette INRA)

Introduction générale

Les questions de reproduction en élevage, comme chez l'Homme, ont été d'abord envisagées sous l'angle physiologique par de très nombreux travaux de recherche qui ont conduit à des résultats spectaculaires comme la production de clones (Dolly chez les ovins). Pour ces travaux sur le clonage, les ovins se sont avérés être un modèle intéressant car les effectifs d'animaux utilisés doivent être très importants et la maîtrise des cycles de reproduction par les traitements hormonaux est maintenant bien maîtrisée depuis les années 1970.

Actuellement, les consommateurs demandent des produits d'origine animale qui soient de qualité, respectueux de l'environnement, pas chers et produits dans des conditions qui permettent aux animaux de ne pas souffrir et que leur bien être soit assuré. Ainsi, 75% des réponses à une consultation de la Commission Européenne réalisée en 2005 expriment le souhait que des mesures soient prises pour mieux protéger les animaux (Veissier et al., 2007). Dans une enquête conduite sur un échantillon représentatif de la population française il a été montré que 80% des personnes considéraient que les conditions modernes d'élevage pouvaient conduire à des altérations du bien-être des animaux. L'élevage doit tenir compte de cette réalité et adapter sa façon de produire. C'est pourquoi, la recherche agronomique a conduit des travaux sur le comportement animal. Les très nombreux travaux développés ces 20 dernières années ont surtout porté sur les espèces généralement conduites dans des systèmes très intensifs en condition de claustration (porc, volailles). Chez les herbivores ruminants, ces travaux d'éthologie ont été surtout développés chez le veau de boucherie et la vache laitière mais finalement assez peu chez les petits ruminants (ovins et caprins). Probablement parce que chez les petits ruminants les questions de bien-être et les problèmes de comportement liés aux conditions d'élevage ne sont pas aussi importants que pour les autres espèces. Dans cette espèce, les travaux de recherche se sont surtout intéressés au comportement mère-jeune (Novak., 2004) dans le but de limiter la mortalité néonatale, à la grégarité (Boissy et al., 2007) dans le but de conduire les animaux en plein air ou aux comportements au pâturage (Dumont et al., 1995) dans le but de maitriser l'alimentation.

Pour revenir à la reproduction, les études du comportement sexuel des animaux d'élevage se sont relativement moins développés que ceux de physiologie ou de biologie moléculaire. Une des raisons est peut-être, par exemple, que la maîtrise de l'Insémination Animale (IA), ne pose plus de problèmes majeurs dès lors que le sperme est de suffisamment bonne qualité et que les mâles ne sont pas trop difficiles à collecter. Chez la femelle, par exemple, la maîtrise des traitements hormonaux qui est largement utilisée chez les ovins, a permis de s'affranchir de la détection des chaleurs. Ainsi chez la brebis, compte tenu de l'efficacité des traitements, les aspects comportementaux pouvaient pratiquement être ignorés. L'intérêt de l'étude du comportement sexuel a été fortement relancé par les difficultés de repérer les chaleurs chez des vaches laitières à très haut potentiel. Mais ces études comportementales se sont toujours heurtées à la difficulté de quantifier les comportements et les enregistrements vidéo n'ont fait que déplacer le problème sans le résoudre.

Suite au développent des nouvelles technologies de l'information et de la communication, au développement de capteurs miniaturisés, une nouvelle approche de

l'élevage s'est faite autour du développement de l'utilisation de ces capteurs embarqués sur les animaux qui permettent de repérer les mouvements et donc de mesurer automatiquement et en continu des éléments du comportement. L'objectif finalisé étant d'utiliser des algorithmes qui, après analyse de ces signaux, déclenchent des décisions : c'est ce qu'on appelle maintenant l'élevage de précision. Là encore les travaux ont été surtout conduits chez les gros ruminants et assez peu sur les petits ruminants.

Cette thèse s'inscrit dans le développement d'automatismes pour l'étude du comportement sexuel des ovins par l'UMR Selmet. Cette thématique rejoint des préoccupations environnementales qui tendent à rechercher des alternatives à l'usage des traitements hormonaux et en tous cas des systèmes d'élevages qui soient Green, Safe & Ethical (Martin et Kadokawa., 2006) tels que l'élevage ovin biologique (Pellicer-Rubio et al 2009).

Pour traiter de cette question de l'étude automatisée du comportement sexuel des ovins au cours de la période de reproduction, nous avons entrepris une revue bibliographique qui examine l'état des connaissances chez les ovins mâles et femelles.

Chapitre 1

Chapitre 1. Etude Bibliographique

1. Biologie de la reproduction chez les ovins

i. Œstrus des brebis

Chez les mammifères, l'œstrus (ou chaleurs) est un symptôme et une stratégie comportementale de la femelle qui permet l'accouplement à proximité du moment de l'ovulation. L'œstrus est la seule manifestation visible de l'ovulation. L'œstrus a été observé depuis très longtemps dans des troupeaux d'animaux, sans qu'il soit précisément lié à l'accouplement. Il vient du mot grec οίστροζ (de oistros en grec), membre de la famille des Oestridae dont le bourdonnement pendant l'été cause l'hyperactivité des vaches, conduisant à un comportement frénétique. Un tel intérêt pour le comportement de l'œstrus n'était pas nouveau : une fresque d'une vache en œstrus comme peut-être la première représentation d'un événement de la reproduction, il y a plus de 10000 ans, à Teyjat (Dordogne, France). Un taureau aurochs (Bos primigenius) renifle la vulve d'une vache avec une représentation claire de mouvement de chevauchements. Bien sûr, des peintures et des gravures rupestres du Paléolithique ne démontrent pas une connaissance précise du comportement bovin; cela reflète plutôt la première abstraction humaine après une centaine de milliers d'années de relations sociales entre l'Homme et les animaux, un prélude au processus de domestication qui a été particulièrement intense dans le cas des bovins. En dépit de cette longue période de contact entre l'Homme et le bétail, l'Homme n'est pas capable, contrairement au taureau, de détecter l'œstrus chez la vache, même au XXIeme siècle. D'énormes progrès dans la connaissance de la physiologie de la reproduction de la vache et dans le développement des aides à la détection de l'œstrus au cours des dernières décennies n'ont pas été suffisants pour que cette détection soit certaine. La détection de l'œstrus reste un problème majeur en élevage laitier et sa détection incorrecte occasionne un coût annuel de 300 millions $ à l'industrie laitière aux USA (Senger, 1994). En conclusion, la seule définition précise de l'œstrus est la période pendant laquelle les comportements de la femelle conduisent à l'acceptation du chevauchement par un mâle capable de développer un comportement sexuel.

La reproduction des ovins est plus compliquée que celle des bovins. La reproduction des ovins est caractérisée par une saisonnalité. La saison de reproduction est déterminée par la durée quotidienne d'éclairement. Les ovins viennent en œstrus lors du raccourcissement du temps d'ensoleillement quotidien. Quelques races sont très saisonnées (Suffolk, Texel, Blackface, etc.) alors que d'autres (Ile-de-France, Préalpes-du-Sud, Dorset Horn, Mérinos, etc.) sont moins saisonnée. La saisonnalité de la reproduction chez la brebis est caractérisée par des changements au niveau endocrinien, ovulatoire et comportemental. Ce qui donne lieu à une alternance annuelle entre deux périodes distinctes; une saison de reproduction, caractérisé par la succession à intervalles réguliers de 15-19 jours d'œstrus et d'ovulation, en l'absence de fécondation, et une saison d'anœstrus caractérisée par la cessation de l'activité sexuelle. Le passage de l'anœstrus à la saison de reproduction est progressif, avec l'apparition de cycles courts, parce que le premier corps jaune (CJ) régresse souvent prématurément 5-6 jours après sa formation. L'activité ovulatoire et le comportement œstral montrent parallèlement des variations saisonnières, mais il y a des divergences au début et à la fin de la

saison sexuelle lorsque certaines ovulations ne sont pas accompagnées par l'œstrus (Rosa et Bryant 2003). Ces ovulations, dites silencieuses, ne sont pas liées soit au démarrage soit à la fin de la saison sexuelle, elles peuvent également se produire chez certaines races en pleine saison sexuelle (Ortavant et al, 1988). D'autres auteurs considèrent que c'est seulement après la fin des premiers cycles ovariens que le comportement d'œstrus accompagne systématiquement l'ovulation. Au total, un grand nombre d'articles scientifiques ont traité la question de la saisonnalité de la reproduction chez la brebis (Ortavant et al., 1988 ; Scaramuzzi et Martin, 2008 ; Delgadillo et al., 2006 ; Teyssier et al., 2011 ; Chanvallon et al., 2011).

La description exacte de l'œstrus est plus complexe. Fabre-Nys et Venir (1987) ont en effet observé des brebis qui refusent les mâles et n'acceptent pas les chevauchements alors qu'elles sont en chaleur. La détermination précise de l'apparition de l'œstrus chez la brebis est d'un grand intérêt pour le succès de la reproduction, pour la monte naturelle comme pour l'insémination animaleet également comme diagnostic de non-gestation. Mais lorsque l'on réalise des inséminations après un traitement hormonal de synchronisation, on se contente d'inséminer à intervalle fixe. Il faut avoir préalablement déterminé le délai moyen de survenue des chaleurs. La bibliographie rapporte des intervalles très variables entre le retrait des éponges et début de l'œstrus : de 3 à 51 heures (26,8 h), McKenzie et Phillips, (1931) ; de 2 à 24 h (12,8 h), Allison et Davis, (1976) ; moins de 20 h pour Fletcher et Lindasay (1971) ; 32 h pour Romano et al., 2001, et plus de 40 heures dans plusieurs autres études (41 h, Zeleke et al., 2005 ou 47 h, Das et al., 2000).
De même, la durée de ces œstrus varie fortement entre les situations : les valeurs basses sont de moins de 16 h (Parsons and Hunter, 1967), les valeurs moyennes sont de 21 h (Fletcher et Lindsay., 1971 ; Das et al., 2000) et les valeurs hautes vont jusqu'à 31h (Romano et al., 2001). Les méthodes utilisées jusqu'à présent pour évaluer ces paramètres de l'œstrus chez la brebis se basent sur des observations visuelles plusieurs fois par jour et souvent il n'y a pas de mesures pendant la nuit. La méthode de référence étant de déplacer un mâle en laisse parmi les femelles toutes les 4 heures en notant les interactions. Il est certain que de telles observations demandent beaucoup de travail. Ainsi, il apparaît que lorsque les brebis sont en œstrus, il existe une très grande variabilité qui peut aussi dépendre des méthodes utilisées pour les estimer.

ii. Comportement des béliers

Le comportement sexuel du mâle est fondamental dans le processus de multiplication et de perpétuation des espèces. Un comportement anormal, comme par exemple l'incapacité de pénétrer une femelle, l'inactivité sexuelle traduite par le manque de réaction sexuelle vis-à-vis d'un partenaire, une faible libido qui est révélée par un intérêt diminué pour le partenaire sexuel ou une préférence exclusive pour un partenaire du même sexe, peuvent compromettre la reproduction et par conséquent la survie de l'espèce. Le succès de la reproduction dépend donc de la réalisation de l'acte sexuel qui dépend de la motivation des deux partenaires pour s'accoupler et parvenir à la réalisation correcte des actes mécaniques de la part du mâle et aussi de la femelle. Chez le bélier, espèce considérée comme un excellent modèle pour les recherches comportementales et sur laquelle nous avons réalisé nos observations, l'étude

descriptive du comportement sexuel a débuté dans les années 60 avec Hulet,Banks et Lindsay. Le comportement sexuel mâle est composé chez les mammifères de 3 phases (Beach, 1976 ; Fabre-Nys, 2010): la première appelée d'attraction des partenaires pendant laquelle le mâle cherche la femelle et se dirige vers elle, la deuxième dite appétitive ou motivationnelle pendant laquelle le mâle poursuit la femelle, la flaire et la courtise, Généralement, le premier comportement manifesté par le mâle, dans cette phase, est le flairage de la région ano-génitale de la femelle. Plusieurs flairages sont effectués dans un temps court ou peuvent durer plusieurs minutes ou même des heures comme par exemple chez les camélidés, durant cette phase des sons peuvent être émis, et en plus de l'approche latérale des coups de pattes envers les femelles sont donnés. La troisième phase est décrite comme consommatoire. C'est au cours de cette phase qu'aura lieu la monte (un ou plusieurs chevauchements) suivie de l'intromission et de l'éjaculation (Banks., 1964 ; Price., 1987 ; Price et al., 1992 ; Fabre-Nys., 2010). Une quatrième phase dite post-copulatoire a été décrite par certains auteurs ; elle est caractérisée par un moment de repos où le mâle restera en inactivité pendant un temps qui est très variable (Maurya et al., 2010 ; Ungerfeld et Gonzales-Pensado., 2009). Après cette période, les mâles - selon leur libido – reprendront une activité sexuelle en suivant la même séquence d'événements et ainsi jusqu'à la période réfractaire qui sera plus longue après chaque éjaculation (Ungerfeld et Gonzales-Pensado., 2009). Cependant, chez le bélier (Lezama et al., 2003) l'introduction d'une nouvelle brebis diminue ou fait même disparaitre la période réfractaire. Actuellement, le plus souvent, les recherches ne portent que sur la phase appétitive et sur la phase consommatoire (Price., 1987 ; Price et al., 1992 ; Fabre-Nys et Gelez, 2007 ; Stelflug et al., 2008 ; Ungerfeld., 2012).

iii. Voies de communication *mâles/femelles*

Les moutons et les autres animaux partagent les cinq sens de base: vision, audition (sons), olfaction (odorat), gustation (goût) et toucher (contact). Les sens sont des moyens que l'animal utilise pour interagir avec son environnement. En tant que tel, les sens peuvent être considérés comme des initiateurs et / ou des médiateurs de la réponse comportementale.

Il est difficile d'évaluer les sens des ovins. Il est tentant d'attribuer les capacités sensorielles humaines aux ovins, mais une simple évaluation de l'anatomie montre que les ovins et les humains doivent avoir certaines différences fondamentales dans la façon dont ils voient, sentent, goûtent, et entendent le monde.

Cependant, il est difficile d'évaluer le mode de perception des ovins uniquement à partir des caractéristiques anatomiques. Notre compréhension des relations entre l'anatomie et de la perception réelle est actuellement trop limitée pour faire des évaluations fiables (Sugnaseelan et al., 2013). Nous ne connaissons pas le mode exact de perception des ovins mais les nombreux travaux d'observations du comportement ovin ont permis d'apprendre beaucoup de choses sur les façons de réagir et percevoir des ovins. Ses informations sont très utiles dans la gestion de la conduite d'un troupeau.

Chez les ongulés, la vision, en combinaison avec l'audition, les sens olfactif et gustatif, jouent un rôle essentiel dans la perception de l'environnement, la reconnaissance individuelle et la sélection des ressources écologiques nécessaires à la survie et à la reproduction. Bien que ces sens soient souvent utilisés ensemble, la vision est considérée comme dominante chez les ongulés pour percevoir leur environnement. Plusieurs études ont montres la capacité des ovins

à apprendre en utilisant plusieurs sens,:des agneaux ont appris à différentier une grille à onde carré noire et blanche par rapport à un fond gris de même taille (Sugnaseelan et al., 2013). Ils ont également la capacité de différencier des visages humains (Kendrick et al., 1995).

L'importance des sens varie selon les espèces dans le règne animal. Chez les oiseaux, la vision a une grande importance pour attirer le sexe opposé:les femelles ont tendance à aller vers le mâle plus coloré (chez les Paons, Fabre-Nys., 2010). Le rôle de la vision a été mentionné indirectement chez certains animaux domestiques: les béliers préfèrent les femelles grandes avec de la laine et des formes arrondies (Tilbrook et al., 1987). Les béliers et les brebis Soay préfèrent les partenaires sexuels de grande taille (Preston et al., 2005), alors que les femelles de cerfs rouges préfèrent le mâle qui a les bois les plus développés(Fabre-Nys., 2010). Dans ces exemples, le rôle de la vision est mis en avant, mais nous ne pouvons pas nier le rôle de l'odorat dans le choix du partenaire.

La production d'odeur par les brebis semble être important pour que le bélier arrive à détecter une brebis en œstrus. Il a été établi que les brebis non en œstrus urinent fréquemment en réponse à des approches de séduction du bélier, alors que les brebis en œstrus ne le font pas. Les observations du comportement des ovins suggèrent que l'urine de la brebis contient des informations, sous forme de substances chimiques, qui sont importantes pour signaler à un bélier qu'une brebis est réceptive (Lindsay., 1965). Des résultats démontrent que les béliers sont capables de faire la différence entre les brebis sexuellement réceptives et non réceptives sur la base des différences d'odeur de l'urine (Blissitt et al., 1990). Un stimulus avec des phéromones de brebis en œstrus entraine une augmentation de la performance sexuelle du bélier et montre que les phéromones de brebis peuvent être impliquées dans le choix du partenaire (Ungerfeld et al., 2006).

Le degré de contact entre les deux sexes peut affecter la réponse des femelles face aux mâles. Pearce et Oldham (1988) ont exploré la réponse de brebis exposées à divers degrés de proximité avec des béliers : contact physique direct, contact à travers une clôture ajourée, contact à travers une clôture opaque, contact avec de la laine de béliers dans les masques coiffant le mufle ou un isolement complet des mâles. Le contactez à travers une clôture opaque a été moins efficace qu'au travers d'une clôture ajourée et l'effet maximal a été atteint quand les brebis ont mises en contact physique direct avec les mâles. Chez les chèvres Angora, la réponse en terme d'ovulation a été de 41% lorsque les boucs sont séparés par une clôture de fil (stimulation faible) alors qu'elle a été de 69% lorsque les boucs ont été mis en contact direct (forte stimulation) (Delgadillo et al., 2006). Chez ces deux espèces de petits ruminants domestiques, les brebis et les chèvres, une forte réponse des femelles est obtenue lorsque les deux sexes sont en contact physique complet, montrant que le degré de réponse de la femelle est influencé par le type de contact et que le contact direct permet de communiquer avec tous les sens.

2. Méthodes d'évaluation de l'activité sexuelle

i. Chez la femelle : Attractivité, Proceptivité et Réceptivité

Comme indiqué ci-dessus, les résultats de la mise à la reproduction seront influencés par des processus physiologiques et également par le comportement sexuel des partenaires. Chez les femelles de ruminants domestiques, comme chez la plupart des mammifères, il a été proposé de distinguer trois composantes dans ce comportement sexuel: l'attractivité, la proceptivité et la réceptivité (Beach., 1976). L'attractivité se réfère à la valeur stimulante que représente une femelle parmi d'autres femelles alors que la proceptivité, la moins étudiée chez les ovins, caractérise les activités appétitives des femelles vis-à-vis du mâle (Ramos et Ungerfeld., 2006). La réceptivité des femelles ne considère que les activités de réaction aux sollicitations du mâle (Fabre-Nys et Venier, 1987).

Avec ces définitions, il est considéré que l'attractivité dépend de stimuli passivement émis par les femelles. Cette distinction était rendue nécessaire par le fait que ce qui attire surtout le bélier c'est le comportement volontaire de proceptivité des femelles (Fabre-Nys et Gelez (2007). En effet, les activités les plus fréquentes des brebis en œstrus sont la recherche des béliers. Ainsi 75% des brebis en chaleur affichent ce comportement et les femelles plus âgées l'affichent davantage que les nullipares (Fabre-Nys et Gelez., 2007). Il est établi que la brebis utilise la vue plus que l'odorat pour localiser les béliers (Fletcher et Lindsay, 1968). Ainsi lors des tests de choix, entre des mâles ou des femelles, on observe (Kendrick et al., 1995) que les brebis en œstrus choisissent de s'approcher du bélier alors que les femelles qui ne sont pas en œstrus préfèrent elles se diriger vers les femelles. La réceptivité de la femelle est liée à l'augmentation de l'activité motrice qui est observée chez toutes les femelles de ruminants lorsque l'œstrus commence. A cette période, les vaches, les chèvres et les brebis ont tendance à quitter le troupeau principal (constitué généralement de femelles) et à se diriger (proceptivité) dans le voisinage des mâles. Cette augmentation de l'activité motrice est visible même en l'absence de mâle elle est utilisée dans certaines fermes laitières pour détecter l'œstrus (Senger, 1994 ; Cf partie détecteurs). Les brebis, contrairement aux autres femelles de ruminants, sont plutôt non démonstratives et affichent peu de signes d'agitation (Ruiz et Manteca., 1999). Outre leur activité de recherche, les femelles en œstrus expriment également quelques autres comportements tels que des mouvements de tête envers le mâle et la queue en éventail, mais le comportement principal et spécifique qu'elles montrent toutes est l'immobilité lorsqu'elles sont sollicitées par le mâle (Banks, 1964). Chez les ovins l'expression de ce comportement de proceptivité est d'une importance majeure lorsque les mâles ne sont pas très motivés ou lorsque beaucoup de femelles sont en œstrus en même temps (Lindsay et Fletcher, 1972). Inversement, cela peut expliquer la diminution de la fertilité des jeunes brebis quand elles sont dans un grand groupe avec d'autres femelles plus âgées qu'elles (Edey et al., 1978).

Mesure quantitatives :

Comportement d'attractivité :

L'estimation de l'attractivité des brebis est faite lors d'un test en enclos. Généralement, six brebis en œstrus sont présentes lorsque le bélier est introduit dans un enclos (6m x 6m). Dès son entrée les temps passés à courtiser et à s'accouplement sont enregistrés pour chaque brebis. Après 5 minutes, la brebis qui a été la plus sollicitée est sortie de l'enclos et est considérée comme la plus attractive. Les observations se poursuivent selon le même schéma et toutes les 5 minutes on retire la brebis la plus attractive. En cas d'égalité des temps entre deux brebis elles sont sorties en même temps. En l'absence d'activité du bélier, l'épreuve est reconduite pour 10 minutes. A l'issue de ces 10 minutes si le mâle ne manifeste aucune activité les brebis restantes sont sorties simultanément. Ainsi, à la fin du test, l'ordre de sortie des brebis traduit un ordre décroissant d'attractivité pour ce bélier. L'épreuve est reconduite, avec ces mêmes 6 brebis, avec d'autres béliers. La méthodologie proposée (Gatti and Ungerfeld, 2012) se base sur la répétition de ce test avec 6 béliers.

Comportement de réceptivité :

L'importance de cette composante comportementale a été soulignée par Fabre-Nys et Venier (1987) qui ont proposé un protocole de mesure. Il s'agit de placer une par une les brebis dans un petit enclos (4m x 4m) en présence d'un seul bélier pendant 2 minutes. L'observateur compte toutes les activités sexuelles, ou interactions, provenant de la femelle et du mâle. Pour limiter les écarts dus aux différences de sollicitations des béliers, la réceptivité s'exprime en effectuant le rapport (%) entre le nombre d'activités agonistes (y compris les immobilisations) de la brebis et le nombre total d'interactions (qu'elles viennent de l'un ou l'autre des partenaires).

Un minimum de 10 interactions doit être obtenu avec autant de béliers que nécessaire sur une durée qui peut alors excéder 2 minutes. La réceptivité s'exprime donc en % des interactions dues à la femelle.

Comportement proceptivité :

C'est également une composante du comportement sexuel femelle qui a été proposé par Fabre-Nys et Venier (1987) et pour lequel un test est disponible. Le but du test est d'évaluer les choix d'une femelle entre des congénères femelles et des mâles. La brebis à évaluer est placée dans un enclos d'attente. Elle est introduite dans un enclos de test qui comporte à l'opposé de l'entrée deux enclos contenants soit 3 brebis soit 2 mâles avec une brebis. Ces brebis qui servent d'attracteur ne doivent pas être en chaleur. Enfin, lors de la répétition des tests les attracteurs doivent être permutés pour éviter une habituation. Pendant les 3 minutes que dure le test, les temps passés à proximité des mâles ou des femelles, ou mieux en interaction avec ces attracteurs, sont décomptés. La brebis est considérée comme proceptive lorsqu'elle passe davantage de temps auprès de l'enclos avec les deux béliers qu'à côté de celui des trois femelles.

ii. Chez le mâle : La libido

Bien que les béliers utilisés pour la reproduction soient soigneusement choisis, leurs performances de reproduction sont souvent très variables (Price, 1987). Pourtant les éleveurs savent que des béliers performants à l'issue de tests améliorent la fertilité moyenne du troupeau (Stellflug et al., 2006). Une étude effectuée aux USA a montré que sur les 196 000 béliers évalués, environ 23% n'auraient pas dû être utilisés comme reproducteurs. Dans le cas présent le manque à gagner annuel était de 13,5 millions de $. Cette question concerne les éleveurs, les centres de recherche et les centre d'IA car outre la réduction des coûts elle entrave la diffusion du progrès génétique. Il existe plusieurs façons de mesurer le comportement sexuel d'un mâle vis-à-vis des femelles. Néanmoins, aucune de ces méthodes ne fait l'objet d'un consensus. L'objectif principal des méthodes utilisées est de mesurer la libido et la performance du mâle et ainsi de pouvoir disposer en élevage de mâles actifs qui puissent féconder les femelles. Les méthodes pour les ongulés sont connues depuis le début des années 70 et sont basées sur la quantification des actes moteurs et/ou sur le temps d'exécution de ces actes. Jusqu'à maintenant, toutes ces méthodes reposent sur l'observation visuelle et le comptage des activités sexuelles par unité de temps. Pour l'évaluation des comportements pré-copulatoires plusieurs mesures sont utilisées comme la latence jusqu'à la monte, et/ou la latence entre la première réaction sexuelle et la réalisation de l'acte sexuel. D'autres mesures beaucoup plus utilisés reposent sur la quantification des actes sexuels unitaires dans un temps déterminé : nombre de flairages, d'approches latérales, de coups de pattes, de tentatives de monte, de montes et d'éjaculations….

Des différences de comportement sexuel entre béliers ont été identifiées depuis longtemps (Hulet et al., 1962; Bank., 1964) et des corrélations positives entre scores de libido élevés et fertilité des troupeaux ont été rapportés (Kilgour. 1993). Par conséquent, diverses procédures pour mesurer le comportement sexuel des béliers ont été proposées en observant leurs comportement en enclos en présence d'un petit nombre de brebis (Price et al., 1992 ; Stelflug et al., 2008). Schématiquement, deux grandes approches ont été retenues. La première consiste à évaluer individuellement les béliers (Price et al., 1992). Pour ce test individuel de libido, chaque bélier est mis en contact avec trois brebis en œstrus au cours de trois répétitions de 30 minutes, tandis que le bélier et les brebis peuvent se déplacer librement dans l'enclos où il n'y a ni nourriture, ni eau pour les distraire. Les observateurs, enregistrant les comportements, sont situés à l'extérieur d'enclos. Ils enregistrent toutes les activités sexuelles y compris les éjaculations. Les béliers sont ensuite classés selon leurs scores de libido établis sur le nombre d'activités. En raison de la multitude de facteurs qui peuvent influencer le test, par exemple la familiarité avec les brebis ou même le déroulement du test, les auteurs (Price et al., 1991 ; Price et al., 1996 ; Stellflug et Berardinelli, 2002) ont établi qu'au moins six tests individuels de 30 minutes sont nécessaires pour obtenir 95% de fiabilité dans le classement des béliers. Il en résulte que ces évaluations individuelles de la libido sont longues et laborieuses. C'est pourquoi, une seconde démarche (Stellflug et al., 2008) a été proposée en testant simultanément plusieurs béliers (cohorte) avec un seul lot de brebis. Ainsi, plusieurs mâles qui rivalisent pour la conquête des brebis en œstrus sont observés simultanément, permettant un gain de temps important. En outre, on peut penser que l'anxiété de la séparation d'avec les autres mâles est alors réduite et que la concurrence entre béliers peut aider à différencier les béliers très performants sexuellement des béliers à faible performance

sexuelle. Un test de cohorte se réalise avec trois béliers placés dans un enclos de 30 m² avec neuf brebis en œstrus, libres de se déplacer. Le nombre d'éjaculations et de chevauchements de chaque bélier est enregistré. En l'absence d'éjaculation un bélier est considéré comme sexuellement inactif (Stellflug et al., 2008). Un tel test effectué pendant 30 minutes permet d'obtenir une évaluation correcte de la libido avec 70% de fiabilité (Stellflug et al., 2008), L'augmentation du nombre de tests permettra d' accroitre la précision de l'évaluation au dépends du temps passé (Stellflug et al., 2008).

Au plan pratique, sur la base des résultats de l'évaluation, il a été proposé (Alexander et al., 2012) de classer les béliers en trois groupes : les béliers exceptionnels, ceux à la libido satisfaisante et ceux à la libido insuffisante. Seul, les béliers jugés satisfaisants ou exceptionnels sont à conserver pour la reproduction, les autres devant être réformés. Dans une certaine mesure, les béliers considérés comme incertains devraient être évalués à nouveau et faire l'objet de tests plus approfondis portant sur la qualité du sperme son examen microbiologique ou faire l'objet de tests sérologiques, notamment si ces béliers sont de haute valeur génétique.

Ces tests ont également permis de mettre en évidence que la performance sexuelle des béliers peut être affectée par divers facteurs. Ceux-ci comprennent l'expérience sexuelle antérieure des béliers, l'effet de l'élevage séparé des mâles et des femelles, la timidité des béliers (Price et al., 1994), l'effet de la contention des brebis en œstrus pendant le test, l'effet de l'attractivité exercée par la brebis (Tilbrook et Lindsay, 1987) et l'effet de la saison de reproduction (Rosa et Bryant, 2003). De plus, les jeunes béliers peuvent être inhibées sexuellement lors de la première exposition aux brebis (Price et al., 1994) et/ou sont perturbés par les conditions de test (Kilgour et Wilkins, 1980). Ainsi, près de 40% des jeunes béliers, qui avaient été initialement identifiés comme sexuellement inactifs, ont été observés plus tard comme ayant une certaine libido (Snowder et al. 2002). Par conséquent, les jeunes béliers initialement identifiés comme sexuellement inactifs devraient être à nouveau être testés avant d'être réformés

3. Facteurs de variation de la reproduction des ovins

En élevage, la reproduction et les comportements sexuels qui l'accompagnent sont sous l'influence de très nombreux facteurs. On distingue classiquement les facteurs internes des facteurs externes à l'animal. S'agissant des facteurs internes on trouvera : l'effet de l'âge, du génotype et les régulations hormonales et nerveuses. Parmi les facteurs externes, l'environnement physique constitué de la saison avec l'effet de la photopériode et de la saison avec l'effet de l'alimentation, peuvent être distingués de l'environnement social constitué de la compétition et du statut hiérarchique, de l'expérience vécue et du stress. Les pratiques d'élevage ou management de la reproductionse situent aux deux niveaux. Sans compter que ces facteurs, qu'ils soient externes ou internes peuvent agir ensemble ou isolément.

i. Race

L'influence de la race sur le comportement sexuel des mâles a été bien étudiée chez les taureaux. Ainsi une revue déjà ancienne (Chenoweth., 1981) mentionne des différences de comportement sexuel entre les taureaux des races allaitantes et des races laitières ou même entre races européennes et races américaines. Des différences entre boucs ont aussi été mises en évidence selon les races à viande ou laitières (Darwish et Mahboub., 2011). Chez les ovins il a également été observé des variations selon les races au niveau des performances de reproduction et de la libido. Il faut noter qu'il n'y a pas eu, à notre connaissance, d'étude systématique de ce caractère et que les données sont ponctuelles voire anecdotiques. Ainsi les béliers Southdown copuleraient davantage que ceux de la race Rommey Marsh (Chenoweth, 1981) et lesbéliers Chios montreraient plus d'intérêt pour les femelles que les béliers Karagouniki (Simitzis et al., 2006). De tels travaux ont permis de mettre en évidence des différences dans l'activité sexuelle entre des races pourtant très poches telles que les Columbia, les Polypay ou les Rambouillet (Snowder et al., 2004). Dans bien des cas il n'est pas exclus que les différences de libido exprimées dépendent des nombreux facteurs que nous avons listés.

ii. Nutrition et alimentation

Un grand nombre d'articles scientifiques ont étudié l'importance de l'alimentation des ruminants sur leurs performances de reproduction et sur les mécanismes métaboliques et hormonaux qui pourraient les expliquer (Revue de Atti et al., 2001, Scaramuzzi et Martin, 2008). Beaucoup de ces travaux ont porté sur l'alimentation des vaches laitières à haut potentiel qui ont des difficultés à se reproduire dans l'année du vêlage.

Concernant la brebis, les différents travaux se sont progressivement attachés à étudier séparément les effets à court termes de ceux qui s'exercent à plus long terme sur la reproduction (Scaramuzzi et al., 2006). C'est ainsi que les paramètres qui caractérisent l'état nutritionnel des animaux à ces différentes échelles de temps sont assez différents (Figure 1). L'état nutritionnel instantané résulte du bilan entre les apports et les besoins de l'animal. Tant que le bilan est faiblement déséquilibré ou qu'on l'examine à court terme (jours, semaines) les régulations mises en place (partage des nutriments) produisent des effets qui sont mesurables en termes de concentrations d'hormones ou de métabolites sanguins. Ces concentrations permettent de caractériser l'état des animaux soit par des profils métaboliques, soit par des

dépassements de seuils traduisant un défaut des régulations (Chilliard, Doreau et Bocquier 1985). On considère que la valeur adaptative de ces mécanismes est d'assurer la survie de l'individu (Blanc et al., 2006).

Lorsque les bilans nutritionnels sont maintenus sur le long terme (mois, saison) les mécanismes de régulation produisent des effets qui se cumulent et qui éventuellement se maintiennent (rémanence) (Figure 1). C'est ainsi qu'une mobilisation de lipides corporels pendant une longue période de sous-alimentation finit par provoquer une baisse des réserves adipeuses (ou de note d'état corporel) qui agissent en retour en baissant les besoins d'entretien de l'animal (Chilliard, Doreau, Bocquier 1995). Ce type d'adaptation correspond plutôt à la survie de l'espèce, car les fonctions de production et de reproduction peuvent être maintenues (Kharrat et Bocquier., 2010). Les effets à long terme de la nutrition sont appréciés par la mesure de l'état des réserves corporelles ou par le poids vif de l'animal.

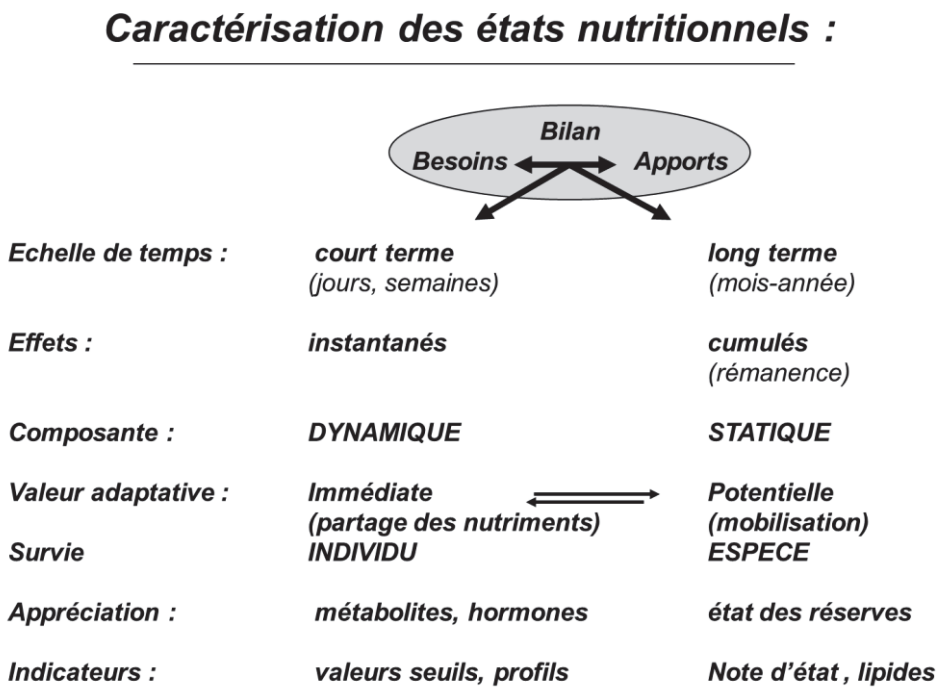


Figure 1. *Représentation schématique des effets de la nutrition sur la reproduction des ruminants domestiques (Bocquier, Doc. cours)*

Cependant l'étude des relations nutrition x reproduction chez la brebis ont porté davantage sur la prolificité (effet du flushing) que sur la fertilité et encore moins sur le comportement sexuel des brebis.

Les systèmes méditerranéens sont caractérisés par une pénurie saisonnière de ressources alimentaires. Ceci conduit les ruminants domestiques, placés dans des situations d'élevage difficiles, à utiliser leurs lipides corporels contenus dans les tissus adipeux pour faire face aux situations de pénuries alimentaires (Atti et Bocquier., 1999). Ces animaux doivent pouvoir stocker l'énergie, sous forme de réserves adipeuses, pendant les périodes favorables et les mobiliser en périodes de pénuries. Sachant qu'une forte mortalité causée par la famine est,

maintenant, tout à fait inhabituelle, la productivité du troupeau peut être limitée par l'alimentation, sauf au cours des années exceptionnellement favorables. Chez la brebis, au moins partiellement, les pénuries alimentaires sont limitées par l'utilisation des réserves corporelles et par la complémentation par des fourrages conservés et/ou des aliments concentrés. Mais pour différentes raisons (disponibilité des aliments,coûts, faible productivité de la race) le niveau et la durée de la supplémentation sont souvent limités. Une diminution du poids vifs des brebis et de leur état corporel entrainent une diminution de la fertilité ainsi qu'un étalement des dates d'agnelages ce qui perturbe le management des troupeaux. Les brebis les plus lourdes, au début de la période d'accouplement, sont plus rapidement fécondées et elle mettent bas avant les autres (Atti et al., 2001). Cette répartition inégale des naissances correspond aux conditions nutritionnelles qui s'améliorent avec la saison (printemps) et qui autorisent les fécondations de brebis qui ont eu le temps de revenir à un état nutritionnel satisfaisant.

Debus et al pas dans la biblio

Peu de travaux ont été conduits et publiés sur l'effet de l'alimentation sur le comportement sexuel des brebis. Dans l'UMR Selmet (Debus et al., 2005) des travaux de sous-alimentation des brebis ont montré des modifications dans les caractéristiques des œstrus. Ainsi, des brebis placées soit à l'entretien (100%BE), soit sous-alimentées (40%BE) pendant 50 jours puis réalimentées (100%BE) pendant 17 jours ont été suivies. Malgré la sous-alimentation (40%BE), toutes les brebis ont ovulé. Cependant la restriction alimentaire a entrainé un retard d'apparition du comportement d'œstrus (14.6±0.2 vs 15.8±0.22 jours) et une diminution de presque 3 fois de sa durée (36.0±3.02 vs 13.3±1.98 heures), une diminution des taux de base de LH (1.2±0.17 vs 0.8±0.10 ng/ml), un retard d'apparition du pic pré-ovulatoire de LH (14.8±0.22 vs 15.7±0.23 jours), des taux plasmatiques de progestérone plus élevés (4.2±0.36 vs 6.3±0.59 ng/ml) qui retournent à des niveaux de base plus tardivement que chez les animaux témoins (10.4±0.41 vs 12.7±0.96 jours) et une durée du cycle œstral rallongée de 3 jours (16.9±0.14 vs 19.7±0.99 jours). Une réalimentation de 17 jours a été suffisante pour restaurer un comportement sexuel, une durée du cycle et des sécrétions hormonales similaires à ceux des animaux contrôles.

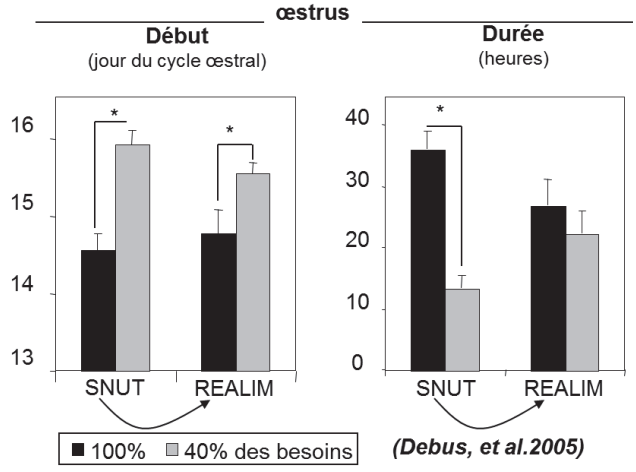


Figure 2. *Effet de la sous-alimentation, suivie d'une réalimentation sur la composante comportementale de l'œstrus de la brebis Mérinos d'Arles (Debus et al., 2005)*

Chez le bélier ou chez le bouc les effets de l'alimentation ont été résumés par Martin et al. (Martin et al., 2004). Il semblerait que l'alimentation des mâles soit capable d'affecter, après un certain temps, les volumes testiculaires (Bouc : Zarazaga et al., 2009 ; Bélier : Martin et al., 2002) et les capacités spermatiques (Bouc : Zarazaga et al., 2009 ; Bélier : Martin et al., 2002). Mais il est considéré que c'est uniquement dans des cas extrêmes de sous-alimentation que les mâles se trouvent incapables de se reproduire parce que incapables de se déplacer (Martin et al., 2004). Des expériences montrent que des carences nutritionnelles provoquent une diminution du niveau circulant de la testostérone et de la LH, chez le bélier (Lahlou-Kassi et al., 1989) sans que les effets sur le comportement sexuel ne soit évalué.

iii. Facteur sociaux

Les expériences vécues dans le jeune âge, pendant la phase d'élevage, peuvent influencer le comportement sexuel à l'âge adulte et plus particulièrement le choix des partenaires sexuels. A titre d'exemple, si des agneaux sont élevés dès la naissance par des chèvres ou inversement des chevreaux par des brebis, à la puberté les mâles préféreront des partenaires sexuels appartenant à l'espèce qui les a élevé (Kendrick et. al., 1998) et cette préférence se maintien même lorsqu'après le sevrage ils sont élevés avec des congénères de la même espèce (Kendrick et al., 2001). De même, il a été constaté, lorsque des races ovines sont mélangées, que les agneaux ont tendance à se regrouper spontanément par race (Price et al., 2000).

De plus, l'exposition précoce de jeunes béliers (à l'âge de 8-10 mois) à des brebis rend ces béliers sexuellement plus actifs à l'âge de deux ans que des mâles élevés seulement avec d'autres mâles (Price et al., 1994 ; Kridli et Said., 1999 et Stellflug et Lewis., 2007). Les agneaux élevés seulement avec d'autres agneaux auront un taux de préférence pour un partenaire mâle beaucoup plus élevé que les agneaux élevés dans un groupe mixte (Katz et al., 1988; Zenchak et al., 1981).

À l'âge adulte l'environnement social peut aussi influencer l'activité sexuelle des mâles. Par exemple le fait de renouveler les femelles en chaleur provoque chez le bélier une reprise d'activité plus rapide après l'éjaculation et finalement une augmentation du nombre total d'éjaculations dans une période donnée (Wodzicka-Tomaszewska et al., 1981). Des boucs qui ont eu la possibilité d'observer d'autres mâles en situation sexuelle avec des chèvres, avant leur exposition à une chèvres, ont présenté une fréquence d'éjaculation plus élevée que ceux qui n'ont pas eu l'opportunité de voir les autres males s'accoupler (Price et al., 1984). Inversement la présence d'un autre mâle peut conduire à une baisse des activités sexuelles par compétition directe entre mâles. Cette situation est encore plus marquée lorsqu'un mâle dominant se trouve face à un male dominé (Ungerfeld., 2007 ; Ungerfeld et al., 2012).

4. Management et choix des reproducteurs

i. Traitement hormonaux

Les technologies de synchronisation de l'œstrus et de l'ovulation chez les brebis sont principalement basées sur le contrôle de la durée de vie des corps jaunes, soit en provoquant leur régression avec des prostaglandines, soit en utilisant des progestatifs ou des injections de progestérone pendant 12-14 jours suivies par une injection de gonadotrophine chorionique équine (eCG) (Gordon, 1983 ; Gordon, 1997). La prostaglandine seule ne fournit pas une synchronie acceptable de l'œstrus, car son efficacité de lutéolyse dépend du moment du cycle où est effectué l'injection (Martemucci et al., 1986). De plus, cette méthode est applicable uniquement chez les femelles cycliques (qui ont un corps jaune). Dans tous les cas, on considère qu'un taux de synchronisation d'un lot de brebis de moins de 37% est mauvais, par contre le traitement est efficace si on obtient un taux de synchronisation des brebis traitées supérieur à 60% (Idele, 2009).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour synchroniser les brebis soit en saison sexuelles soit hors saison sexuelle. L'effet mâle est une technique d'induction et de synchronisation des ovulations qui est réalisée à contre saison chez les ovins. En effet, l'introduction de béliers sexuellement actifs dans un groupe de brebis anovulatoires provoque une augmentation quasi-immédiate de la pulsatilité de LH suivie d'une première ovulation dans les 2 à 4 jours qui suivent (Martin et al., 1986 ; Ungerfeld et al., 2004). Cette première ovulation est toujours silencieuse (non accompagnée de comportement d'œstrus) et est suivie soit de la formation d'un corps jaune normal (cycle normal) soit du développement d'un corps jaune hypo-fonctionnel (cycle court) qui régresse prématurément (Thimonier et al., 2000). Ces deux types de réponses provoquent la synchronisation des brebis en deux vagues distinctes 15 et 23 jours après l'introduction des béliers. Il est connu qu'un traitement progestatif de courte durée (une simple injection de 20 mg de progestérone) préalable à l'introduction du mâle permet l'induction d'un premier cycle de durée normale mais sans œstrus (Cognié et al., 1982), contrairement au traitement progestatif de longue durée (10 à 17 jours de progestérone sous forme d'éponge vaginale) qui assurent le développement d'un cycle normal avec manifestation d'œstrus (Oldham et Lindsay 1980).

Les traitements à base de progestatif demandent un certain temps pour être actifs et ils ne répondent pas toujours aux attentes des éleveurs de brebis laitières parce que les produits (lait et plus rarement viande) ne peuvent pas être utilisés pendant la période de traitement. Dans l'Union européenne, l'utilisation de progestatifs est susceptible d'être arrêtée en raison de la contrainte législative sur les résidus hormonaux (limites maximales de résidus, R.D. 2178/2004) dans la viande et le lait. Par conséquent, afin de raccourcir la période de traitement, une dose luthéolytique de PGF2α peut être injecté à la fin ou 24-48 h avant la fin du traitement progestatif (6-10 jours; Ungerfeld et Rubianes, 2002). Toutefois, ces méthodes aboutissent à des taux de fécondité très variables. Une meilleure connaissance des dynamiques folliculaires (vagues successives, dominance – atrésie) dans l'ovaire (Evans et al., 2000) permettraient d'envisager la possibilité de contrôler le développement folliculaire par la synchronisation de la vague folliculaire qui donne naissance au follicule pré-ovulatoire, et ainsi mieux synchroniser l'œstrus et l'ovulation.

Certains ont proposé d'utiliser un effet bélier pour renforcer cette synchronisation. Plusieurs chercheurs (Evans et al. 2004; Delgadillo et al., 2006; Chanvallon et al., 2011; Delgadillo et al.,2015; Fabre-Nys et al., 2015) ont démontré que l'introduction des béliers induit une augmentation de la sécrétion de LH même chez des brebis préalablement traitées avec des éponges intravaginales imprégnées de Medroxi-progestérone

L'association de l'effet mâle à d'autres traitements hormonaux a été proposé. Ungerfel (2004) a montré que l'introduction des béliers simultanément à unesynchronisation de l'œstrus (PGF2α) conduit à avancer le comportement œstral et à augmenter le nombre de brebis répondant au traitement. Toutefois, l'introduction des béliers 13 jours après une administration de PGF2α seule, ne peut se substituer à l'administration d'autres hormones dans un protocole de synchronisation de l'œstrus.

L'insémination animale est un outil puissant pour améliorer l'efficacité de la reproduction et pour accélérer la diffusion du progrès génétique. La synchronisation de l'ovulation est une étape obligatoire pour l'insémination à temps fixe.

Chez les petits ruminants le traitement systématique et simultané de toutes les femelles par des traitements hormonaux a été la solution adoptée pour réaliser l'insémination animale à horaire fixe (Pellicer-Rubio et al., 2009). Cette solution, qui ne s'applique pas à tous les types d'élevage (interdite par exemple en élevage Biologique) pourrait être remise en cause à l'avenir pour des questions de sécurité des aliments d'une part, et environnementales d'autre part, au même titre que les traitements allopathiques systématiques en élevage. Des solutions alternatives mobilisant l'élevage de précision sont donc à l'étude.

ii. Choix des animaux de renouvellement

Le ratio mâle/femelle approprié pour une bonne réussite de la reproduction varie en fonction du nombre, de l'âge et de l'état nutritionnel des animaux concernés, de la gestion de troupeau, de la saison, du terrain et des aliments disponibles (Allison., 1987). Les ratios de 1 bélier pour 30-50 brebis (2-3% béliers) sont fréquemment cités dans les publication (Alexander et al., 2012). Certaines études ont montré que les béliers préfèrent chevaucher certaines femelles du troupeau plutôt que d'autres (Tilbrook et al., 1987 ; Ungerfeld et al., 2006) et semblent également avoir une préférence pour les brebis de leur race ou d'apparence similaire. Les facteurs liés aux femelles comme l'âge des brebis (Debus et al., 2005) ou l'état nutritionnel des brebis (Scaramuzzi et al., 2008) peuvent également influer le ratio bélier/brebis et lorsque le moment du cycle œstral de brebis est contrôlé avec des inserts de progestérone ses ratios plus forts (≤1:10) sont recommandés (Sargison, 2008). Il en est de même lorsque les brebis sont synchronisées par un effet mâle.

D'autres considérations, telles que l'état nutritionnel interviennent également pour fixer le ratio mâle : femelle. La sous-alimentation des béliers se traduit par une réduction de la taille des testicules et une baisse de la production de spermatozoïdes par gramme de tissu testiculaire (Dunn et Moss, 1992). L'effet de la taille du paddock joue également car il est susceptible d'influencer la topographie, la zone à couvrir par les brebis et les béliers, la disponibilité des aliments, la dispersion du troupeau sur des parcours et les occasions de contacts entre béliers et brebis (Allison et Davis., 1976).

L'état corporel des béliers, évalué sur une échelle de 1 à 5, montre que certains béliers connaissent une perte d'état corporel considérable au cours de la saison de reproduction (0,5

unité par semaine). C'est pourquoi ils devraient commencer la saison de reproduction une note d'état corporel aux alentourst de 3,5-4,0 (Sargison, 2008). Des précautions doivent également être prises pour veiller à ce que les béliers ne deviennent pas trop gras (Martin et al., 2012). En effet il a été noté que des béliers avec une note d'état corporel de 4 ont une libido réduite (Sargison, 2008).

5. Elevage de la précision et détection des chaleurs

Un élevage de précision peut se définir comme un élevage dans lequel les opérations qui sont faites sur les animaux sont différenciées par unité du troupeau (individu ou lot), sur la base de mesures automatisées qui ont été transmises puis intégrées dans un système d'information (Bocquier et al., 2014) qui fournit des éléments d'aide à la décision à l'éleveur. Ces mesures portent généralement sur les caractéristiques physiques, sur le comportement, sur la physiologie, sur l'état sanitaire. L'objectif de l'élevage de précision est d'agir sur chaque animal individuellement pour améliorer le bien-être des animaux et l'impact environnemental de l'élevage tout en préservant les performances techniques et économiques. L'élevage de précision nécessite des capteurs (de mouvement, de température, de chaleur, ….) constituant des moyens de détection (caméra, microphones, accéléromètre, GPS, …) en utilisant les changements des signaux. L'élevage de précision utilise les technologies de l'information et de la communication avec une approche multidisciplinaire dans lesquelles les scientifiques, physiologistes, vétérinaires, éthologistes, ingénieurs se rencontrent…. (Elevage de précision, 2016).

Dans la situation qui nous intéresse, le but des méthodes automatisées est d'aider l'éleveur à identifier automatiquement les femelles qui sont en œstrus, ce qui devrait réduire le travail nécessaire à l'observation et améliorer ses conditions de travail.

Plusieurs types de dispositifs de mesure avec chacune leurs méthodes pour analyser le comportement animal et présentant des fiabilités variables ont été mis au point dans le but de remplacer l'observation directe du comportement animal qui nécessite beaucoup de main-d'œuvre, prend du temps et peut ne pas être réalisable dans un élevage.

Le développement de méthodes automatiques pour la détection de l'œstrus a tenu compte des particularités de chaque système d'élevage i.e. des élevages dans lesquels la reproduction se fait en l'absence complète de mâles (vaches laitières ou truies inséminées), ou au contraire des élevages dans lesquels les mâles sont toujours présents (ovins, caprins, vache allaitantes). Un autre point de vue est que la reproduction se fait en bâtiment ou au contraire en plein air. Pour toutes ces raisons, il n'y a pas une seule bonne méthode pour détecter l'œstrus, cela dépend des conditions d'élevage. Nous avons résumé (Tableau 1) les différents types de matériels utilisés pour la détection des chaleurs chez les ruminants d'élevage. Nous avons privilégié dans cette synthèse la place des animaux détecteurs : des mâles (entiers ou vasectomisés) ou des femelles (entre-elles). Ensuite nous avons rapporté les systèmes traditionnels avec des poches d'encre ou des crayons marqueurs qui obligent l'éleveur à observer les animaux et enfin des systèmes électroniques, qui à l'exception du Heatwatch®, préviennent automatiquement l'éleveur.

Certains auteurs dans leurs synthèses (Firk et al., 2002 ; Cornou, 2006) résument les méthodes utilisées pour la détection de chaleurs chez les bovins. Ces synthèses choisissent de classer ces méthodes en plusieurs types comme l'observation visuelle (OV) qui comprend plusieurs sous-branches (OV directe, OV indirecte par caméra …), puis les méthodes qui utilisent un dispositif technique qui comprend aussi plusieurs variantes: le dosage de la

Chapitre 1. Étude bibliographique: Elevage de la précision

Tableau 1. Comparaison des différents dispositifs utilisés pour aider à détecter les femelles en œstrus. Le classement du tableau est organisé selon le type d'animal équipé (mâle ou femelle), le comportement recherché (chevauchement ou autre activité), et selon qu'il est automatisé ou pas.

Méthode de détection	Animaux (Sexe)	Mâle/Femelle	Chevauchements (Oui/Non)	Visuel/ Automatique	Temporaire / Permanent	Fiable pour l'identification des femelle [illegible] manipulati	Considérations pratiques et problèmes spécifiques	Efficacité %	Auteurs
Mâle harnais marqueur	Bélier/Brebis Bouc/Chèvres	M/F	Oui	V	T	*	*	Il est nécessaire de manipuler les mâles pour installer le harnais et changer les tampons encreurs pour séparer les jours de détection. Le harnais doit rester dans la bonne position pour ne pas blesser le mâle. Le marquage dépend de la taille du bélier et de son comportement.	inconnue	généralités
Chin-Ball -Ink	Taureau	M/F	Oui	V	T	*	*	Le harnais est porté à la tête du taureau. Le bon placement de ce harnais est nécessaire pour marquer correctement. Des marques fausses positives peuvent être faites lorsque le taureau pose sa tête sur la croupe de la vache plutôt que de la chevaucher.	inconnue	généralités
Mâle Harnais lecteur RFID	Bélier/Brebis Bouc/Chèvres	M/F	Oui	A	P	***	*	Des transpondeurs doivent être places de façon permanente sur les femelles; Le mâle porte un harnais équipé d'un lecteur électronique. Ce harnais doit être bien positionné. Le contrôle de l'état de la batterie et le transfert des données à distance limite les manipulations.	100	Bocquier et al.,
Poches ce couleurs	Vache	F/F	Oui	V	T	*	***	Les poches d'encre colorées doivent être installées par collage sur la croupe de la vache. Ces poches peuvent être endommagées par d'autres vaches, ou par des obstacles donnant un faux positif.	26-65	Palmer et al., 2010
Détecteur de chevauchements	Vache	F/F	Oui	A	T	**	**	Ce détecteur doit être installé temporairement sur les vaches. Il doit disposer d'une source d'énergie faute de quoi aucune détection n'est possible. Il se connecte à distance à une station.	71 - 87	At-Taras and Spahr., 2011
Heatwatch®	Vache	F/F	Oui	A	T	**	**	Des patches électroniques doivent être installés temporairement sur chaque vache. La vache et le détecteur doivent être identifiés. De fréquentes visites sont nécessaires pour relever les vaches positives et s'assurer de leur présence sur le dos de la vache.	37-69	Palmer et al., 2010
Showheat DEC®	Vache	F/F	Oui	A	T	**	***	Mêmes remarques que pour Heatwatch	69	Sauman de, 2002
Podomètre, accéléromètres	Vache	F	Non	A	T	**	**	Doit être installé temporairement sur chaque vache. Les changements d'activité d'un jour sur l'autre sont détectés. Les pannes ne sont détectable qu'en salle de traite.	79	At-Taras and Spahr, 2001 Cornou,,2006

progestérone (dans le sang ou le lait), le suivi de la température (corporelle, du lait), la présence de mucus vaginal …. Mais la méthode la plus développée est basée sur le suivi de l'activité locomotrice des femelles (Firk et al., 2002 ; Cornou., 2006). Cette détection s'appuie sur l'augmentation de l'activité motrice lorsque la femelle est en période œstrus. Plusieurs systèmes constitués d'accéléromètre, de podomètre, … ont été développés sur ce principe. Un des défis qu'il y a eu à relever avec ces capteurs de mouvement c'est d'être capable de différencier les activités spécifiques de l'œstrus de celles qui sont normales en élevage : les déplacements, la traite, les repas, l'abreuvement et le repos. Il n'y a pas de méthode normalisée pour isoler ces comportements, chaque fabriquant propose un algorithme qui n'est pas publié. En outre, ces méthodes basées sur les changements du niveau d'activité sont bien adaptés aux élevages intensifs avec des déplacements limités et réguliers des animaux. De tels dispositifs ne seraient pas utilisables au pâturage ou sur des parcours accidentés.

À notre connaissance, il n'y avait aucun moyen automatisé pour détecter l'œstrus chez les petits ruminants. L'utilisation d'appareils électroniques n'a commencé qu'au cours de ces dernières années chez les ovins mais surtout pour caractériser les comportements alimentaires au pâturage et estimer l'impact sur l'environnement (Alvarenga et al., 2016 ; McLennan et al., 2015 ; Piccione et al., 2011) Le seul moyen pour détecter les chaleurs était l'observation directe en notant les chevauchements des béliers ou, indirectement, en vérifiant les traces de peintures laissées par le harnais marqueur sur la croupe des brebis. Selon les auteurs (Bocquier 3R 2006), le principal intérêt du détecteur de chevauchement proposé par SELMET est de se baser sur le comportement des mâles.

6. Questions de recherche

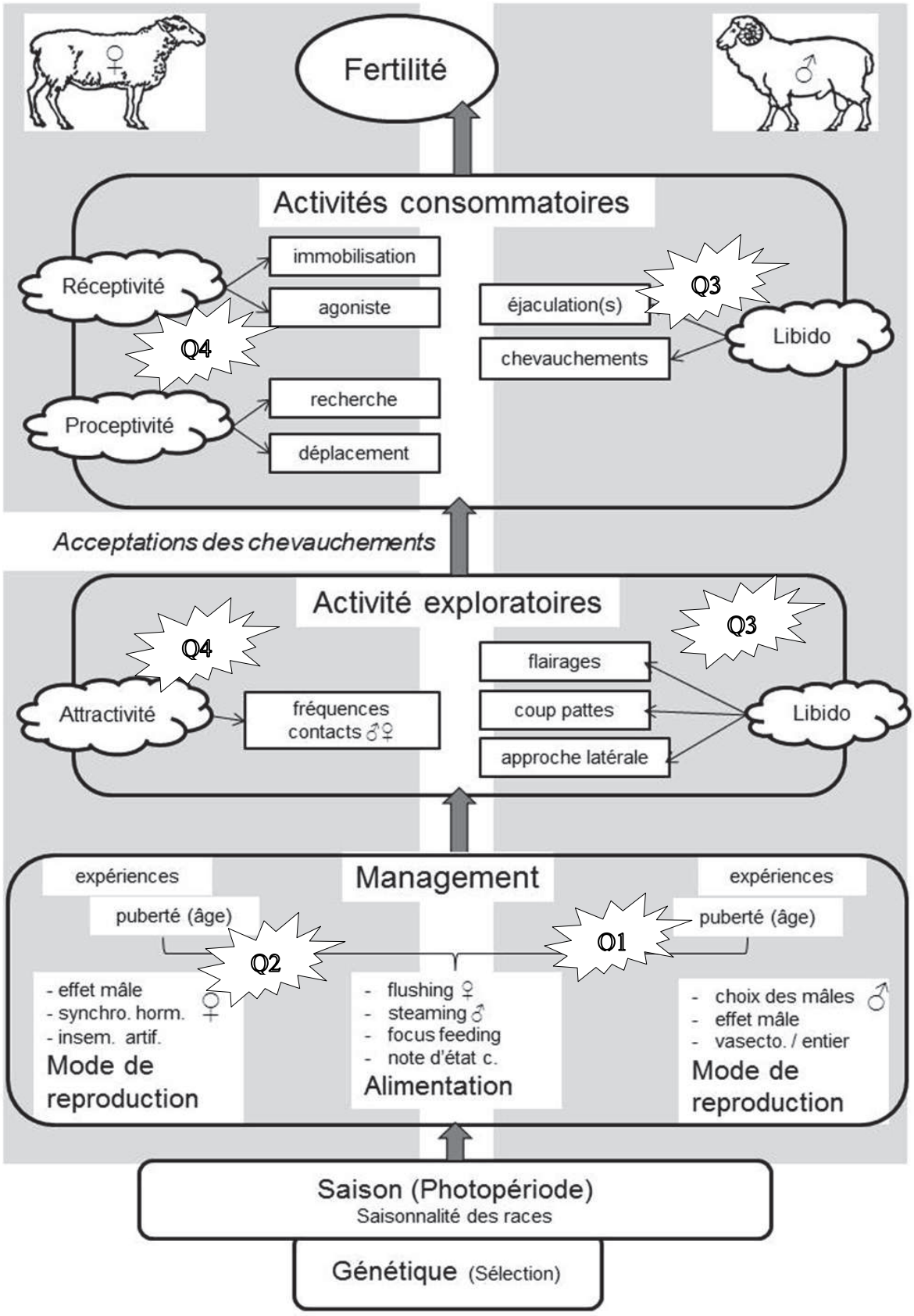


Figure 3. *Représentation schématique des facteurs qui conduisent à la reproduction des ovins (Q1, …Q4, sont mes questions de recherche).*

Questions de recherches

Chapitre1. Questions de recherches

A la suite de cette revue bibliographique nous nous sommes posé un certain nombre de questions qui structurent cette thèse : (Elles sont positionnées sur la Figure ci-contre)

Question 1 : Est-ce que le comportement d'œstrus de la brebis peut être détecté automatiquement par un bélier qui porte un détecteur électronique de chevauchements ? Est-ce que ce dispositif automatique est fiable ? Quelles sont les conditions d'utilisation pour détecter efficacement les chaleurs des brebis ? (Publication 1)

Question 2 : Si ce détecteur permet de repérer les brebis en chaleurs, peut-on au sein d'un groupe de plusieurs dizaines de brebis suivre l'évolution de leurs comportements: définir le début, la fin, et donc calculer la durée de l'œstrus lors d'un cycle induit ou naturel ? (Publication 2)

Question 3 : Si les réponses aux deux premières questions sont positives, ne peut-on pas envisager d'utiliser ce détecteur pour explorer les différences d'activités entre les mâles placés avec des brebis en chaleur ? (Publication 3)

Question 4 : Si la maitrise d'outil de détection des chevauchements est satisfaisante tant pour identifier les brebis en chaleurs que pour estimer l'activité des mâles, que se passe-t-il lorsque des mâles actifs sont mis en présence de brebis de différents états nutritionnel ? (Publication 4)

Chapitre 2

Chapitre 2 : Validation du détecteur automatisé de chevauchement pour la détection des chaleurs (Publication 1 ; P1).

1- Introduction et objectifs

Cette première partie expérimentale nous a permis de nous familiariser avec le détecteur des chaleurs Alpha-Détecteur (AD) qui avait été mis au point par l'UMR SELMET.
Les études scientifiques et les usages professionnels montrent (Cf. Chapitre 1) que la seule méthode utilisable jusque-là pour la détection de l'œstrus chez les ovins reposait sur l'observation visuelle (observations directe d'un mâle tenu en laisse ou des relevés quotidiens des marques laissées par des crayons marqueurs portés par les béliers).

Le détecteur avait été testé et mis au point sur des cohortes de brebis au Domaine de Fréjorgues et au Domaine du Merle (Bocquier et al., 2009). Cependant il n'y avait eu que des vérifications indirectes (retour de chaleurs des brebis) ou ponctuelles (bonne correspondance entre des chevauchements observés et ceux qui étaient enregistrés dans l'Alpha).
J'ai donc réalisé ma première expérience (Essai 1) au Domaine du Merle. Le but était de confronter les relevés automatiques à ceux qui étaient observables sur des enregistrements vidéo en continu. Pour cette publication n°1 nous avons ajouté un second essai (Essai 2) qui avait été réalisé, avant mon arrivée, au Domaine de Fréjorgues.



Photo 1. *Un bélier équipé du Détecteur Alpha en train de chevaucher une brebis Mérinos d'Arles.*

Dans l'essai 1, les brebis Mérinos d'Arles ont été identifiées avec des gros numéros à la peinture pour être suivies sur les enregistrements vidéo. Dans ce but nous avons travaillé avec deux groupes composés d'un seul bélier placé avec 6 brebis qui ont été synchronisées par des

traitements hormonaux lors de leur premier cycle. Elles ont ensuite été suivies, dans les mêmes conditions, 17 jours plus tard au cours de leur second cycle. La validation a consisté à confronter tous les chevauchements observés sur les enregistrements vidéo avec les lectures du détecteur Alpha.

Le second essai comportait également la détection par un seul bélier placé avec davantage de brebis (n=30) qui étaient vides lors de la lutte d'automne (Octobre). Il n'y a pas eu d'observations vidéo. Cet essai a permis de suivre le comportement des deux béliers, utilisés l'un après l'autre, suite à la mise en contact des brebis.

Small Ruminant Research 134 (2016) 97–104

Contents lists available at ScienceDirect

Small Ruminant Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/smallrumres

Validation of automated electronic oestrus detection in sheep as an alternative to visual observation

M. Alhamada[a], N. Debus[a], A. Lurette[a], F. Bocquier[a,b,*]

[a] INRA, UMR868 Systèmes d'élevage méditerranéens et tropicaux, F-34000 Montpellier, France
[b] Montpellier SupAgro, Dept. MPRS, F-34000 Montpellier Cedex 1, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 31 August 2015
Received in revised form 4 December 2015
Accepted 19 December 2015
Available online 28 December 2015

Keywords:
Ewe
Ram
Oestrus
Electronic oestrus detection
Visual observations
Sexual behavior

ABSTRACT

The objective of this work is to determine the efficiency of the electronic oestrus detection system Alpha-Detector (AD) in sheep. Males are equipped with a harness carrying the electronic device. This original system consists of a custom RFID reader which is triggered at the time of mounting to read the transponder that is placed on the females' rump. This detector stores the ID number of ewe together with date and time of each mount. Two trials were developed with Merinos d'Arles sheep. In Trial 1, visual observations (VO, i.e., continuous video records) were compared to readings made by 2 rams on 12 ewes. Ewes were allocated into two groups and were followed up for a period of two oestrous cycles i.e., hormonally induced oestrus (C1) and natural oestrus (C2). In Trial 2, 30 ewes tagged with a caudal transponder were naturally sired by a ram equipped with AD. In Trial 1, despite a widespread of the number of mounts per ewe (i.e., from 2 to 83), the AD allowed detection of 100% of the females that came in oestrus (11/12 in C1 and 8/12 in C2). Hence, when considering only standing oestrus, the coincidence of true mounts reaches 94% (342 readings/364 observed mounts). With regard to males' sexual activity, the first ram M1 did 242 mounts, while only 110 mounts were recorded for the second male M2. Overall Khi-2 analysis confirmed highly significant ($p < 0.0001$) difference in male activity both due to a male difference (M1 > M2) and to a cycle effect (C1 > C2). This decline of sexual activity is assumed to be due to the onset of seasonal anoestrous.

In Trial 2, oestrus occurrences, signaled by frequent mountings of the ram, were constantly distributed along time. All ewes displayed an oestrus during the first cycle (C1 i.e., 17 days with the first ram). There is also a wide range in the number of mounts per ewes (from 3 to 205). Remarkably, 2 ewes that were mounted during first cycle came back in oestrus 17 days later as revealed by frequent mountings of the second ram in C2. Lambing dates confirmed the time of conception observed with the AD. As observed in Trial 1, it is however necessary to discard isolated mounts that occurred just after male introduction and did not correspond to standing oestrus (no further readings within 6 h).

With the AD device 100% of oestrus ewes were detected. Many researches on reproductive physiology and behavior that can be developed with this device are presented for small-ruminants at large.

© 2016 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

Efficiency of reproduction in a sheep flock depends on both male and female factors. On the male side it is well known that ram sexual behavior is rather different among individuals although the general behavioral pattern is conserved (Price et al., 2000; Bench et al., 2001). This has been confirmed by the beneficial effect on the overall fertility of controlling ram libido before servicing in the flock (Alexander et al., 2012). On the female side, it is of major concern to reliably detect females in estrus especially when Artificial Inseminations (AI) are to be performed. The only field indicator that a female is in oestrus is her acceptance of the male in mounting. Using this indicator, the most widely used technique for recording the occurrence of oestrus employs a marker crayon on the male (Radford et al., 1960), along with periodic visual observations of the females. At best it is inconvenient to observe mating directly and under field conditions it is usually impossible to do so, not to mention of the time this required to make repeated observations, errors due to poor or improper marking, and the inability to

* Corresponding author at: Montpellier SupAgro, UMR SELMET, 2 place P. Viala, Bât 22, F-34060 Montpellier Cedex 1, France. Fax: +33 4 67 54 56 94.
E-mail address: bocquier@supagro.fr (F. Bocquier).

http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.12.032
0921-4488/© 2016 Published by Elsevier B.V.

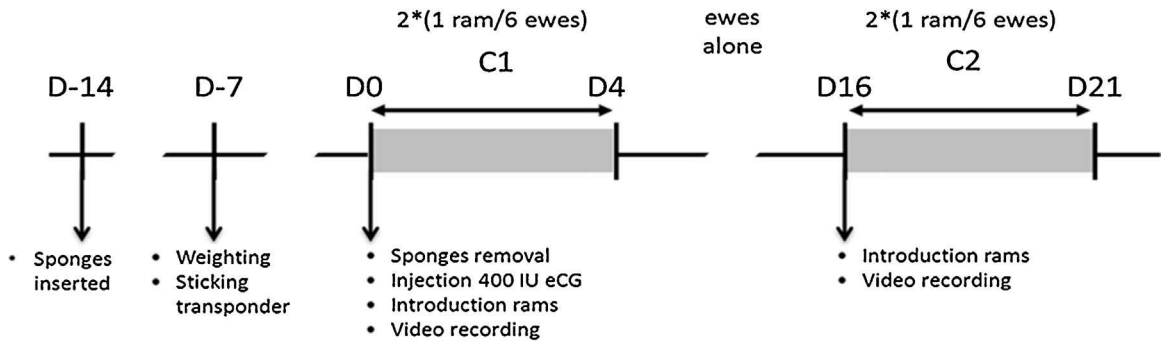


Fig. 1. Schematic representation of the experimental design (D, day). Two groups of 6 Merinos d'Arles ewes were placed with a vasectomized ram, equipped with the electronic device, either at their first oestrous cycle (C1), i.e., just after oestrus synchronization (FGA and eCG), or during their following natural oestrus (C2).

determine the number of mountings per oestrus period. Other techniques include video recording for continuous monitoring, these technics also have obvious disadvantages. Furthermore, for males and females of small-ruminants an important peculiarity is that sheep and goats are seasonal breeders (Ortavant et al., 1988). This further re-inforces the interest of estimating females' sexual activities (ovarian cyclicity and estrous behavior) along the year.

In ruminants, most of progresses in monitoring oestrus occurrence have been made in dairy cows probably because the costs of subfertility (Boichard, 1990) are far higher than in small ruminants. The second cause may be the extensive use of hormonal treatments in sheep and goats in developed countries that allows mating or insemination at fixed time, i.e., without checking occurrence of oestrus in the females (Colas, 1979 in the ewe; Corteel et al., 1988 in the goat) whatever the season. In cattle, available oestrus detection devices are based on measurements of changes in sexual behavior through individual mountings among cows (HeatWatch®; Peralta et al., 2005; DEC®; Saumande, 2002) or through activity-meters (HeatTime: At-Taras and Spahr, 2001; Valenza et al., 2012). Camera-software systems sometimes replaced direct visual observations of female behavior (Bruyère et al., 2012; Peralta et al., 2005). For this purpose, direct endocrine parameters of the oestrous cycle have also been used including milk progesterone (Firk et al., 2002) or indirect ones like changes in body temperature (Geers et al., 1997). The heat detection rate of most of these devices is above 70% with a specificity of detection generally above 90% (Saint-Dizier and Chastant-Maillard, 2012; Firk et al., 2002).

Based on automated measurements of males and females sexual behaviors, an original device has been developed for heat detection in sheep (Bocquier, 2005). Due to the flock size in small ruminant equipping each female, like in cattle, would be prohibitive. This is probably the reason why no device has been yet proposed. In addition, up to now, AI are mostly performed on females that have been previously synchronized. This however is not allowed in organic farming system, preventing breeder from performing AI. The only possibility would be to carry out insemination of females possibly synchronized by a male effect (Bocquier et al., 2009) if oestrus detection could be done easily.

The objective of the present work is to evaluate the efficiency and specificity of this original electronic device that records males' mountings of females in estrous. For this aim, rams, that were equipped with the electronic device, were put with ewes that were either hormonally synchronized (Trial 1) or naturally mated (Trial 2).

2. Materials and methods

All experiments were approved by INRA and Regional Ethic Group Montpellier and were compliant with the Animal Research Act 1985 in accordance with ethical principles that have their origins in the European Union directive 2010/63/EU.

2.1. First trial (T1)

2.1.1. Animals and treatment groups

This experiment was conducted in SupAgro domain du Merle (Lat. 43.64°N, Long. 5.02°E) in southeastern France. Twelve multiparous Merinos d'Arles ewes (45.2 ± 6.2 kg, mean ± SD) were allocated in two groups and their cycles were blocked with progestagen (20 mg fluorogestone acetate (FGA) impregnated vaginal sponge for 14 days, (Chronogest CR, Intervet) and synchronized with an injection of gonadotropin (400 IU equine chorionic gonadotropin (eCG), Intervet) at time of sponge removal. Ewes were followed up during their two cycles (C1 induced and C2 natural) in spring (starting on the 5th of April). Two vasectomized rams (one male per group: i.e., M1 and M2) equipped with Alpha Detectors (AD) were introduced at the time of sponge removal. They were kept 4 days (C1), then removed for 12 days and then re-introduced in the opposite group of females for a 5-days period (C2) (Fig. 1). The experimental barn was equipped with two video cameras. These cameras were connected to a computer that continuously recorded video files in order to follow the behavior of animals thanks to painted identification on the back of ewes. Noted behaviors were mount attempts (the ram raises his front feet but it does not settle firmly over the female) and standing mounts (the ram settle soundly on the ewe). Artificial lighting allowed night recordings. These ewes were normally fed with hay and straw. They had free access to water.

2.2. Second trial (T2)

2.2.1. Animals and treatment groups

This trial was conducted in INRA experimental station of Fréjorgues near Montpellier (Lat. 43.59°N, Long. 3.96°E). Thirty adult Merinos d'Arles ewes were randomly chosen in the flock for having previously lambed (bodyweight 53.9 ± 4.2 kg). These ewes were normally fed twice daily and had free access to water. A fertile ram (no. 6061), equipped with the electronic device (AD), was introduced at the beginning of the trial (October 21th) and was further removed after 17 days and being immediately replaced by another equipped fertile ram (no. 1429) until the end of observations (November 14th). Animals were considered to be in their sexual season (i.e., Fall). Blood samples were taken on day 30 and 62 after the end of trial to obtain an early pregnancy diagnosis by mean of dosing plasma PSPB (El Amiri et al., 2003). In addition lambing dates allowed determining if ewes were fertilized during their first or their second oestrus.

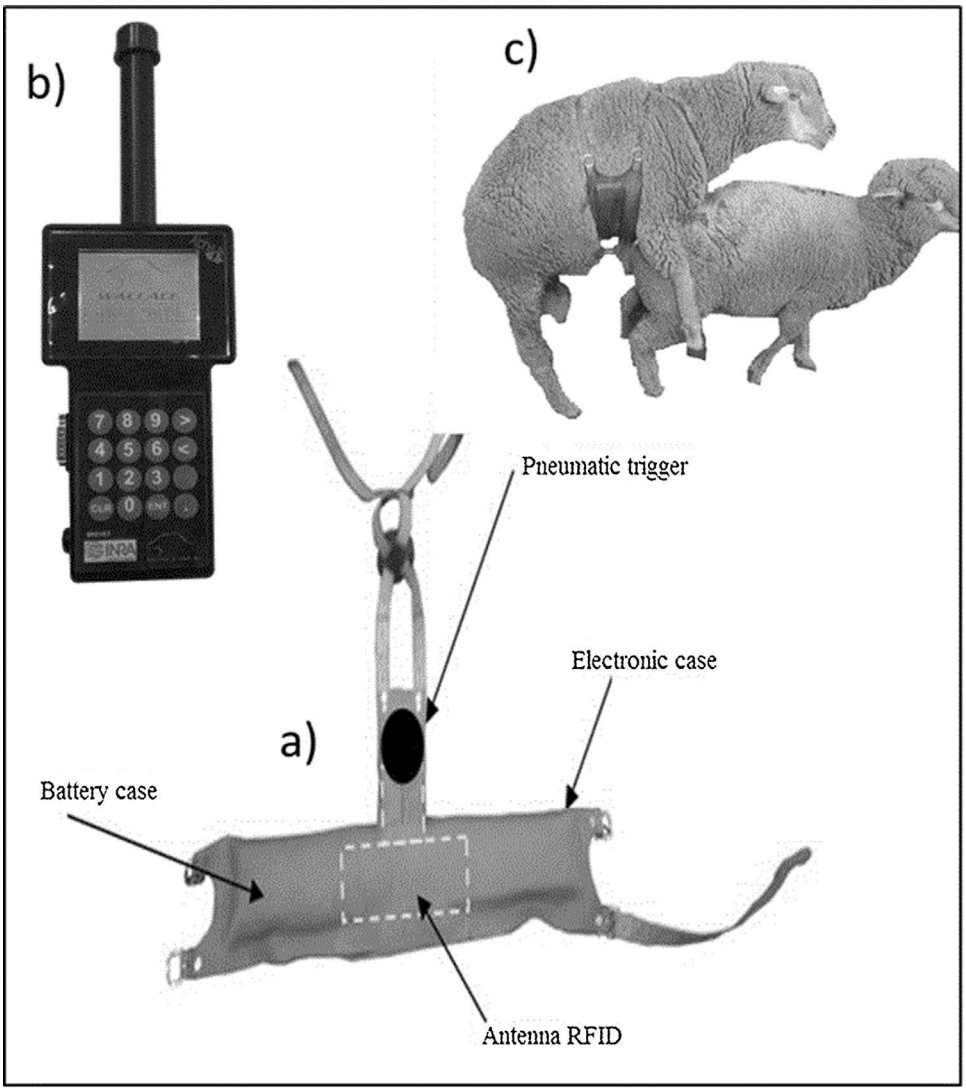


Fig. 2. Picture of the complete electronic oestrus detection system in the sheep. (a) a leather harness containing an Alpha Detector (AD), (b) an Alpha Reader (AR) which is used to remotely transfer data from each AD carried by rams each time one wants to know the ewes that accepted mountings and AR also allows to read the RFID ear tag number and write it on a RFID transponder that is placed near the tail of each ewe, (c) picture showing a ram mounting a ewe in oestrus, the harness is tight around the chest of the ram so that AD can read the transponder of the ewe.

2.3. Electronic oestrus detection system application (for T1 and T2)

Automated heat detection is based on a standalone special reader (Alpha-Detector®, Wallace, Cardet-France) worn by the male, which records the electronic identifier of a female accepting mountings. This detector, located in a leather pouch, is positioned between the front legs of the male by a harness (Fig. 2). When mounting, a sensor triggers the reading process of all nearby transponder. The closest transponder being the one bonded to the tail of the mounted female. This transponder is installed by adhesive tape at the top of the female's tail, and it does not lead to a change in the behavior of male (Bocquier et al., 2009). At each reading, the identifier of the female, the exact date and time are recorded in a file. On request, the stored data are transferred from the AD to a handheld device (Alpha-Receptor®, Wallace, Cardet France) or to a notebook connected to a specific radio antenna. The remote transfer of data (>100 m) is done by a radio frequency signal. The female transponders were Half Duplex (HDX) Tiris® Glass Transponders (32 × 3.8 mm; model RI-TRP-WR2B; GIOTEX, Barcelona, Spain) which complies with 11784/11785 ISO standard for animal identification.

2.4. Data manipulation and statistical analysis

For both trials, results expressed as individuals mountings (or readings) were computed against time and further analyzed with classical statistics performed with Microsoft 10.0 Excel Spreadsheet. Data are expressed as time elapsed since sponge removal (T1) or ram introduction (T2) and shown as cumulative number of readings per ewe. The factorial design of Trial 1 allowed comparisons of factors such as C1 vs. C2, and rams effect M1 vs. M2. As most of the data consisted of number of readings or mountings, they have been analyzed by Khi-2 test. Results are presented as means ± SD, with a P value < 0.05 indicating statistically significant differences between groups.

3. Results

Rams that were equipped with Alpha Detector (AD), as ewes with a glued transponder on the tail, did not show any peculiar

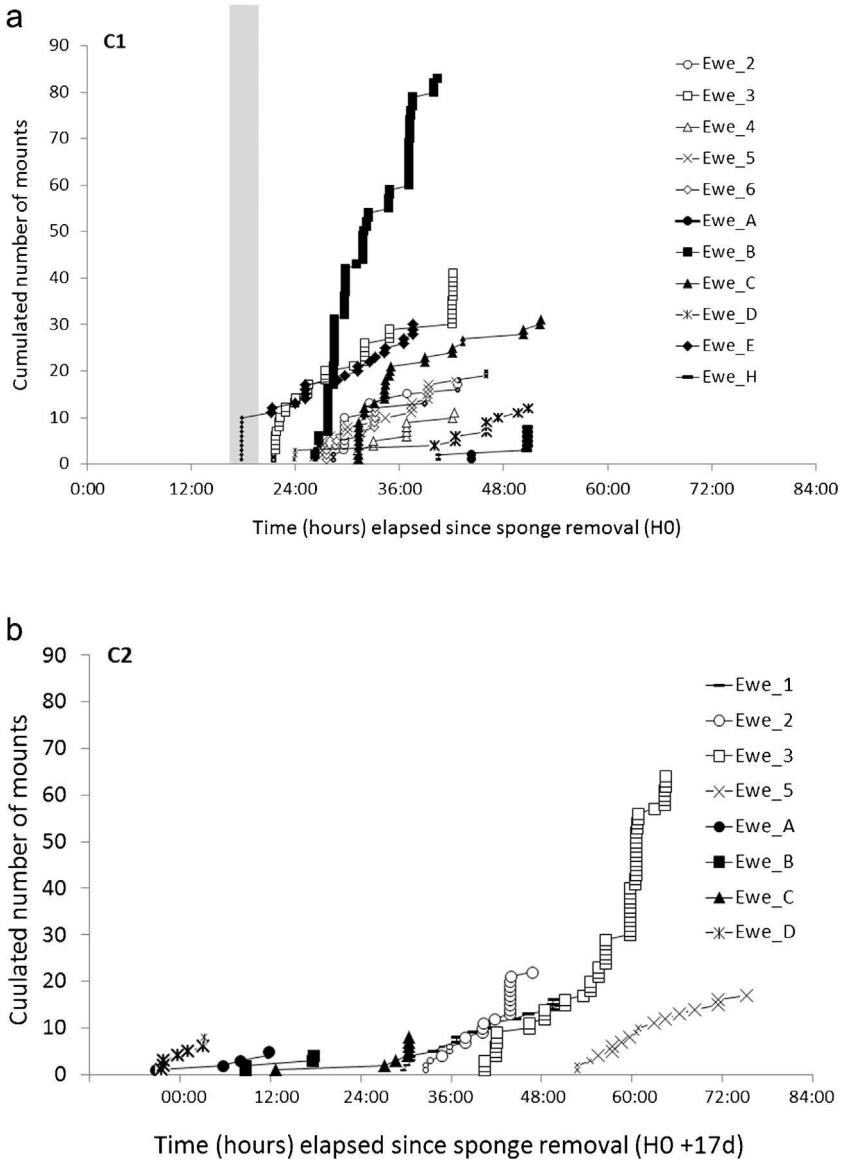


Fig. 3. Oestrus expression in hormonally induced ewes during their first cycle (C1) and during their following natural estrous cycle (C2). Each curve corresponds to one ewe. The cumulated mountings obtained by video observations (VO) for each ewe served as the reference i.e., the whole cumulated curve. Symbols in normal size were both observed by VO and collected by Alpha Detector while smaller symbols indicate mounts that were not detected by AD. The 00:00 time in C2 refers to day17 after withdrawal of the sponges in C1. The shaded area (C1) indicates the time of AD malfunctioning in C1.

behavior related to these equipment. It is worth noticing that in Trial 1, rams were prevented from siring while in Trial 2 they could sire and thus may have exhibited refractory periods without any mounting.

3.1. Trial 1, validation of the electronic device carried by rams on hormonally synchronised ewes

Eleven out of twelve ewes displayed oestrus behavior after hormonal treatment in C1, but on the following cycle C2 only eight out of twelve ewes exhibited oestrous behavior. Video observations (VO) were all analyzed visually and times of occurrence of mountings were noted. Ewe acceptances of male mountings were qualified as either standing or escaping male attempts. Video observations were considered as the reference method (Fig. 3). Data obtained by AD was compared to timing of mountings seen on video records. Because of an AD malfunctioning at the beginning of the trial, the first 12 mounts among the 30 for the Ewe_E that were noted by video but not recorded by AD were not taken into account (see Fig. 3: the Ewe_E at 17:00 on the first day). For the rest of the trial we did not observe any other malfunction of the AD. All females that were detected to be in oestrus by the VO method were also detected by AD, although there was a wide difference among ewes in the total number of mounts. This was particularly the case (Fig. 3) for one female (at least) in each group that accepted numerous mounts i.e., 41 and 83 respectively for Ewe_3 (C2) and Ewe_B (C1). On the other hand, some ewes accepted very few mounts i.e., 11 and 2 for Ewe_4 (C1) and Ewe_A (C1) respectively (Fig. 3).

With VO data, the mean time elapsed since the withdrawal of sponges and the appearance of oestrus was of 29 ± 8 h, with the first ewe being mounted occurring 18 h after the sponge withdrawal. It was found that the average duration of oestrus was of 15 h (15 ± 8 h in C1 vs.15 ± 7 h in C2) the overall value being of 15 ± 7 h.The period between the two successive cycles was on average of 16 ± 0.8 days.

Video observation analysis revealed a total of 414 mounts for the two cycles i.e., 270 in C1 and 144 in C2, while AD recorded a total of

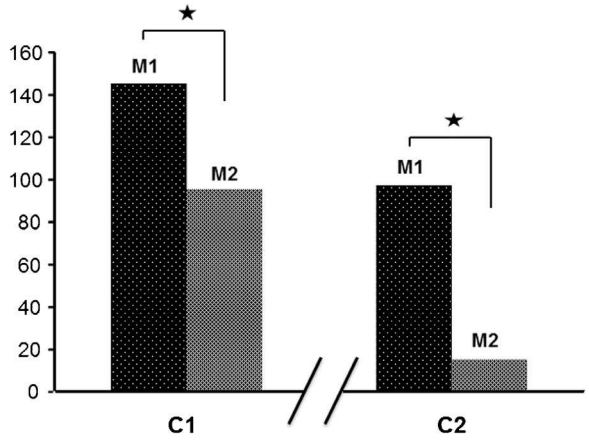


Fig. 4. Male (M1 vs. M2) activities during two successive oestrous cycles (C1 vs. C2). Intensity of male behavior is expressed in total number of mounts observed with VO. *Indicates significant differences between groups ($p < 0.05$).

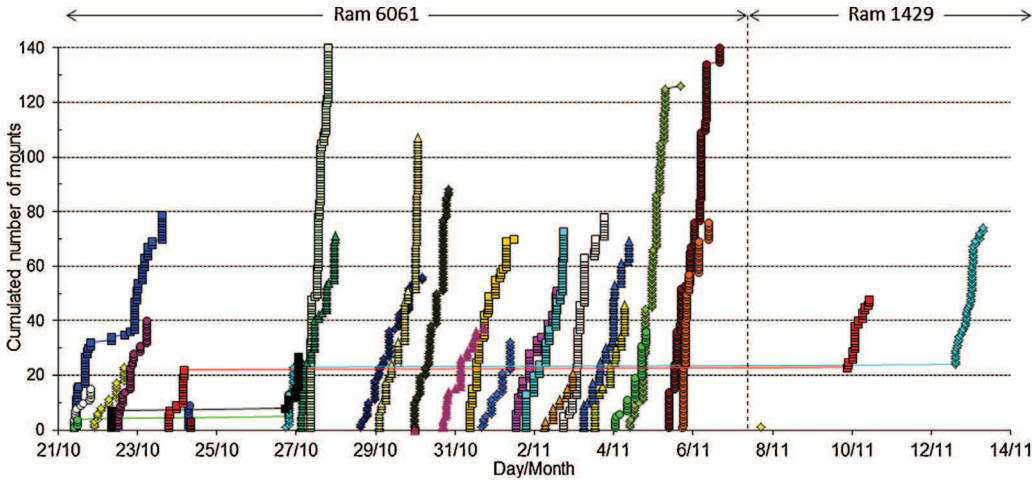


Fig. 5. Cumulated numbers of readings by a ram equipped with the Alpha-Detector during Trial 2. Each curve corresponds to one ewe. Two ewes were read more than 140 times (in fact 205 and 157 times). Two intact rams of the same breed were successively used (namely no. 6061 no. 1429).

352 mounts i.e., 240 in C1 and 112 in C2. Hence, 85% of VO records (352/414) were in agreement with AD (resp. 89% in C1: 240/270 and 78% in C2: 112/144). As can be seen in Fig. 3 (smaller symbols), the disagreement between VO and AD records only occurred at the beginning or at the end of each estrus sequence. During these periods, ewes exhibit an escaping behavior when a ram attempted to mount. We therefore decided to suppress these observations and/or the AD records when ewes did not exhibit a clear standing behavior. This suppression leads to a significant improvement of the results. Hence, when considering only standing oestrus ewes, the coincidence of true mounts reaches 94% (342/364) and slightly differed between C1 (97%, 236/244) and C2 (88%, 106/120).

With regard to male sexual activity, without taking into account potential ewes' escaping behavior, 242 AD mounts were recorded for the first ram M1 (145 in C1 and 97 in C2), while 110 mounts were recorded for the second ram M2 (95 in C1 and 15 in C2) (Fig. 4). Overall Khi-2 analysis confirmed highly significant ($P < 0.001$) difference in male activity both due to a male difference (M1 vs. M2) and to a cycle effect (C1 vs. C2), the ranking of both factor being maintained. Estimated male difference was of 132 mounts (M1–M2) and cycle difference (C1–C2) of 128 mounts. With this model, the theoretical distribution of mountings follows the subsequent rules: the mean mounts of cycle C1 is twice (2.14) higher than cycle C2 and the mean mounts by M1 ram is twice (2.2) higher than for the M2 ram.

Due to the limited difference between AD and VO the same tendency were observed when using only VO method i.e., ram effect (M1–M2 = 54 in C1 and 96 in C2) and cycle effect (C1–C2 = 42 for M1 and 84 in M2).

3.2. Trial 2, validation of the electronic device as oestrus detection system in a flock of ewes naturally mated

As one could expect (Fig. 5), oestrus occurrence in natural conditions have a steady distribution along time after the first ram (no. 6061) was introduced and remained with the ewes for the 17 days of observation (i.e., first cycle). While for the second oestrous cycle, only unfertilized ewes expressed oestrus behavior (2 ewes with ram no. 1429). Just after introduction of each ram a number of isolated readings were observed (not shown). As observed in Trial 1, we confirmed that theses ewes were then not in oestrus because a high frequency of successive readings was observed later on and within 17 days: i.e., exhibition of a classical oestrus behavior. Eliminating the readings that were not followed by other readings within a 6 h period allowed a useful filtering of the data. We observed 51 of such readings among a total of 1789 readings that were collected i.e., less than 3%. It was chosen to automatically discard these 3% elementary mountings with a simple algorithm that eliminates the readings which are not repeated within 6 h. The remaining points were therefore considered as oestrus behavior of the ewe

i.e., repeated acceptance of mounts by the ram. Hence, the mean number of collected readings per ewe was of 59 but these were highly variable (±48). In fact it ranged from 3 to 205 per ewe per cycle, but all the 30 ewes showed estrus. One can see on Fig. 5 that two ewes that were respectively detected with 22 and 23 readings during their first cycle came back in oestrus exactly 17 days later (i.e., the theoretical duration of an oestrous cycle in the ewe). During their second cycle they were then respectively read 26 and 51 times by the other ram (no. 1429). The pregnancy diagnostic tests, together with lambing dates, showed that whatever the number of readings ewes were fertilized. Hence the fertilization does not depend on number of readings since for 4 ewes, it occurred with less than 15 readings. In addition, the mean duration of ewes in natural oestrus, computed on filtered data, was of 24.4 ± 13.0 h.

4. Discussion

This original electronic device (Alpha-Detector), that automatically records timings of standing mounts by a ram equipped with a special reader, is evaluated here for the first time in Trial 1. The cause of initial malfunctioning of AD was clearly identified since no manual reading of any transponders was possible with this AD. With regard to the malfunctioning of one of the detectors at the beginning of the experiment (12 mounts in Ewe_E) this led to a low rate of overall specificity that dropped to 88% for this ewe. This problem was rapidly solved by replacing the detector. Following version of AD has been improved in this way. Anyway, such risks exist if there are defaults in the card detector or corruption in the transmission of the wireless signal or absence of functioning transponder and of course if the battery is drained. We therefore recommend checking all these points before measurements.

The implemented continuous video recording (equivalent to visual observation: VO) of animal behavior offered the possibility to observe them without risk of missing sudden animal reactions. It also allowed following carefully the identity of each female, preventing from any false identification. As expected there was no false positive detection due to the reading of a transponder of an unmounted ewe. This was due to the technical choice of triggering the transponder reading only when mounting a ewe. Furthermore, as far as reading are only possible within a short distance (i.e., 10–15 cm) of the antenna located between the front legs of the ram no other ewe's identifier can be catch.

Considering that all observed (VO) mountings should have been detected by AD gave a modest overall efficiency of 85%. As observed on video records all of the points that were not accompanied by AD readings corresponded to ewes that were not in standing oestrus and thus should not be considered in the process of oestrus detection. This is also the case in classical method of oestrus detection (Stellflug et al., 2008) by following a ram in contact with ewes: not all the mounting attempts are counted. According to Banks (1964), ewe is in oestrus if it "stands still when approached by the male and remains standing while the ram nudges or may walk off a few steps and stand again", but Edey et al. (1978) and Fabre-Nys and Venier., (1987) showed that some ewes although mounted, did not stand when the male approached. These females often show an ambiguous response to male mounting as well as to male courtship. They accepted and refused mounting alternately and so could be either classified as in oestrus or not in oestrus. However, ewes showing a full oestrus response always accepted mounting and stood firmly when courted. When ignoring these isolated readings, the resulting efficiency of reading with ewes accepting ram's mounts reached 94%. In all cases, either with 85 or 94%, this efficiency is sufficient to detect 100% of ewes in oestrus as far as several mounts are frequently recorded. In the present situation, the minimum number of mounts observed was then of 2 (Trial 1; Ewe_A, C1). In Trial 2 we observed that each ram attempted to mount ewes just after its introduction in the group of females (no. *6061* in C1 and no. *1429* in C2). Finally this problem was solved by filtering data from isolated readings.

In the published papers on cattle, only global results (in oestrus or not in oestrus) are reported, but elementary results as presented in our work are not available. Hence, any direct comparison can be done with the efficiency of the present device except when analyzing the ewes that were ratified to be in oestrus after several reading being counted. In the present trials 100% of the ewes in oestrus were detected. When comparing our results with previous data obtained in dairy cattle by different methods, AD efficiency is clearly above the published values. First, one should remember that even the direct continuous visual method gave contrasting detection rates i.e., from 69% (Valenza et al., 2012) to 93% (Saumande, 2002) depending on many factors including nonspecific behaviors of other cows in the herd. The best results of detection were found using pedometers 90–98% (Firk et al., 2002) which do not depend on counterpart behavior. With the HeatTime® device, an individual accelerometer, the accuracy was comprised between 71% (Valenza et al., 2012) and 79% (At-Taras and Spahr, 2001). With devices detecting pressure during mounts, like HeatWatch® device glued on the back of the cow the detection rate was of 69% in Holstein-Friesians cows (Palmer et al., 2010), while the detection rate was of 87% with the DEC® device (Saumande, 2002). Comparisons of these devices are however difficult since the efficiency of oestrus detection varies depending on the threshold values (i.e., the number of elementary events) used in the apparatus and methods for time series analysis (frequency of elementary events) which are not given. Fundamentally these thresholds depend on cow's ability to exhibit oestrus behavior: namely cows' density, slippery floor and lameness that may restrict mounting activities. Although the pedometer technology is the best to detect oestrus in cow (Firk et al., 2002) it is also affected by lameness, transition buildings/grazing (Holman et al., 2011) or any changes in the animal routine. In cattle, the heat mounts detector is a method widely used that gives acceptable results, but the dislodging of the detector leads to loss of information and thus loss of money, effort and time for breeders (Holman et al., 2011). Altogether these methods are still imprecise in giving the optimal time of insemination.

In small ruminants, the detection of oestrus by using marker rams (coloring the animal back and rump; Radford et al., 1960) is the most common way of detecting ewes in oestrus, but it is a quite imprecise method largely subjected to breeder's attention. It needs observations of the marks on the females' back once or twice a day. Furthermore this cannot give with certainty the onset of oestrus; therefore the optimal time of insemination is unknown. In addition it needs a lot of time and effort of breeder who needs to catch the rams and change the crayons to keep the marker working. This might not be the case with AD since batteries can last more than a week, and accumulated data can be remotely downloaded within approximately 100 m range without any handling of the males.

In all studies published on oestrus detector, the specificity rate (SR), which is the proportion of mounts out of false-positive number, is given. This SR criterion is necessary for devices that rely on nonspecific behavioral components i.e., nonspecific mountings, non-sexual intense activities, inadequate markings, changes in body temperature etc. Thus SR must be considered with devices that rely on mountings among counterparts cows (HeatWatch®, DEC®,) or physical activities (Heatime®) with or without oestrus. According to peculiar algorithm used to detect specific sexual activity signals, the SR is generally comprised between 90% and 98% in the cows equipped with HeatTime® (Saint-Dizier and Chastant-Maillard, 2012) and between 96% and 98% for pedometers according to Firk et al. (2002). In the present study, we argued that the SR is high because AD is equipping males

(even if vasectomized or prevented from siring) with a reader located between the ram's front legs making readings specific of sexual activities. The male makes the difference between a receptive and unresponsive female by smelling urine, sniffing, flehmen, kick legs up which are part of the normal behavior of the male against ewe (Parson and Hunter, 1967; Fabre-Nys and Venier., 1987). But this high specificity of AD is also mostly explained by the ewes' oestrus behavior; the ewe researches and remains in contact with the male. Lastly this specificity is reinforced by the position of the transponder which is located on female rumps and that can only be read during mounting. A lack of specificity however exists with AD as discussed before. False positive readings may be encountered with isolated mountings of ewes that are not in oestrus. This later problem is solved by filtering of data without any visual proof. In the situation were several males are in use, if such isolated readings are not confirmed by other rams' mounts, they should be ignored. In Trial 2, the proposed window filter was of 6 h with a single ram for 30 ewes. This rule can be improved by adjusting this threshold to local conditions. On the other hand the high SR of AD device relies on the behavior of the ewe that does not accept mountings when not in oestrus (Bank., 1964; Edey et al., 1978; Fabre-Nys and Venier., 1987). To conclude on this point, SR value of Alpha-Detector might be close to 100% if decision is made to ratify ewes in oestrus only when they are frequently mounted by several rams within a short period.

Furthermore, the AD device is characterized by accurate recording of each time mounts (hour, minute, second) and stores the unique identification of each of the females successfully mounted. In addition, ease of data analyses which are transmitted to the Alpha-R terminal via a wireless signal allows a frequent control of ewes' sexual status allowing a near-real time determination of the onset of oestrus. This might help to develop a precise agenda to ensure success of IA by virtue of real pattern of oestrus behavior. For the majority of sheep concerned by artificial insemination (AI) absence of oestrus detection in a timely and accurate manner is the main limiting factor toward obtaining efficient reproductive performance. Many factors lead to different proportion of ewes in response to hormonal treatment, Umberger et al. (1994) found 79% of ewe responded to treatment with FGA while Makawi and Manahil, (2007) showed 80% of ewe responded. In the present experiment (Trial 1) we observed that at least one ewe over 12 did not responded to hormonal treatments. In practical conditions the proportion of ewe responding to hormonal treatment is largely different and in on farm situations reduced fertility rates the absence of response in ewes cannot be rule out. Meanwhile in goats this problem of inefficiency of hormonal treatment has been clearly related to immunization against eCG after several applications of this treatment (Brown et al., 1995).

Hormonal treatments based on impregnated FGA sponges in association with an eCG injection was proved to induce oestrus even in noncyclic ewes (Umberger et al., 1994; Contreras-Solis et al., 2009). In Trial 1 this was confirmed although one ewe in twelve did not express any behavior that could be detected by rams. On the following cycle (i.e., +17 days later) the proportion of non-cycled ewes increased (4/12). One can hypothesize that seasonal anoestrus fades the inductive process of hormonal treatments lowering the number of ewes that exhibit oestrus (8/12). In fact at this period (i.e., April 5th), Merinos d'Arles ewes are mostly in anoestrus (10/12; Teyssier et al., 2011), even if this proportion varies across years. This was also the case with other Merino ewes that were partially non-cycling at this period (22%, 11/50; Lamond, 1964).

The classical method to determine estrus duration is to observe a ram every 4 h when put in contact with ewes. This is a strong constraint for the animals and the breeder (Stellflug et al., 2008). With AD, that continuously monitor the ram behavior (even during the night), we found that the mean duration of oestrus in Trial 1 was of 15 h. This is consistent with the previous findings (Parson and Hunter, 1967) who reported that, in Merino sheep, the period during which teaser rams would mate with the test ewes was significantly reduced from a mean of about 22 h in groups entirely separated from rams between teasing, to 11 and 16 h when sexually active rams were remained with the ewes throughout oestrus (8–16 h, Lindsay et al., 1975). Trial 2 gave even more reliable results due the greater number of ewe per ram (i.e., 30). As ram had choice of mounting any ewe that was in oestrus and accepted mountings, it is not surprising to observe a large variability in the number of mounts per ewe due to the number of ewes that were simultaneously in oestrus (see Fig. 5). As the libido of the ram or it serving capacity might be limiting (Price et al., 1992), the number of mounts logically diminishes with the increasing number of ewes that are simultaneously in oestrus. This may explain the observed low number of mounts on some of the ewes. Inversely, the high number of mounts (i.e., 205 and 157; see Fig. 5), may be explained by ram preferences for some of the ewes. However, only an appropriate design with ewes taken off could evaluate this ram preference (Tilbrook, 1987). As a consequence, the fertilization of ewes could not be related to the number of mountings. This was not surprising since firstly the AD cannot prove that ejaculations occurred and secondly a ram cannot mount all the ewes within the same period thus limiting the number of mounts per ewes.

In Trial 2, estimated oestrus duration of these Merinos d'Arles ewes, which was shorter than a day (i.e., 20.4 ± 13.0 h), is longer than the value established in Trial 1 (i.e., 15.0 ± 7 h). Cognie et al. (1970), showed that there is an effect of season between April and September on the duration of oestrus in ewe, the longer values being observed during the breeding season (Autumn, Trial 2) while a shorter duration is observed in late winter (Trial 1). Altogether, values found here are in general agreements with previously published values. In the Greek Merinos ewes (Moise et al., 2012), the range of oestrus duration is in between 2 and 92 h, with an average value of 24–36 h (86.1% of ewes). The very short (<12 h, 3.4%) and very long (>60 h, 0.6%) oestrus durations being exceptions (4%). New Zealand Merino ewes were reported to have rather short oestrus durations i.e., 12.8 ± 0.9 h in May (Allison and Davis 1976). These differences may be due to age and geographical location. Hence, the origin of the variability of the oestrus duration seen in Trial 2 (± 13.0 h) remained mostly unknown. This variability may be confounded with the method of oestrus detection (visual detections are done every 4 or 6 h) and the sheep breed $\times$ location interaction. On a practical point of view, the present electronic device that can be downloaded remotely may directly alert the farmer on the occurrence of oestrus in the flock whatever the dispersion of oestrus, thus allowing adaptations of strategy of reproduction (i.e., AI or natural mating), without any perturbation due to animals handling.

5. Conclusion

This electronic device, that gives a reliable detection of mounted ewes, can be used to detect oestrus provided that isolated points, especially just after male introduction, are ignored. This can be easily achieved by filtering readings through algorithms including mounts frequency and number of different rams mounting the ewe. Alpha-Detector is validated for precise determination of oestrus behavior in all ewes synchronized (Trial 1) or in spontaneous (Trial 2) estrous cycle. One important feature is that all the females are susceptible to be detected provided that a passive transponder was permanently placed on their rump. While with the available cow's oestrus detection systems all cows must be transiently equipped with a pedometer or with a harness unless they cannot be detected. This means that once a transponder has

been fixed to the female's rump no extra handling is necessary. Furthermore, AD allows detecting females that are not fertilized and returned to oestrus which is not possible with cow devices without re-installing it.

This Alpha-Detector, which was used on the Mérinos d'Arles breed, can serve to better understand reproductive physiology of any small ruminant female including goats. AD allows automated measurements of the onset of oestrus, its duration, its intensity according to different experimental conditions (breed, age, parity, including response to male effect according to nutritional status and other factors). Male's libido can also be quantified with this device by ranking males tested on a common batch of ewes in oestrus (see Price et al., 1992). This device may also greatly help improving reproductive technologies at the farm level (AI, embryo transfer) by giving precise timing of oestrus. Lastly, such a detector may become a new tool available for breeders and technicians that could become a part of livestock precision farming system for small ruminants. It is expected that such a device leads toward environmentally friendly, precise, profitable agriculture and shorten the time and effort's breeder.

Acknowledgements

This work was part of BERCAIL project funded by FEDER and OSEO and Transfert-LR. Moutaz Alhamada is supported by a scholarship from the University Al-Furat, Syria. We thank the technical staff of Le Merle experimental station (Montpellier SupAgro); P.-M. Bouquet, C. Maton, and J.-D. Guyonneau, and Montpellier technical staff; G. Viudes and J.-M. Capron.

References

Alexander, B.M., Cockett, N.E., Burton, D.J., Hadfield, T.L., Moss, G.E., 2012. Reproductive performance of rams in three producer range flocks: evidence of poor sexual behavior in the field. Small Rumin. Res. 107, 117–120.

Allison, A.J., Davis, G.H., 1976. II. Effects of age of ewe, live weight, and paddock size on duration of oestrus and ram-seeking activity. New Zeal. J. Exp. Agr. 4, 269–274.

At-Taras, E.E., Spahr, S.L., 2001. Detection and characterization of oestrus in dairy cattle with an electronic heatmount detector and an electronic activity tag. J. Dairy Sci. 84, 792–798.

Banks, E.M., 1964. Some aspects of sexual behavior in domestic sheep, *Ovis aries*. Behavior 23, 249–278.

Bench, C.J., Price, E.O., Dally, M.R., Borgwardt, R.E., 2001. Artificial selection of rams for sexual performance and its effect on the sexual behavior and fecundity of male and female progeny. Appl. Anim. Behav. Sci. 72, 41–50.

Bocquier, F., 2005. Patent, Agro.M, INRA-PHASE, Method and device for automatically detecting mating of animals. WO 2005065574 A1.

Bocquier, F., Viudes, G., Maton, C., Debus, N., Gibault, L., Teyssier, J., 2009. Use of electronic identification for automated oestrus detection in livestock. In: 60th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Barcelone, Spain, p. 485.

Boichard, D., 1990. Estimation of the economic value of conception rate in dairy cattle. Livest. Prod. Sci. 24, 187–204.

Brown, B.W., Mattner, P.E., Carroll, P.A., Hoskinson, R.M., Rigby, R.D.G., 1995. Immunization of sheep against GnRH early in life: effects on reproductive function and hormones in ewes. J. Reprod. Fertil. 103, 131–135.

Bruyère, P., Hétreau, T., Ponsart, C., Gatien, J., Buff, S., Disenhaus, C., Giroude, O., Guérin, P., 2012. Can video cameras replace visual oestrus detection in dairy cows? Theriogenology 77, 525–530.

Cognie, Y., Mariana, J.C., Thimonier, J., 1970. Etude du moment d'ovulation chez la Brebis normale ou traitée par un progestagéne associé ou non à une injection de PMSG [Time of ovulation in the ewe following progestagen and PMSG treatment]. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys. 10, 15–24.

Colas, G., 1979. Fertility in the ewe after artificial insemination with fresh and frozen semen at the induced oestrus, and influence of the photoperiod on the semen quality of the ram. Livest. Prod. Sci. 6, 153–166.

Contreras-Solis, I., Vasquez, B., Diaz, T., Letelier, C., Lopez-Sebastian, A., Gonzalez-Bulnes, A., 2009. Efficiency of estrous synchronization in tropical sheep by combining short-interval cloprostenol-based protocols and "male effect". Theriogenology 71, 1018–1025.

Corteel, J.M., Leboeuf, B., Baril, G., 1988. Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. Small Rumin. Res. 1, 19–35.

Edey, T.N., Kilgour, R., Bremner, K., 1978. Sexual behaviour and reproductive performance of ewe lambs at and after puberty. J. Agr. Sci. 90, 83–91.

El Amiri, B., Karen, A., Cognie, Y., Sousa, N.M., Hornick, J.L., Szenci, O., Beckers, J.F., 2003. Diagnosis and monitoring of pregnancy in sheep: reality and perspectives (French). INRA Prod. Anim. 16, 79–90.

Fabre-Nys, C., Venier, G., 1987. Development and use of a method for quantifying female sexual behaviour in ewes. Appl. Anim. Behav. Sci. 17, 289–304.

Firk, R., Stamer, E., Junge, W., Krieter, J., 2002. Automation of oestrus detection in dairy cows: a review. Livest. Prod. Sci. 75, 219–232.

Geers, R., Puers, B., Goedseels, V., Wouters, P., 1997. Electronic Identification Monitoring and Tracking of Animals. CAB International Wallingford, New York, pp. 45–46.

Holman, A., Thompson, J., Routly, J.E., Cameron, J., Jones, D.N., Grove-White, D., Smith, R.F., Dobson, H., 2011. Comparison of oestrus detection methods in dairy cattle. Vet. Rec. 169, 47.

Lamond, D.R., 1964. Seasonal changes in the occurrence of oestrus following progesterone suppression of ovarian function in the Merino ewe. J. Reprod. Fertil. 8, 101–114.

Lindsay, D.R., Cognié, Y., Pelletier, J., Signoret, J.P., 1975. Influence of the presence of rams on the timing of ovulation and discharge of LH in ewes. Physiol. Behav. 4, 423–426.

Makawi, S.A., Manahil, Z.A., 2007. Fertility response of desert ewes to hormonal oestrous synchronization and artificial insemination using fresh diluted semen. J. Anim. Vet. Adv. 6, 385–391.

Moise, L., Sonea, A., Moise, V., 2012. Analyze of average duration of pregnancy and oestrus in sheep breed Merino Palas and Tigaie. In: Conference: International Symposium Modern zootechnics, factor of sustainable development, USAMV Iasi, Romania, 26–27 April 2012.

Ortavant, R., Bocquier, F., Pelletier, J., Thimonier, J., Volland-Nail, P., 1988. Seasonnality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. Aust. J. Biol. Sci. 41, 69–85.

Palmer, M.A., Olmosb, G., Boyleb, L.A., Mee, J.F., 2010. Oestrus detection and oestrus characteristics in housed and pastured Holstein–Friesian cows. Theriogenology 74, 255–264.

Parson, S.D., Hunter, G.L., 1967. Effect of the ram on duration of oestrus in the ewe. J. Reprod. Fertil. 14, 61–70.

Peralta, O.A., Pearson, R.E., Nebel, R.L., 2005. Comparison of three oestrus detection systems during summer in a large commercial dairy herd. Anim. Reprod. Sci 1–2, 59–72.

Price, E.O., Erhard, H., Dally, M.R., 1992. Measures of libido and their relation to serving capacity in the ram. J. Anim. Sci. 70, 3376–3380.

Price, E.O., Bench, C.J., Borgwardt, R.E., Dally, M.R., 2000. Sexual performance of twin ram lambs and the effect of number and sex of contemporary siblings. Appl. Anim. Behav. Sci. 68, 199–205.

Radford, H.M., Watson, R.H., Wood, G.F., 1960. A crayon and associated harness for the detection op mating under field conditions. Aust. Vet. J. 36, 57–66.

Saint-Dizier, M., Chastant-Maillard, S., 2012. Towards an automated detection of oestrus in dairy cattle. Reprod. Domest. Anim. 47, 1056–1061.

Saumande, J., 2002. Electronic detection of oestrus in postpartum dairy cows: efficiency and accuracy of the DEC® (showheat) system. Livest. Prod. Sci 77, 265–271.

Stellflug, J.N., Lewis, G.S., Moffet, C.A., Leeds, T.D., 2008. Evaluation of three-ram cohort serving capacity tests as a substitute for individual serving capacity tests. J. Anim. Sci. 86, 2024–2031.

Teyssier, J., Migaud, M., Debus, N., Maton, C., Tillard, E., Malpaux, B., Chemineau, P., Bodin, L., 2011. Expression of seasonality in Merinos dArles ewes of different genotypes at the MT1 melatonin receptor gene. Animal 5, 329–336.

Tilbrook, A.J., 1987. The influence of factors associated with oestrus on the sexual attractiveness of ewes to rams. Appl. Anim. Behav. Sci. 17, 117–128.

Umberger, S.H., Jabbar, G., Lewis, G.S., 1994. Seasonally anovulatory ewes fail to respond to progestogen treatment in the absence of gonadotropin stimulation. Theriogenology 42, 1329–1336.

Valenza, A., Giordano, J.O., Lopes Jr., G., Vincenti, L., Amundson, M.C., Fricke, P.M., 2012. Assessment of an accelerometer system for detection of oestrus and treatment with gonadotropin-releasing hormone at the time of insemination in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95, 7115–7127.

2- Discussion, conclusions partielles

En comparant les données d'observations visuelles enregistrées avec les données collectées automatiquement par AD nous avons trouvé que le taux de lecture des identifiants de la brebis chevauchée est de 93%. Malgré la grande variabilité du nombre de chevauchement, toutes les brebis en chaleurs ont été détectées par ce dispositif. Nous avons observé que juste après l'introduction d'un bélier (Essai 1 et Essai 2) se produisent un certain nombre de lectures isolées. L'essai 1, avec des brebis synchronisées a permis de montrer que ces lectures isolées correspondent à des brebis qui n'étaient pas alors en œstrus. De même, sur la période de fin d'œstrus, avec peu de brebis, les béliers tentent de chevaucher les brebis qui n'acceptent pas les chevauchements et s'enfuient. Pour l'essai 2, comme les brebis étaient en œstrus spontané, nous ne savions pas quand les brebis allaient arriver, ou pas, en chaleur. Toutefois, lorsque nous avons suivi les chevauchements au cours du temps nous avons observé des séries très rapprochées de chevauchements lorsque la brebis est véritablement en chaleur : elle accepte alors tous les chevauchements du bélier. C'est donc a posteriori que nous avons pu confirmer qu'il y avait également (Essai 2) des chevauchements isolés lorsqu'un bélier est introduit. Nous avons alors retenu comme règle simple que des chevauchements pouvaient être considérés comme isolés (faux-positifs) s'ils étaient espacés de plus de 12 heures.

Cette étape de validation a montré que ce dispositif électronique, qui permet une détection très fiable des brebis chevauchées (93%), pouvait être utilisé pour détecter l'œstrus à condition que les points isolés soient écartés du traitement.

Parallèlement, un bouc équipé de ce dispositif placé avec quelques chèvres synchronisées a montré que les chevauchements correspondent bien à des chèvres en œstrus (Bocquier et al., 2009). Toutefois on ne peut pas considérer cet essai préliminaire comme une validation du détecteur pour les chèvres.

Cette validation effectuée chez la brebis Mérinos d'Arles lors des deux essais, laissait entrevoir que ce dispositif pouvait servir à mieux comprendre le comportement sexuel des petits ruminants tant pour la femelle que pour le mâle. Nous pensions alors que le nombre de chevauchements pourrait aider à caractériser des différences de libido chez les mâles comme des différences de durée et d'intensité de l'œstrus chez la femelle. On pouvait également envisager l'étude d'autres facteurs comme la race, l'âge ou la parité. Etudier des différences de réponses à l'effet bélier ou des effets de l'alimentation sur la reproduction des ovins et bien d'autres facteurs.
Ces résultats, même s'ils étaient encourageants devaient d'abord être confirmés sur des effectifs de brebis plus proches de la réalité des troupeaux français.

Chapitre 3

Chapitre 3 : Les caractéristiques des cycles sexuels chez la brebis (Publication 2 ; P2).

1- Introduction et objectifs

Les résultats de la première expérience montrent que la détection des cycles œstraux chez les brebis de façon automatisée est possible et fiable. Bien qu'il y ait quelques difficultés à détecter les faux positifs qui se produisent juste après l'introduction des béliers.

Ce travail a été réalisé pour répondre aux limites signalées dans la Publication 1. Comme nous n'avions utilisé qu'un seul bélier à la fois, nous avons voulu tester le détecteur avec plusieurs mâles qui pouvaient librement interagir. D'autre part, le nombre de brebis était plutôt limité (Essai 1 = 6 et Essai 2 = 30) si on considère la taille moyenne des lots de reproduction en élevage : nous avons donc utilisé le double de brebis (n=60). En synchronisant à nouveau les brebis (comme dans l'Essai 1) nous pouvions connaître le démarrage des œstrus et ainsi repérer les faux positifs en début d'expérience.

Le principe de cette expérience a reposé sur la synchronisation de 60 brebis qui ont été suivies sur 4 cycles successifs par les mêmes 5 béliers entiers porteurs du détecteur Alpha-D. Lors du 1er cycle, les béliers portaient des tabliers empêchant la saillie. Lorsque les béliers ont été réintroduits dans le lot de brebis, lors des trois cycles suivants, ils avaient la possibilité de les saillir. Cette expérience devait valider l'utilisation pratique du détecteur dans les conditions les plus exigeantes à savoir lorsque beaucoup de brebis sont en chaleur en même temps.

Automatic oestrus detection system enables monitoring of sexual behaviour in sheep

M. ALHAMADA[a], N. DEBUS [a], A. LURETTE[a], F. BOCQUIER[a,b*]

[a] INRA, UMR868 Systèmes d'élevage méditerranéens et tropicaux, F-34000 Montpellier, France
[b] Montpellier SupAgro, Dept. MPRS, F-34000 Montpellier, France

*corresponding author at: Montpellier SupAgro, UMR SELMET, 2 place P. Viala, Bât 22, F-34060 Montpellier Cedex 1, France. Tel.: +33(0) 4 99 61 21 12; fax: +33 (0) 4 67 54 56 94; E-mail address: bocquier@supagro.fr

Running tittle: Automated oestrus detection in the ewe

Summary

An experiment was conducted to observe the oestrous behaviour in ewes through an automated oestrus detection system. Five mature adult Merino male rams, equipped with an electronic detector (Alpha-D), were included with a total of 60 ewes from the same breed. The libido of the males was assessed as the number and frequency of mounts. The accepted mountings by ewes were recorded by an electronic identifier worn by the female. In the first synchronized oestrus (C1), the ewes were exposed to rams wearing an anti-mating apron. In the following spontaneous cycle (C2), all the rams were allowed to mate. In the third cycle (C3) and the fourth cycle (C4), the rams were assumed to detect ewes in oestrus (open ewes). After the exclusion of isolated readings, the mean interval from sponge withdrawal to onset of oestrus was 31±11 h and duration of oestrus in C1, C2 and C3 was 22±18, 16±11 and 16±8 h, respectively. The libido differed widely among the rams and cycles number with an average number of mounts per ram in C1, C2, C3, and C4, that were 213, 322, 85 and 3 respectively. It is concluded that all the females were correctly detected and the assessed libido of males was repeated.

Keywords: oestrus, ewe, ram, libido, pregnancy diagnosis, automated oestrus detection.

Highlights

- Automated mounting detection provides the kinetics of the occurrence of oestrus
- The duration of oestrus varies considerably among ewes
- Number of mounts per ram is a good estimate of male libido and servicing capacity
- Number of mounts per ewe suggests differences in the attractiveness of the ewes
- This electronic device provides reliable identification of open ewes.

1. Introduction

The key to the success of fertilization, whether natural or after artificial insemination, depends on identifying the beginning and the duration of oestrus. This critical period may last from several hours to several days. Even after hormonal treatment, extensive synchronisation of oestrus has not yet been achieved. Synchronisation is critical when attempting to inseminate ewes without hormonal treatment (e.g. on organic farms).

The ram reacts sexually when a ewe responds to his advances by becoming immobilized. The ability of rams to serve large number of ewes in a short time is of great importance for the fertility of the flock as a whole (Alexander et al., 2012). The ram's libido should be another key to the reproductive success. However up to now routine evaluation of males' libido has been limited by the time, labour and facilities required (Alexander et al., 2012). Since Price et al., (1992) demonstrated that the frequency of mounting is a reliable estimate of the libido and of the mating success of sexually experienced rams; the ability to quantitatively and automatically evaluate rams based on this criterion would certainly be a major advance.

The traditional way of detecting oestrus in sheep is visual observation of a ram searching for receptive ewes. This can be achieved by tight direct control of the ram's activity either intermittently (at intervals of from 6 to 12 h; Bathaei., 1996; Martemucci and D'Alessandro., 2011; Fabre-Nys and Venier., 1987) or by checking for crayon marks left on the fleece of the ewes by rams equipped with a harness (Romano et al., 2001). Both methods are time consuming and limited to research, since observations have to be made night and day for at least one complete cycle (i.e. 17 days) before a decision can be made on whether the ewes had an oestrus or not. On the farm, the only solution is to periodically observe mating behaviour, which is very time consuming. In this case, the main limitations are many errors due to poor identification of animals plus the difficulty in counting the number of times each ewe is

mounted. Furthermore, as frequently observed by shepherds, some rams do not necessarily exhibit normal sexual behaviour in the presence of humans (Maina and Katz., 1999).

Although the mating behaviour of sheep has been studied for many years (Banks., 1964), to our knowledge, this is the first time that mating behaviour and the kinetics of the occurrence of oestrus in ewes is reported an automatic device, Alpha Detector (Alpha-D), which records all mountings by the rams in a flock. This detector, which has already been the subject of a preliminary evaluation (Alhamada et al., 2016), ensures 94% identification of each mount done on a ewe in standing oestrus.

.

In addition to the importance of detecting oestrus for the successful management of a profitable farm, early pregnancy diagnosis in sheep is extremely important because of the seasonal breeding of this species. Failing to breed corresponds to variable delays in lambing in a certain period or season. Many means of detecting pregnancy are available for domestic ruminants, the simplest being detection of open ewes after breeding (Ishwar., 1995). However, an efficient automated device for the detection of non-returning ewes into oestrus would be far easier than manipulating ultrasonic devices or dosing pregnancy specific proteins like ovine pregnancy specific protein B (oPSPB).

The aim of this study was to quantify and analyse three different aspects of an automated oestrus detection system. First, the quantitative evaluation of the kinetics of the occurrence of oestrus after hormone treatment and during the following cycles. Second, the assessment of the libido of males through the number and frequency of mounts. Third, the assessment of the interest of oestrus detection as a pregnancy test. The overall aim of the experiment was to establish benchmarks for on-farm use of the device.

2. Materials and methods

All the experiments were approved by INRA and Regional Ethics committee in Montpellier, France and complied with the 1985 French Animal Research Act in accordance with ethical principles laid down in the European Union directive 2010/63/EU.

Animals and experimental design

The experiment was conducted at the Fréjorgues Experimental Station (Lat. 43°59′ N, Long. 4°39′ E) in south-eastern France during the breeding season from the 17th of October to the 15th of December. Sixty multipara Arles Merino ewes born through the same year (3.6 years of age) with a mean body weight (BW) of 59.7±5.8 kg, and a mean body condition score (BCS; scale 1–5, 1 = emaciated, 5 = obese) of 2.9±0.1 were used in this study. Oestrous cycles were synchronized in all ewes by the insertion of an intravaginal sponge impregnated with 20 mg fluorogestone acetate (FGA) (Chrongest® CR, Intervet, Angers, France). After 14 days, the sponge was removed and each ewe received an intramuscular injection of 400 IU of equine Chorionic Gonadotropin (eCG; SYNCRO PART® PMSG, Ceva Santé Animale, Libourne, France). The ewes were monitored during the four succeeding cycles by the device. Five fertile 3 to 4-year-old adult rams of the same breed with a BW of 80.5±3.8 kg were used to detect oestrus in a unique group of 60 ewes throughout the four oestrous cycles (which normally last 17 days). These rams were introduced into the group of females as soon as the sponge was removed (Fig. 1). Females were identified by a transponder glued on their tail (see below). All the rams were equipped with an electronic oestrus detector. During the first cycle (C1), the rams wore aprons to prevent them from mating the ewes. Ewes and rams were kept together for five days (C1) and then separated. Ten days later, the rams were again introduced into the group of ewes with no anti-mating apron and allowed to mate for seven days (C2). The same males were mixed with the females during subsequent natural cycles (C3 and C4) in exactly the same way to identify open ewes and determine the pregnancy rate.

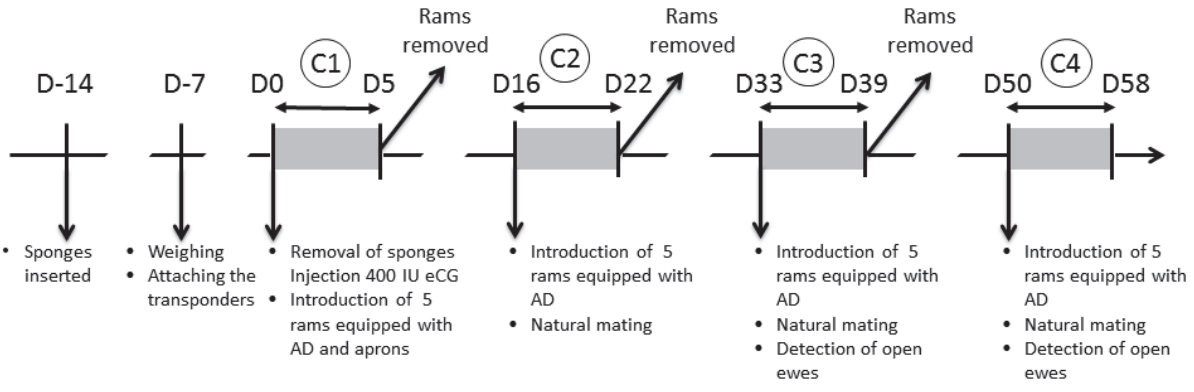


Figure 1. Schematic diagram of the experimental design. 60 Merino Arles ewes were intermittently placed with 5 rams equipped with the Alpha-D electronic device, either in their first cycle (C1) just after oestrus synchronization and during their following natural oestrus cycles (C2, C3 and C4).

Principles of the oestrus detector

The Alpha-Detector (Alpha-D) used in this experiment had previously been shown to detect 100% of ewes in oestrus, and to detect individual mounts with a 94% accuracy for ewes in standing oestrus, thus enabling the precise measurement of the behaviour of both males and females (Alhamada et al., 2016). This automated heat detection device (Alpha- Detector®, Wallace, Cardet, France) is based on a standalone special reader worn by the male. The reader records the information on the electronic identifier worn by the female accepting mountings. The detector, located in a leather pouch, is held between the front legs of the male by a harness. When the ram mounts, a pressure sensor triggers the reading of the transponder attached to the tail of the female. At each reading, the identification of the female, and the exact date and time are recorded. These data are stored and then transferred to a handheld device called Alpha-Receptor on request (Alpha-R®, Wallace, Cardet, France). The shepherd can select an Alpha-D on the Receptor which scans and find the right Alpha-D. After connection is established, data are transferred remotely (≤100 m) to the Receptor by radio signal. The information is extracted and saved on a computer until data processing and analysis. The battery life of the Alpha-Detector usually lasts more than a week depending on number of readings made by rams. Except for recharging battery no manipulation of rams are necessary. The female transponders are Half Duplex (HDX) Tiris® Glass Transponders (32.0 × 3.8 mm; model RI-TRP-WR2B; GIOTEX, Barcelona, Spain) which comply with the 11784/11785 ISO standard for animal identification.

Pregnancy tests

Blood sampling method: Ovine pregnancy-specific protein B (oPSPB) becomes detectable 19 days after conception and increases steadily up to day 30 (Wallace et al., 1997). Blood samples were collected from all ewes on day 49 after the sponge was removed (C1). Ewes were bled at 8:00 am just before their daily meal by jugular venipuncture using vacuum heparinized tubes (Terumo, Sodap, Montpellier, France). Following blood collection, the tubes were centrifuged at 3,600 rpm for 20 min at 4 °C, plasma was harvested then stored at -20 °C until assayed for oPSPB. Ovine PSPB concentrations were determined in duplicate with a heterologous radioimmunoassay (RIA) using bovine PSP60 as standard and tracer (Mialon et al., 1993). The sensitivity of the assay was 0.2 ng/ml plasma and intra- and inter-assay coefficients of variation were 6% and 12%, respectively.

Ultrasound method: The ewes underwent transabdominal ultrasonography. Pregnancy diagnosis was performed by a trained operator with an ultrasound scanner (Ovi-Scan; BCF Technology Ltd, Livingston EH54 8TE, Scotland, UK) on day 45 on mated ewes (i.e. post C2). During ultrasonography the ewes were restrained in the standing position in a cage to limit their movements.

Non-return method: Identification of ewes in oestrus during the C3 and C4 cycle also allowed the identification of non-pregnant ewes. Otherwise ewes were considered to be pregnant.

Statistical analysis

As most of the data consisted of a number of readings, frequency data were examined by Chi-square analyses to detect percentage differences among the number of rams mounts. Results are presented as means ± SD. The daily mounting activity of rams during highest period of activity of rams was analysed by ANOVA and Tukey test (R Core Team, 2015) using a random effect of Rams (1 to 5), a Cycle effect (C1 or C2) and effect of number Days in oestrus (day 1 to 3) nested in Cycle and random error.

3. Results

Both ewes and rams, equipped with Alpha-Detector, behaved normally throughout the experiment. As observed previously (Alhamada et al., 2016) before the ewe exhibited oestrus, the rams attempted to mount some ewes even when they were not in standing oestrus. These attempts, which we called isolated reading (IR), were discarded for analysis using a simple algorithm (Alhamada et al., 2016). In the present study, an interval of 24 h between two readings was chosen before considering it as an IR. During C1, four ewes were subjected to an IR, three of which occurred immediately after the rams joined the ewes. The wave of mounts that followed these IRs occurred 38±11 h later. The fourth IR was observed at the end of the period of oestrus. It occurred 26 h after the last burst of mounts. During the C2 IR mounts were of limited influence on oestrus determination, since the total number of mounts of ewes subject to IR recorded by Alpha-D ranged from 6 to 29 mounts (mean 14±10

mounts/ewe). During C2, we counted au total of 11 IRs: 6/11 in the period following the introduction of the rams, with an average interval between the IRs and the beginning of the series of mounts of 76±30 h, and 5/11 IRs after the end of the series of mounts, with an average interval of 77±18 h. During C3, the number of mounts per ewe subjected to an IR ranged from 9 to 53 (mean 26±15 mounts/ewe). No IRs was recorded during the third cycle or the fourth cycle. These isolated readings (4 in C1 and 11 in C2) were discarded, and the rest of the series of mounts were considered to represent the real oestrous period of the ewes.

A ewe was considered to be in oestrus when it was mounted more than four times by two different rams, or more than six times by the same ram. After these data obtained from Alpha-D were filtered, we found that 78% (47/60) of the ewes responded to hormonal treatment in C1, 88% (53/60) ewes were in oestrus in C2, and only six ewes clearly exhibited oestrus in C3. The one remaining ewe that was only mounted few times in C3 was probably in oestrus since none of the ewes were detected as being in oestrus in C4.

The onset of oestrus ranged from 6 to 60 h after the sponge was removed (H0). The mean interval was 31±11 h (Fig. 2). The following oestrus (C2) appeared after 17 days ± 1 h (Fig. 3) and in C3, after 34 days ± 11 h. The mean duration of the period of oestrus in C1 (Fig. 2) ranged from 5.3 to 46.3 h (mean 22±18 h), while the duration of oestrus in the following cycle (C2 and C3) was almost constant but shorter; C2 (mean 16±11 h) (Fig. 3) and C3 (mean 16±8 h) (Fig. 4).

During the four successive cycles of the 60 ewes, the five rams mounted 3,109 times in total, 1,064 times in C1, 1,609 times in C2, 422 times in C3, and 14 times in C4. The average number of mounts per ewe, which could express the mean attractiveness of a ewe, increased from 23±20 mounts/ewe during C1 (from 4 to 112 mounts/ewe; Fig. 2) to 31±23/ewe during C2 (from 6 to 112 mounts/ewe; Fig. 3) together with an increase in the number of ewes in oestrus from 47 in C1 to 53 in C2. During the C3 cycle, only six ewes were in oestrus, the number of mounts was 66±53 mounts/e (ranging from 9 to 139 mounts/ewe; Fig. 4).

Cycle effect was highly significant on daily number of mounts per ram (+44/d for C2 compared to C1; $p<0.005$). On daily basis the difference in number of mounts between rams was significant ($p<0.038$), even if the number of ewe in oestrus was very variable giving a highly significant day effect ($p<0.0002$). In order to compare the sexual activity of the rams, the number of mounts per ram during C1 and C2 were analysed. A wide range of activity was observed between rams (M1 to M5). In the C1 cycle, the total number of mounts ranged from 140 (M4) to 303 mounts (M3). In C2, the number of mounts ranged from 224 (M4) to 493 mounts (M3) (Fig. 5). Two rams (M2 and M3) both exhibited high rates of sexual activity, as

reflected by their number of mounts. This behaviour was maintained from C1 to C2, when they accounted for, respectively, 56% and 55% of the total number of mounts, whereas the other two males (M4 and M5) with the lowest sexual activity only accounted for 27% and 30% of the total mounts in C1 and C2, respectively. The difference between males in these two extreme groups was significant ($p<0.05$), in both the first and the second cycle. All the rams exhibited higher sexual activity in the second cycle.

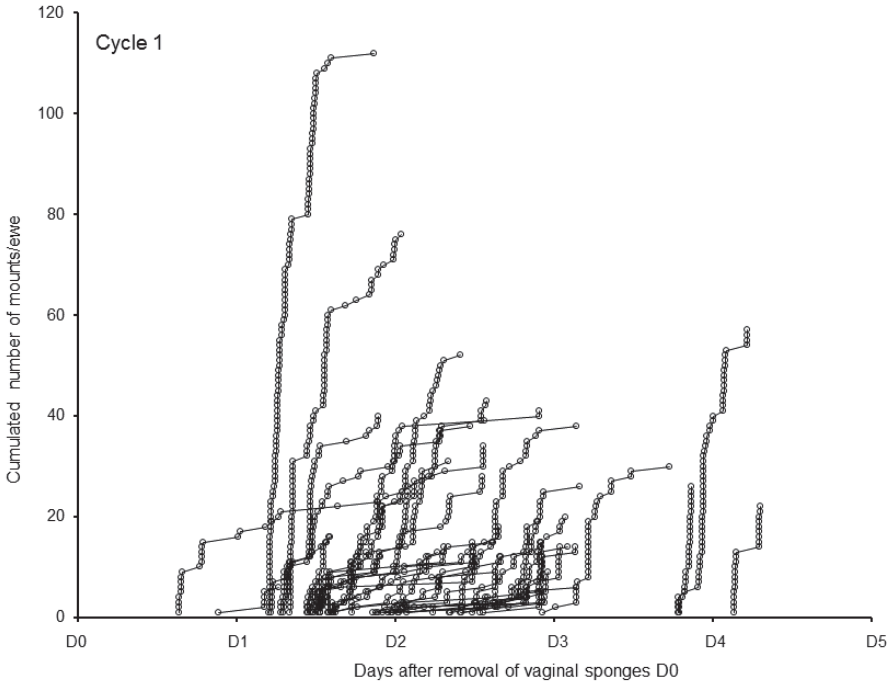
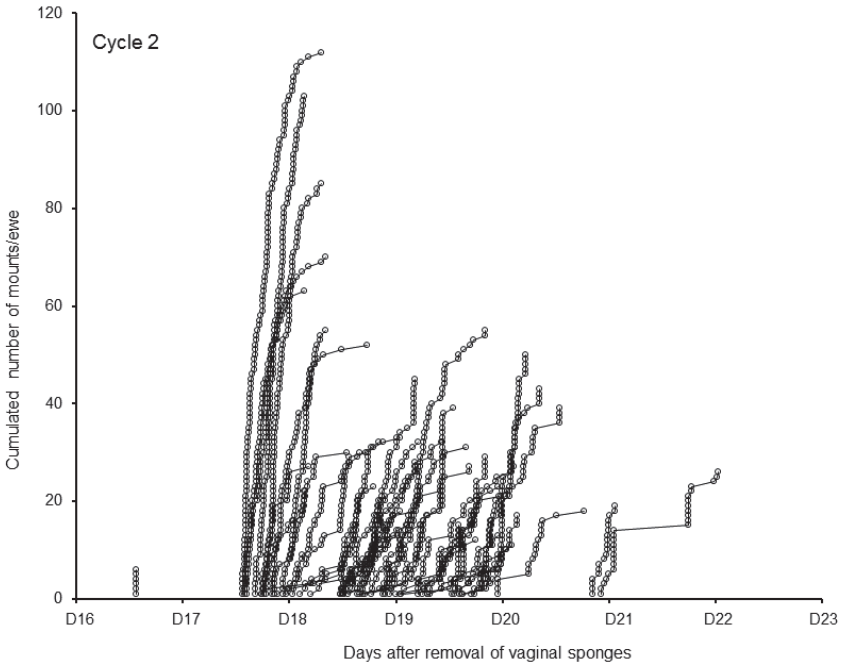
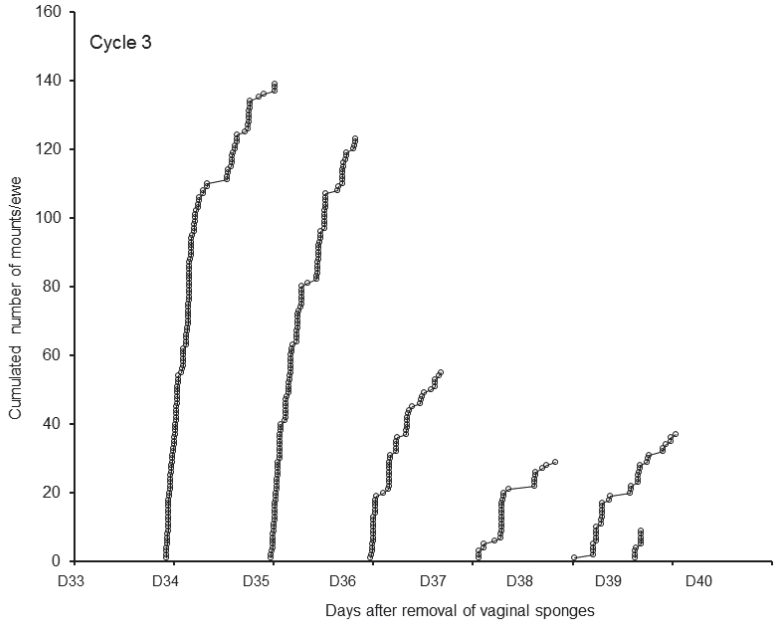


Figure 2. Number of mounts determined by Alpha-D electronic device after ewes were hormonally induced at first cycle (C1). Data are presented in cumulated number of mounts among the 47 ewes by five aporned rams equipped with Alpha-D.



240

241 *Figure 3. Number of mounts during second cycle (C2) determined by Alpha-D electronic device after*
242 *ewes were hormonally induced at first cycle (C1). Data are presented in cumulated number of mounts*
243 *among the 53 ewes by five rams without apron and equipped with Alpha-D.*



244

245 *Figure 4. Number of mounts during third cycle (C3) determined by Alpha-D electronic device after*
246 *ewes were hormonally induced at first cycle (C1). Data are presented in cumulated number of mounts*
247 *among the 6 remaining ewes by five rams without apron and equipped with Alpha-D.*

248

249 If we assume that attractiveness of a given ewe is proportional to the number of different rams
250 that mounted her, on average ewes appeared to be more attractive to the rams in C2 than in
251 C1. In C1 only three, in C2, 23 ewes were mounted by all of the rams. The numbers of ewes

mounted by four different rams, and by three different rams were similar in C1 and C2 (i.e. 12 and 15 ewes in C1, 14 and 10 ewes in C2 by four and three different rams respectively). Logically, seventeen remaining ewes were only mounted by two rams in cycle C1, and only five ewes during C2. We found only one ewe that had been mounted 19 times by the same ram in C2.

Pregnancy diagnosis by ultrasonography on day 32 was based on extraembryonic membranes, and fluid in the uterine and hypoechoic chambers. At this stage, 53/60 ewes were considered to be pregnant. Positive responses to oPSPB plasma dosage also confirmed that ewes were pregnant. The results of the ultrasound method and the oPSPB method were identical: 53 ewes were pregnant after their first service (C2) and all the ewes (n=60) became pregnant after their second service (C3).

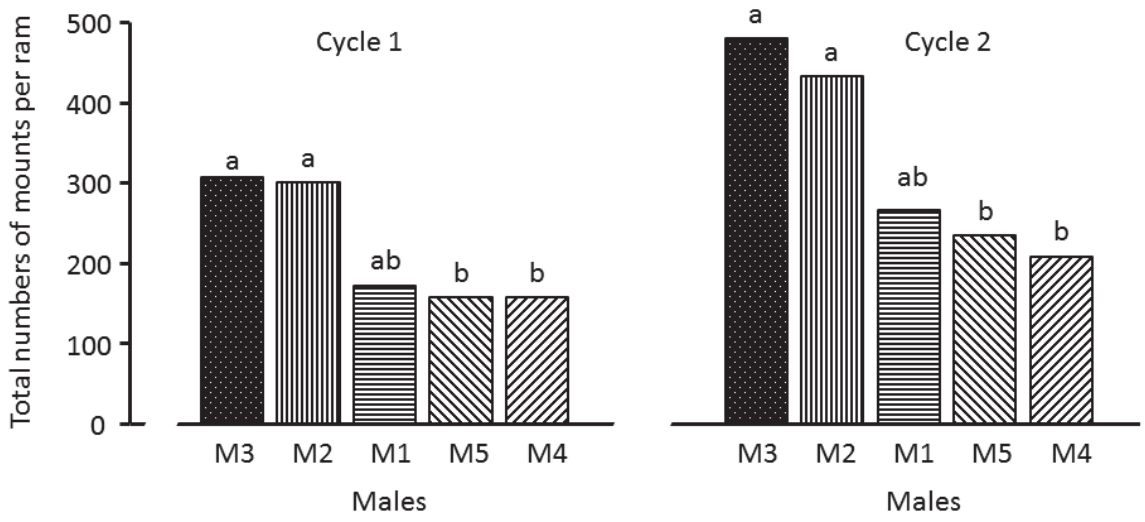


Figure 5. Comparisons of the five rams (M1 to M5) in terms of decreasing number of readings during the first cycle (C1, hormonally induced oestrus, 47 ewes responded) and during the second cycle (C2, natural cycle, 53 ewes responded). In a given cycle, different letters indicate significant ($p<0.05$) differences between rams.

4. Discussion

This is the first time this device has been used to characterize oestrous behaviour after hormonal treatment with the aim of obtaining synchronized oestrus in a large group of ewes. As previously demonstrated (Alhamada et al., 2016), this electronic oestrus detection device (Alpha-D) has a high rate of success (94%) of recording mounts thereby making it possible to know almost all the mountings made by rams either with an apron (C1) or when free to mate (C2, C3 and C4). In the present experiment, a rather high number of ewes were in oestrus simultaneously, since 47 ewes were effectively synchronized i.e. almost 10 ewes per ram. The present experiment confirmed the occurrence of isolated readings when mounting just after the rams were introduced in the group of ewes, even though none of the ewes exhibited standing oestrus. We also observed that such isolated readings also occurred at the end of the oestrus, when the ewes were no longer in oestrus. Only a few studies have dealt with discrete or refusal of a ram's mounts. In some cases the authors (Fabre-Nys and Venier., 1987) reported ambiguous behaviour by ewes that cannot be explained. In our case, we considered that these isolated mounts were only due to non-readiness of the ewes because in the end, they accepted full sequences of mountings either after or even before such isolated mounts occurred. While in the previous experiment (Alhamada et al., 2016) a 6 h interval was necessary to filter out all these isolated readings, in the present experiment we used an even longer interval (nearly 24 h) to filter out all isolated readings. Hence, the interval between isolated mountings is directly related to the number of ewes to be detected.

The proportion of ewes (78%) which responded to hormone treatment by exhibiting oestrus in C1 (Fig. 2) was similar to the proportion reported in many studies: 81% (Ungerfeld and Rubianes., 1999) and 75% (Das et al., 2000). In itself, this is not a major problem but should be kept in mind when assessing the fertility rates after hormone treatment or AI at a fixed time. In our case, the effectiveness of the hormone treatment might have been underestimated since a few ewes (5/60) appeared to be effectively synchronized 17 days later. Hence we are unable to decide if this was due to a complete absence of response by the ewe or to a failure of the rams to detect some of the ewes. A total absence of response by a female cannot be excluded since this has frequently been observed in goats that become immunized to eCG. The inability of rams to detect oestrus has also been reported (Gatti and Ungerfeld., 2012), but in our case we used five rams that had previously been shown to be able to detect ewes in

oestrus. Many environmental factors have been proposed (Das et al., 2000) to explain why not all the ewes respond to hormonal treatments. In the present experiment, the proportion of 22% of non-responding ewes cannot be explained by our measurements.

The determination of the exact onset of oestrus in ewes has often been reported to be of interest for the success of reproduction in small ruminants either for natural siring or for artificial insemination at fixed a time. Several factors are known to affect the duration of oestrus. Among them, the continuous presence of rams has been reported to reduce the duration of oestrus (Parsons and Hunter., 1967; Romano et al., 2001). In our study (C1), the mean time (31 h) was similar to that reported in other merino ewes (32 h, Romano et al., 2001), but is sometimes longer (47 h, Das et al., 2000). Due to major variations among ewes (from 5.3 to 46.3 h) the importance of this event should not be over-estimated since marked differences have already been reported (from 8 to 60 h: Martemucci and D'Alessandro., 2011 and from 2 to 92 h: Moise et al., 2012). The practical consequences are that rams should be introduced into the group of ewes as soon as possible after the sponge has been removed and a single fixed time for AI might be insufficient for some ewes (Fig. 2). The duration of artificially induced oestrus in this study (22±18 h) was similar to previously cited durations (from 19 to 24 h, Das et al., 2000), but shorter than others (31 h, Romano et al., 2001 and longer than some (16 h, Parsons and Hunter., 1967). The observed durations of subsequent natural oestrus in the following cycle were stable but shorter in C2 (mean = 16±11 h) and in C3 (mean = 16±8 h) i.e., in the lower range of the previously reported durations (Parsons and Hunter, 1967).

The origin of these differences in the timing of the onset and duration of oestrus, could be linked to the breed, with its optimal breeding period (Parsons and Hunter., 1967; Bathaei., 1996; Alhamada et al., 2016). It is also possibly due to intervals between controls and authors' convention and interpolation rule. The shortness of the second and third oestrous cycles (C2 and C3) may be due to effective mating by the rams (Tilbrook et al., 1987) which would not be the case in the C1 cycle. Finally, it should be noted that the duration of oestrus measured in C1, with a large coefficient of variation (82% i.e. SD=±18 h), clearly overlapped published values. The advantage of Alpha-D is that it reveals the situation of each ewe which accepts mountings in real time.

One important finding of this experiment is the notable difference in the number of mounts and in the number of rams accepted by a given ewe. Green (1947) demonstrated that for

normal conception in sheep, only one mating per oestrus is necessary, provided the ram's semen is of high quality and a normal service is performed at the appropriate time for fertilization. The difference in the total number of mounts per ewe, which ranged from 4 to 112 mounts, can be explained by the difference in the sexual attractiveness of the ewe. Such attractiveness stimulates a ram's interest, which then attempt more mounts. Frequent acceptance of such attempts is well-known behaviour in ewes, and is termed 'receptivity' (Banks., 1964; Fabre-Nys and Venier., 1987). Inversely, rather than mounting other females like cows, ewes are known to actively seek out rams. This active behaviour is termed 'proceptivity' (Banks., 1964; Fabre-Nys and Venier., 1987). Regardless of ram's behavioural peculiarities, which are discussed hereafter, we were unable to distinguish proceptivity from receptivity in the response of ewes to mounting attempts, which are thus defined as overall attractiveness. We observed that some ewes had been mounted by all rams (23 ewes in C2) with numerous mounts (from 16 to 112 mounts/ewe), so that these ewes are certainly perceived by the rams as being very attractive. Such a criterion of multiple partnerships has already been used (Tilbrook and Lindsay., 1987) to define attractiveness. In the case of ewes which only accepted mounts by a single ram (one ewe in C2), the number of mounts was limited (19 mounts) and her 'attractiveness' was probably low. Aside from individual behaviour, the origin of differences in attractiveness depends on many other factors (i.e. age, live-weight, size, colour of the fleece and face and the general appearance and the coarseness of the wool, which affect the excitatory value of the ewe) reported in the literature (Tilbrook and Lindsay., 1987). Analysis of these factors is beyond the scope of this work.

We confirm here that considerable differences in individual male sexual behaviour were recorded among rams (Alhamada et al., 2016). Quantitatively, in C1, the most active ram (M3 = 303 mounts) made almost twice more mounts than the least active ram (M4 = 140 mounts). A similar occurrence was also observed in C2 (M3 = 493 vs. M4 = 224). Beyond the individual characteristics of the ram, it is possible that a hierarchy is established among rams, with a dominant ram inhibiting a subordinate and preventing other rams from mounting the ewes (Ungerfeld and González-Pensado., 2009). As the rams in our experiment had not been previously evaluated in this sense, and because their previous experience is unknown, we cannot provide simple explanation. However, such behavioural differences have previously been demonstrated in pen tests by visual observations and detailed counting of ram's activities (kicking, butting, nudging, leg striking, sniffing, lip curls or flehmen, mounting, and copulatory behaviour) when individually put with a group of ewes (Price et al., 1992).

However, one major limitation to the present experiment is that it was not possible to distinguish successful mounts from attempted mounts. It is known that certain rams immediately perform effective mounts, with few initial mounting attempts, whereas others require more practice (Maina and Katz., 1999). Whatever the difference in mounting activities, it is noticeable that when the same group of rams is used in successive cycles, which was the case in the present experiment, the ranking of rams' activities remains the same. Hence, Alpha-D clearly allows a quantitative measurement of ram's motivation to mount ewes in oestrus.

The number of ewes that a ram can breed in a 34 or 51-day breeding season varies depending on several factors including some linked to breeding management, paddock size, the area to be covered by ewes and rams, feed availability, flock dispersion, ram-ewe contact and mating activity (Ridler et al., 2012), along with other factors linked to the age, breed and libido of the ram (Price et al., 1992; Alexander et al., 2012), and lastly those linked to the females including the age and the breed (Tilbrook et al., 1987). Mating ratios of 1 ram per 30–50 ewes (2–3% rams) are frequently mentioned with ewes in spontaneous oestrus (Alexander et al., 2012; Ridler et al., 2012). When the oestrous cycle of the ewes is synchronized by using progesterone inserts, mating ratios of one ram per 10 ewes are recommended (Ridler et al., 2012) and this was our case.

The average interval between two successive cycles was confirmed here to be of 17 days, which is in agreement with other published estimations (Parsons and Hunter., 1967; Bathaei., 1996). This constancy allows efficient detection of open ewes provided that equipped rams are present approximately two weeks after the observed beginning of oestrus. Furthermore, due to the constancy of the length of gestation a relatively accurate lambing schedule can be drawn up. Furthermore a non-returning ewe to oestrus within 17 days is a reliable and easy method of pregnancy rate determination.

5. Conclusions

The automated Alpha-D device reveals several quantitative aspects of both ewes and rams sexual behaviour. It allows to detect all cases of oestrus provided that the male:female ratio is not below 1:10. It also provides individual information on the sexual activities of both males

and females by counting the number of mounts accepted (females) and performed (males), hence giving a dynamic view of sexual activities within a group of sheep. Regarding the activities of the males, it allows the direct ranking of males. It is known that human assistance during breeding can alter expression of sexual activities of males, while this type of automated device measures this trait without causing any disturbance.

This device can also greatly improve reproduction in the ewe. First, it allows precise timing of occurrence of oestrus in synchronized ewes induced either hormonally (FGA + eCG) or naturally (male effect). Second, it detects females which do not respond to synchronization treatment. With this information, breeders can adapt the timing of insemination to the characteristics of their flock. Furthermore, the reproductive efficiency of a flock can be improved by detecting all open ewes 17 days later, and by putting them back to reproduce. Lastly, thanks to the dependability of the length of pregnancy, the device makes it possible to draw up a precise lambing schedule.

Acknowledgements

This work was part of the BERCAIL project funded by FEDER and OSEO and Transfert-LR. Moutaz Alhamada is supported by a PhD scholarship from the University Al-Furat, Syria. We thank the technical staff of INRA Fréjorgues experimental station: G. Viudes, J.-M. Capron, S. Douls and R. Thomas.

References

Alexander, B.M., Cockett, N.E., Burton, D.J., Hadfield, T.L., Moss, G.E., 2012. Reproductive performance of rams in three producer range flocks: Evidence of poor sexual behavior in the field. Small Ruminant Research 107, 117–120.

Alhamada, M., Debus, N., Lurette, A., Bocquier, F., 2016. Validation of automated electronic oestrus detection in sheep as an alternative to visual observation. Small Ruminant Research 134, 97-104.

Banks, E.M., 1964. Some Aspects of Sexual Behavior in Domestic Sheep, Ovis aries. Behaviour 23, 249–279.

433 Bathaei, S., 1996. Breeding season and oestrous activity of Iranian fat-tailed Mehraban ewes
434 and ewe lambs. Small Ruminant Research 22, 13–23.
435 Das, G.K., Naqvi, S.M.K., Gulyani, R., Pareek, S.R., Mittal J.P., 2000. Effect of two doses of
436 progesterone on estrus response and fertility in acycling crossbred Bharat Merino ewes
437 in a semi-arid tropical environment. Small Ruminant Research 37, 159–163.
438 Fabre-Nys, C., Venier, G., 1987. Development and use of a method for quantifying female
439 sexual behaviour in ewes. Applied Animal Behaviour Science 17, 289–304.
440 Gatti, M., Ungerfeld, R., 2012. Intravaginal sponges to synchronize estrus decrease sexual
441 attractiveness in ewes. Theriogenology 78, 1796–1799.
442 Green, W.W., 1947. Duration of sperm fertility in the ewe. American journal of veterinary
443 research 8, 299.
444 Ishwar, A.K., 1995. Pregnancy diagnosis in sheep and goats a review. Small Ruminant
445 Research 17, 37-44.
446 Martemucci, G., D'Alessandro, A.G., 2011. Synchronization of oestrus and ovulation by short
447 time combined FGA, PGF2α, GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-
448 time. Animal Reproduction Science 123, 32–39.
449 Maina, D., Katz, L.S., 1999. Scent of a Ewe: Transmission of a Social Cue by Conspecifics
450 Affects Sexual Performance in Male Sheep. Biol Reprod 60, 1373–1377.
451 Mialon, M.M., Camous,S., Renand, G., Martal, J., Ménissier, F., 1993. Peripheral
452 concentrations of a 60-kDa pregnancy serum protein during gestation and after calving
453 and in relationship to embryonic mortality in cattle. Reproduction Nutrition
454 Development 33, 269-282.
455 Moise, L., Sonea, A., Moise, V. 2012. Analyse of average duration of pregnancy and oestrus in
456 sheep breed Merino Palas and Tigaie. Conference: International Symposium "Modern
457 zootechnics, factor of sustainable development", USAMV Iasi, Romania, 26-27 April
458 2012.
459 Parsons, S.D., Hunter, G.L., 1967. Effect of the ram on duration of oestrus in the ewe. J Reprod
460 Fertil 14, 61–70.
461 Price, E.O., Erhard, H., Borgwardt, R., Dally, M.R., 1992. Measures of libido and their relation
462 to serving capacity in the ram. Journal of Animal Science 70, 3376–3380.
463 Ridler, A.L., Smith, S.L., West, D.M. 2012. Ram and buck management. Animal Reproduction
464 Science 130, 180–183.
465 R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation
466 for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.

Romano, J.E., Fernandez Abella, D., Villegas, N., 2001. A note on the effect of continuous ram presence on estrus onset, estrus duration and ovulation time in estrus synchronized ewes. Applied Animal Behaviour Science 73, 193–198.

Tilbrook, A., Cameron, A., Lindsay, D., 1987. The influence of ram mating preferences and social-interaction between rams on the proportion of ewes mated at field joining. Appl. Anim. Behav. Sci. 18, 173–184.

Tilbrook, A.J., Lindsay, D.R., 1987. Differences in the sexual "attractiveness" of oestrous ewes to rams. Applied Animal Behaviour Science 17, 129–138.

Ungerfeld, R., Rubianes, E., 1999. Estrus response to the ram effect in Corriedale ewes primed with medroxyprogesterone during the breeding season. Small Ruminant Research 32, 89–91.

Ungerfeld, R., González -Pensado, S.P., 2009. Social dominance and courtship and mating behaviour in rams in non-competitive and competitive pen tests. Reproduction Domestic Animals 44, 44-47.

Wallace, J.M., Aitken, R.P., Cheyne, M.A., Humblot, P., 1997. Pregnancy-specific protein B and progesterone concentrations in relation to nutritional regimen, placental mass and pregnancy outcome in growing adolescent ewes carrying singleton fetuses. J. Reprod. Fertil. 109, 53–58.

3- Discussions conclusions partielles

Dans cette expérience, un nombre assez élevé de brebis sont arrivées en œstrus de façon synchrone, puisque 47 brebis ont été chevauchées à savoir près de 10 brebis par bélier. Cette expérience a confirmé la présence de lectures isolées juste après l'introduction des béliers dans le lot de brebis, même si aucune des brebis ne présentait de vrais œstrus (acceptation les chevauchements) au moment de ces lectures. La proportion des brebis ayant présenté un oestrus en réponse au traitement hormonal (47/60) était similaire à la proportion rapportée dans de nombreuses études (Chapitre1). Même si ce n'est pas un problème majeur, cette proportion devrait être gardée à l'esprit lors de l'évaluation des taux de fertilité après un traitement hormonal ou lors d'une AI à une heure fixe. Ce résultat qui est souvent oublié des techniciens d'Insémination animale contribue à sous-estimer systématiquement les résultats de fertilité obtenus en fermes. Dans ces conditions, le détecteur de chaleur permettrait de séparer les problèmes de fertilité des problèmes de venue en chaleur.
La détermination de l'apparition de l'œstrus chez les brebis et sa durée a souvent été signalée comme étant d'intérêt pour le succès de la reproduction chez les petits ruminants, surtout pour l'insémination animale à temps fixe. La détermination de ces valeurs a souvent été estimée par observation visuelle (Chapitre1). La variabilité observée dans la détermination du début et de la durée de l'œstrus pourrait être liée à la fréquence à laquelle les observations ont été faites (souvent aucune observation n'est réalisée pendant la nuit). La différence dans le nombre total de lectures par brebis, qui a varié entre 4 à 112 lectures, peut être expliquée par des différences d'attractivité sexuelle de la brebis.

Les lectures que nous avons considérées comme des points isolés ont toujours été placés avant ou après une séquence complète de lectures, ce qui montre bien que ces lectures étaient liées à des tentatives de chevauchement de la part des béliers sur des brebis qui n'étaient pas encore ou plus en chaleur. Alors que dans l'expérience précédente (P1) un seul mâle était avec le lot de brebis et un intervalle de 6 h était nécessaire pour filtrer tous ces points isolés,. Dans cette expérience, nous avons utilisé un même intervalle plus long (24 h) pour filtrer tous les points isolés. Par conséquent, l'intervalle nécessaire entre deux lectures pour déterminer si un point est isolé ou non est directement liée au nombre de béliers/brebis à détecter.

Nous confirmons ici qu'il existe des différences considérables de comportement sexuel entre les 5 béliers étudiés mais que ces différences sont assez stable d'un cycle à l'autre. Des résultats similaires ont donc été obtenus dans les deux publications P1 et P2.
Nous avons observé que le ratio mâle/femelle optimal pour une bonne réussite de la reproduction varie en fonction de plusieurs facteurs. Enfin nous montrons que le détecteur AD peut être utilisé comme outil de diagnostic de gestation.

Chapitre 4

Chapitre 4 : Comparaison de l'évaluation du comportement sexuel des mâles lors de tests individuels ou lors de lutte en troupeau.

(Publication 3 ; P3)

1- Introduction et objectifs

Les résultats obtenus dans les deux premières publications (Chapitre 2 et 3) montraient de grandes différences dans le nombre de chevauchements effectués par les béliers. A ce stade nous ne pouvions pas assimiler le nombre de chevauchements à la libido des béliers qui comporte non seulement une phase consommatoire (chevauchements, éjaculations) mais également une phase exploratoire (nombre de flairages, d'approches latérales, de Flehmen et de coups de pattes) qui n'est pas prise en compte par le détecteur électronique de chevauchement. Pour mesurer tous les aspects du comportement sexuel des béliers, la bibliographie montre qu'il faut réaliser des tests individuels (Price, 1987 ; Fabre-Nys, 2000) en les observant pendant une durée déterminée, en présence de brebis en chaleur et en notant tous les aspects comportementaux. Pour disposer d'informations individuelles sur leurs comportements de chevauchement, ces mêmes béliers ont également été placés dans le troupeau pendant la période de lutte juste avant (ou après) les tests individuels. De plus, afin d'examiner la stabilité des comportements sexuels des mâles nous les avons évalués à un an d'intervalle au moment de la saison de lutte (au printemps – lutte à contre saison). Mais comme la reproduction des ovins est saisonnée, nous avons voulu savoir si le classement des béliers observé à contre saison était maintenu lors d'un test effectués en saison c'est-à-dire à l'automne.

Pratiquement, six béliers entiers et six béliers vasectomisés sexuellement expérimentés ont été utilisés à toutes les étapes du protocole. La libido des béliers a été estimée par le comptage des activités sexuelles (méthode de référence) dans un temps limité (30 min) lorsqu'ils sont placés avec quelques brebis (3 brebis en œstrus et 3 en phase lutéale). Ces tests ont été effectués à deux reprises au cours de la journée, au cours de 3 jours de la même semaine et à 3 périodes de l'année (printemps – automne – printemps). Les activités sexuelles des mâles ont été divisées en deux types : les comportements pré-copulatoires (ou exploratoires) qui comprennent le nombre de flairages, d'approches latérales, de Flehmen et de coups de pattes (Cf Chapitre 1), et les comportements copulatoires qui comprennent le nombre de tentatives de montes et de montes effectives. Dans nos tests, l'éjaculation a été empêchée par des tabliers.

Les résultats de la deuxième expérience (P2) avaient clairement montré que le classement de l'activité sexuelle des béliers, exprimé en nombre de chevauchements, est assez stable d'un cycle à l'autre pendant une même saison. Cependant nous ne savions pas si ce classement était stable au cours de l'année et si les béliers se comportaient de la même façon en test et en troupeau. Cette question se posait parce que les ovins ont une reproduction saisonnée, et parce qu'il paraissait utile de pouvoir connaître la libido des béliers avant la période de reproduction effective. Avec le détecteur électronique nous avions la possibilité d'explorer le comportement sexuel des béliers en situation réelle de reproduction (nombre de femelles,

concurrence entre mâles) alors que la méthode de référence est très contraignante pour les mâles (mâle isolé, présence d'observateurs, peu de brebis en chaleur). En outre, les fortes contraintes pour réaliser les tests avec des béliers font que cette méthode n'est pas utilisée en élevage et qu'elle est rarement mise en œuvre dans les centres de recherche. Nous pensions, que ce détecteur pourrait offrir une estimation plus réaliste de la libido des mâles.

Pratiquement, les tests individuels en enclos ont été complétés par des évaluations dans un troupeau d'environ 250 brebis, en utilisant les 12 mêmes béliers équipés du détecteur électronique. En revanche, ces béliers n'ont pas été évalués dans le troupeau en automne puisqu'il n'y a pas de lutte à cette période au Domaine du Merle. Des échantillons sanguins ont été pris sur tous les béliers lors des 3 périodes de suivi pour doser la prolactine et la testostérone. Des pesées et des mesures de circonférences testiculaires ont également été effectuées. D'une manière générale, tous les mâles ont été traités de la même manière au cours de cette expérience qui a duré plus d'un an.

An automated method for the evaluation of ram libido in real mating conditions

M. Alhamada [1], N. Debus [1], F. Bocquier [1,2†]

[1] *INRA, UMR 868 Systèmes d'élevage méditerranéens et tropicaux, F-34060 Montpellier, France*

[2] *Montpellier SupAgro, Dept. MPRS, F-34060 Montpellier, France*

[†]E-mail: bocquier@supagro.fr

Short title: Automated estimation of ram libido

Abstract

We investigated if sexual behaviour of rams can be assessed with an electronic Alpha-Detector which automatically records mounts of mating rams. To evaluate the rams' libido (i.e. all sexual activities), we used six intact and six vasectomised rams in pen tests in three different seasons (late spring, autumn and early spring) In the pen tests, their sexual behaviour was divided into pre-copulatory and copulatory behaviours. The pen tests consisted of 30-minute visual observations of each ram placed in a group of six Merino ewes (three ewes in oestrus and three ewes not in oestrus). As a validation of the detector, 12 rams were equipped and visually observed counting the number of mounts with 18 oestrous ewes over a period of 3 days. Of the 1,191 mounts visually identified in the six 30-minute sessions, 1,026 were recorded automatically by the detector (i.e. 94%). The paddock test is an automated method consisting of the same rams wearing an electronic device and placed in a flock of approximately 250 Merino ewes on two occasions (late spring

[spring 1] and early spring of the following year [spring 2]), their copulatory activities were automatically recorded over a period five days. The results of the pen tests in the three seasons revealed no difference between the two types of rams (breeding vs. detecting rams). Based on live observations high correlations (r= + 0.81; P < 0.003 for breeding and r = + 0.76; P < 0.02 for detecting rams) were found between pre-copulatory and copulatory behaviours). The libido of the two types of rams measured in pen tests showed high repeatability across the three seasons (83% and 75%, P < 0.05 for copulatory and pre-copulatory behaviours respectively). When measured automatically in paddock tests over two consecutive springs, even higher repeatability was observed in both breeding (94%; P < 0.01) and detecting rams (97%; P < 0.004) in the number of mounts. In addition, high correlations (+0.89 < r < +0.94) between copulatory behaviours, as measured by live observations, and those measured by the device were obtained. The automatic measurement of ram libido in paddock tests appears to be more reliable than pen tests and far less time consuming. We therefore recommend this automated method to estimate the libido of rams. In addition, this method can be used at any season of the year provided that ewes in oestrus are present in the flock.

Keywords: Ram, Sexual behaviour, Libido, Season, Electronic recording device

Implications: Two types of rams are frequently used in flocks, intact rams for breeding and vasectomized rams for oestrus detection. Both types are expected to express vigorous sexual behaviour which is needed for successful reproduction. However pen tests of ram libido are seldom used on farms because the procedure is too complicated and time consuming. We demonstrate that a recently designed automated oestrus detector worn by rams provides a reliable estimate rams' libido in the paddock and requires little investment in time and labour.

Introduction

Reproductive performance of sheep flocks fluctuates widely between farms and even within the same farm. Ram sexual activity is often cited as one among many possible interfering factors. This is not surprising since notable differences in sexual behaviour among rams have been reported for many years (Price, 1987). In addition, several studies have shown that a large proportion of the rams used for field service are not fit for mating due to a low sexual performance rate or even a total lack of libido (Price, 1987; Alexander *et al*., 2012; Gouletsou and Fthenakis, 2010). Good management thus requires complete evaluation of the rams before the reproductive season. Such evaluations are performed but seldom include an assessment of the libido and sexual activity of the rams even though the use of males with high libido makes it possible to reduce the number of males used for field service, thus reducing their cost (Alexander *et al*., 2012). There is thus growing interest in investigating consistent individual differences in sexual behaviour in studies of animal reproduction.

The libido of the ram (first mentioned by Wodzicka-Tomaszewska *et al*., 1981; Price *et al*., 1992; Stellflug *et al*., 2008) can be estimated by counting the number of

sexual activities per unit of time during individual tests, which is currently the most common method used for sheep. The evaluation of each ram requires at least 30 minutes of observations, which need to be repeated on at least six occasions to account for factors of variation (Stellflug and Berardinelli, 2002). Among these factors, variability in oestrus intensity can be partially limited by using several ewes at the same time (Gouletsou and Fthenakis, 2010; Alhamada *et al*., 2016). However, this method is time consuming and laborious and a simple, fast, reliable and inexpensive alternative is needed to estimate ram libido. Another open question is the best time of the year and the frequency of the evaluation. Very few studies have reported on the repeatability of sexual behaviour and those that did reported a wide range of results (54%: Purvis, 1985; 42%: Kilgour, 1985 and 72%: Snowder *et al*., 2002). The reasons the repeatability estimates differed among these studies are not clear (breed, age, experience) but may also be due to methodological problems (i.e. uncontrolled experimental conditions), all of which underline the advantage of an automated method.

Positive associations between rams with high sexual performance and ewe fertility have been reported (Kilgour, 1993; Alexander et al., 2012), but other authors (Mickelsen et al., 1982) found little relationship between ram sexual performance and flock fertility. This variability could be due to inaccurate evaluation of ram libido in pen tests, which do not correspond to real mating conditions. Variability could also be due to the type of ewes used in the pen tests: either ewes in natural oestrous, or oestrous synchronized intact ewes or oestrous induced ovariectomized ewes (Avdi *et al*., 2004; Price *et al*., 1992) or even non-oestrous ewes (Ungerfeld, 2012). Another difficulty is that sheep are seasonal breeders; rams exhibit seasonal fluctuations in testicular volume as well as in sexual behaviour (Tulley and Burfening, 1983; Rosa

and Bryant, 2003) resulting from variations in photoperiod (Ortavant *et al*., 1988; Avdi *et al*., 2004). Some breeds have been reported to be almost completely or intermittently seasonal (Rosa and Bryant, 2003), while the Merino breed has a long breeding season (Teyssier *et al*., 2011). Typically, sexual activities are high at the end of the summer and in autumn and low at the end of winter and in spring (Rosa and Bryant, 2003). The best conditions in which to evaluate ram libido are not known. Lastly, the common practice in many French flocks is to use intact rams of the same breed as the ewes for breeding, and vasectomized rams of another breed for oestrus detection. This practice is preferred because it is easy to monitor the sexual activity of ewes in the flock without risk of fecundation. It is currently not known if vasectomy and the difference in breed between rams used for detection and rams used for mating enables better detection of oestrus than using rams of the same breed.

The aims of the present study were to 1) analyse the repeatability of the results of evaluations of ram libido at different seasons in individual pen tests, 2) compare the results of evaluation of ram libido in pen tests with evaluations using a simple automated method using the same rams mating in the flock in the paddock, and 3) compare the new automated method for the estimation of libido in two types of rams: breeding rams and detecting rams.

Material and methods

The rams used for these experiments were six sexually experienced intact breeding Merinos d'Arles rams and six sexually experienced vasectomised Mourerous rams used for oestrus detection. The same three to four-year old rams (intact: 3.8±1.2 years old and vasectomized: 3.5±0.8 years old) were used in all the different tests (Fig. 1). All the males were treated in the same way during the experiments. Except

when they were in the pen tests, the rams grazed in the pasture for 8-10 hours a day with 50 other rams belonging to the same flock. The eyes, teeth, and legs of the rams were examined regularly to check their general health and their body condition, the testes were palpated, and wool sheared to avoid reducing the ram's ability to mount and serve normally. One of the detecting rams died during the summer after the first spring and was replaced by another detecting ram. The results presented here were obtained from the five rams observed in all three seasons. The study was conducted at SupAgro and INRA Le Merle Experimental station, Montpellier, located Lat. 43.64°N, Long. 5.02°E. All the experiments were approved by INRA and by the Montpellier Regional Ethics Group and complied with the Animal Research Act 1985 in accordance with ethical principles laid down in the European Union directive 2010/63/EU.

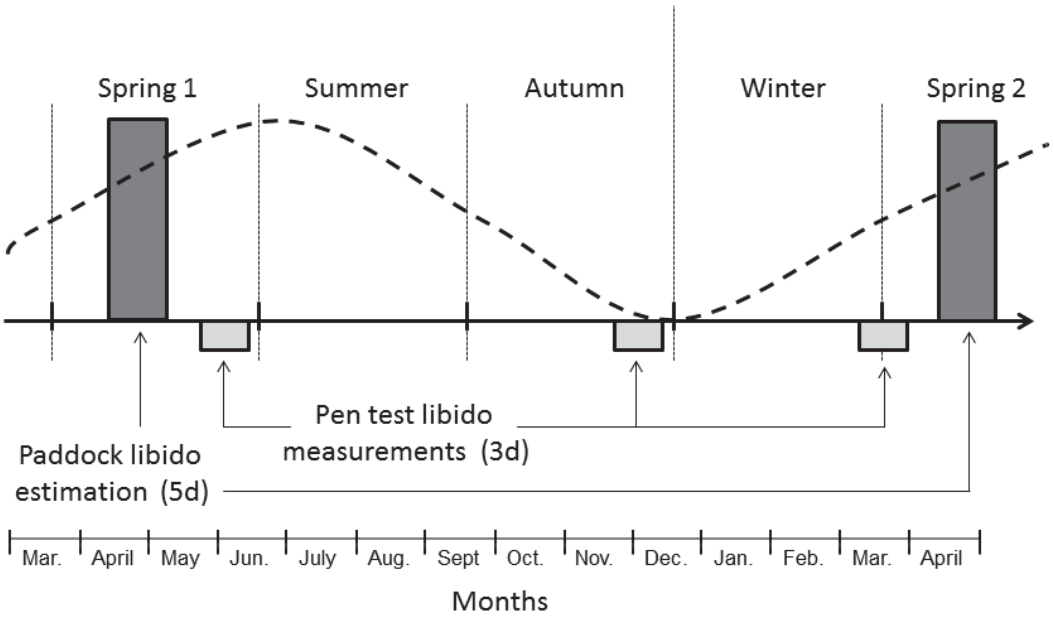


Figure 1. *Schematic diagram of the experimental design: Pen tests (light grey rectangles) were composed of 3 individual tests on penned rams across the 3 seasons. Paddock tests (dark grey rectangles) consisted of automated measurements of the number of mounts performed by the same rams mating in the flock. The dashed line shows variations in day length and/or seasons.*

142 *Libido pen tests*

143 The pen tests were conducted at three different seasons (Fig. 1): late spring
144 (May), late autumn (December) and early spring (March) of the following year. At
145 each season, the 12 rams were individually exposed to two groups of six
146 unrestrained ewes: three ewes in hormonally induced oestrus and three others in
147 artificial luteal phase. The rams were evaluated using the method of Price et al.,
148 (1992) and Ungerfeld (2012). In the morning session of the first day each ram was
149 placed in the pen with a group of 6 ewes for a 30 minute observation period and
150 again on the afternoon session with another group of 6 ewes. On the second day the
151 rams were not tested, but allowed to rest. On the third day, the rams were tested
152 twice using two new sets of 6 ewes each. This design was repeated until all the rams
153 had been observed 6 times on 3 separate days. To avoid any effect of the order of
154 passage, rams were randomly tested and a minimum interval of four hours was left
155 between the morning and afternoon sessions. Ewes and rams had free access to
156 water and all animals were fed before and after the tests.

157 To have 6 ewes in oestrus on each test day, 8 to 10 mature ewes were
158 removed from the flock and hormonally synchronized. Synchronised oestrus was
159 achieved by inserting vaginal sponges impregnated with 40 mg FluroGestone
160 Acetate (Chronogest CR, Intervet Toulouse, France) and leaving them in place for 14
161 days. After the sponges were removed, oestrus was synchronized with an injection of
162 gonadotropin (400 IU equine Chorionic Gonadotropin, eCG; SYNCRO PART®
163 PMSG, Ceva Santé Animale, Libourne, France). For each test day, six receptive
164 ewes were chosen among the synchronized ewes, after they were seen to be
165 receptive in tests with intact rams not involved in this experiment. After transport to
166 the experimental barn, the ewes were placed in two adjacent test pens containing 3

control ewes which had carried vaginal sponges for ten days to ensure that they were not in oestrus. Therefore one group of 6 ewes containing 3 ewes in oestrus and 3 ewes not in oestrus were used in the morning session and another group of 6 ewes containing 3 ewes in oestrus and 3 ewes not in oestrus were used the afternoon sessions.

Each individual ram's test lasted 30 minutes. The rams were able to engage in sexual behaviours and mount the ewes but copulation was prevented by an apron worn by the ram. The ewes could not escape from the ram. During the test, all the sexual behaviours of the male towards each female were manually recorded during live visual observation. Two observers were used for each session, one observer per pen. The observer was hidden behind a tarpaulin at an elevation of about 2 m that gave him a clear view of what was going on inside the 5 m x 5 m pen. The occurrence of seven behaviours indicative of ram sexual activity were recorded i.e. anogenital sniffing, leg kicks, emission of sounds, head on the rump, attempted mount, mount and flehmen (Price *et al*., 1992; Ungerfeld., 2012). As proposed by Fabre-Nys (2010), after counting, the behaviours were grouped into pre-copulatory behaviour (hereafter referred to as pre-behaviour) including anogenital sniffs, leg kicks, emission of sounds and head on the rump, and copulatory behaviour (hereafter cop-behaviour), the latter comprising the sum of number of attempted mount and mounts.

We also used the pen test to evaluate the efficiency of the Alpha-Detector® (AD; Wallace, Cardet, France; see description in the following paragraph) in counting the number of mounts. The same 12 rams were equipped with a detector and observed counting the number of courtship interactions with 18 oestrous ewes over a period of 3 days. Of the 1,191 mounts visually identified in the six 30-minute

192 sessions, 1,026 were recorded automatically by the detector (i.e. 94%). The following
193 calibration was obtained for the automated method N°.AD.Mounts = + 0.934 x
194 N°.Obs.Mounts ± 3.07; R^2 = 0.997; n=12). This equation confirms the slight
195 underestimation (94% or 93.4%) with the automated method compared to visual
196 observations. It also fully agrees with our previous independent measurements (93%;
197 Alhamada et al., 2016).
198
199 *Paddock tests: Automated evaluation of the rams' libido in the flock*
200 We hypothesized that the Alpha-Detector® (AD; Wallace, Cardet, France),
201 previously validated for detection of oestrus in ewes (Alhamada *et al*., 2016), and
202 also validated in the present experiment, would allow automatic evaluation of the
203 rams' libido. Here we were more interested in the number of mounts performed by
204 each ram than by the ewes' behaviour. The mounts automatically recorded with the
205 detector were assessed on two occasions during the mating periods of the
206 experimental flock (Fig. 1): i.e. 15 days before the individual pen tests in the first year
207 (spring 1) and 15 days after the end of third individual pen tests in the following year
208 (spring 2).
209 The rams that were freely mating in the paddock (3 to 5 ha) were left in a flock
210 for evaluation of their libido. They were equipped with the electronic detector in the
211 form of a special RFID reader placed between the front legs of the ram. Its RFID
212 antenna is triggered to read the RFID identification number of the mounted ewe. At
213 each mount, the identifier worn by the female is read, and the exact date and time is
214 recorded in a file. On request, the stored data are remotely transferred from the AD to
215 a handheld device (Alpha-Receptor®, Wallace, Cardet, France) or to a laptop
216 connected at a specified radio frequency. The remote transfer of data (> 100 m) is by

a radio frequency signal with no intervention on the rams. Before the paddock tests, all the females in the flock were equipped with a Half Duplex (HDX) Tiris® Glass Transponders (32×3.8 mm; model RI-TRP-WR2B; GIOTEX, Barcelona, Spain) which complies with 11784/11785 ISO standard for animal identification. The detecting rams were placed in a flock of approximately 250 grazing Arles Merino ewes for 15 days. Thereafter, the detecting rams were replaced by breeding rams which were also equipped with the detector. The same procedure was repeated in April of the following year (spring 2) with approximately the same number of ewes. In all cases, the individual number of mounts was used to estimate the rams' libido. Due to variations in the number of ewes in natural oestrus in the flock at different periods, the data were normalized using a period of five successive days with the highest number of ewes in oestrus. It is worth noting that all these measurements were obtained using rams capable of ejaculation (i.e. not wearing an apron).

Animal measurements, blood sampling and hormone assay

Originally, we assumed that scrotal circumference (SC) and some serum hormone i.e. testosterone (T) or prolactin (PRL) concentrations of the rams would provide information on the rams' libido. The rams were restrained in a sitting position. The scrotal circumference of each ram was measured at the widest scrotal diameter using a flexible tape measure before each individual series of tests in all three seasons. Before the individual pen tests in each of the three seasons, a sample of blood was collected from the jugular vein of each ram in heparinized and EDTA tubes (Terumo Venosafe™ tubes 10 ml, K2-EDTA, Lithium-Heparin), immediately transported to the laboratory and centrifuged at 3,500 rpm for 20 min at +4 °C. The harvested plasma was stored at −20 °C pending analyses. Plasma concentrations of

prolactin (oPRL) were quantified in duplicate (2 × 100 µL) using a radio-immunoassay according to the procedures described by Kann (1971) in which the PRL is I125 iodinated. All the samples were analysed in a single assay, the intra-assay coefficient of variation was 7.7%. The concentration of testosterone (T) in the plasma was measured in a single batch by enzyme immunoassay using a commercial diagnostic kit (Testosterone Enzyme Immunoassay Test Kit, Medix Biotech Inc., CA).

Statistical analysis

Data are expressed as means (±SD). Data were analysed using the R software package (V. i836 3.2.2) according to the following model:

$Y_{ijklm} = M + S_i + G_j + D_k(S_i) + R_l(RS)_{li} + SiGj + E_{ijklm}$ where Y_{ijklm} is the dependent variable, M is the general mean, Si is the effect of season (i= late spring or late autumn or early spring), Gj is the effect of the type of ram (j= detecting or breeding rams), Dk(S)i is the day test effect (nested within each season, with k ranging from 1 to 3), Rl is the random ram effect (l ranges between 1 to 12), (RS)li the ram × season interaction, SiGj is the season × ram type interaction, and Eijklm is the random residual error of the model. As the interactions were non-significant they were not retained in the final analyses.

Dependent variables in the statistical models are sexual activities grouped as copulatory behaviour (cop-behaviour) and pre-copulatory behaviour (pre-behaviour). Multiple comparison Tukey tests were used to compare means (Brillinger *et al*., 2004). Spearman's correlation coefficient was also used to estimate repeatability (Bell *et al*., 2009). The rams were ranked according to the number of sexual activities

266 or mounts. Friedman's nonparametric repeated measure model was used to analyse
267 the ranks.
268

269 **Results**

270 The mean live weights (LW) of the breeding and detecting rams were similar (80±6
271 kg vs. 79±5 kg, p > 0.1 respectively), neither was there a noticeable difference in
272 weight from one season to another (p > 0.9; Table 1). In contrast, the mean scrotal
273 circumference (SC, Table 1) of the breeding and detecting rams varied (*P* < 0.0001)
274 over the year and depending on their sexual status (*P* < 0.02). In the breeding Merino
275 rams, the mean SC increased (*P* < 0.001) from late spring (38.0±2.7 cm) to autumn
276 (39.9±3.1 cm) and decreased significantly between autumn and the following spring
277 (35.7±2.7 cm). Detecting rams exhibited the same response to the changing season:
278 the minimum SC mean (34.9±4.2 cm) was measured in late spring and the maximum
279 in autumn (39.2±3.4 cm). Low non-significant correlations were observed between
280 LW and SC (r = +0.25 v. r = +0.22 in breeding and detecting rams, with *P* = 0.6 and
281 0.7 respectively).

282

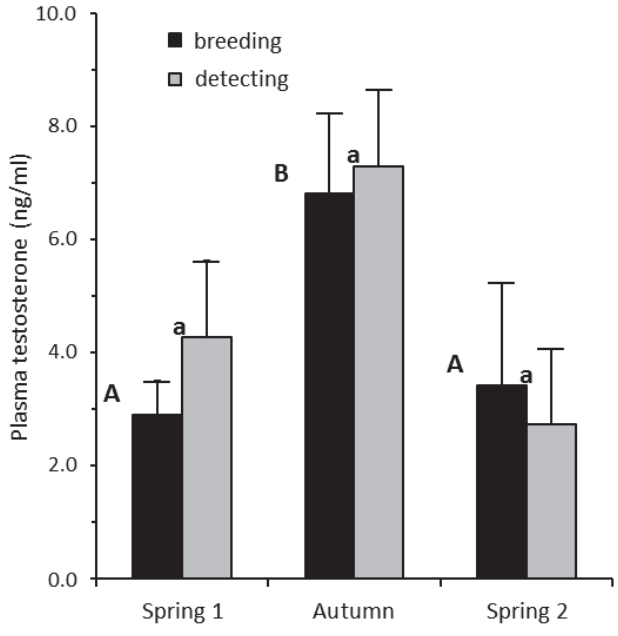


Figure 2. *Variations in plasma testosterone across the seasons in the breeding (black areas) and detecting rams (grey areas). Different letters show statistical differences (P < 0.05) between seasons (capital letters) or breeding vs. detecting rams (small letters).*

292 A significant difference ($P < 0.001$) in the concentration of plasma testosterone
293 was found between rams (0.9 ng/ml for the lowest and 12.3 ng/ml for the highest).
294 There were significant differences ($P < 0.05$) between the seasons with higher mean
295 concentrations in winter (7.05±1.7 ng/ml) and lower concentrations in late spring
296 (3.06±0.9 ng/ml; Fig. 2). There was no difference between breeding and detecting
297 rams: 4.4±2.0 ng/ml in breeding and 4.8±3.2 ng/ml in detecting rams. However a
298 positive correlation was observed between the concentration of testosterone with SC:
299 r = +0.24 ($P < 0.05$) and with LW: r = +0.37 ($P < 0.05$). The mean logarithmic value of
300 the concentration of prolactin (PRL) across all three seasons was also highly variable
301 (CV = 86%), and non-significantly different in PRL (57.8±1.77 vs. 72.9±2.17 vs.
302 47.8±1.62 ng/ml for spring 1, winter and spring 2 samples, respectively).

303

304 *Sexual behaviours of rams during pen tests*

305 **Table 1:** Sexual behaviours (numbers of activities per 30 minutes) of breeding or detecting rams measured in the pen test across

306 the three seasons and analysed with the complete model. Values indicate the effects of each factor for each level. Scrotal

307 circumference (SC; cm) and live weight (LW; kg) subjected to the same statistical model are also given.

308

Variables	Overall mean	Season				Sexual Status			Ram	Interactions	
		Late spring	Autumn	Spring	Stat.	Intact	Vasectomised	Stat.	Stat.	Variate, or Factors	Stat.
Sexual behaviours											
Pre-copulatory	235.95	+ 10.05a	- 49.25b	+ 39.05a	p=0.0001	- 26.17	+ 26.17	p= 0.01	p=0.0001	season*ram_type	p>0.36
Copulatory	18.85	+ 2.95a	- 1.25ab	- 1.65b	p=0.05	- 0.10	+ 0.10	p>0.90	p=0.0001	season*ram_type	p>0.10
Sexual characteristics											
SC (cm)	37.38	- 0.56a	+ 2.19b	- 1.63c	P=0.0001	+ 0.83	- 0.83	p=0.02	p=0.001	season*ram_type	p>0.07
Live Weight (kg)	79.55	- 2.88	+ 2.02	+ 0.86	p>0.9	+ 0.83	- 0.83	p> 0.17	p>0.09	season*ram_type	p>0.09

309 Means for each effect in the same line with different superscript differed significantly at p = 0.05

310

311 During the individual pen tests, all the rams showed greater interest in oestrus
312 ewes than in ewes in artificial luteal phase. Rams displayed no copulatory behaviour
313 (attempted mounts or mounts) toward the ewes in luteal phase and only 9% of their
314 total pre-copulatory behaviours were directed towards them. The other behaviours of
315 rams towards the non-oestrus ewes were very similar, the main sexual activity was
316 anogenital sniffing (46% for breeding rams and 44% for detecting rams). These
317 individual tests also revealed that both the season and the detecting and breeding
318 rams had a significant influence on the pre-copulatory behaviour of rams towards the
319 ewes in oestrus (Table 1). The mean number of pre-copulatory behaviours
320 decreased ($P < 0.05$) from spring to autumn then increased again the following
321 spring. The results concerning the pre-copulatory behaviours are summarized here
322 as a simplified ethogram to estimate the ram's (breeding and detecting) libido using
323 the electronic device. The most frequent pre-copulatory behaviour was head on the
324 rump (88.5±23.5 times/ram/30 min period) and leg kicking was the least frequent
325 (32.8±21.4 times/ram/30 min period), anogenital sniffs was (40.9±11.7 times/ram/30
326 min period), and emission of sounds (74.4±44.9 times/ram/30 min period). The
327 breeding or detecting rams only had a significant influence on the number of sound
328 emissions ($P<0.001$). There was no difference in copulatory activity in the breeding or
329 detecting rams ($P = 0.9$; Table 1) but behaviour was affected by season ($P < 0.05$).
330 The rams' copulatory activities (attempted mounts and mounts) were more frequent
331 in late spring than in any other season. Significant differences ($P < 0.05$) were found
332 between late spring in the first year (21.7±6.4 times/ram/30 min) and early spring in
333 the second year (17.1±6.5 times/ram/30 min). These differences ($P < 0.05$) were due
334 to the number of mounts counted in first year (19.6±7.7 times/ram/30 min) and in the

second year (15.2±6.9 times/ram/30 min). Attempted mounts, which only represented 10% of copulatory behaviour (2.1±0.88 times/ram/30 min), did not differ (P > 0.17) over the three seasons, but were significantly (*P* < 0.002) affected by the type of ram: breeding rams made more attempts than detecting rams (Table 1).

The analysis of the rams' behaviour revealed significant differences (0.01 < *P* < 0.001; Table 1) between individuals in all types of sexual behaviour. In this study we focused on mountings which were measured both by visual observation and by the electronic device. On average, the highest ranked rams for number of mounts (30.0±1.8 and 24.0±5.7, for breeding and detecting rams respectively) mounted approximately three times more than the lowest ranked rams (10.4±7.3 and 11.8±6.4, for breeding and detecting rams respectively). In the series of pen tests, the correlations between copulatory and pre-copulatory behaviours were high with overall r=+0.81 (*P* < 0.003; n=18; i.e. 3 repetitions of 6 tests) for breeding rams and r=+0.76 (*P*<0.02; n=18) for detecting rams during the nine 30-min tests.

Data collected on the sexual behaviour of rams in the pen tests during the three seasons showed high repeatability of sexual activity from one season to another. When the individual rams were ranked from 1 to 6 based on their copulatory and pre-copulatory behaviour the repeatability of breeding and detecting rams was 83% and 75% (*P* < 0.05 respectively) as measured over the three seasons. When the rams were classified in groups of high vs. low sexual activity, as widely reported in the literature, the repeatability of estimated libido increased to 93% (copulatory and pre-copulatory behaviours) for the breeding rams and to 92% for the detecting rams (93% for pre-copulatory behaviours and 90% for copulatory behaviours.

Paddock tests: Libido of rams when mating in the flock

With Alpha-Detector it was possible to record all the mounts performed by rams during 5 days. We observed that mounting activities of rams occurred at any particular time of day or night with a tendency to occur more frequently in the afternoon (Fig. 3). The average number of recorded mounts per ram over each full 5-day period was expressed on a daily basis i.e. 24 h/day. As hypothesised, the overall mean daily mounts per ram (60±40 mounts/ram/day) measured over two seasons varied considerably (CV= 65%). There was no significant difference between breeding and detecting rams (resp. 62±53 v. 59±17 mounts/ram/day). Differences between rams in successive years (70±50 vs. 52±27 mounts/ram/day in spring 1 and spring 2, respectively) were stable. Very high repeatability in the average daily number of mounts in the two successive years was found for both breeding (94%; $P < 0.01$) and detecting rams (97%; $P < 0.004$), showing that the ranking of the rams within their own group remained stable across years.

Figure 3. Nyctohemeral evolution in the hourly mean number of mounts per ram measured in 6 breeding rams over a period of 4 full days in same season in two consecutive years (spring 1 and spring 2). The time of natural sunrise and sunset are indicated in the figure and the dotted lines indicate the mean adjusted number of mounts adjusted to each hour of the day.

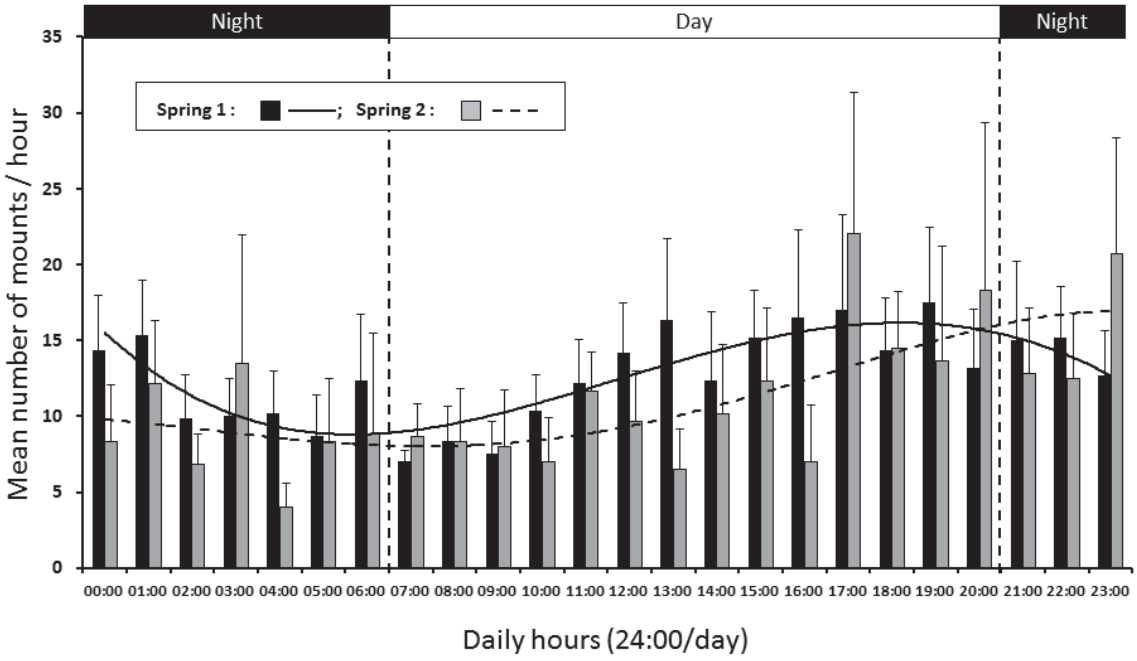


Figure 3. *Nyctohemeral evolution in the hourly mean number of mounts per ram measured in 6 breeding rams over a period of 4 full days in same season in two consecutive years (spring 1 and spring 2). The time of natural sunrise and sunset are indicated in the figure and the dotted lines indicate the mean adjusted number of mounts adjusted to each hour of the day.*

Discussion

The effect of season, especially photoperiod, on fluctuations in the sexual behaviour of rams, hormonal levels, and also in testicular volume has been analysed in many studies (e.g. Ortavant *et al*., 1988; Rosa and Bryant, 2003; Avdi *et al*., 2004). In several studies, these variations were accompanied by fluctuations in live weight (Chemineau *et al*., 1988; Avdi *et al*., 2004; Ungerfeld., 2012). In our study, under normal feeding management (mostly grazing), the live weight of rams was almost stable, which might have masked seasonal variations. As expected, the scrotal circumference of both breeding and detecting rams varied across the seasons and is comparable with measurements published for other Mediterranean breeds (Avdi *et al*., 2004). However, these variations were only partially accompanied by seasonal

fluctuations in sexual behaviour and hormonal levels (prolactin and testosterone). The seasonal variations in testicular circumference observed in the present study although significant because they concerned the same rams, were of limited amplitude. Scrotal circumference reached maximum in autumn, when the days are shortest, and pre-copulatory behaviour was maximum but copulatory behaviours were not. This unexpected discrepancy in copulatory behaviour may be due to the non-mating season of this breed, because in Mediterranean systems, mating occurs in spring rather than in autumn or winter and we used experienced rams. However, as expected, reduced testis size in spring was measured in both years, and an increase in size as the sexual season progresses toward autumn has been reported in many studies (e.g. Chemineau *et al*., 1988; Avdi *et al*., 2004). In the present study, the changes in testosterone plasma were identical in the breeding and detecting rams (Fig. 2). The maximum testosterone levels, which were measured in winter, were associated with the testicle diameters, which increased in autumn. Hence the modest changes in the reproductive performances of breeding and detecting rams across the seasons may be due to the fact that, in our experiment, they were not subjected to changes in feeding status.

As hypothesised, the libido of the Merino breeding rams used to sire the Merino ewes was very similar to that of the detecting rams (i.e. vasectomised Mourerous) used in this flock. Both breeding and detecting rams exhibited no more than 10% of their pre-copulatory behaviour and no copulatory behaviour at all towards ewes not in oestrus when they were placed in a group with an equal number of ewes not in oestrus. It is well known (Blissitt *et al*., 1990) that rams are able to distinguish between ewes in oestrus and ewes which are not, and are also able to pick out a ewe newly in oestrous through odour (Blissitt *et al*., 1990). This fact

421 underlines the need for the presence of ewes in oestrus for the rams to be able to
422 express their real sexual activity, i.e. libido, because rams placed among ewes not in
423 oestrus exhibit incomplete sexual behaviour. Some authors (Ibarra *et al*., 2000;
424 Ungerfeld, 2012) nevertheless studied male sexual behaviour using non-oestrus
425 ewes.

426 When evaluating ram libido in pen tests, several factors need to be taken into
427 account (Gouletsou and Fthenakis, 2010; Wodzicka-Tomaszewska *et al*., 1981)
428 including the order in which the rams take the test, the ewe's value as a stimulus,
429 whether the ewe has just been mounted, and the stage of oestrus of the ewe. One
430 study (Ibarra *et al*., 2000) reported that a 20-min test is sufficient to evaluate ram
431 libido, whereas Stellflug and Berardinelli (2002) reported that an 18-min test was not
432 sufficient and that six repetitions of a 30-min test per ram were required to evaluate
433 the serving capacity of a ram with 95% reliability. Our experimental design was based
434 on Stellflug and Berardinelli's (2002) recommendations, and we used six repetitions
435 of a 30-min test in each season. Although our observations confirmed that sexual
436 activity declines slightly during the course of the 30-min tests (data not shown),
437 accumulating data over the 30-min period improved the reliability of the results. To
438 date, we consider these observational pen tests to be the best available method for
439 the evaluation of rams' libido even if they are time consuming. The time needed to
440 prepare the 6 groups of 6 ewes so they would all be in oestrus at the time of pen
441 tests, to check the ewes were in oestrus, to conduct the observations, to handle the
442 12 rams at 30 minute intervals, to process and analyse the data, and to rank the
443 rams, was 8 hours per day per worker for a period of 15 days (i.e. a total of 120
444 hours). The time needed to evaluate the same number of rams (12) using the
445 electronic device for paddock tests including the time needed to install the electronic

device on each ram, to collect data every second day plus a few minutes of computer calculations required 4 hours for one worker (i.e. 0.16 day). Adding the time needed to glue the transponder on the back of the 250 ewes, which has to be done once, increased the total time required up to 3 days for a worker. The paddock test thus only needs one worker while the pen test needs 3 workers. Hence, this method of evaluating the libido of 12 rams only needs 3 working days whereas the standard pen test method needs 15 working days.

The libido of each ram, tested across three seasons with pen tests, showed high repeatability from one season to another: repeatability coefficients of pooled breeding and detecting rams were 83% and 70% for copulatory and pre-copulatory behaviours respectively. Previous studies have already highlighted the good repeatability of ram sexual behaviour, but a wide range of results has been reported (54%: Purvis, 1985; 42%: Kilgour, 1985 and 72%: Snowder *et al*., 2002). The reason repeatability estimates differed between studies is not clear, but differences in breeds, in the age of rams and in performance testing methods are possible causes. Since it has been reported (Barwick *et al*., 1985) that repeatability rates can be lowered by fairly inactive rams, the high repeatability rates observed in the present study might be due to the fact that our rams were selected for either breeding or detecting the ewes. If we classify the rams using the method described by several authors (Mickelsen *et al*., 1982; Price *et al*., 1992; Kilgour., 1993 and Alexander *et al*., 2012), which consists in dividing the rams of high and low libido groups, the repeatability of our results would be 92%.

In all the studies which compared the rams' sexual activity measured in a pen and their sexual activity observed in a flock (Mattner *et al*., 1971; Salmon *et al*., 1984; Kilgour, 1993; Ibarra *et al*., 2000) the visual observations of rams only lasted a few

hours. With the electronic detector used in our study, it was possible to continuously record the number of mounts performed by rams over a period of five days including nights. In addition, some animal behaviour studies mentioned that estimated repeatability was higher in the field than in the laboratory (Bell *et al*., 2009). The high correlations between the average number of mounts obtained on two occasions in the pen and the number of mounts in the flock in spring 1 (r = +0.89) and spring 2 (r = +0.94) proved that the electronic detector worn by mating rams provides a reliable indication of their sexual activity. Even if some previous studies (Mickelson *et al*., 1982) found no correlation between libido scores of rams in pen tests and their sexual activity in the flock, one other study (Mattner *et al*., 1971) reported similar but lower results (r=+0.70) than ours. Our good results might be due to the prolonged (five days plus nights) automatic recording without being disturbed by the presence of humans. Our records show that the sexual activity of breeding rams (number of mounts/hour) from 9 pm to 7 am is quite high although the maximum mean number of mounts occurred in the late afternoon. This means that the pen tests were not conducted at the time of maximum sexual activity observed when rams mate freely. Since the sheep in our flock were permanently out at pasture, we do not have a simple explanation for the difference between the day and the night, aside from the fact that sheep graze during daylight. In addition, when the ewes gather together at night, or during the afternoon, the rams may find it easier to detect ewes in oestrus; on the other hand, high ambient temperatures during the day may reduce the rams' sexual activity. Although the number of ewes in oestrus in the flock varied from day to day, we believe that the sexual activity measured in paddock is more representative of reproductive performance of rams than that measured in the pen tests. In addition, rams' sexual behaviour is enhanced by competition between males (Ungerfeld,

2012), and is stimulated by olfactory cues that to a large extent account for the transfer of information among individuals males (Maina and Katz, 1999), which may not happen in pen tests. Furthermore, due to the short duration of pen tests, it is recommended to equip the rams with an apron to prevent copulation and expression of refractoriness, whereas the electronic detector makes it possible to measure sexual behaviour over several days in real conditions.

However, to fully validate the new method in paddock conditions it would be necessary to visually count rams mounting ewes in a flock of several hundred individuals, which was not feasible. Consequently all we could do was to sequentially evaluate rams in a pen test and in the flock of ewes. Due to the high repeatability of mounting activities confirmed here, this hypothesis is sound. The comparison was made by analysing the results obtained in the pen with those obtained in the paddock over periods that were very close (within a fortnight) and on two occasions a year later (in spring 1 and spring 2). The first step of validation was to check the relationship between visually observed mounts and automatically recorded mounts both during pen tests for 12 rams on a thousand mounts (see Materials and Methods). We found that the electronic device underestimated the observed mounts by 7%. This result needs to be compared with the risk of errors made by observers during pen tests. We did not estimate this error, but it has previously been reported to be in the range of 5% (Santos., 2011), which does not disqualify the automated method with its 7% underestimation. Considering the specificity of the automated method to evaluate libido, it will be recalled that libido involves all sexual activities displayed by males. In the pen tests, we observed that rams expressed 9% of their pre-copulatory activities on non-oestrus ewes. Since the Alpha Detector only measures mounts, but not the other behaviours that account for libido scores, an

error of 9% can be assumed, with no risk of a false negative signal, because the rams did not mount non-oestrus ewes. Hence, the specificity of this automatic method is 91% because there is no reason to think it would be different in a flock containing spontaneous oestrus and non-oestrus ewes. The sensitivity of the mount measurement device was calculated as the ratio of true positive to true positive + false negative (i.e. 93% / (93%+7%) = 93%. A sensitivity of 93% means that rams with the same libido score within a 7% range cannot be distinguished. The precision of this device was calculated as the ratio of true positive to true positive + false positive (i.e. 93% / (93%+0%) = 100%). Such high precision is the direct result of the impossibility to obtain false positive results (FP=0%) because the Alpha Detector cannot read the RFID transponder of a ewe in the absence of a mount.

The fact that the repeatability of libido scores across the seasons was higher with the detector for both breeding (94%) and detecting rams (97%), than copulatory behaviour measured in the pen test for both breeding (70%) and detecting rams (83%), leads us to recommend the automated measurement of libido as the new reference method.

Conclusion

Up to now the reference method used to estimate the libido of rams, the pen test, relies on a standardised artificial environment and short periods of visual observations. This method is 5 to 30 times more time-consuming than the automated method described here which can be performed, without any facility other than a classical paddock and ewes in oestrus. In this paper, we demonstrated that mounting behaviour per se, counted in the flock over a period of several days, is as reliable as the libido scores obtained by visual measurements in pen tests. Due to the stability of

546 the mating behavioural repertoire of male sheep, i.e. high correlations between
547 copulatory and pre-copulatory behaviours, automated recording the number of
548 mounts provides a reliable estimation of the libido of individual rams. To our
549 knowledge, pre-copulatory behaviours have not been shown to play a determining
550 role in male breeding efficiency. From a welfare point of view, the use of this
551 automated device has several advantages: males are not constrained in an unusual
552 environment, males and females are not stressed by handling, and the limited
553 presence of an observer avoids the effects of human-animal interactions. In addition,
554 there is no need to select ewes in oestrus or to synchronize oestrus through hormone
555 treatments. Finally, for on-farm use, this device can help evaluate both breeding and
556 detecting males, and our study demonstrated that this evaluation can be undertaken
557 in any season provided that females in oestrus are present in the flock. An important
558 question remaining would be to investigate if this automated system can serve as a
559 useful predictor of field performance when used on young males, for which pen tests
560 have been shown to be less reliable. There is a critical need to identify high- and low-
561 performing males at a young age, so selection for breeding can begin earlier.
562

563 **Acknowledgements**

564 This work was part of CASDAR project “ReproBio”. Moutaz Alhamada is supported
565 by a scholarship from the Al-Furat University, Syria. We thank the technical staff of
566 Le Merle experimental station (Montpellier SupAgro); P.M. Bouquet, C. Maton, J.D.
567 Guyonneau and D. Montier, and Montpellier technical staff; G. Viudes. Hormonal
568 dosages were done by A. Tesniere (SELMET, INRA, Montpellier) and PRC
569 laboratory (INRA, Tours). We thank D. Santo of Wallace-Group (Cardet France) for
570 his investment in the development of the Alpha® devices.

571

572 **References**

573

574 Alexander BM, Cockett NE, Burton DJ, Hadfield TL and Moss GE 2012.
575 Reproductive performance of rams in three producer range flocks: Evidence of
576 poor sexual behavior in the field. Small Ruminant Research 107, 117–120.
577 Alhamada M, Debus N, Lurette, A and Bocquier F 2016. Validation of automated
578 electronic oestrus detection in sheep as an alternative to visual observation.
579 Small Ruminant Research 134, 97–104.
580 Avdi M, Banos G, Stefos K and Chemineau P 2004. Seasonal variation in testicular
581 volume and sexual behavior of Chios and Serres rams. Theriogenology 62,
582 275–282.
583 Barwick S, Kilgour R and Gleeson A 1985. Ram mating performance in Border
584 Leicesters and related breed types. 1. Pen test performance and measures of
585 testis diameter. Australian Journal of Experimental Agriculture 25, 9–16.
586 Bell AM, Hankison SJ and Laskowski KL 2009. The repeatability of behaviour: a
587 meta-analysis. Animal Behaviour 77, 771–783
588 Blissitt MJ, Bland KP and Cottrell DF 1990. Discrimination between the odours of
589 fresh oestrous and non-oestrous ewe urine by rams. Applied Animal Behaviour
590 Science 25, 51–59.
591 Brillinger DR, Preisler HK, Ager AA and Kie JG 2004. An exploratory data analysis
592 (EDA) of the paths of moving animals. Journal of Statistical Planning and
593 Inference 122, 43–63.
594 Chemineau P, Pelletier J, Guérin Y, Colas G, Ravault JP, Touré G, Almeida G,
595 Thimonier J and Ortavant R 1988. Photoperiodic and melatonin treatments for

596 the control of seasonal reproduction in sheep and goats. Reproduction Nutrition
597 Development 28, 409–422.
598 Gouletsou PG and Fthenakis GC 2010. Clinical evaluation of reproductive ability of
599 rams. Small Ruminant Research 92, 45–51.
600 Fabre-Nys C 2010. Mating Behavior. In: Koob GF, Le Moal M and Thompson RF
601 (eds.) Encyclopedia of Behavioral Neuroscience 2, *Academic Press,* Oxford*,*
602 178-185.
603 Hulet CV, Ercanbrack SK, Blackwell RL, Price DA and Wilson LO 1962. Mating
604 Behavior of the Ram in the Multi-Sire Pen. Journal of Animal Science 21, 865-
605 869.
606 Ibarra D, Laborde D and van Lier E 2000. Repeatability and relationship with field
607 mating performance of a serving capacity pen test in rams. Small Ruminant
608 Research 37, 165–169.
609 Kann G 1971. Dosage radioimmunologique de la prolactine plasmatique chez les
610 ovins. C R Académie des Sciences Paris, Série D 272, 2808–2811.
611 Kilgour RJ 1985. Mating Behavior of rams in pens. Australian Journal of Experimental
612 Agriculture 25, 298-305.
613 Kilgour RJ, 1993. The relationship between ram breeding capacity and flock fertility.
614 Theriogenology 40, 277–285.
615 Mattner P, Braden A and George J 1971. Studies in flock mating of sheep. 4. The
616 relation of libido tests to subsequent service activity of young rams. Australian
617 Journal of Experimental Agriculture 11, 473–477.
618 Mickelsen WD, Paisley LG and Dahmen JJ 1982. The relationship of libido and
619 serving capacity test scores in rams on conception rates and lambing
620 percentage in the ewe. Theriogenology 18, 79–86.

621 Ortavant R, Bocquier F, Pelletier J, Ravault JP, Thimonier J and Volland-Nail P 1988.
622 Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. Australian
623 Journal of Biological Sciences 41, 69–85.
624 Price EO, 1987. Male sexual behavior. Veterinary Clinics of North America: Small
625 Animal Practice 3, 405–422.
626 Price EO, Erhard H, Borgwardt R and Dally M R 1992. Measures of libido and their
627 relation to serving capacity in the ram. Journal of Animal Science 70, 3376–
628 3380.
629 Purvis IW 1985. Genetic relationships between male and female reproductive traits.
630 Ph.D. dissertation. Univ. New England, Armidale, New South Wales, Australia.
631 Pp 98.
632 R Core Team 2015. R: A language and environment for statistical computing. R
633 Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-
634 project.org/
635 Rosa HJD and Bryant MJ 2003. Seasonality of reproduction in sheep. Small
636 Ruminant Research 48, 155–171.
637 Salmon I, Cognie Y, Orgeur P, Venier G and Signoret JP 1984. Effet du
638 comportement sexuel et de la production spermatique du bélier sur la fertilité
639 obtenue en accouplement naturel. Annales de Zootechnie 33 343–352.
640 Santos, FCB 2011. Thesis, La variabilité dans l'intensité ou l'orientation des
641 interactions sexuelles chez le bélier : étude des structures centrales impliquées.
642 University François-Rabelais. P68.
643 Snowder GD, Stellflug JN and Van Vleck LD 2002. Heritability and repeatability of
644 sexual performance scores of rams. Journal of Animal Science 80, 1508–1511.
645 Snowder GD, Stellflug JN and Van Vleck LD 2004. Genetic correlation of ram sexual

performance with ewe reproductive traits of four sheep breeds. Applied Animal Behaviour Science 88, 253–261.

Stellflug JN and Berardinelli JG 2002. Ram mating behavior after long-term selection for reproductive rate in Rambouillet ewes. Journal of Animal Science 80, 2588–2593.

Stellflug JN, Lewis GS, Moffet CA and Leeds TD 2008. Evaluation of three-ram cohort serving capacity tests as a substitute for individual serving capacity tests. Journal of Animal Science 86, 2024–2031.

Teyssier J, Migaud M, Debus N, Maton C, Tillard E, Malpaux B, and Bodin L 2011. Expression of seasonality in Merinos d'Arles ewes of different genotypes at the MT1 melatonin receptor gene. Animal 5, 329–336.

Tulley D and Burfening P J 1983. Libido and scrotal circumference of rams as affected by season of the year and altered photoperiod. Theriogenology 20, 435–448.

Ungerfeld R 2012. Sexual behavior of medium-ranked rams toward non-estrual ewes is stimulated by the presence of low-ranked rams. Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research 7, 84–87.

Wodzicka-Tomaszewska M, Kilgour R, and Ryan M 1981. "Libido" in the larger farm animals: A review. Applied Animal Ethology 3, 203–238.

3- Discussions conclusions partielles

Nos résultats, au cours des différentes saisons, montrent qu'il n'y a pas de différence entre les deux types de béliers (vasectomisé ou entier) en termes de comportement sexuel. Comme signalé dans la publication 3, il n'est pas possible de comparer le statut sexuel des béliers sans tenir compte de la race (vasectomisés de race Morérous et entiers de race Mérinos d'Arles). Toutefois l'absence de différence valide l'usage qui en est fait au Domaine du Merle. Le fait que les béliers vasectomisés aient une activité pré-copulatoire plus marquée que celle des entiers justifie, a posteriori, le choix de les utiliser pour créer un effet bélier au Domaine du Merle.

La présence de brebis non en œstrus pendant les tests ont permis de montrer la très grande sélectivité des béliers pour les brebis en chaleurs (90 % des activités). Ceci confirme nos observations sur le très faible nombre de chevauchements isolés lorsque les brebis ne sont pas en chaleur (P1 et P2) et justifie d'appliquer un algorithme simple (P2) basé sur la rareté de cet événement pour éliminer automatiquement ces chevauchements isolés. S'agissant de savoir si nous pouvions assimiler le nombre de chevauchements à la libido des béliers, nous avons trouvé une corrélation forte ($r= +0,81$; $n=18$) entre les deux types d'activités (comportements pré-copulatoires et comportements copulatoires**)**. Cette corrélation confirme que la connaissance de l'activité copulatoire (détecteur) recouvre largement les mesures de la libido des béliers (tests).
D'autre part, le classement des béliers sur leurs activités sexuelles se sont avérés très répétables (≈80%) au cours des trois saisons, et ceci aussi bien pour les activités pré-copulatoires que pour les activités copulatoires. De même, nous n'observons pas de différence entre les deux types de béliers: leur classement se maintien. Ceci est confirmé par les mesures effectuées automatiquement avec le détecteur dans un troupeau de brebis, la répétabilité du classement des béliers à un an d'intervalle est de 94%.

Cette expérience qui utilise à la fois des tests de référence sur le comportement sexuel des béliers et des mesures automatiques sur les béliers en conditions pratiques de reproduction des ovins confirme largement nos observations précédentes et celles de la bibliographie (Kilgour., 1993, Stellflug et al., 2008). Compte tenu de la stabilité des registres comportementaux des béliers, nous pouvons considérer que la mesure automatisée des chevauchements fournit une très bonne estimation de la libido des béliers. Bien que nous ayons toujours utilisé des béliers choisis pour la reproduction au Domaine du merle il y a des écarts de 1 à 5 en termes de libido de ces mâles. Enfin, il nous semble que l'ensemble de ces résultats constitue une base solide pour proposer que ce dispositif électronique puisse devenir une méthode pratique pour évaluer les béliers de reproduction. Nos résultats montrent que cette évaluation peut être faite pendant la lutte comme en dehors de la lutte. En revanche, cette expérience n'a pas permis de comprendre l'origine des préférences de certains béliers pour des brebis particulières.

Chapitre 5

Chapitre 5 : Importance du comportement sexuel de la brebis dans la réussite de la reproduction (publication 4 ; P4).

1- Introduction et objectif

Dans les 2 premières publications, nous avions observé que certaines brebis étaient davantage chevauchées que d'autres. Les résultats obtenus, par l'UMR SELMET avec le détecteur de chaleur, lors de la réalisation d'effets bélier dans le troupeau du Merle montrent régulièrement que certaines brebis sont chevauchées à de très nombreuses reprises et par plusieurs béliers (Maton et al., 2014 ; Bocquier et al., 2006). Comme nous l'avons vu dans la partie bibliographique (Chapitre 1), peu d'études ont été conduites chez les animaux domestiques sur l'origine des préférences pour certaines femelles. En revanche, il existe des travaux chez des ongulés sauvages qui confirment cette préférence (Fabre-Nys, 2010 ; Preston et al., 2005).
Suite aux travaux de Debus et al., (2005) et aux observations de terrain qui montrent un effet de l'alimentation sur la reproduction des ovins nous avons décidé d'étudier ce facteur. Sachant que Debus et al., (2005) avaient montré une réduction de la durée d'œstrus chez les brebis sous-alimentées à 40% de leurs besoins, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à l'effet de l'état nutritionnel des brebis sur leur comportement sexuel. L'hypothèse était que la sous-alimentation diminue l'intensité des comportements sexuels des brebis au moment de l'œstrus. Le dispositif expérimental devait nous permette de préciser si cette perturbation portait sur la proceptivité des brebis (elles vont moins au-devant du mâle), sur la réceptivité des brebis (elles répondent moins aux avances du mâle), ou sur leur attractivité (elles intéressent moins les mâles)., eci en les comparants à des brebis normalement alimentées ou suralimentées.

Notre protocole devait comporter un certain nombre de garanties pour éviter la confusion des effets. En particulier nous avons pris le parti de choisir des brebis aussi semblables que possible au départ et de les placer ensuite dans un dispositif alimentaire sur le long terme (3 mois) pour induire des effets contrastés sur leur état nutritionnel final (Maigres, Normales, Grasses). Pour s'assurer de disposer de brebis comparables nous avons effectué un test comportemental complet (Réceptivité, Proceptivité, Attractivité) sur toutes les brebis avant la mise en régime. Enfin, pour dissocier les effets dynamiques (court terme) des effets statiques (long terme) de l'alimentation sur la reproduction (Scaramuzzi et al., 2006 ; Chapitre 1), nous avons effectué des mesures de poids vif et de note d'état (statique) et des dosages de métabolites et d'hormones (dynamique). Bien entendu, un test comportemental complet a été effectué sur ces brebis à l'issue des 3 mois.

Le protocole pratique a été le suivant. Nous sommes partis de quarante-huit brebis Mérinos d'Arles avec une note d'état corporel et un poids vif similaires (NEC= 2,26 ± 0,23 ; PV= 46,6 ± 3,8 kg). Elles ont été évaluées avec un test comportemental complet (Réceptivité, Proceptivité, Attractivité). Une fois ces données acquises nous avons constitué 3 groupes équivalents sur tous ces critères. Ces trois groupes ont reçu des régimes alimentaires contrasté

correspondant à une proportion du besoin d'entretien (BE): Bas = 70% BE; Moyen = 113% BE et Haut = 180% BE). Des échantillons de sang ont été prélevés avant et à la fin de la période de trois mois afin de doser les métabolites plasmatiques (GLU, βOHB, AGNE) et des hormones métaboliques (INS, LEPT). Les différences de comportement sexuel des brebis après l'application des 3 mois de régimes ont été étudiées.

Short title: Mating rams clearly prefer heavy ewes

Sexual behaviour in sheep is driven by body condition and the related nutritional and metabolic status

Moutaz Alhamada[a], Nathalie Debus[a], Eliel González-García[a], François Bocquier[a,b1]

[a]INRA, UMR868 Systèmes d'élevage méditerranéens et tropicaux,

F-34060 Montpellier, France

[b]Montpellier SupAgro, Dept. MPRS, F-34060 Montpellier, France

[1] Corresponding author:

François Bocquier (bocquier@supagro.fr)

UMR SELMET, Montpellier SupAgro

2, Place Pierre Viala, Bâtiment 22

F-34060 Montpellier Cedex 1, France

Tel.: +33(0) 4 99 61 21 12

Fax: +33(0) 4 67 54 56 94

Highlights:

1- The attractiveness of oestrus ewes is strongly driven by their nutritional status
2- The proceptivity and receptivity of oestrus ewes is not affected by their nutritional status
3- When offered the choice, rams prefer to mount ewes in good nutritional status

Abstract:

To evaluate the effects of nutrition on the sexual behaviour of ewes, forty-eight mature (7.6±1.9 years old) Merino d'Arles ewes with an average initial body condition score (BCS= 2.26±0.23) and similar body weight (BW= 46.6±3.8 kg) were fed three contrasting diets for three months. The diets provided varying levels of energy expressed as proportion of Maintenance Energy Requirements (i.e. Low= 70%MER; Medium= 113%MER and High= 180%MER) with the ultimate objective of obtaining different BW and BCS. Blood samples were taken before and at the end of the three-month experimental period to measure plasma metabolites (glucose, GLU; beta-Hydroxybutyrate, βOHB; non-esterified fatty acids, NEFA) and hormones (insulin, INS and leptin, LEPT). The ewes' sexual behaviour, e.g. attractiveness, receptivity and proceptivity, was estimated through normalized pen-tests before and at the end of the experiment after hormonally-induced oestrus. As expected, the dietary treatments induced significant changes in BW (i.e. the final weights were 38.6±2.5, 47.3±3.6 and 55.0±2.2 kg for Low, Medium and High groups, respectively) and BCS (1.33±0.4, 1.90±0.2 and 2.33±0.2 for Low, Medium and High, respectively). The metabolic and hormonal changes were in agreement with the known effects of feeding regimes.

The sexual behaviours of ewes were only partially changed by feeding regimes. While the scores of receptivity (SR) of ewes to males (i.e. number of agonistic interactions with the courting ram) and scores of proceptivity (SP) towards rams (i.e. time spent close to a pen with rams) remained unchanged ($P>0.05$), there were significant ($P<0.001$) changes (Low=2.42; Medium=3.63 and High=4.47; $P<0.001$) in their scores of attractiveness (SA: i.e. a higher score is given to the preferred ewes by rams). This SA was well correlated with the BW

(r=+0.83; P<0.0001) and BCS (r=+0.73; P<0.0001) of ewes, it was also negatively correlated with metabolites (NEFA: r=-0.32; P<0.05) and positively with anabolic hormones (INS: r=+0.42; P<0.01). Combining these variables, the SA is clearly explained (R^2=0.79; P<0.0001; n=36) by a model including the static (long-term) effects of nutrition (BW and BCS) and the dynamic effects of nutrition (NEFA and INS). This work demonstrates that the nutritional status of female sheep, during oestrus, produces efficient cues that clearly orient males in their mating choices.

Keywords: Sexual behaviour; Ewe; Ram preference; Mate choice; Nutrition, Body weight.

1. Introduction

Wild mammals exhibit complex reproductive strategies in which the behaviour of both males and females plays an important role to ensure species survival. In wild ungulates, sexual conflict has been attributed specifically to positive selection for body size in both sexes (Bro-Jørgensen, 2011; Preston et al., 2005). In Bighorn sheep, body mass is positively correlated with reproductive success in both males and females (Bro-Jørgensen, 2011).

This has been clearly described in feral Soay sheep (Preston et al., 2005), but has not been considered in domestic sheep, even in large flocks where human intervention is scarce. On the other hand, it is well established that ewes with poor nutritional status have low reproductive performances (Robinson, 1996). Even if reproduction of a given ewe is the result of behavioural (courtship and mating) and biological (gamete fertilisation) processes, the behavioural component of subfertility has rarely been studied. In domesticated sheep, behavioural interactions between ewes and rams have been clearly described, but with no special focus on the effect of ewes' nutrition. On the male side, proactive activity towards females is defined in term of libido score (Price et al., 1992) which can be divided into

63 courtship (exploratory) and mating (consummatory) activities (Fabre-Nys, 2010). On the
64 female side, several authors have proposed the characterization of the sexual behaviour of
65 ewes, differentiating three main components (Beach, 1976; Tilbrook and Lindsay, 1987;
66 Fabre-Nys and Gelez, 2007). Firstly, the sexual attractiveness (SA) of the ewe, which refers to
67 the stimulus value of the female in its capacity to evoke sexual responses by the male.
68 Secondly, the sexual proceptivity (SP) of the ewe, consisting of the female's appetite for
69 sexual interactions with the male by initiating and maintaining sexual interaction. And third,
70 the sexual receptivity (SR) of the ewe which is the consummatory phase of sexual interaction
71 and comprises the female behaviours that are necessary and sufficient for copulation with an
72 active male (Beach, 1976).
73 Recently, in an experiment with rams equipped with an electronic oestrus detector (Alpha-
74 D; Alhamada et al., 2016), we observed that some ewes were highly attractive and were more
75 frequently mounted when compared to the rest of the group. We hypothesise that the
76 nutritional status of the ewes might explain this behaviour.
77

78 ## 2. Material and methods

79 The experiment was approved by INRA and the Montpellier Regional Ethics Group and is
80 compliant with the Animal Research Act 1985 in accordance with ethical principles that have
81 their origins in the European Union directive 2010/63/EU. This experiment was conducted at
82 Montpellier SupAgro, Domain du Merle (Lat. 43.64° N, Long. 5.02° E) in south-eastern
83 France. The general design of this experiment is illustrated in Figure 1.
84

85 ### 2.1. Animals and dietary treatments

86 To avoid spontaneous differences in body weight (**BW**) or body conditions (**BCS**), we
87 reinforced our main hypothesis by choosing dry ewes with very similar initial BW and BCS.

These ewes were then fed rations with different energy loads. In order to be sure of the nutritional effect on behaviour, the ewes were subjected to a long-term experiment (3 months) to create measurable differences in BW and BCS. At the start of the experiment, and after 3 months, the sexual behaviours of ewes were quantified. The behavioural results of the initial tests (SA1, SR1 and SP1 (See 2.2); Figure 1) were considered as key criteria in the random distribution of ewes amongst dietary treatments (i.e. experimental groups) together with BW,

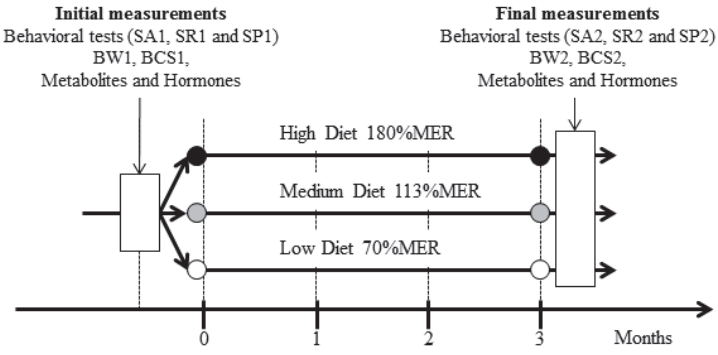


Figure 1*. Schematic representation of the experimental design. After initial evaluation of the sexual behaviour of the ewes (see Materials and Methods), measurements of body weight (BW1) and body condition score (BCS1), and sampled for plasma metabolites and hormones. The ewes were group-fed according to 3 levels of energy supply (Low, Medium, and High, expressed as % of Maintenance Energy Requirements (MER)). At the end of the 3-month period, the same measurements were applied again mixing ewes from the three diets.*

BSC and age parameters.

Forty-eight Merino d'Arles ewes (7.6 ± 2 years old) in similar BW (46.6 ± 3.8 kg) and BCS (2.26 ± 0.23), and 6 sexually experienced rams (4 years old; 75.2 ± 5 kg BW) with proven libido were used. All the animals were used to handling and to human presence and were identified by large numbers painted on their backs in order to facilitate individual identification for behavioural observations. The experiment started with 12 ewes per feeding treatment balanced for the criteria cited above.

Before the behavioural tests, the oestrous cycles of all ewes were artificially synchronized using intra-vaginal sponges containing 20 mg of FluoroGestone Acetate (FGA, Chronogest CR, Intervet, Toulouse, France), inserted for 14 days, followed by 400 IU of equine Chorionic Gonadotropin (eCG, Intervet, Toulouse, France) injected at the time of sponge withdrawal. During the pre-experimental period (i.e. before D0, Figure 1) all the ewes were group-fed the same diet. The diet consisted of 800 g/ewe/d of straw caps, 150 g/ewe/d of dehydrated alfalfa stoppers, 150 g/ewe/d of pulp beet. The energy and protein feed values were calculated according to INRA (1989) feeds tables. During the remaining experimental periods, the ewes were divided into three equilibrated groups fed with differing energy levels expressed as a proportion of Maintenance Energy Requirements (%MER; INRA, 1989). The low diet was mostly made of cubed straw (86%) and equal (5%) proportions of sugar beet pulp and dehydrated alfalfa, plus 3% minerals. The medium diet was a mixture of 18% sugar beet pulp, 17% of dehydrated alfalfa and 64% cubed straw with 2% added minerals. Ewes fed the High diet received almost equal proportions of sugar beet pulp (32%), dehydrated alfalfa (31%) and cubed straw (32%) with an added 3% of oats together with 1% minerals. The mean net energy supply for respectively L, M and H were of 2.84, 4.76 and 7.96 MJ NE/d according to INRA (1989). The diets were daily weighted and refusals were accumulated and weekly weighted. Adjusting the effectively measured average feed intakes within each group, the formulated diets created strong differences in energy supply: Low = 70%MER, Medium = 113%MER and High = 180%MER when referring to the mean initial BW of each group.

2.2. Behavioural measurements

2.2.1. Sexual attractiveness (SA) test

The sexual attractiveness test of ewes was described by Tilbrook and Lindsay (1987).. It consisted of presenting a group of 6 oestrous ewes (two animals from each feeding regime) to

134 a ram in a small pen (4 × 4 m). The courting and mating time that the ram spent with each
135 ewe was recorded. After 5 mins, the ewe with which the ram spent more time (i.e. the most
136 attractive ewe, ranked 6 on a 1 to 6 scale) was taken out of the pen. The procedure was
137 repeated until the ram ranked the six ewes. To avoid the effect of humans entering the pen to
138 remove the preferred ewe, the chronometer was stopped between ewes. If after 5 min, the
139 most attractive ewe could not be determined, the observation was extended to 10 min. This
140 test was carried out once before changing the feeding regime (at the start of the experiment;
141 SA1 of a total of 8 groups of 6 ewes) and once when the ewes presented contrasting BCS (at
142 the end of the experiment; SA2 of a total of 6 groups of 6 ewes).
143 2.2.2. Sexual receptivity (SR) test
144 At the end of SA tests, the oestrous behaviour was individually evaluated for each female, in
145 a separate pen-test of 2 x 2 m, using a standardized procedure described in detail and
146 validated by Fabre-Nys and Venier (1987). Receptivity was measured by counting the number
147 of stand interactions characteristic of oestrus made by ewes when courted by a male and by
148 the calculation of a receptivity index as a percentage of these immobilizations over the total
149 number of courtship interactions involving a minimum of 10 interactions and 2 mins
150 minimum test duration. If the ram did not nudge 10 times within 2 mins, he was allowed 3
151 mins more. Eventually the ram was changed until the ewe had received a total of 10
152 nudges.This test was carried out once before changing the feeding regime (at the start of the
153 experiment; SR1) and at the end of the experiment (SR2).
154 2.2.3. Sexual proceptivity (SP) test
155 This test was also proposed by Fabre-Nys and Venier (1987). Following the two other tests,
156 the proceptivity of each ewe was evaluated. All the ewes to be tested were placed in a waiting
157 pen. The ewes were individually introduced into the rectangular testing pen (9 x 4 m) for 3
158 min through a central gate. In the corners facing this central gate at one side were 3 non-

oestrus ewes (in a 3 x 3 m pen) and at the other corner stood 2 rams and a non-oestrus ewe in another pen (3 x 3 m). Hence the rams and ewes were separated by an empty pen of the same dimension (3 x 3 m). The contents of these pens were changed between testing days to avoid any effect related to preference for one side. In such a choice-test situation the time spent by the ewe close to the fence behind which was either a mixed-sex group (2 males and 1 female) or female group (3 females) was measured. The proceptivity index was calculated as the percentage of time spent close to 'males'. This test was carried out once before changing the feeding regime (at the start of the experiment; SP1) and once when the ewes presented contrasting BCS (at the end of the experiment (SP2).

2.3 Analytical procedures

The blood sampling for hormones and metabolites assays were done individually. The concentrations of plasma metabolites i.e. non-esterified fatty acids (NEFA); β-Hydroxybutyrate (β-OHB) and glucose (GLU); and metabolic hormones i.e. insulin (INS) and leptin (LEPT) were determined on blood samples taken before changing diets (-11 days before) and at the end of the dietary treatments (at day 97 after dietary changes). The blood samples were taken by jugular venipuncture before the morning feeding at each sampling day, i.e. approximately at 8AM. Two 9-mL samples were drawn from each ewe (1 × 135 IU of lithium heparin and 1 × 17.6 mg of potassium EDTA; Terumo Europe N.V., Leuven, Belgium). The samples were centrifuged at 3,500 × g for 20 mins at 4°C. The plasma was harvested and stored at −20°C until analyses at the laboratory of research unit SELMET as described by (González-García et al., 2014), taking into consideration that intra- and inter-assay variation averaged 4.9 % and 3.5%, 2.5 % and 2.1 %, 8.7 % and 3.3 %, 10.3 % and 4.0 %, 5.4 and 4.8 %, for NEFA, GLU, β-OHB, INS, and LEPT, respectively.

184 **2.4 Statistical analysis**

185 Statistical analyses were performed using the R software (R 3.2.2, Core Group, 2015).
186 The individual rankings for each ram were compared using Friedman 2-way analysis, and a
187 mean score for "attractiveness" was assigned to each ewe. The data were analysed using the
188 DAAG package. The statistical model was as follows:

189 $$Y_{ijk} = \mu + Diet_i + X_j + (Diet \times X)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

190 where Y_{ijk} is the sexual behavioural response (SA2, SR2 or SP2) at the end of the experiment,
191 for ewe j that consumed the i^{th} diet (i=1-3; Low, Medium or High), μ is the overall mean of
192 the variable to be explained, $Diet_i$ is the fixed effect of the specific Diet (i = 1–3; Low,
193 Medium, High), X_j is one or several direct continuous explanatory variables (j = 1–7; BW,
194 BCS, INS, NEFA, GLU, LEPT and βOHB), $(Diet \times X)_{ik}$ is the fixed interaction effect of the
195 nutritional plane i with variable X and ε_{ijk} is the random error of the model. The final result of
196 the forward process was kept. We also used as explanatory variables X_j the differences (D.)
197 between initial and final measurements (j = 1–7; D.BW, D.BCS, D.INS, D.NEFA, D.GLU,
198 D.LEPT and D.βOHB). Finally, we combined direct or differential explanatory variables in a
199 final model. A matrix correlation between direct and differential variables (including SA, SR
200 and SP), without taking into account the diet of the ewes, was performed with an R by
201 Pearson test.

202 The data are presented as mean± SD, with a p value indicating statistically significant
203 differences.

204

205 **3. Results**

206 As expected, after three months of the ewes receiving the extreme experimental diets,
207 significant changes in BW were obtained. Ewes fed the Medium diet maintained a constant
208 BW (+0.86 kg; +2% of initial BW; P>0.9). While ewes fed the High diet gained significantly

in weight (+8.5 kg; +19% initial BW; P<0.0003) and ewes fed the Low diet lost BW (-7.8kg; -18% initial BW; P<0.0002). The final average BW significantly (P<0.05) differed by the end of the experiment between High and Low groups (Table 1). The ewes after being fed with one of these three diets were therefore labelled Light, Average and Heavy ewes. The initial BCS among the three experimental groups was similar at the start of the experiment (2.3 for Low and High groups and 2.2 for the Medium group). By the end of the experiment, when comparing with initial values, the BCS of ewes fed the Low diets were significantly lowered (1.33; P<0.0001), but not for Medium ewes (1.90; P=0.1) nor High diet-fed ewes (2.33; P=0.6).

Table 1. Body weights (BW), Body Condition Score (BCS) and plasma metabolites or hormones before (Initial) dietary treatments were applied and by the end (Final) of the experiment (after three months).

Feeding level	Time	Low	Medium	High	Diet effect
BW	Initial	46.90±3.1	46.85±3.50.08	46.32 ±2.1	ns
(kg)	Final	38.59±2.5 [a*]	47.32±3.6 [b]	55.01±2.2 [c]	P<0.0001
BCS	Initial	2.29±0.2	2.21±0.3	2.29±0.2	ns
(/5pts)	Final	1.33±0.4 [a]	1.90±0.2 [a]	2.33±0.2 [b]	P<0.001
GLU	Initial	0.58±0.05	0.57±0.08	0.59±0.05	ns
(g/L)	Final	0.47±0.05 [a*]	0.53±0.04 [b]	0.61±0.07 [c]	P<0.0001
INS	Initial	13.29±6.0	14.30±7.9	15.07±5.2	ns
(µU/mL)	Final	9.42±1.3 [a]	13.22±4.7 [a]	20.56±7.9 [b]	P<0.0001
LEPT	Initial	4.80±1.3	4.82±0.8	4.27±0.8	ns
(ng/mL)	Final	4.57±1.7 [a]	4.83±0.9 [a]	6.45±1.1 [b]	P<0.05
βOHB	Initial	18.68±5.8	19.27±2.2	17.60±4.5	ns
(mg/L)	Final	17.07±8.2 [a]	20.40±3.5 [a]	28.11±12.2 [b]	P<0.001
NEFA	Initial	0.24±0.3	0.12±0.07	0.17±0.11	ns
(mmol/L)	Final	0.25±0.1	0.28±0.2	0.18±0.13	P<0.2

** Numbers within the same line with different superscripts (a, b, c) were significantly different at the level of 0.05.*

When fed with a unique and common initial diet (Table 1) the plasma metabolites and hormones did not significantly differ between groups of ewes. By the end of the feeding treatments most of these parameters differed significantly. Plasma GLU was constant between initial and final measurements in the Medium diet (resp. 0.57 to 0.53 g/l), while underfed ewes (Low) had lowered GLU values (0.47 g/l) and overfed ewes had increased GLU plasma concentrations (0.61 g/l). By the end of the nutritional treatments, mean GLU concentrations followed the feeding level with significant differences between diets ($P<0.05$; Table 1). The INS plasma concentrations followed the same pattern as GLU (Table 1), but the differences were only statistically significant ($P<0.05$) between High (20.56 μU/mL) and remaining feeding levels (i.e. Low: 9.42 and Medium: 13.22 μU/mL). Mean plasma LEPT concentrations appeared mostly unchanged (4.57 and 4.83 ng/ml) but once again ewes fed High diets had significantly ($P<0.05$) highest levels of LEPT (6.45 ng/ml). We observed no significant change in final NEFA concentrations but a significant effect of diets on βOHB concentrations (Table 1).

By the end of the three-month feeding treatments, ewes fed on the High diet became more attractive (SA2 = 4.47 vs, SA1 = 3.57) than ewes on other diets, with a significant difference ($P<0.05$) between Low and High-fed ewes (Figure 2). At the same time, the Low-fed females lost in attractiveness (SA2 = 2.42 vs, SA1 = 3.59), while the Medium-fed ewes maintained the same score (SA1 = 3.63 vs, SA2 = 3.56). Individual observations confirmed the ranking of the males' choice since the most attractive ewes received a mean total number of 14 mounts within 5 minutes – far higher than that of the least attractive ewes (2 mounts). This was confirmed by the fact that the SA was highly correlated ($r=+0.72$; $P<0.05$) with the number of mounts.

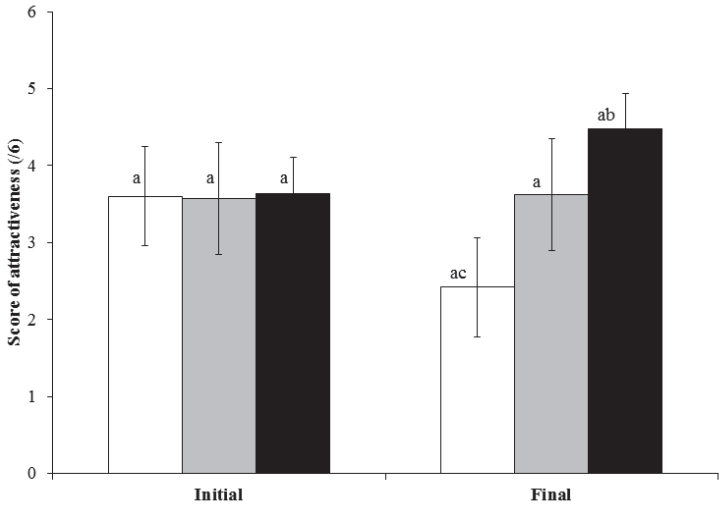


Figure 2. *Mean SA of ewes before (initial values) and after (final values) being fed different diets for three months. Open area: Low diets (70%MER); shaded area: Medium (113%MER) and black area: High (180%MER). Bars with different superscript differ at the level of 0.05*.

Contrary to SA, the feeding regime of ewes did not significantly affect the final index of the SR of ewes, which ranged between 82% and 91% i.e. mostly accepting all males' courtship interactions. However, we noted that the average number of interactions differed according to the feeding level of ewes (Low= 11, Medium= 14 and High= 17 interactions within 2 minutes). Similarly, the number of ewes that were proceptive to rams remained high: 9 to 11 amongst the 12 ewes per group. Whatever the diet, most of the ewes moved towards rams during the test.

As individual feed intake was not controlled, we also analysed the relationships between individual variables across dietary treatments. As reported in Table 2, we found a high correlation between BW and BCS, either direct ($r=+0.80$; $P<0.0001$) or with differential values ($r=+0.79$; $P<0.0001$). The best correlation of long-term affected variables (BW and BCS) and instantaneous affected variables (concentrations of metabolites and hormones) was observed between INS and BW ($r=+0.61$; $P<0.0001$) or BCS ($r=+0.64$; $P<0.0001$) and also between GLU ($r=+0.58$ and $r=+0.62$ with BW and BCS respectively; Table 2).

265 **Table 2**. Correlations matrix between variables. Above the diagonal: after three months of feeding with experimental diets (direct

266 measurements), below the diagonal: changes of each variable between final and initial measurements.

Item	βOHB	GLU	LEPT	NEFA	INS	BW	BCS	SA2
βOHB	1.00	+0.18 *p=0.29*	+0.48 *p<0.003*	-0.16 *p=0.34*	+0.48 *p<0.003*	+0.34 *p<0.04*	+0.35 *p<0.03*	+0.24 *p=0.15*
GLU	+0.08 *p=0.63*	1.00	+0.50 *p<0.002*	+0.01 *p=0.96*	+0.53 *p<0.001*	+0.58 *p<0.0002*	+0.62 *p<0.0001*	+0.41 *p<0.01*
LEPT	+0.30 *p=0.07*	+0.43 *p<0.009*	1.00	-0.20 *p=0.25*	+0.40 *p<0.01*	+0.37 *p<0.03*	+0.32 *p=0.05*	+0.18 *p=0.28*
NEFA	+0.14 *p=0.41*	+0.12 *p=0.48*	-0.11 *p=0.53*	1.00	-0.25 *p=0.14*	-0.30 *p=0.08*	-0.11 *p=0.50*	-0.32 *p<0.05*
INS	+0.27 *p=0.11*	+0.50 *p<0.002*	+0.30 *p=0.08*	-0.04 *p=0.82*	1.00	+0.61 *p<0.0001*	+0.64 *p<0.0001*	+0.42 *p<0.01*
BW	+0.33 *p<0.04*	+0.47 *p<0.004*	+0.61 *p<0.0001*	-0.21 *p=0.21*	+0.42 *p<0.01*	1.00	+0.80 *p<0.0001*	+0.83 *p<0.0001*
BCS	+0.34 *p<0.04*	+0.52 *p<0.001*	+0.50 *p<0.002*	+0.03 *p=0.87*	+0.37 *p<0.03*	+0.79 *p<0.0001*	1.00	+0.73 *p<0.0001*
SA2	+0.25 *p=0.15*	+0.29 *p<0.09*	+0.39 *p<0.017*	-0.29 *p<0.08*	+0.17 *p=0.31*	+0.79 *p<0.0001*	+0.67 *p<0.0001*	1.00

267

268

269

Our results (Table 2) show strong positive correlations ($r=+0.79$; $P<0.001$, $n=36$) between the final SA of the females with individual BW, either with direct values ($r=+0.83$; $P<0.0001$) or with differential values ($r=+0.79$; $P<0.0001$) and similarly for BCS ($r=+0.73$ and $r=+0.67$ for direct and differential values, respectively). Although lower, SA also show interesting correlations with plasma metabolites and/or hormonal levels when analysing individual values ($r=+0.42$, $r=+0.41$, $r=+0.18$, $r=+0.24$ between SA2 and concentrations of INS, GLU, LEPT and βOHB (Table 2). The only negative correlations were observed between SA2 and NEFA ($r=-0.32$; $P<0.05$ and $r=-0.29$; $P<0.08$ respectively for direct or differential values).

Rather than analysing the SA with simple correlations, we combined them in statistical linear models using a forward inclusion procedure. These models, presented in Table 3, show that both direct variables (Model 1: BW2, BCS2, NEFA and INS) and the differential for all variables (Model 2: D.BW, D.BCS, D.NEFA and D.INS) gave significant results ($R^2=0.757$; $P<0.0001$ and $R^2=0.712$; $P<0.000$, respectively). The combination of these two types of variables in Model 3, further improved these models ($R^2=0.79$; $P<0.0001$). Among the variables kept in the model by the automated forward procedure some were direct (BW2 and BCS2) while others showed differences in hormone and metabolite (D.INS and D.NEFA).

289 **Table 3**. Statistical models explaining Score of Attractiveness according to variables measured either directly at the end of the trial (Model 1), or

290 according to differences (D.) between final and initial values (Model 2) and combined variables (Model 3).

	Direct				Difference					
	BW2	BCS2	NEFA	INS	D.BW	D.BCS	D.NEFA	D.INS	Intercept	Multiple R^2
Model 1	+0.082 ±0.022 *p<0.0008*	+0.903 ±0.363 *p<0.02*	-1.102 ±0.682 *p<0.11*	-0.0371 ±0.0180 *p<0.05*	_	_	_	_	-1.81 ±0.81 *p<0.03*	0.757 *p<0.0001*
Model 2	_	_	_	_	+0.0918 ±0.0238 *p<0.0005*	+0.483 ±0.348 *p=0.17*	-0.596 ±0.431 *p=0.17*	-0.0201 ±0.0119 *p<0.10*	3.08 ±0.45 *p<0.0001*	0.712 *p<0.0001*
Model 3	+0.085 ±0.019 *p<0.0001*	+0.673 ±0.300 *p<0.03*	_	_	_	_	-1.030 ±0.345 *p*<0.006	-0.0221 ±0.009 p<0.03	-1.66 ±0.61 *p<0.01*	0.787 *p<0.0001*

291

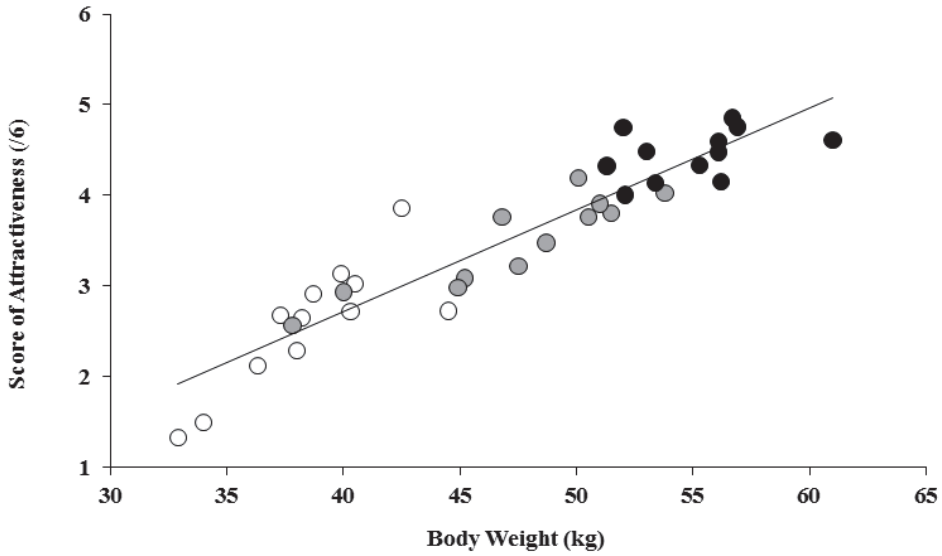
292

293

294 **4. Discussion**

295 In our case, ovulation (induced by hormonal treatments) led to oestrus expression in all
296 ewes regardless of the nutritional plane, which is frequently reported. As expected,
297 differences in the daily supplied energy induced significant changes in average BW and BCS
298 at the end of the three-month trial. Despite our attempts to balance ewes between diets, in the
299 initial variability of BW and BCS the differences are only significant between extreme diets
300 (i.e. Low vs. High). Changes in blood metabolites and hormones were in general agreement
301 (Chilliard et al., 1998) with the tendencies observed between positive energy balance and
302 glucose metabolism (GLU and INS). This association between GLU and INS is further
303 confirmed by their significant and positive correlation ($r=+0.53$; $P<0.001$; Table 2). βOHB
304 blood concentrations are mostly linked to feed supply. This is illustrated by the positive
305 correlations between βOHB and INS (+0.48; $P<0.003$) and BCS (+0.35; $P<0.03$) and a weak
306 negative correlation with NEFA ($r=-0.16$; $P=0.34$). NEFA are classically measured to monitor
307 the nutritional status in underfed ruminants (Chilliard et al., 1998; Delavaud et al., 2007).
308 While short term underfeeding promotes acute NEFA increases, the long-term metabolic
309 adaptation of underfed ewes leads to a decline in NEFA levels (Scaramuzzi et al., 2006;
310 Debus et al., 2012) probably to alleviate the NEFA toxicity (Chilliard et al., 1998). This
311 mechanism might explain why Low-fed ewes had final NEFA concentrations similar to those
312 of Medium-fed ewes. The relationships between NEFA concentrations and other circulating
313 metabolites (GLU, βOHB) and hormones (INS, LEPT) were all negative (Table 2), thus
314 confirming that high NEFA concentration mostly reflects the catabolic status of ewes
315 (Chilliard et al., 1998). LEPT was dosed because it reflects both body fat mass and instant
316 energy balance in the dry ewe (Delavaud et al., 2007). To summarize, our mean results largely
317 confirmed tendencies that have been observed in dry, non-pregnant ruminant females fed

318 different levels of energy under and above maintenance (Chilliard et al., 1998). The limited
319 differences between diets came from long-term adaptations of ewes to feeding regimes. The
320 combination of blood metabolites and hormone leads to discriminating dietary effects on ewes
321 and most probably inter-individual differences of nutritional status that might have happened
322 amongst these group-fed ewes.
323
324 Figure 3
325
326



327 ***Figure 3***. *The predicted score of attractiveness of Merino ewes when applying Model 3*
328 *that include Final BW and BCS and changes in plasma concentrations of INS and NEFA since the*
329 *beginning of the feeding trial (Low diet: open symbols, Medium diet: grey symbols and High diet:*
330 *black symbols).*
331
332 The role of nutrition on reproductive functions has been described as affected by different
333 timescale effects. These effects were differentiated (Scaramuzzi et al., 2006) into static effects
334 (or the long-term cumulative effects of nutrition) and dynamic effects (influenced by instant
335 nutrient balance) on reproduction. This concept greatly helped the understanding of the
336 reproductive response of the ewe when focusing on ovulation and central nervous system
337 regulation. To our knowledge it has never been used to describe the sexual behaviour of ewes

338 or rams (Martin et al., 2004). Nevertheless we confirm through Model 3 that the effect of the
339 plane of nutrition on the sexual attractiveness of the ewe perfectly fits with this concept. The
340 higher attractiveness of heavy ewes compared to the low-attractiveness of light ewes (BW and
341 BCS) can further be explained by blood parameters. Amongst models, the best prediction
342 (Model 3) is obtained by combining direct values obtained at the end of the dietary treatments
343 (BW2 and BCS2) and the metabolic differential (D.NEFA and D.INS). The predicted values
344 of SA given by Model 3 (plotted in the Figure 3) show that this prediction is fairly accurate
345 (R^2=0.787; P<0.0001). In this model, BW and BCS have the biological significance of static
346 effects of nutrition *e.g.* they represent body size and body fatness, while blood changes in
347 metabolite (D.NEFA) and hormone (D.INS) represent the dynamic effect of the nutrition *e.g.*
348 energy balance at time of behavioural evaluation. However, some of the other blood
349 metabolites (GLU, βOHB) and hormone (LEPT) did not explain differences of SA so clearly.
350 In fact, it is not an absence of contribution to a part of variance in SA, it is simply because
351 their contributions were equivalent or slightly lower than D.INS and D.NEFA. However
352 Model 3 *per se* does not explain how the males perceived the difference of attractiveness
353 between ewes.
354 Surprisingly, the sexual behaviour of ewes expressed by scores of receptivity (SR) or
355 proceptivity (SP) were not statistically changed by the three-month feeding diets and thus
356 correlated poorly with BW and BCS and any blood parameters. These criteria of SR and SP of
357 ewes were however recommended because they enabled us to estimate the active contribution
358 of the female in the behavioural scheme. We found no changes in SP, which consists of
359 appetitive activities by the female towards the male to initiate and maintain sexual interaction,
360 and SR which is the consummatory phase of sexual interaction and comprises the behaviours
361 by the female necessary and sufficient for copulation with a fertile male (Beach, 1976; Fabre-
362 Nys and Gelez., 2007).

363 On the other hand, the nutritional status resulted in differences in the way that rams selected
364 ewes. This original result is reliable since it is built on serial observations of six rams that
365 could choose amongst an equal number of ewes from the three diets during pen-tests. This
366 preference for particular ewes by rams is also called the attractiveness of ewes (Beach, 1976;
367 Tilbrook and Lindsay, 1987; Fabre-Nys and Gelez, 2007). Such preferences between ewes
368 have been reported after pen-test procedures in Rasa Aragonesa rams, when equipped with an
369 anti-mating apron or when allowed to sire, after joining with oestrous induced ewes (Abecia
370 et al., 2005). Hence the apron might not change the ram's behaviour. In the Merino d'Arles
371 breed, we also observed that when several ewes are in oestrus at the same time, rams that can
372 sire, or not, preferentially mount certain ewes to the exclusion of others (Alhamada et al.,
373 2016). This was previously reported (Abecia et al., 2005) within a very similar group of Rasa
374 Aragonesa ewes. The preference of rams for some ewes seemed to exist but the motivation
375 underlying individual choices differed among rams (Abecia et al., 2005). In the present study
376 we demonstrate that after 3 months of constant feeding of the ewes, the preference of rams
377 becomes stable and very clear for well-fed ewes. It is not excluded that ewes emit vaginal or
378 urine compounds that may be recognized by rams as a signature both of oestrus and
379 nutritional status. In another experiment with the same rams, when evaluating the ram libido
380 in pen-test, we observed that the rams nosed the anogenital region of all the ewes before
381 mounting the chosen one. Furthermore, as observed during our pen-tests the attractiveness of
382 a given ewe has been previously reported to be relatively stable within its oestrous period and
383 even between oestrous periods (Tilbrook and Lindsay, 1987). The high repeatability of SA
384 amongst the six rams during the pen-tests put forward the hypothesis of a clear signal emitted
385 by the female. Oestrous specific compounds recently found in the urine of cows were
386 positively tested to be active even in inexperienced bulls, facilitating their sexual behaviour
387 (Le Danvic et al., 2015). To our knowledge nothing has been published concerning oestrous

specific compounds in vaginal fluids, urine, and saliva or in the fleece of ewes. However, our experiment was not designed to elucidate the mechanisms involved in the recognition and preference of rams for certain ewes. It was previously reported by Martin et al. (2004) in the ewe that if the olfactory signal plays an important role in the male effect that drives GnRH-LH-ovary-ovulation cascade, non-olfactory signals as visual, tactile and auditory also act separately or in combination to identify a partner during the reproductive process. It was reported in several species that animals that are food deprived are treated as if they are of lower quality relative to their counterparts who were fed ad libitum. In the case of meadow voles, males, but not females, exhibit a higher self-grooming response of the opposite-sex donor odours if they are fed diets of higher protein content (Hobbs et al., 2008). This confirms that some mammalians are able to modulate their sexual attractiveness according to their nutritional status through odours.

Even though we do not have an explanation of how rams perceived the nutritional status of the chosen ewes, our design, which divides average ewes into light and heavy ewes, avoids the confusing effects of collecting ewes with different body conditions due to different histories. Recent results on Mediterranean breeds (Abdel-Mageed and Abo El-Maaty, 2012; Vatankhah et al., 2012) only provided information on the positive effect on conception rates according to feeding level without including the rams' preference effect that might exist with free mating systems. It is most probable that in spontaneous oestrus mated ewes, poorly fed ewes may have the lowest conception rate mainly because they are not even mated by rams. Such a mechanism may explain the kinetic of reproduction observed in Barbarine spring gazing ewes (Atti et al., 2001): in a flock consisting of ewes with very different BCS, fat females gave birth earlier than leaner ones. In this case, our explanation is that the ram preference for fat ewes was the major determinant of this lambing kinetic.

412 Male mate choice and females chosen (attractiveness) have been already reported in other
413 species. It is assumed that mating choices depend on multiple criteria ranging from
414 morphological traits to positions in a dominance hierarchy (Fabre-Nys, 2010). Male
415 preference for some females on the basis of their form has been reported in several feral
416 species (Fabre-Nys, 2010), and the conflict between dominant males towards females that
417 have a larger body lasts more than towards the female that have light BW in the feral Soay
418 breed (Preston et al., 2005). These results obtained in wild or feral animals substantiate our
419 finding that heavy ewes are more attractive than light ewes.
420 The clear effect of the nutritional status of ewes on preference of rams for mating with is
421 probably of some biological significance even if it is rarely visible in domestic species.
422 Regarding wild ungulates (Bro-Jørgensen, 2011), sexual selection and social rank and size in
423 Bighorn rams is an important determinant of their fitness (Pelletier and Festa-Bianchet, 2006).
424 Within the Bighorn ewes few interactions were noted and those that took place were
425 essentially age-driven and therefore of limited fitness consequences (Pelletier and Festa-
426 Bianchet, 2006). Our experiment demonstrates that Merino rams' fitness consisted in
427 choosing females according to their nutritional status at mating because they are presumably
428 able to carry lambs and feed them during the suckling period, thus increasing their
429 reproductive success.
430 In conclusion, this work demonstrates for the first time that nutritional status of female sheep,
431 during oestrus, produces efficient cues that orient males in their mating choice.
432

Acknowledgments

Moutaz Alhamada's PhD thesis is supported by a scholarship from the University Al-Furat, Syria. Authors are grateful to the technical staff of the laboratory of SELMET, especially to Anne Tesniere and staff at the Domaine du Merle experimental farm, especially to Pierre-Marie Bouquet, Céline Maton, Jean-Dominique Guyonneau and Denis Montier for assisting with animal care and data collection.

441 **References**

442 Abdel-Mageed, I.I., Abo El-Maaty, A.M., 2012. The effect of backfat thickness at mating on
443 the reproductive and productive performances of ewes. Small Ruminant Research 105,
444 148–153. doi:10.1016/j.smallrumres.2011.11.022

445 Abecia, J.A., María, G., Forcada, F., 2005. A note on mating preferences in Rasa Aragonesa
446 rams. Applied Animal Behaviour Science 91, 355–361.
447 doi:10.1016/j.applanim.2004.10.006

448 Alhamada, M., Debus, N., Lurette, A., Bocquier, F., 2016. Validation of automated electronic
449 oestrus detection in sheep as an alternative to visual observation. Small Ruminant
450 Research 134, 97–104. doi:10.1016/j.smallrumres.2015.12.032

451 Atti, N., Thériez, M., Abdennebi, L., 2001. Relationship between ewe body condition at
452 mating and reproductive performance in the fat-tailed Barbarine breed. Animal
453 Research 50, 10. doi:10.1051/animres:2001121

454 Beach, F.A., 1976. Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals.
455 Hormones and Behavior 7, 105–138. doi:10.1016/0018-506X(76)90008-8

456 Bro-Jørgensen, J., 2011. Intra- and Intersexual Conflicts and Cooperation in the Evolution of
457 Mating Strategies: Lessons Learnt From Ungulates. Evolution Biology 38, 28–41.
458 doi:10.1007/s11692-010-9105-4.

459 Chilliard, Y., Bocquier, F., Doreau, M., 1998. Digestive and metabolic adaptations of
460 ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. Reproduction
461 Nutrition Development 38, 131–152.

462 Debus, N., Chavatte-Palmer, P., Viudes, G., Camous, S., Rosefort, A., Hassoun, P., 2012.
463 Maternal periconceptional undernutrition in Merinos d'Arles sheep: 1. Effects on
464 pregnancy and reproduction results of dams and offspring growth performances.
465 Theriogenology 77, 1453–1465. doi:10.1016/j.theriogenology.2011.11.015

466 Delavaud, C., Bocquier, F., Baumont, R., Chaillou, E., Ban-Tokuda, T., Chilliard, Y., 2007.
467 Body fat content and feeding level interact strongly in the short- and medium-term
468 regulation of plasma leptin during underfeeding and re-feeding in adult sheep. British
469 Journal of Nutrition 98, 106–115. doi:10.1017/S0007114507704968
470 Fabre-Nys, C., 2010. Mating behavior, in: Encyclopedia of Behavioral Neuroscience.
471 Academic Press, 178-185.
472 Fabre-Nys, C., Gelez, H., 2007. Sexual behavior in ewes and other domestic ruminants.
473 Hormones and Behavior, Reproductive Behavior in Farm and Laboratory Animals11th
474 Annual Meeting of the Society for Behavioral Neuroendocrinology 52, 18–25.
475 doi:10.1016/j.yhbeh.2007.04.001
476 Fabre-Nys, C., Venier, G., 1987. Development and use of a method for quantifying female
477 sexual behaviour in ewes. Applied Animal Behaviour Science 17, 289–304.
478 doi:10.1016/0168-1591(87)90153-5
479 González-García, E., Gozzo de Figuereido, V., Foulquie, D., Jousserand, E., Autran, P.,
480 Camous, S., Tesniere, A., Bocquier, F., Jouven, M., 2014. Circannual body reserve
481 dynamics and metabolic profile changes in Romane ewes grazing on rangelands.
482 Domestic Animal Endocrinology 46, 37–48. doi:10.1016/j.domaniend.2013.10.002.
483 Hobbs, N.J., Aven, A.M., Ferkin, M.H., 2008. Self-grooming response of meadow voles to
484 the odor of opposite-sex conspecifics in relation to the dietary protein content of both
485 sexes. Ethology 114, 1210–1217. doi: 10.1111/j.1439-0310.2008.01573.x
486 INRA, 1989. Ruminant Nutrition: Recommended Allowances and Feed Tables. R. Jarrige
487 Ed., John Libbey Eurotext, Paris-London-Rome, ISBN : 0-86196-247-8 .pp389.
488 Le Danvic, C., Gérard, O., Sellem, E., Ponsart, C., Chemineau, P., Humblot, P., Nagnan-Le
489 Meillour, P., 2015. Enhancing bull sexual behavior using estrus-specific molecules
490 identified in cow urine. Theriogenology 83, 1381–1388.

491 doi:10.1016/j.theriogenology.2015.02.004
492 Martin, G.B., Rodger, J., Blache, D., 2004. Nutritional and environmental effects on
493 reproduction in small ruminants. Reproduction, Fertility and Development. 16, 491–
494 501. doi: 10.10371/RD04035
495 Pelletier, F., Festa-Bianchet, M., 2006. Sexual selection and social rank in bighorn rams.
496 Animal Behaviour 71, 649–655. doi:10.1016/j.anbehav.2005.07.008
497 Preston, B.T., Stevenson, I.R., Pemberton, J.M., Coltman, D.W., Wilson, K., 2005. Male mate
498 choice influences female promiscuity in Soay sheep. Proceedings of the Royal Society
499 of London B: Biological Sciences 272, 365–373. doi:10.1098/rspb.2004.2977
500 Price, E.O., Erhard, H., Borgwardt, R., Dally, M.R., 1992. Measures of libido and their
501 relation to serving capacity in the ram. Journal of Animal Science 70, 3376–3380.
502 doi:/1992.70113376x
503 Robinson, J.J., 1996. Nutrition and reproduction. Animal Reproduction Science 42, 25-34.
504 Doi:10.1016/0378-4320(96)01526-6
505 Scaramuzzi, R.J., Campbell, B.K., Downing, J.A., Kendall, N.R., Khalid, M., Muñoz-
506 Gutiérrez, M., Somchit, A., 2006. A review of the effects of supplementary nutrition
507 in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the
508 mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. Reproduction Nutrition
509 Development 46, 339-354. doi:10.1051/rnd:2006016
510 Tilbrook, A.J., Lindsay, D.R., 1987. Differences in the sexual “attractiveness” of oestrous
511 ewes to rams. Applied Animal Behaviour Science 17, 129–138. doi:10.1016/0168-
512 1591(87)90015-3
513 Vatankhah, M., Talebi, M.A., Zamani, F., 2012. Relationship between ewe body condition
514 score (BCS) at mating and reproductive and productive traits in Lori-Bakhtiari sheep.
515 Small Ruminant Research 106, 105–109. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.02.004

3- Discussions conclusions partielles

Comme prévu, les différences de régimes alimentaires induisent des changements significatifs dans le PV moyen et la NEC moyenne entre le début et la fin de l'expérience. En dépit de nos tentatives pour équilibrer les brebis entre les régimes, compte tenu de la variabilité initiale sur le PV et sur la NEC les différences en fin d'expérience ne sont significatives qu'entre les régimes extrêmes (Bas vs Haut). Les changements de métabolites sanguins (GLU, βOHB, AGNE) et des hormones (INS, LEPT) étaient généralement en accord avec les tendances observées par l'équipe de SELMET et par la bibliographie (Gonzales-Garcia et al., 2014 ; Abecia et al., 2015). Les légères différences entre le régime Haut et le régime Moyen sont probablement dues aux adaptations à long terme des brebis à ce régime alimentaire excédentaire. Malgré une alimentation en lots, les valeurs individuelles des métabolites sanguins et des hormones devaient permettent de discriminer les brebis au sein de ces régimes quant à leurs réponses comportementales.

Étonnamment, le comportement sexuel des brebis exprimées par les scores de réceptivité ou de proceptivité ne sont pas statistiquement changés par les trois mois d'alimentation avec des régimes très contrastés. Ces scores individuels ne sont pas corrélés avec le PV ou la NEC, ni avec les différents paramètres sanguins. Et ceci ne provient pas d'un défaut d'expression de l'œstrus puisque nous avons confirmé par les tests préliminaires, avec d'autres béliers, que toutes les brebis étaient bien en chaleur avant ces tests.

Pour les tests d'attractivité, nous avons pris la précaution de placer 2 brebis de chaque régime dans les cases recevant successivement les béliers. L'analyse par régimes alimentaires montre des différences significatives ($P<0,001$) d'attractivité entre les groupes. Les brebis placées en régime Bas ont les scores d'attractivités (SCA) les plus faibles (SCA= 2.42), celles en régime Haut (4.47) et celles en régime Moyen gardent le même score d'attractivité (3.57) que celui mesuré trois mois auparavant. En outre, nous mettons en évidence une relation linéaire claire entre le score d'attractivité et le PV ($r=+0.83$; $p<0.0001$) ou la NEC ($r=+0.73$; $p<0,0.001$) des brebis ($n=36$). Nous considérons que ces résultats sont fiables car les tests ont été obtenus avec 6 béliers différents et ces béliers ont classé les brebis de la même manière. Il est probable que les brebis émettent des signaux spécifiques (odorat, vue, toucher, ouïe, goût) qui sont perçus avec un gradient peu équivoque par tous les béliers.

Chapitre 6

Chapitre 6. Discussion générale et conclusions

Après les discussions partielles qui suivent chaque publication nous proposons une discussion générale qui reprend l'ensemble de nos résultats et les complète par une vision transversale. Pour cela nous avons adopté le plan suivant :

1- Les conditions d'utilisation du détecteur électronique de chevauchements
2- La variabilité des comportements sexuels des béliers de reproduction
3- Le rôle des brebis dans le processus comportemental de reproduction
4- Conclusion générale

Ce plan résulte de notre démarche de recherche pour laquelle nous n'avons pas seulement utilisé le détecteur électronique de chevauchements. En effet, suite aux questions qui se sont posées en cours de la thèse nous avons réalisé des expérimentations classiques en cases individuelles sur des petits lots d'animaux contrôlés (P1, P2, P3 et P4) mais aussi dans le troupeau du Domaine du Merle (P3, P4) avec de très nombreuses brebis peu contrôlées. Dans ce but nous avons mobilisé pour cette discussion des résultats ponctuels que nous n'avons pas encore publiés ou d'autres résultats acquis par l'UMR SELMET avec ce détecteur (Debus, Bocquier) sur des essais auxquels nous avons participé.

1- Les conditions d'utilisation du détecteur électronique de chevauchements

Notre première étape a été de contribuer à valider directement le dispositif électronique de détection des chevauchements pour l'utiliser en recherche comme détecteur d'œstrus chez la brebis (P1). Sans commenter davantage les résultats de la publication 1 (P1), nous pouvons retirer un certains nombres d'éléments que nous discutons ici.

Pour des raisons pratiques nous avons très souvent utilisé des traitements hormonaux de synchronisation des chaleurs, au moins pour toutes les expériences analytiques. C'est alors posé la question des conditions d'utilisations optimales du détecteur lorsque toutes les brebis sont en chaleur en même temps. Dans les conditions extrêmes d'utilisation, lorsque les brebis sont synchronisées, ce détecteur est efficace à condition que le ratio mâle : femelle ne soit pas inférieur à 1:10. En fait, cette condition n'est pas plus exigeante que n'importe quelle autre méthode utilisable chez les ovins, puisqu'il n'y a pas de chevauchements entre femelles et que l'utilisation des mâles est obligatoire. A certains égards ce détecteur, qui fonctionne comme un « crayon marqueur électronique », nécessite aussi un ratio assez élevé de béliers par brebis (Radford et al., 1960). Comme nous avons observé une très grande variabilité d'activités entre béliers (P3), on peut imaginer que ce ratio puisse être abaissé en utilisant des mâles reconnus comme très actifs (avec ce même détecteur, mais à une autre période). Toutefois nous n'avons pas testé cette possibilité qui supposerait de constituer deux lots de brebis comparables et d'examiner leurs taux de détection avec deux groupes de béliers d'effectifs différents mais d'indices de libido total comparables.

Chapitre 6. Discussion générale et conclusions

Dans des situations normales d'utilisation du détecteur ; c'est-à-dire lorsque les œstrus apparaissent spontanément, ce ratio de béliers : brebis peut être beaucoup plus faible 1 : 30 en saison ou même 1 : 40 à contre-saison. D'ailleurs statistiquement, compte tenu de la durée du cycle qui est régulièrement de 17 jours dans nos résultats (P1 = 17,3±1,2 jours, n=12 ; P2=17,0 ± 0.1 jours, n=47), la proportion de survenues d'œstrus est de 1/17ème du troupeau chaque jour : soit pour un troupeau de 250 brebis 14,7 brebis par jour. Il nous semble, qu'au vu de nos résultats, avec des béliers ayant une bonne libido ces 14,7 brebis par jour pourraient être détectées par 6 béliers ce qui nous conduirait à un ratio de 1 : 30 brebis. Il est difficile d'aller en dessous de 1/40 (ou 6/250) parce que les béliers ont des préférences pour certaines brebis et il y a alors un risque de ne pas détecter toutes les brebis avec un ratio inférieur.

Avec l'utilisation des traitements hormonaux nous avons été confrontés à leur efficacité. En particulier, nous n'avons obtenu qu'un taux de synchronisation de 78% (47/60 ; P2) ce qui veut dire qu'un nombre non négligeable de brebis ne répondent pas à ce traitement. Nous n'avons pas cherché d'explications particulières sur ce point mais chez les chèvres il a été évoqué (Baril et al., 1992) une immunisation (formation d'anticorps anti-eCG) qui expliquerait la moindre réponse de certaines femelles. L'usage du détecteur Alpha-D avec des brebis connues en termes d'anticorps permettrait de répondre à cette question. Pratiquement, au cours de tous nos essais (P1et P3) nous avons systématiquement synchronisé plus de brebis que nécessaire pour être certain de disposer de suffisamment de femelles en chaleur. L'usage de ces traitements nous a aussi posé la question de leurs effets sur l'expression de l'œstrus. Il nous a semblé (P2) que les œstrus induits (C1 ; P2) provoquaient moins de chevauchements que les œstrus suivants (presque naturels : C2 et C3 de P2). Certains auteurs ont évoqué le risque d'odeurs vaginales désagréables pour le mâle liées à la présence d'éponges pendant plus de 10 jours (Gatti et Ungerfeld, 2012), mais notre dispositif ne nous permettait pas de répondre à cette question.

Le démarrage des chaleurs après le retrait des éponge est apparu beaucoup plus précocement que ce qui est recommandé par le fabriquant (48 heures). Ce phénomène, semble général car nous l'avons observé dans toutes nos expériences. Nos protocoles de synchronisation ont été modifiés en conséquence pour disposer de brebis en œstrus le moment voulu. L'intervalle entre le moment du retrait des éponges et le début des chaleurs (acceptation des chevauchements) a été très variables d'une brebis a l'autre : pour P1 entre 18 h et 42 h soit en moyenne 29 ± 8 h et pour P2 entre 6 h et 60 h soit en moyenne 31 ± 11 h. La durée totale des chaleurs (différence entre le premier et le dernier chevauchement) a également été très variable (de 5 h à 46 h ; P2). Ces données fournissent néanmoins des valeurs plus précises que les mesures faites à intervalles fixes. Nous pensons que ces mesures avec le détecteur électroniques sont exactes car elles sont faites pour chaque chevauchement spontané, de jour comme de nuit. Or les autres méthodes qui utilisent un opérateur sont susceptibles d'être biaisées car il y a alors des risques de perturbation du comportements des animaux (Lindsay et al., 1976 ; Ungerfeld et Gonzalez-Pensado, 2009). Nous n'avons pas exploité les résultats de P3 et P4 car les animaux ont été manipulés par les expérimentateurs. Toutefois, le système de paroi pour cacher les observateurs a sans doute limité les perturbations car les résultats sont conformes aux observations en troupeau. Cette différence dans le démarrage des chaleurs

après traitement hormonaux expliquerait peut être les fertilités limitées à 65% lors d'un IA à heures fixes (IDELE., 2009) en brebis laitières. Toutefois nous n'excluons pas que la présence des béliers peut avancer l'ovulation. Des chercheurs de l'UMR SELMET travaillent actuellement sur l'amélioration du taux de réussite à l'IA avec ou sans traitement hormonaux.

La durée théorique du cycle œstral de la brebis est de 17 jours. Cette valeur est très proche de nos observations : 16,0 ± 0,8 j (P1) et 17,0 ± 1 j (P2). Cette stabilité de la valeur à 17 j nous a permis de proposer que les retours en chaleurs à partir du 16ème jour constituent un outil de diagnostic de non-gestation, qui a été confirmé par deux autres méthodes (dosages PSPB et échographies ; P2).

Nous avons été confrontés au traitement des chevauchements isolés des brebis par les béliers. Nos travaux montrent que ce phénomène est général : lorsqu'il y a peu ou pas de brebis en chaleurs les béliers tentent d'en chevaucher certaines. Comme les brebis n'acceptent pas ces chevauchements, et tentent de les éviter, nous obtenons des points isolés. Ces points isolés sont faciles à identifier lorsqu'il s'agit d'expériences de recherche : nous pouvons attendre une belle séquence de chevauchements et éliminer les points isolés situés avant ou après. Ce phénomène très ponctuel n'a pas été traité dans la bibliographie sur les ovins ni avec les crayons marqueurs ni avec les observations. En revanche, chez les bovins ils seraient considérés comme des faux-positifs (Palmer et al., 2010, Firk et al., 2002). Contrairement aux bovins chez lesquels le nombre de chevauchements quotidiens est faible (20/jour ; Chenoweth, 1981), le nombre impressionnant de chevauchements effectués par les béliers (Chenoweth, 1981 ; et nos résultats en termes de chevauchements/brebis : 200 pour P1, 400 pour P2 et 500 pour P3) permet facilement de différencier ces points isolés des chevauchements sur des brebis en chaleur. Dans un but pratique de détecter précocement les chaleurs pour réaliser des inséminations animales, nous avons proposé des algorithmes pour éliminer automatiquement ces points isolés (P1 et P2). En fait, cette proposition est fondée sur le nombre mâles et le nombre de femelles. En P1, l'intervalle pour écarter les points isolés était de 6 h car il n'y avait qu'un seul mâle par lot de 6 brebis. En revanche, cet intervalle est passé à 24 h en P2. La raison de cette différence proviendrait du comportement des mâles plutôt que de celui des femelles. En effet en P2 c'est le mâle le plus actif qui a été responsable des nombreux points isolés. De plus, nous avons observé en P4 que les brebis, quel que soit leur état nutritionnel, ont des comportements de recherche des mâles (Proceptivité, Réceptivité) qui sont faibles et stables. Ces risques de faux positifs ont également été rapportés (> 7% ; Barnard et al., 2015) avec le harnais marqueur lorsque les animaux sont manipulés.

Ce dispositif, avec les précautions d'emploi que nous préconisons, est adapté à la collecte automatisée des chevauchements des béliers sur les brebis. Il présente l'intérêt de fournir des données quantitatives et de les situer dans le temps. Ceci permet de préciser les connaissances sur le comportement sexuel des ovins. Ce dispositif Alpha-D, présente l'autre avantage de très peu perturber les animaux puisque l'identifiant de la brebis est posé une fois pour toute et le détecteur Alpha-D, une fois installé sur le bélier, peut fonctionner sans intervention pendant une semaine. En effet le contenu en informations du détecteur est téléchargé à distance autant que de besoins. Tout ceci permet d'éliminer la présence de l'Homme qui peut perturber les

comportements des partenaires pendant la reproduction. Comme cela a déjà été rapporté ce dispositif peut être considéré comme un élément de l'élevage de précision (Bocquier et al., 2014).

2-La variabilité des comportements sexuels des béliers de reproduction

Nous avons observé de très grandes différences dans le nombre total de chevauchements des béliers au cours de l'œstrus des brebis Mérinos d'Arles : entre 2 et 83 chevauchements par brebis pour P1, entre 3 et 112 pour P2. Sur le nombre total de chevauchements, (P1, P2 et P3) les écarts vont de 1 à 5 entre deux mâles. De tels écarts avaient été signalés auparavant (Chenoweth, 1981 ; Price, 1987). Toutefois, les conditions de mesures étaient entachées de la présence d'observateurs et de la faible durée des tests alors que nos données sont obtenues en continu. En outre, dans la plupart des cas ces auteurs ont cherché à classer les béliers en deux groupes extrêmes : ceux à forte activités et ceux à activités faibles. Cette classification en deux niveaux se justifie par des protocoles qui avaient pour but d'étudier d'autres facteurs de variation et qui ont été réalisés sur des béliers isolés pendant de courtes périodes d'observations dans des environnements inhabituels pour les animaux. Il nous semble donc que ces classements sont optimistes. Nous sommes parvenus à classer finement les béliers et montrer qu'il y avait une bonne répétabilité au cours du temps.

Etant donné que de nombreux facteurs interviennent dans l'expression de l'activité sexuelle, il peut y avoir des différences due au fait que les béliers en test sont isolés alors que l'activité normale est celle de plusieurs béliers placés ensemble dans un troupeau. Pour valider l'usage du détecteur nous avons été obligés d'utiliser la méthode de référence (Price et al., 1992, Stelflug et al., 2006) alors que nous avions des raisons de penser que ce test est critiquable tant pour sa durée (séquences de 30 minutes), que pour l'isolement du bélier ou que pour son environnement qui n'est pas habituel. En outre, cette méthode demande beaucoup de temps et d'organisation et elle oblige à disposer de brebis synchronisées. Nous avons confirmé lors de l'expérience dédiée à l'examen de la libido des béliers (P3) ce que nous avions vu sur des petits effectifs et sur des durées assez courtes (1 à 2 cycles : P1 et P2). Nous montrons que le classement des béliers sur leur activité de chevauchement est répétable de cycle à l'autre (P1 et P2). L'expérience (P3), réalisée à plus d'un an d'intervalle, a confirmé cette bonne répétabilité que les mesures soient faites en cases ou au milieu d'un troupeau de brebis, aussi bien sur des mâles entiers que sur des mâles vasectomisés. Comme les mesures de référence de la libido des béliers sont basées sur l'observation de tous les comportements (exploratoires et consommatoires), nous avons été obligés d'utiliser ces méthodes pour les comparer aux résultats collectés sur un troupeau. Le classement des béliers sur leurs activités consommatoires, assimilables aux chevauchements, s'est trouvé confirmé par les mesures en troupeau. Les fortes corrélations ($r \approx 0{,}80$; $p<0.0001$) observées entre les activités consommatoires et exploratoires des béliers acquises visuellement permettent de considérer que la mesure de l'une permet d'estimer correctement l'autre. Considérant (P3) que nos mesures ont été faites sur des durées beaucoup plus longues (5 jours) que celles des tests, de jour comme de nuit, avec un nombre important de brebis (environ 250) et en situation réelle de relations entre béliers (stimulations, compétitions), nous considérons que cette méthode

automatisée est plus fidèle à l'expression de la libido des béliers que les tests. D'autant qu'à notre connaissance aucun résultat publié ne met en évidence d'effet de l'activité exploratoire des béliers dans l'efficacité de la reproduction des brebis.
Les travaux antérieurs sur la libido des béliers ont insisté sur la mesure du nombre d'éjaculations comme critère d'évaluation de la libido. Nous convenons que notre détecteur ne permet pas de mesurer ce comportement qui est pourtant essentiel pour la fécondation. Toutefois, on peut se demander si, dans le laps de temps court (30 minutes) que durent les tests, exprimer la libido de cette façon n'est pas illusoire. En effet, les éjaculations répétées ne sont pas toujours réalisées dans le temps imparti aux tests. Cette mesure non-automatisée demeure donc problématique.
S'agissant de l'importance de l'activité sexuelles des béliers dans l'efficacité de l'effet mâle à contre saison (Chanvallon et al., 2011), on peut penser que les mâles que nous avons mesurés comme les plus actifs vont avoir des contacts plus fréquents avec les brebis que ceux qui ont une activité faible. Ainsi le choix de mâles plus actifs devrait contribuer à améliorer la proportion de brebis qui répondent à l'effet mâle et sortent de l'anœstrus saisonnier. Ce point pourrait être vérifié au Domaine du Merle où l'effet mâle est étudié avec le Détecteur Alpha (Debus et al.).

Les béliers que nous avons utilisés sont ceux qui sont gardés pour la reproduction au Domaine du Merle. Malgré cela nous montrons que les écarts de libido sont très importants. Nous avons montré que le détecteur électronique de chevauchement pouvait être utilisé pour éliminer les moins actifs, d'autant plus que la mesure peut être utilisée pendant la lutte avec des brebis en situations d'élevage quelle que soit la saison et sans obligation de disposer de brebis synchronisées.
Plus généralement, les béliers qui sont retenus dans les centres de sélection et pour l'insémination ne sont pas actuellement évalués, lorsqu'ils sont jeunes, sur leur comportement sexuel. Cette situation pourrait devenir critique car il a été montré que le taux de bélier inaptes à la reproduction pouvait atteindre 23% (Alexander et al., 2012) dans certains schémas de sélection. Il nous a été signalé que les jeunes mâles ne devaient pas être mis en contact des brebis s'ils sont utilisés ultérieurement en centre de collecte. Compte-tenu de la facilité de mise en œuvre du Détecteur Alpha il nous semble que la confirmation de cette difficulté devrait être étudiée sérieusement.
Au plan méthodologique, l'absence de détections des éjaculations par l'Alpha-D peut constituer un handicap à son utilisation pour l'évaluation complète de la libido des mâles. Toutefois, on peut penser que des mesures par accéléromètres placés sur le bélier puissent un jour détecter les mouvements brusques lors de l'éjaculation. Les premiers essais que nous avons réalisés (Lefort, Alhamada, Debus, Bocquier, NP) n'ont pas été concluants.

3-L'importance du rôle des brebis dans les processus comportementaux lors de la mise à la reproduction

Comme chez les mâles, nous avons vu chez les brebis, de grandes différences dans le nombre total de chevauchements au cours de l'œstrus : de quelques chevauchements à une centaine (P2). Dans une de nos expériences (P3) lors de l'évaluation des mâles, au cours des 6 épreuves et à la même saison, nous avions utilisé quelques brebis Lacaune à la place des brebis Mérinos d'Arles en pensant que les comportements des béliers de race Mérinos et Mourérous ne changeraient pas. Le résultat inattendu (P5) a été que les deux types de béliers ont été moins actifs vis-à-vis des brebis Lacaune. Ainsi, alors qu'un tiers seulement des comportements auraient dû s'orienter vers la brebis Mérinos (1 femelle sur 3), les béliers ont consacré en moyenne les deux tiers de leurs activités pré-copulatoires à cette seule femelle. De plus, 86 % de leurs activités copulatoires (chevauchement et tentative de chevauchement, les mâles étant équipés d'un tablier pour éviter la saillie) se sont orientées exclusivement vers cette brebis Mérinos. Même le bélier le moins actif a exprimé 59 % de ses activités vers la brebis de race Mérinos. Nos mesures confirment une forte différence de format entre les brebis des deux races : la hauteur au garrot des brebis Lacaune (moy. 74 cm) est de 8 cm plus importante que celle des brebis Mérinos (66 cm). Ce n'est probablement pas le format qui a gêné les béliers, car sur des béliers Soay (intra-race) ce sont les brebis les plus lourdes qui stimulent le plus les béliers (Preston et al., 2005). Selon Fabre-Nys (2010), la position hiérarchique des femelles pourrait avoir un effet. Cet effet, s'il existe doit être limité car dans notre dispositif les femelles n'ont pas eu le temps d'établir une hiérarchie pendant la durée du test. Nous avons aussi exclu un effet de la nouveauté car ces brebis Lacaune étaient dans le troupeau depuis plus de 6 mois. D'ailleurs cet effet race, s'il existe, n'a pas empêché les béliers vasectomisés Mourérous de confirmer la préférence des béliers entiers Mérinos. Une façon de compléter ces résultats consisterait à combiner, en un même endroit, les effets races de béliers avec ceux des brebis après les avoir élevés ensemble pour éviter un effet nouveauté ou un effet olfactif évident qui pourrait provenir de modes d'élevage différents. Pour cette discussion générale, nous reprendrons les résultats sur ses accouplements préférentiels selon la race (P5) lors de la discussion sur l'effet de l'alimentation des brebis (P3).

Nos résultats sur les comportements béliers – brebis selon l'état nutritionnel des brebis sont très originaux, notamment parce que les spécialistes du comportement sexuels n'ont pas abordé cette question (Fabre-Nys, 2010; Ungerfeld et al., 2008 ; Chemineau et al., 1992) et que les physiologistes de la reproduction se sont surtout focalisés sur la fertilité ou la prolificité des femelles (Scaramuzzi et al., 2006 ; Martin et al., 2004; Delgadillo et al., 2006). Comme nous l'avons indiqué au Chapitre 1, la thématique nutrition x reproduction est abordée par l'UMR SELMET en raison des fortes fluctuations des apports alimentaires dans les systèmes d'élevage Méditerranéens et Tropicaux.

Nous montrons, pour la première fois sur les ruminants, une relation linéaire entre le poids vif des brebis et leurs notes d'attractivité. Lorsque nous cherchons à appliquer les concepts d'effet statique (poids, note d'état corporel) et dynamiques (métabolites et hormones : AGNE, GLU, βOHB et LEP, INS,) évoqués par Scaramuzzi et al. (2006), nous constatons une

amélioration du modèle de prévision de l'attractivité des brebis. L'effet principal étant la composante statique qui est ensuit modulée par le bilan énergétique individuel des brebis au moment des tests. Nous convenons qu'un même résultat établit avec des brebis en alimentation individuelle aurait été plus démonstratif. Inversement, les conditions expérimentales avec une alimentation collective renforcent la portée de nos résultats.

Nous avons voulu vérifier ces résultats d'accouplements préférentiels avec d'autres données obtenues dans un troupeau sur des brebis Mérinos du Domaine du Merle avec le détecteur Alpha-D. Pour cela, nous avons utilisé les résultats de 275 brebis mises en lutte en Avril 2015 lors de la réalisation d'un effet bélier par les mêmes 6 béliers vasectomisés de la P3. Nous avons écarté les brebis avec très peu de chevauchements (faux-positifs car non cyclées) pour conserver uniquement les 228 brebis avec plus de 5 chevauchements sur 17 jours (1 cycle). Ces brebis avaient été pesées (PV=44.2 ±4.8 kg) et notées (NEC = 2.5±0.3) la semaine avant l'introduction des béliers. Nous avons répartis les 228 brebis en 6 classes égales de 38 brebis selon leur poids vif. Le nombre moyen de chevauchement par classe de poids vif s'accroit régulièrement avec le poids moyen des brebis (r=+0,85, n=6). En revanche, il n'y pas de relation entre le nombre de chevauchement et la NEC des brebis qui était plus homogène que le poids vif. Notons qu'il y a un effet de l'âge des brebis sur leur poids vifs PV =+3,63 x AGE + 29,3 ; r=+0,27) qui n'apparaît pas significativement influencer directement le nombre de chevauchements. Nous confirmons donc sur ce jeu de données 2015 qu'il y a bien des accouplements préférentiels des béliers avec les brebis les plus lourdes. En revanche, à partir de données semblables obtenues en 2014 sur 228 brebis détectées en chaleurs lors de la reproduction à contre saison. Le nombre moyen de chevauchements, qui était faible, se situait à 9,2±3,9 (entre 5-19 chevauchements/brebis) et le PV moyen était de 46.4±3.9 kg avec une NEC moyenne de 2,5±0,2. Dans ce cas, il n'y avait pas de corrélation significative (P>0,05) entre le nombre de chevauchements et le poids vif des brebis (ou leur NEC). Ceci s'expliquerait par un poids vif moyen et des NEC dans ce lot qui étaient assez homogènes. Ce résultat est cohérent avec celui de 2015, lorsque les brebis sont homogènes il n'y a pas d'accouplements préférentiels entre béliers et brebis.

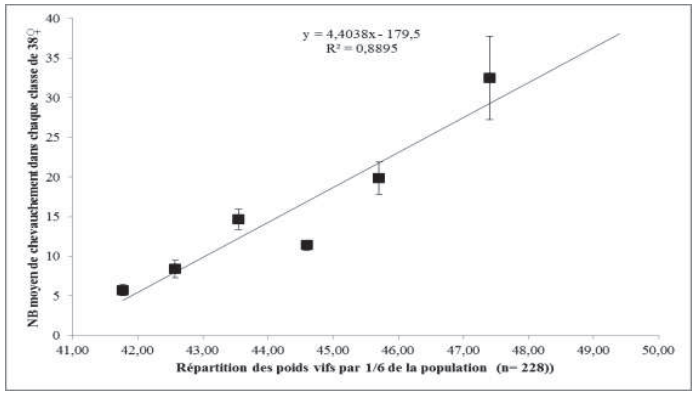


Figure 3 : Relation entre le poids vif moyen et le nombre de chevauchements par les 6 béliers vasectomisés. Les écart-types du nombre de chevauchements sont indiqués sur la figure

Pour tenter de comprendre l'origine de ces chevauchements préférentiels par les béliers nous avons à nouveau mobilisé des données disponibles au Domaine du Merle. Nous avons analysé la structure du réseau des relations sexuelles entre les brebis et les béliers (données de N. Debus, effet mâle 2013). Pour ceci, nous avons tracé tous les liens entre chaque bélier et les brebis qu'il a chevauché. Nous avons ensuite classé les brebis sur des cercles concentriques selon le nombre de béliers différents qui ont chevauché ces brebis.

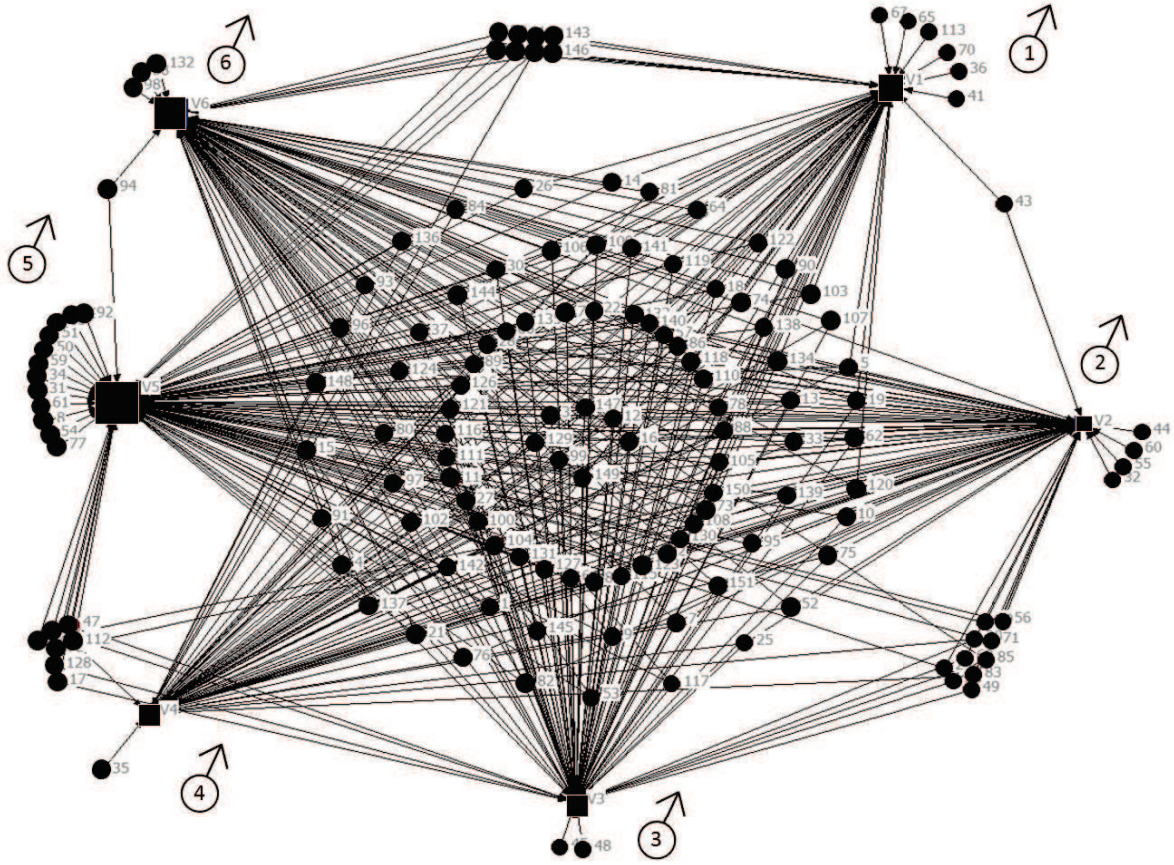


Figure 5. *Représentation des relations entre les béliers et les brebis au sein d'un lot de reproduction (150 brebis et 6 béliers). Chaque trait représente les chevauchements effectués par un bélier sur une brebis. Au centre les brebis chevauchées par la totalité des béliers, à la périphérie celles qui sont chevauchées par moins de béliers.*

Ainsi, sur la Figure 5, on trouve sur le cercle central les brebis qui ont été chevauchées par tous les béliers. En élargissant les cercles, on trouve les brebis qui n'ont été chevauchées que par quelques béliers. Enfin, on trouve avec cette représentation des brebis qui n'ont été chevauchées que par un seul bélier (placée derrière chaque bélier). Cette représentation illustre que malgré le temps assez brefs entre l'introduction des béliers et les mesures (5 jours), il s'est mis en place une organisation de la reproduction. On peut interpréter que les brebis au centre sont soit très attractives, soit qu'il n'y a pas de compétitions entre mâles qui y accèdent alors sans contraintes. En effet, nous pouvons remarquer qu'elles sont plutôt très attractives puisque le nombre moyen de chevauchement est de 20/brebis. Quant à l'importance des compétitions entre béliers nous ne pouvons pas conclure avec ces données.

Chapitre 6. Discussion générale et conclusions

La situation la plus étonnante est la présence de quelques brebis auprès de chaque bélier. Tout se passe comme si ces brebis avaient choisi ce bélier et qu'elles n'avaient pas été contestées par les autres mâles. Le nombre de chevauchements qu'elles ont accepté est plutôt faible (5 / jour) et traduit leur faible attractivité. Malheureusement, comme ces brebis n'ont pas été pesées, nous ne pouvons pas valider que ce sont les brebis les plus lourdes qui sont au centre et les plus légères qui sont à la périphérie. Nous ne pouvons pas expliquer la structure de ce réseau social par des différences d'attractivité liées à l'état nutritionnel comme nous l'avions observé (P4 et données troupeau). Toutefois, nous excluons que le réseau ait été structuré par des questions de consanguinité (ou inceste) car chez les ovins (Rioux-Paquette, et al., 2010) cela n'existe pas. Ces premiers résultats sur les réseaux sociaux, établis au moment de la lutte chez les Mérinos d'Arles, montrent que le type de reproduction serait marginalement de type harem comme observé chez les ovins Big Horn (Vanapé et al., 2007).

A l'issue de nos travaux, nous pouvons faire la synthèse du rôle de la brebis dans la réussite de la reproduction. L'analyse du réseau social au moment de la lutte (Figure 5) semble confirmer la règle généralement établie (Vanapé et al., 2007) selon laquelle ce sont les femelles (brebis) qui choisissent les mâles (béliers). En effet, nos résultats de test d'attractivité sur des brebis dans différents états nutritionnels (P4) montrent que les béliers expriment un comportement sexuel systématique (stéréotypique). En effet, leur décision de s'intéresser à telle ou telle brebis semble leur être imposée par la brebis elle-même : ils expriment tous la même préférence. Il nous semble que cette réaction stéréotypique des béliers se soit également exprimée lorsque nous avons présenté aux béliers des brebis d'une autre race (des brebis Lacaune aux béliers Mérinos d'Arles) et que tous les béliers Mérinos ont préférentiellement choisi la brebis Mérinos.

En reprenant l'analyse du réseau de la Figure 5, la réponse des mâles aux signaux des femelles font que celles qui sont très attractives attirent tous les béliers (elles sont au centre) et celles qui sont peu attractives (elles sont à la périphérie) finissent par être chevauchées par un bélier parce qu'elles l'ont volontairement choisi. Un autre argument réside dans l'organisation rapide de ce réseau. Si chaque brebis exprime clairement son attractivité, le réseau peut se structurer rapidement. En revanche, si les mâles devaient structurer le réseau selon leurs préférences (choix sélectifs), ils devraient d'abord prendre le contrôle de brebis, les empêcher de fuir et ensuite défendre ce groupe contre l'intrusion des autres mâles. La structure finale du réseau serait changée car formé de cercles concentriques autour de chaque béliers avec au centre des brebis peu attractives qui seraient alors éventuellement partagées par plusieurs béliers. Or ça n'est pas ce que nous observons, donc ce sont bien les brebis qui choisissent les béliers. Toutefois, ces interprétations qui semblent cohérentes souffrent de beaucoup d'hypothèses. En effet, nous n'avons aucune information sur la compétition entre les béliers (la « lutte »), et surtout nous n'avons pas de contrôles de la paternité qui est le critère de fitness généralement utilisé en écologie comportementale pour donner un sens biologique aux comportements des deux sexes.

Néanmoins les concepts de l'écologie comportementale nous permettent de mettre la brebis au centre du processus reproductif des ovins domestiques. Ils nous ont permis de revoir le rôle des brebis dans leurs relations avec les béliers. Ainsi la brebis qui dispose de ressources suffisantes pour assurer une descendance (gestation, lactation) émet probablement des signaux d'attractivité qui déclenchent la saillie quel que soit le bélier. Alors que la brebis en mauvais état corporel n'émet pas de signaux (ou des signaux négatifs comme dans le cas de la brebis Lacaune avec des béliers Mérinos) permettant l'évitement des saillies chez tous les mâles. Cette interprétation est cohérente avec les résultats du raccourcissement de la durée des

chaleurs chez les brebis sous alimentées (Debus et al., 2005), phénomène qui participe aussi à la réduction de la probabilité de saillie des brebis qui ne sont pas prêtes pour un cycle productif. Ces interprétations ne sont sans doute pas totalement valides en élevage puisque l'éleveur organise la reproduction en constituant des petits groupes de brebis, ce qui accroit les chances de saillies (de type chevauchements isolés) quel que soit l'état nutritionnel des brebis. Notons que nos résultats sont cohérents avec les observations faites en Tunisie sur la reproduction des brebis qui est d'autant plus précoce qu'elles sont en bon état corporel (Atti et al., 2001). Notre nouvelle interprétation de ces données serait que les béliers s'accouplent aux brebis uniquement lorsqu'elles émettent des signaux clairs : elles sont en état corporel suffisant. C'est d'ailleurs lorsqu'elles sont en bon état qu'elles sont les plus fertiles. Ainsi, à notre avis, une recherche de l'origine des accouplements préférentiels chez les ovins devraient se focaliser sur les signaux émis par la brebis.

Nos résultats sur ces accouplements préférentiels nous conduisent au constat que les brebis sous-alimentées, qui ont de faibles fertilités, ne sont même pas saillies par les béliers. La conclusion pratique qui s'impose est que les brebis les plus maigres d'un troupeau devraient être séparées des autres et placées avec un ratio élevé de béliers pour que les saillies puissent avoir lieu.

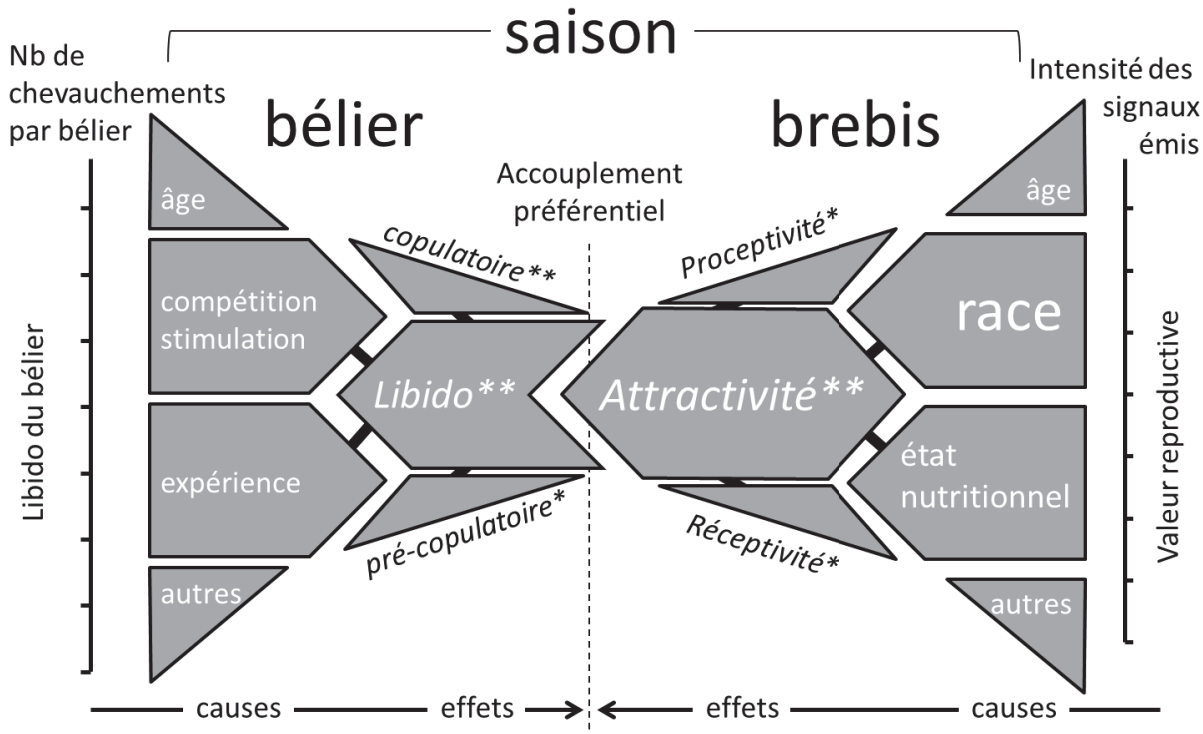


Figure 6. *Représentation schématique des facteurs comportementaux qui interviennent lors des accouplements préférentiels des béliers avec certaines brebis en œstrus. Nous montrons que l'attractivité des brebis est centrale dans le déclenchement des chevauchements par les béliers. Nous montrons que certaines mesures sont maintenant automatisées (**), alors que d'autres sont encore visuelles (*).*

Conclusion générale

La possibilité de détecter les chevauchements en temps réel a permis une avancée méthodologique significative dans la connaissance des comportements sexuels des ovins. Suite à notre travail, il apparait nécessaire de revoir les lois de réponses de différentes races ovines tant sur leur réponse aux traitements hormonaux, que pour caractériser leur durée d'œstrus que pour préciser le moment de l'ovulation. Si ces études s'avèrent fastidieuses, avec ce détecteur, il est envisageable d'améliorer les résultats d'insémination animale ovine en ajustant les protocoles à la réalité de chaque élevage : c'est une technologie pour un élevage de précision.

Ce détecteur électronique a également fait ses preuves (Figure 6) pour évaluer la libido des mâles dans des conditions proches de celle de l'élevage. Nous proposons que cette méthode, qui est beaucoup plus simple que les tests individuels, soit utilisée pour trier les mâles adultes en élevage et sélectionner les jeunes mâles des schémas de sélection. On peut même l'envisager maintenant comme méthode de référence pour évaluer la libido des béliers.

Notre thèse a abordé également la question des effets de la sous-alimentation sur la reproduction des ovins de façon originale puisque les comportements sexuels ont été suivis. Nous mettons clairement en évidence (Figure 6) que les accouplements des béliers se font préférentiellement vers les seules brebis capables d'assurer une gestation suivie d'une lactation : les brebis avec une bonne valeur reproductive. L'origine de ces différences de perception de la valeur reproductive des brebis n'est pas actuellement connue, mais les signaux émis ne sont pas équivoques pour les béliers.

Nous montrons que ce mécanisme qui s'exprime régulièrement chez les ongulés sauvages en permettant d'accroitre la fitness des deux sexes persiste chez les ovins rustiques élevés en systèmes extensifs.

Références

Alexander, B.M., Cockett, N.E., Burton, D.J., Hadfield, T.L., Moss, G.E., 2012. Reproductive performance of rams in three producer range flocks: Evidence of poor sexual behavior in the field. Small Ruminant Research 107, 117–120. doi:10.1016/j.smallrumres.2012.04.003

Allison, A.J., Davis, G.H., 1976. II. Effects of age of ewe, live weight, and paddock size on duration of oestrus and ram-seeking activity. New Zealand Journal of Experimental Agriculture 4, 269–274. doi:10.1080/03015521.1976.10425882

Atti, N., Bocquier, F., 1999. Adaptation des brebis Barbarine à l'alternance sous-nutrition-réalimentation : Effets sur les tissus adipeux. Annales de zootechnie 48, 189–198.

Atti, N., Thériez, M., Abdennebi, L., 2001. Relationship between ewe body condition at mating and reproductive performance in the fat-tailed Barbarine breed. Animal Research 50, 10. doi:10.1051/animres:2001121

Banks, E.M., 1964. Some Aspects of Sexual Behavior in Domestic Sheep, Ovis Aries. Behaviour 23, 249–278. doi:10.1163/156853964X00175

Baril, G., Remy, B., Vallet, J. c., Beckers, J. f., 1992. Effect of Repeated Use of Progestagen-PMSG Treatment for Estrus Control in Dairy Goats out of Breeding Season. Reproduction in Domestic Animals 27, 161–168. doi:10.1111/j.1439-0531.1992.tb00721.x

Barnard, S., Matthews, L.R., Messori, S., Podaliri Vulpiani, M., Ferri, N., 2015a. Behavioural reactivity of ewes and lambs during partial and total social isolation. Applied Animal Behaviour Science 163, 89–97. doi:10.1016/j.applanim.2014.11.016

Barnard, S., Matthews, L.R., Messori, S., Podaliri Vulpiani, M., Ferri, N., 2015b. Behavioural reactivity of ewes and lambs during partial and total social isolation. Applied Animal Behaviour Science 163, 89–97. doi:10.1016/j.applanim.2014.11.016

Beach, F.A., 1976. Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. Hormones and Behavior 7, 105–138. doi:10.1016/0018-506X(76)90008-8

Blanc F., Bocquier F., Debus N., Agabriel J., D'Hour P., Chilliard Y. 2004. La pérennité et la durabilité des élevages de ruminants dépendent des capacités adaptatives des femelles. INRA Productions Animales , 17, 287-302.

Blissitt, M.J., Bland, K.P., Cottrell, D.F., 1990. Discrimination between the odours of fresh oestrous and non-oestrous ewe urine by rams. Applied Animal Behaviour Science 25, 51–59. doi:10.1016/0168-1591(90)90069-P

Bocquier F., Viudes G., Maton C., Debus N., Gibault L.,Teyssier J., 2009. 60th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Barcelone, Spain, pp. 485.

Bocquier F., Debus N., Lurette A., Maton C., Viudes G., Moulin C.H., Jouven M. 2014. Elevage de précision en systèmes d'élevage peu intensifiés. INRA Prod. Anim, 27, 101-112

Boissy, A., Manteuffel, G., Jensen, M.B., Moe, R.O., Spruijt, B., Keeling, L.J., Winckler, C., Forkman, B., Dimitrov, I., Langbein, J., Bakken, M., Veissier, I., Aubert, A., 2007. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. Physiology & Behavior, Stress and Welfare in Farm Animals 92, 375–397. doi:10.1016/j.physbeh.2007.02.003

Bruyère, P., Hétreau, T., Ponsart, C., Gatien, J., Buff, S., Disenhaus, C., Giroud, O., Guérin, P., 2012. Can video cameras replace visual estrus detection in dairy cows? Theriogenology 77, 525–530. doi:10.1016/j.theriogenology.2011.08.027

Chanvallon, A., Sagot, L., Pottier, E., Debus, N., François, D., Fassier, T., Scaramuzzi, R.J., Fabre-Nys, C., 2011. New insights into the influence of breed and time of the year on the response of ewes to the "ram effect." Animal 5, 1594–1604.

doi:10.1017/S1751731111000668

Chemineau, P., Daveau, A., Maurice, F., Delgadillo, J.A., 1992. Seasonality of estrus and ovulation is not modified by subjecting female Alpine goats to a tropical photoperiod. Small Ruminant Research 8, 299–312. doi:10.1016/0921-4488(92)90211-L

Chenoweth, P.J., 1981a. Libido and mating behavior in bulls, boars and rams. A review. Theriogenology 16, 155–177. doi:10.1016/0093-691X(81)90098-4

Chenoweth, P.J., 1981b. Libido and mating behavior in bulls, boars and rams. A review. Theriogenology 16, 155–177. doi:10.1016/0093-691X(81)90098-4

Cornou, C., 2006. Automated oestrus detection methods in group housed sows: Review of the current methods and perspectives for development. Livestock Science 105, 1–11. doi:10.1016/j.livsci.2006.05.023

Darwish, R.A., Mahboub, H.D.H., 2011. Breed and experience effect on the sexual behaviors of Damascus and Egyptian-Nubian goat bucks. Theriogenology 76, 1386–1392. doi:10.1016/j.theriogenology.2011.06.003

Das, G.K., Naqvi, S.M.K., Gulyani, R., Pareek, S.R., Mittal, J.P., 2000. Effect of two doses of progesterone on estrus response and fertility in acycling crossbred Bharat Merino ewes in a semi-arid tropical environment. Small Ruminant Research 37, 159–163. doi:10.1016/S0921-4488(99)00151-0

Debus N., Caraty A., Fabre-Nys C., Canepa S., Bocquier F. 2005. Restriction alimentaire, comportement sexuel et réponse endocrinienne de la brebis Mérinos d'Arles. 1ère Journées d'Animation Scientifique du Département PHASE, Tours (France), 15-16 Mars

Debus, N., Chavatte-Palmer, P., Viudes, G., Camous, S., Rosefort, A., Hassoun, P., 2012. Maternal periconceptional undernutrition in Merinos d'Arles sheep: 1. Effects on pregnancy and reproduction results of dams and offspring growth performances. Theriogenology 77, 1453–1465. doi:10.1016/j.theriogenology.2011.11.015

Delgadillo, J.A., Flores, J.A., Véliz, F.G., Duarte, G., Vielma, J., Hernandez, H., Fernandez, I.G., 2006. Importance of the signals provided by the buck for the success of the male effect in goats. Reprod. Nutr. Dev. 46, 391–400. doi:10.1051/rnd:2006020

Delgadillo, J.A., Flores, J.A., Hernández, H., Poindron, P., Keller, M., Fitz-Rodríguez, G., Duarte, G., Vielma, J., Fernández, I.G., Chemineau, P., 2015. Sexually active males prevent the display of seasonal anestrus in female goats. Horm Behav 69, 8–15. doi:10.1016/j.yhbeh.2014.12.001

Dumont, B., D'hour, P., Petit, M., 1995. The usefulness of grazing tests for studying the ability of sheep and cattle to exploit reproductive patches of pastures. Applied Animal Behaviour Science 45, 79–88. doi:10.1016/0168-1591(95)00598-M

Edey, T.N., Kilgour, R., Bremner, K., 1978. Sexual behaviour and reproductive performance of ewe lambs at and after puberty. The Journal of Agricultural Science 90, 83–91. doi:10.1017/S0021859600048619

Elevage de précision [WWW Document], n.d. . idele.fr. URL http://idele.fr/reseaux-et-partenariats/publication/idelesolr/recommends/elevage-de-precision.html (accessed 9.23.16).

Fabre-Nys, C., 2010. Mating behavior, in: Encyclopedia of Behavioral Neuroscience. Academic Press, p. np.

Fabre-Nys, C., Gelez, H., 2007. Sexual behavior in ewes and other domestic ruminants. Hormones and Behavior, Reproductive Behavior in Farm and Laboratory Animals11th Annual Meeting of the Society for Behavioral Neuroendocrinology 52, 18–25. doi:10.1016/j.yhbeh.2007.04.001

Fabre-Nys, C., Venier, G., 1987. Development and use of a method for quantifying female sexual behaviour in ewes. Applied Animal Behaviour Science 17, 289–304.

doi:10.1016/0168-1591(87)90153-5
Fabre-Nys, C.J., Venier, G., 1989. Quantitative analysis of oestrous behaviour through the breeding season in two breeds of sheep. Animal Reproduction Science 21, 37–51. doi:10.1016/0378-4320(89)90130-9.
Fabre-Nys, C., Kendrick, K.M., Scaramuzzi, R.J., 2015. The "ram effect": new insights into neural modulation of the gonadotropic axis by male odors and socio-sexual interactions. Front Neurosci 9. doi:10.3389/fnins.2015.00111

Fletcher, I.C., Lindsay, D.R., 1971. Effect of Rams on the Duration of Oestrous Behaviour in Ewes. J Reprod Fertil 25, 253–259. doi:10.1530/jrf.0.0250253
Francois, B., N, D., A, L., C, M., G, V., C.-H, M., M, J., 2014. Elevage de précision en systèmes d'élevage peu intensifiés. ResearchGate 27, 97–110.
Gatti, M., Ungerfeld, R., 2012. Intravaginal sponges to synchronize estrus decrease sexual attractiveness in ewes. Theriogenology 78, 1796–1799. doi:10.1016/j.theriogenology.2012.07.001
Gouletsou, P.G., Fthenakis, G.C., 2010. Clinical evaluation of reproductive ability of rams. Small Ruminant Research, Special Issue: Sheep Diagnostic Medicine 92, 45–51. doi:10.1016/j.smallrumres.2010.04.005
Inra Productions Animales - Les recherches sur le bien-être animal : buts, méthodologie et finalité [WWW Document], n.d. URL https://www6.inra.fr/productions-animales/2007-Volume-20/Numero-1-2007/Les-recherches-sur-le-bien-etre-animal-buts-methodologie-et-finalite (accessed 9.6.16).
Insémination animale sans hormone après détection automatisée des chevauchements chez la brebis [WWW Document], n.d. URL http://prodinra.inra.fr/?locale=fr#!ConsultNotice:280056 (accessed 9.29.16).
Kendrick, K.M., Atkins, K., Hinton, M.R., Broad, K.D., Fabre-Nys, C., Keverne, B., 1995. Facial and vocal discrimination in sheep. Animal Behaviour 49, 1665–1676. doi:10.1016/0003-3472(95)90088-8
Kilgour, R., Wilkins, J., 1980. Effect of serving capacity of the ram syndicate on flock fertility. Aust. J. Exp. Agric. 20, 662–666.
Kilgour, R.J., 1993. The relationship between ram breeding capacity and flock fertility. Theriogenology 40, 277–285. doi:10.1016/0093-691X(93)90265-7
Kridli, R.T., Said, S.I., 1999. Libido testing and the effect of exposing sexually naive Awassi rams to estrous ewes on sexual performance. Small Ruminant Research 32, 149–152. doi:10.1016/S0921-4488(98)00168-0
Kridli, R.T., Shaker, M.M., Abdullah, A.Y., Muwalla, M.M., 2007. Sexual behaviour of yearling Awassi, Charollais × Awassi and Romanov × Awassi rams exposed to oestrousAwassi ewes. Trop Anim Health Prod 39, 229–235. doi:10.1007/s11250-007-9007-3
Lezama, V., Orihuela, A., Angulo, R., 2003. Effect of restraining rams or change of the stimulus ewe on the libido and semen quality of rams. Small Ruminant Research 49, 219–222. doi:10.1016/S0921-4488(03)00060-9
Lindsay, D.R., 1965. The importance of olfactory stimuli in the mating behaviour of the ram. Animal Behaviour 13, 75–78. doi:10.1016/0003-3472(65)90074-6
Lindsay, D.R., Dunsmore, D.G., Williams, J.D., Syme, G.J., 1976. Audience effects on the mating behaviour of rams. Animal Behaviour 24, 818–821. doi:10.1016/S0003-3472(76)80012-7
Lindsay, D.R., Fletcher, I.C., 1972. Ram-seeking activity associated with oestrous behaviour in ewes. Animal Behaviour 20, 452–456. doi:10.1016/S0003-3472(72)80008-3
Martin, G.B., Hötzel, M.J., Blache, D., Walkden-Brown, S.W., Blackberry, M.A., Boukhliq,

R.C., Fisher, J.S., Miller, D.W., 2002. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: modification of responses to photoperiod by an annual cycle in food supply. Reprod. Fertil. Dev. 14, 165–175.

Martin, G.B., Kadokawa, H., 2006. "Clean, green and ethical" animal production. Case study: reproductive efficiency in small ruminants. J. Reprod. Dev. 52, 145–152.

Martin, G.B., Rodger, J., Blache, D., 2004. Nutritional and environmental effects on reproduction in small ruminants. Reprod. Fertil. Dev. 16, 491–501.

Martin, G.B., Tjondronegoro, S., Boukhliq, R., Blackberry, M.A., Briegel, J.R., Blache, D., Fisher, J.A., Adams, N.R., 1999. Determinants of the annual pattern of reproduction in mature male Merino and Suffolk sheep: modification of endogenous rhythms by photoperiod. Reprod. Fertil. Dev. 11, 355–366.

Maton, C., Debus, N., Lurette, A., Guyonneau, J.D., Viudes, G., Tesnière, A., Bocquier, F., 2015. Insémination animale sans hormone après détection automatisée des chevauchements chez la brebis. 21èmes Rencontres Recherches Ruminants.

Maurya, V.P., Sejian, V., Kumar, D., Naqvi, S.M.K., 2010. Effect of induced body condition score differences on sexual behavior, scrotal measurements, semen attributes and endocrine responses in Malpura rams under hot semi-arid environment. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 94, e308-317. doi:10.1111/j.1439-0396.2010.01012.x

McKenzie, F.F., Phillips, R.W., 1931. Some Observations on the Estrual Cycle in the Sheep. Proceedings of the American Society of Animal Nutrition 1931, 138–143. doi:10.2527/jas1931.19311138x

Novak, M.F.S.X., 2004. Fetal–Maternal Interactions: Prenatal Psychobiological Precursors to Adaptive Infant Development, in: Schatten, G.P. (Ed.), Current Topics in Developmental Biology. Academic Press, pp. 37–60.

Ortavant, R., Bocquier, F., Pelletier, J., Ravault, J.P., Thimonier, J., Volland-Nail, P., 1988. Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. Aust. J. Biol. Sci. 41, 69–85.

Pearce, G.P., Oldham, C.M., 1988. Importance of non-olfactory ram stimuli in mediating ram-induced ovulation in the ewe. J Reprod Fertil 84, 333–339. doi:10.1530/jrf.0.0840333

Preston, B.T., Stevenson, I.R., Pemberton, J.M., Coltman, D.W., Wilson, K., 2005. Male mate choice influences female promiscuity in Soay sheep. Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences 272, 365–373. doi:10.1098/rspb.2004.2977

Price, E.O., 1987. Male Sexual Behavior. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 3, 405–422. doi:10.1016/S0749-0720(15)31161-0

Price, E.O., Bench, C.J., Borgwardt, R.E., Dally, M.R., 2000. Sexual performance of twin ram lambs and the effect of number and sex of contemporary siblings. Applied Animal Behaviour Science 68, 199–205. doi:10.1016/S0168-1591(00)00103-9

Price, E.O., Borgwardt, R., Blackshaw, J.K., Blackshaw, A., Dally, M.R., Erhard, H., 1994. Effect of early experience on the sexual performance of yearling rams. Applied Animal Behaviour Science 42, 41–48. doi:10.1016/0168-1591(94)90005-1

Price, E.O., Borgwardt, R., Dally, M.R., Hemsworth, P.H., 1996. Repeated matings with individual ewes by rams differing in sexual performance. J. Anim. Sci. 74, 542–544.

Price, E.O., Erhard, H., Borgwardt, R., Dally, M.R., 1992. Measures of libido and their relation to serving capacity in the ram. Journal of animal science 70, 3376–3380. doi:/1992.70113376x

Radford, H.M., Watson, R.H., Wood, G.F., 1960. A Crayon and Associated Harness for the Detection Op Mating Under Field Conditions. Australian Veterinary Journal 36, 57–66. doi:10.1111/j.1751-0813.1960.tb03764.x

Ramos, M.A., Ungerfeld, R., 2006. A note on ram preference by oestrous ewes: Influence of rams' age and sexual performance. Applied Animal Behaviour Science 100, 314–318.

doi:10.1016/j.applanim.2005.11.011
Rioux-Paquette, E., Festa-Bianchet, M., Coltman, D.W., 2010. No inbreeding avoidance in an isolated population of bighorn sheep. Animal Behaviour 80: 865-871. http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.08.006
Romano, J.E., Alkar, A., Amstalden, M., 2016. Effect of copulation on estrus duration and ovulation time in goats. Theriogenology 85, 330–334. doi:10.1016/j.theriogenology.2015.09.021
Rosa, H.J.D., Bryant, M.J., 2003. Seasonality of reproduction in sheep. Small Ruminant Research 48, 155–171. doi:10.1016/S0921-4488(03)00038-5
Rosa, H.J.D., Juniper, D.T., Bryant, M.J., 2000. The effect of exposure to oestrous ewes on rams' sexual behaviour, plasma testosterone concentration and ability to stimulate ovulation in seasonally anoestrous ewes. Applied Animal Behaviour Science 67, 293–305. doi:10.1016/S0168-1591(00)00086-1
Ruiz-de-la-Torre, J.L., Manteca, X., 1999. Behavioural Effects of Social Mixing at Different Stocking Densities in Prepubertal Lambs. Animal Welfare 8, 117–126.
Scaramuzzi, R.J., Campbell, B.K., Downing, J.A., Kendall, N.R., Khalid, M., Muñoz-Gutiérrez, M., Somchit, A., 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. Reproduction Nutrition Development 46, 16. doi:10.1051/rnd:2006016
Scaramuzzi, R.J., Martin, G.B., 2008. The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. Reprod. Domest. Anim. 43, 129–136. doi:10.1111/j.1439-0531.2008.01152.x
Senger, P.L., 1994. The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities. J. Dairy Sci. 77, 2745–2753. doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)77217-9
SHEEP | Animal Behaviour, n.d.
Simitzis, P.E., Deligeorgis, S.G., Bizelis, J.A., 2006. Effect of breed and age on sexual behaviour of rams. Theriogenology 65, 1480–1491. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.09.001
Snowder, G.D., Stellflug, J.N., Van Vleck, L.D., 2004. Genetic correlation of ram sexual performance with ewe reproductive traits of four sheep breeds. Applied Animal Behaviour Science 88, 253–261. doi:10.1016/j.applanim.2004.04.004
Snowder, G.D., Stellflug, J.N., Vleck, V., D, L., 2002. Heritability and repeatability of sexual performance scores of rams. Journal of animal science 80, 1508–1511. doi:/2002.8061508x
Stellflug, J.N., Berardinelli, J.G., 2002. Ram mating behavior after long-term selection for reproductive rate in Rambouillet ewes. Journal of Animal Science 80, 2588–2593. doi:/2002.80102588x
Stellflug, J.N., Cockett, N.E., Lewis, G.S., 2006. Relationship between sexual behavior classifications of rams and lambs sired in a competitive breeding environment. J. Anim. Sci. 84, 463–468.
Stellflug, J.N., Lewis, G.S., 2007. Effect of early and late exposure to estrual ewes on ram sexual performance classifications. Animal Reproduction Science 97, 295–302. doi:10.1016/j.anireprosci.2006.02.007
Stellflug, J.N., Lewis, G.S., Moffet, C.A., Leeds, T.D., 2008. Evaluation of three-ram cohort serving capacity tests as a substitute for individual serving capacity tests. Journal of Animal Science 86, 2024–2031. doi:10.2527/jas.2007-0820
Sugnaseelan, S., Prescott, N.B., Broom, D.M., Wathes, C.M., Phillips, C.J.C., 2013. Visual discrimination learning and spatial acuity in sheep. Applied Animal Behaviour

Science 147, 104–111. doi:10.1016/j.applanim.2013.04.012

Teyssier, J., Migaud, M., Debus, N., Maton, C., Tillard, E., Malpaux, B., Chemineau, P., Bodin, L., 2011. Expression of seasonality in Merinos d'Arles ewes of different genotypes at the MT1 melatonin receptor gene. Animal 5, 329–336. doi:10.1017/S1751731110001813

Thibault, C., Levasseur, M.-C., 2001. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Editions Quae.

Tilbrook, A.J., 1987. Physical and behavioural factors affecting the sexual "attractiveness" of the ewe. Applied Animal Behaviour Science 17, 109–115. doi:10.1016/0168-1591(87)90013-X

Tilbrook, A.J., Lindsay, D.R., 1987. Differences in the sexual "attractiveness" of oestrous ewes to rams. Applied Animal Behaviour Science 17, 129–138. doi:10.1016/0168-1591(87)90015-3

Ungerfeld, R., 2012. Seasonal reproductive patterns and effectiveness as teasers (ram effect) of Corriedale and Milchschaf rams. Anim. Prod. Sci. 52, 1036–1041.

Ungerfeld, R., 2012. Sexual behavior of medium-ranked rams toward non-estrual ewes is stimulated by the presence of low-ranked rams. Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research 7, 84–87. doi:10.1016/j.jveb.2011.05.023

Ungerfeld, R., Gonzalez-Pensado, S.P., 2009. Social Dominance and Courtship and Mating Behaviour in Rams in Non-Competitive and Competitive Pen Tests. Reprod. Domest. Anim. 44, 44–47. doi:10.1111/j.1439-0531.2007.00987.x

Ungerfeld, R., Lacuesta, L., 2015. Competition Between Different Social Ranked Rams has Similar Effects on Testosterone and Sexual Behaviour Throughout the Year. Reprod Dom Anim 50, 1022–1027. doi:10.1111/rda.12630

Ungerfeld, R., Ramos, M.A., Möller, R., 2006a. Role of the vomeronasal organ on ram's courtship and mating behaviour, and on mate choice among oestrous ewes. Applied Animal Behaviour Science 99, 248–252. doi:10.1016/j.applanim.2005.10.016

Ungerfeld, R., Ramos, M.A., Möller, R., 2006b. Role of the vomeronasal organ on ram's courtship and mating behaviour, and on mate choice among oestrous ewes. Applied Animal Behaviour Science 99, 248–252. doi:10.1016/j.applanim.2005.10.016

Ungerfeld, R., Silva, L., 2005. The presence of normal vaginal flora is necessary for normal sexual attractiveness of estrous ewes. Applied Animal Behaviour Science 93, 245–250. doi:10.1016/j.applanim.2004.11.014

Use of electronic identification for automated oestrus detection in livestock [WWW Document], n.d. URL http://prodinra.inra.fr/?locale=fr#!ConsultNotice:36398 (accessed 9.29.16a).

Use of electronic identification for automated oestrus detection in livestock [WWW Document], n.d. URL http://prodinra.inra.fr/?locale=fr#!ConsultNotice:36398 (accessed 9.29.16b).

Uthlaut, V.A., Moss, G.E., Stobart, R.H., Larson, B.A., Alexander, B.M., 2011. Sexual performance and production traits in white-faced yearling rams. Small Ruminant Research 100, 63–66. doi:10.1016/j.smallrumres.2011.05.015

Utilisation de l'identification électronique pour la détection automatisée du comportement sexuel chez les ovins : perspectives pour la détection des chaleurs chez la brebis [WWW Document], n.d. URL http://prodinra.inra.fr/?locale=fr#!ConsultNotice:11944 (accessed 9.29.16).

Vanapé C. Thèse. 2007. Mating systems and sexual selection in ungulates New insights from a territorial species with low sexual size dimorphism: the European roe deer (Capreolus capreolus). Ecology, environment. Universite Paul Sabatier - Toulouse III; Swedish University of Agricultural Sciences.

Références

Veissier I., Boissy A. 2007. Stress and welfare: Two complementary concepts that are intrinsically related to the animal's point of view. Physiology & Behavior 92, 429–433

Wiley: Sheep Flock Health: A Planned Approach - Neil Sargison [WWW Document], n.d. URL http://eu.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-1444302604.html (accessed 9.23.16).

Wodzicka-Tomaszewska, M., Kilgour, R., Ryan, M., 1981. "Libido" in the larger farm animals: A review. Applied Animal Ethology 7, 203–238. doi:10.1016/0304-3762(81)90080-8

Zarazaga, L.A., Guzmán, J.L., Domínguez, C., Pérez, M.C., Prieto, R., 2009. Effects of season and feeding level on reproductive activity and semen quality in Payoya buck goats. Theriogenology 71, 1316–1325. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.01.007

Zeleke, M., Greyling, J.P.C., Schwalbach, L.M.J., Muller, T., Erasmus, J.A., 2005. Effect of progestagen and PMSG on oestrous synchronization and fertility in Dorper ewes during the transition period. Small Ruminant Research 56, 47–53. doi:10.1016/j.smallrumres.2003.12.006

Zenchak, J.J., Anderson, G.C., Schein, M.W., 1981. Sexual partner preference of adult rams (Ovis aries) as affected by social experiences during rearing. Applied Animal Ethology 7, 157–167. doi:10.1016/0304-3762(81)90094-8.

Annexe 1 :
Communication Rencontre Recherches Ruminants 2015

Le comportement sexuel des béliers en confinement est fortement influencé par la race des brebis

The sexual behavior of confined rams is strongly influenced by ewe breed

ALHAMADA M. (1,2), DEBUS N. (1), LURETTE A. (1), GUYONNEAU J.D. (1, 3), MATON C. (1, 3), BOCQUIER F. (1, 2)
(1) INRA, UMR868 Systèmes d'élevage méditerranéens et tropicaux, F-34000 Montpellier, France.
(2) SupAgro, F-34000 Montpellier, France. (3) SupAgro, Domaine du Merle, F-13300 Salon de Provence, France

INTRODUCTION

L'utilisation du croisement entre races en élevage ovin est fréquente, généralement en introduisant des béliers d'une autre race afin d'améliorer les performances de croissance. Nous étudions ici la libido des béliers comme facteur limitant de la détection automatisée des chaleurs, avec le système décrit par Bocquier *et al* (2006). Le comportement sexuel de béliers Mérinos d'Arles face à des brebis de la même race et ou de race Lacaune lait a été étudié.

1. MATERIEL ET METHODES

Le comportement sexuel de six béliers de race Mérinos d'Arles a été étudié en les mettant en contact avec un lot de 3 brebis en chaleurs et de 3 brebis en phase lutéale, induites par la pose d'une éponge intra-vaginale de progestagène. Les groupes de 3 brebis étaient composés d'une brebis Mérinos et de 2 brebis Lacaune. Pendant un test de 30 minutes, les béliers ont été observés individuellement et leurs comportements sexuels enregistrés. Les comportements ont été regroupés en activités exploratoires (A.Exp : flairage, émission d'un son, coups de patte, flehmen, tête sur la croupe et mouvements de la langue) et consommatoires (A.Cons : chevauchement et tentative de chevauchement; les béliers étant équipés d'un tablier pour empêcher la saillie). Chaque bélier a été testé 2 fois par jour, à un intervalle de plus de 3 heures, sur deux lots différents de 6 brebis, dans des cases de 5 x 5 m. Ce test a été répété à 3 reprises sur des lots de brebis différents au cours d'une même semaine au mois de mai. Les données ont été traitées par statistiques non-paramétriques (test de Friedman).

2. RESULTATS

Nous observons au total de grandes ($p<0,01$) différences de libido entre les mâles : le nombre moyen de comportements par test de 30 min/bélier est de 228 ± 149 A.Exp, et de 18 ± 12 A.Cons au cours des 6 tests (Tableau 1). Au cours des 6 tests, les 6 béliers adultes ont clairement manifesté des comportements sexuels (A.Exp + A.Cons) envers les brebis en chaleurs ; en moyenne 76 activités/brebis/30 min (soit 92 % des comportements) et très peu envers les brebis en phase lutéale, en moyenne, 6 activités/brebis/30 min (soit 8 % des comportements). Les A.Exp sont 12,7 fois plus nombreuses que les A.Cons. En théorie avec 3 brebis en chaleurs, les activités des béliers devraient se répartir de façon égale (33 %) entre les 3 brebis en chaleur. Or, les béliers Mérinos ont consacré 65 % de leurs A.Exp (en moy. 52 activités/brebis/30 min) et 86 % de leurs activités consommatoires (5 activités/brebis/30 min) à l'unique brebis Mérinos en chaleur (Figure 1). Les brebis Lacaune, quant à elles, ont été peu sollicitées : A.Exp. = 17 (Lac2) à 18 (Lac1) % avec 9 activités/brebis/30 min et A. Cons. = 7 (Lac1) et 7 (Lac2) % avec 1 activité/brebis/30 min). Malgré les écarts d'activités entre béliers ($p<0,01$; Tableau 1), cette préférence des béliers Mérinos est remarquablement constante d'un individu à l'autre En effet, même le bélier le moins sélectif du point de vue exploratoire (M6) a exprimé 59 % de ses A.Exp pour la seule brebis Mérinos en chaleur. De même le bélier le moins sélectif dans ses activités consommatoires (M3) a exprimé 79 % de ses A.Cons pour cette brebis Mérinos.

Tableau 1 : Nombre moyen d'activités par test de 30 min et par bélier au cours des 6 tests (a et b : $p<0,05$).

Beliers	M1	M2	M3	M4	M5	M6
A_Exp	114	127	220	509	260	141
A_Cons	18ab	1a	39b	24ab	16ab	16ab

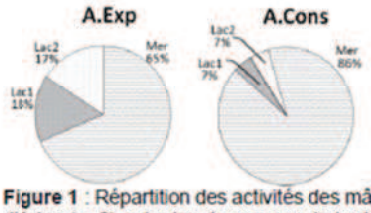


Figure 1 : Répartition des activités des mâles de race Mérinos d'Arles (n=6) entre les deux races de brebis : Mérinos d'Arles (Mer, n=1) et Lacaune (Lac, n=2).

DISCUSSION ET CONCLUSION

Ces observations montrent que lorsqu'un bélier a le choix entre des brebis de sa race et des brebis d'une autre race, il s'oriente préférentiellement vers les femelles de sa race (Wodzicka-Tomaszewska *et al.*, 1981). Ceci complète des observations (Lees et Weatherhead., 1970) qui montraient le même comportement de choix chez la femelle. Des hypothèses possibles sont une perception moins rapide de l'état hormonal de la brebis (Simitzis *et al.*, 2006), ou la différence de taille des brebis : les brebis Lacaune ayant une hauteur au garrot (74 ± 3 cm) plus élevée que celle des Mérinos (66 ± 2 cm) ($p=0,05$). Dans notre cas, comme les brebis Lacaune avaient été introduites dans le troupeau depuis 3 mois seulement, il n'est pas possible de distinguer la part de l'effet nouveauté de celle de l'effet race. Notre dispositif, très contraignant pour les animaux, qui étaient confinés dans l'espace (case) et dans le temps (30 min), peut être en partie responsable de l'exacerbation de comportements sélectifs. En revanche, dans les troupeaux en lutte libre, les mouvements des animaux (fuite, recherche de contacts) ajoutés à la durée de la période de reproduction (plusieurs semaines) et la compétition entre béliers (Wodzicka-Tomaszewska *et al.*, 1981) peuvent atténuer ces phénomènes de sélectivité. A ce stade, nous ignorons si cette sélectivité a une incidence sur la fertilité des troupeaux en croisement.

Les auteurs remercient l'équipe du Domaine expérimental du Merle (Montpellier SupAgro INRA), P.M. Bouquet et D. Montier, et le personnel technique de Montpellier, A. Tesniere, C. Trives et G. Viudes

Bocquier F., Gaubert J.L., Blanc F., Viudes G., Maton C., Debus N., Teyssier J., 2006. Rech. Ruminants, 13 155- 158
Lees J.L., Weatherhead M., 1970. Anim. Prod. Sci., 12, 173–175
Simitzis P.E., Deligeorgis S.G., Bizelis J.A., 2006. Theriogenology., 65, 1480–1491
Wodzicka-Tomaszewska M., Kilgour R. Ryana M., 1981. Applied Animal Ethology, 7, 203-238

Annexe 2 :

Communication ICAR Tours 2016

Mating rams clearly prefer heavy ewes

Alhamada M.[a], Debus N.[a], González-García E[a]., Bocquier F.[a,b]

[a] INRA, UMR868 Systèmes d'élevage méditerranéens et tropicaux, F-34000 Montpellier, France
[b] Montpellier SupAgro, Dept. MPRS, F-34000 Montpellier, France

It is generally accepted that nutritional status of the ewe affects its fertility. It has however never been shown that ram's decision to mate a ewe may also contribute to this fertility. Such a ram's decision remains mostly unknown although even if many factors may influence its choice. Inversely, ewes' behaviour may also take part. Its behaviour has been characterised by using three criterions resulting from different pen-tests to be held during limited time. Attractiveness (A)[1] of an estrus ewe is defined as its relative ranking within a group of ewes considering the time spent by the ram when courting and mounting each of them. Considering time spent seeking for rams gives the criterion of Proceptivity of the ewe (P)[2] i.e. % of time spent close to rams in a situation of choice between rams and ewes. Finally, ewe Receptivity (R)[2] is the number of agonistic activities toward a unique ram placed with the ewe. Thirty-six Merinos d'Arles ewes with similar age, body weight (BW; 46.5±3.7kg) and sexual behaviour (A, R, P) were randomly assigned to long-term (3 months) contrasting diets in order to change their nutritional status and body condition score (BCS). All diets were made by mixing straw cap, beet pulp, alfalfa and long hay so that three different feeding regimes were obtained: High (H: 175% of Maintenance Energy Requirements), Medium (M: 105% MER) and Low (L: 72% MER). The average final attractiveness rank was compared by analysis of variance or compared to initial individual values using Spearman's rank correlation coefficient with R package. Mean final BW were significantly (P<0.002) different i.e. H: 55.0±2.7kg, M: 46.9±4.1kg and L: 36.3±3.1kg. Attractiveness of ewes was simultaneously evaluated on 2 oestrus induced ewes per diet which were joined, successively, to 6 active rams. The R and P tests were performed alternating ewes from each diet. Diets did not change (P>0.1) R and P behaviours of ewes, but induced a change in the average A scores i.e. H: 4.47±0.4(a), M: 3.63±0.6(b) and L: 2.42±0.7(c) (a, b, c; P<0.01). Furthermore, we found that rams can finely tune their choice according to the ewe' BW regardless of the diet: Attractiveness score (1-6) = +0.1002 BW(kg) -2.1 ; r=+0.82; n=36; P<0.001). Even if cues for these mating preferences were not identified, our results clearly prove that nutritional status of the ewe is of great influence on the rams' mating decision.

[1] Tilbrook AJ, Lindsay DR. Differences in the Sexual "Attractiveness" of Oestrous Ewes to Rams. Applied Animal Behaviour Science 1987; 17: 129-8.

[2] Fabre-Nys C, Venier G. Development and use of a method for quantifying female sexual behaviour in ewes. Applied Animal Behaviour Science 1987; 17: 289-4.

Résumé

Les chevauchements, enregistrés automatiquement lors de la reproduction des ovins, sont des indicateurs de la libido des béliers et de la valeur reproductive des brebis

La demande en produits animaux de qualité pousse les éleveurs à réduire les intrants et supprimer les traitements hormonaux utilisés en reproduction ovine. Ces exigences relancent des méthodes qui s'appuieraient davantage sur les comportements spontanés des mâles et des femelles. Le détecteur électronique des chaleurs, développé par l'UMR Selmet, semblait prometteur et il fallait l'accompagner de validations expérimentales.

Nos études ont été réalisées en race Mérinos d'Arles au Domaine du Merle. Ces ovins sont élevés en système extensif et se reproduisent à contre saison. Nous avons tout d'abord validé ce détecteur sur des brebis (n=6 x 2) suivies par vidéo. Nous montrons que 93% des chevauchements sont effectivement enregistrés et comme les brebis en œstrus acceptent plusieurs chevauchements : toutes les brebis sont détectées. Dans une deuxième étape nous avons utilisés plusieurs béliers avec des effectifs de brebis plus importants (n=60). Nous confirmons chez la brebis des fortes variabilités 1) de la réponse aux traitements hormonaux, 2) de la durée des chaleurs et 3) du nombre de chevauchements par brebis. Chez les béliers, nous observons une forte dispersion du nombre de chevauchements. Toutefois le classement des béliers s'est répété au cours des cycles suivants.

Nous avons étudié précisément le comportement sexuel des béliers en les plaçant en tests visuels (méthode de référence) avec quelques brebis en chaleur. Pour cela nous avons évalué 6 béliers entiers et 6 vasectomisés, à un an d'intervalle lors des luttes de printemps et une seule fois à l'automne. Nous montrons que la somme des deux activités qui composent la libido des béliers (Act. Consommatoires et Act. Exploratoires) est très corrélée (r=+0,80 ; n=18) au nombre de chevauchements que les béliers réalisent en troupeau. Ainsi la libido des béliers peut être facilement mesurée automatiquement et sans manipulation. Le classement des béliers selon leur libido est très répétable intra-saison (d'un cycle à l'autre) et inter-saisons (d'une saison à l'autre). A un an d'intervalle la répétabilité a été meilleure (94%) avec les chevauchements mesurés automatiquement qu'avec les mesures des tests (80%).

Sachant que la fertilité des brebis sous-alimentées est plus faible, nous avons étudié les comportements de brebis ayant subi 3 régimes alimentaires contrastés appliqués pendant 3 mois. Nous montrons que la réceptivité et la proceptivité de brebis ne changent pas selon leur état nutritionnel, par contre leur capacité à attirer les béliers (attractivité) est d'autant plus forte qu'elles sont plus lourdes et/ou qu'elles ont des profils métaboliques favorables (métabolites et hormones). Ces données, obtenues en lots expérimentaux par des méthodes de référence ont été validées en troupeau avec le détecteur électronique.

Dans cette thèse nous montrons qu'en système d'élevage extensif, les brebis jouent un rôle central dans l'attraction, ou pas, des béliers. Ces béliers, bien que choisis pour la reproduction, ont des libidos très différentes mais répétables. Le détecteur de chaleur, inclus dans un système d'élevage de précision, pourrait servir en élevage pour améliorer la reproduction des ovins en s'appuyant sur ces connaissances.

Mots clés *: Comportement sexuel, Accouplement préférentiel, Libido, Attractivité, élevage de précision.*