HAL
open science

Les caractéristiques sensorielles des aliments : quels rôles jouent-elles dans les aspects qualitatifs et quantitatifs du comportement alimentaire des ovins

Angélique Favreau-Peigné

To cite this version:

Angélique Favreau-Peigné. Les caractéristiques sensorielles des aliments : quels rôles jouent-elles dans les aspects qualitatifs et quantitatifs du comportement alimentaire des ovins. Alimentation et Nutrition. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II; Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand I, 2010. Français. NNT : 2010CLF22017 . tel-00719365

HAL Id: tel-00719365

https://theses.hal.science/tel-00719365

Submitted on 19 Jul 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE BLAISE PASCAL
N° D.U 2017

UNIVERSITE D'AUVERGNE
Année 2010

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE
N° d'ordre 517

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

(SPECIALITE : ETHOLOGIE ET NUTRITION ANIMALE)

présentée et soutenue publiquement par

Angélique FAVREAU-PEIGNÉ

le 12 février 2010

LES CARACTERISTIQUES SENSORIELLES DES ALIMENTS : QUELS ROLES JOUENT-ELLES DANS LES ASPECTS QUALITATIFS ET QUANTITATIFS DU COMPORTEMENT ALIMENTAIRE DES OVINS ?

Thèse dirigée par René BAUMONT et Cécile GINANE

Jury :	Président	M. Jean-Bernard GROS
	Rapporteurs	M. Philippe FAVERDIN Mme Marie-Annick RICHARD-YRIS
	Membres	Mme Christine DUVAUX-PONTER Mme Marie-Christine MEUNIER-SALAŰN M. René BAUMONT Mme Cécile GINANE

Laboratoire d'accueil
Equipe Relations Animal-Plantes et Aliments
Unité de Recherche sur les Herbivores
INRA Centre de Clermont-Ferrand / Theix
63122 Saint-Genès-Champanelle

REMERCIEMENTS

Je remercie la Région Auvergne et le département PHASE pour m'avoir donné les moyens de réaliser ce travail de recherche. Je tiens également à remercier Jean-Baptiste Coulon et Jean-François Hocquette, directeurs successifs de l'URH et Michel Beckert, président du centre de Theix, de m'avoir accueillie.

Je tiens ensuite à remercier ceux qui m'ont donné l'envie d'être chercheur en éthologie, je pense à mon professeur à l'Université de Tours (A. Lenoir) et à mes encadrantes de stage (C. Leterrier, S. Lumineau et M.-A. Richard). Je tiens tout particulièrement à remercier Isabelle Veissier qui m'a informée de l'existence d'un sujet de thèse intéressant dans l'équipe RAPA, ce qui a attisé ma curiosité et m'a ensuite incitée à postuler. Merci à mes "chefs", René et Cécile, qui ont ensuite décidé de me faire confiance en me donnant la responsabilité de mener à bien leur projet de thèse. Je pense qu'on peut dire que ce travail n'a pas été de tout repos, mais on a réussi à avancer et à finir honorablement cette thèse. Ouf et MERCI !

Un grand merci aux membres de mes comités de thèse (Alan Duncan, Bertrand Dumont, Guillaume Ferreira, Jean-Bernard Gros, Cécile Martin, et Isabelle Veissier) qui se sont impliqués à mes côtés pendant les comités de thèse, et également en dehors. Ils ont été de très bons conseillers et m'ont aidé à structurer mes idées, et à décider de certaines orientations de recherche.

Merci aux membres du jury, pour l'intérêt et le temps qu'ils ont bien voulu consacrer à ma thèse.

Il est évident que toutes les expérimentations n'auraient pu être menées sans la participation et l'investissement des personnels des installations expérimentales et de mon équipe d'accueil. Je tiens tout particulièrement à remercier Jean-Claude Bonnefoy, Pascal Payard et Daniel Thomas pour leur bonne volonté à adapter les protocoles expérimentaux, parfois au jour le jour. Merci à tous les animaliers pour avoir partagé leurs connaissances et leurs savoir-faire avec moi et plus particulièrement merci à Mickaël Bernard, Christophe Mathevon et le binôme des "Bernard" pour leur aide. Un clin d'œil tout particulier à Aline Le Morvan, qui m'a suivi sur toutes mes expérimentations, et pour les litres de salive artificielle

que tu as préparés (environ 300 litres rien que pour l'expérimentation "introduction ruminale"). Merci à Jean-Marie Ballet et Laurent Lanore, mes compagnons matinaux d'introduction ruminale et de vidage de rumen.

Merci à Catherine Auxiette qui a accepté de m'intégrer dans son équipe d'encadrants de TP de psycho. Un premier contact avec le monde de l'enseignement très enrichissant et des collègues très sympathiques.

Durant ces trois années, j'ai apprécié les pauses café de l'étage et les douceurs (chocolats et gâteaux) qui pouvaient parfois les agrémenter. Elles ont été l'occasion de mieux connaître Anne-Marie et son goût pour la danse, Francis et son équipe de rugby préférée (Toulouse, c'est une honte au pays de l'ASM mais bon…), Pascal et l'arbitrage de foot, Sophie et ses recherches (ses bons conseils aussi), Géraldine qui n'a jamais manqué une occasion de prendre de mes nouvelles, Florence (merci pour tes aides en statistiques),… Merci au chef cuisinier et son équipe pour leur bons petits plats et leur bonne humeur, ainsi qu'à Danielle de la cafét'. J'ai eu la chance de partager la bonne humeur de l'équipe ACS, mon équipe d'adoption en quelque sorte (Alain, tu ne m'as pas mis dans la mailing liste mais presque… merci). Merci à Stéphane Andanson, mon chauffeur et mon voisin Dalletou. Merci à Eric et Hervé, mes partenaires "rock" sur le dancefloor. Merci à Claudia, Véro et Xavier pour leur aide en stat, en anglais et tout simplement pour leur gentillesse. Un merci tout particulier à Marie-Madeleine pour ton soutien humain et scientifique, chaque matin en arrivant (au minimum). Je n'en dis pas plus, tu sais tout le bien que je pense de toi.

Merci à tous les thésards (Lucile, Nadège, Mauro, Stefani, Audrey, Alex, Lia, Claire…) et stagiaires (Fred, Manue, …) qui ont œuvré à la bonne ambiance de ma thèse. Certains sont aujourd'hui des amis incontournables pour leur bonne humeur, leur gentillesse et leur soutien des gradins à l'INRA (Séverine, Raphaëlle, Cécile et Loïc, merci beaucoup).

Merci aux célèbres et incontournables Plic et Ploc (et leur moitié) pour votre amitié. Merci aux clermontois (Jeff et Fabienne, Marc et Anne-Claude, Clément et Françoise) pour les bonnes soirées (vive les pizzas !), les promenades autours du Puy de Dôme et tout le reste… Je garde ces dernières lignes de remerciements pour mes piliers (pas de rugby, ni de comptoir… papa ces jeux de mots sont pour toi !) de vie : Papa, Maman, Mamie et Damien.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS **i**

SOMMAIRE **iii**

INTRODUCTION GENERALE **1**

Contexte général et scientifique **3**

I. Les informations pré- et post-ingestives emanant des aliments 4

II. Aspect qualitatif du comportement alimentaire : la sélection alimentaire 6

II.1. L'euphagie 6

II.2. L'hédyphagie 7

II.3. Les caractéristiques morpho-physiologiques 8

II.4. La théorie de l'alimentation optimale 9

II.5. La théorie des apprentissages alimentaires 10

III. Aspect quantitatif du comportement alimentaire : l'ingestion volontaire 14

III.1. Effets des conséquences post-ingestives sur l'ingestion journalière 15

III.1.a. Distension gastrique et contrôle physique de l'ingestion 15

III.1.b. Contrôle nutritif de l'ingestion 16

III.2. Effets des caractéristiques sensorielles sur l'ingestion journalière 18

IV. Conclusions 20

Objectifs et stratégie expérimentale **23**

I. Rôle des caractéristiques sensorielles en l'absence de conséquences post-ingestives 25

II. Rôle des caractéristiques sensorielles dans les apprentissages alimentaires 26

CHAPITRE 1 CARACTERISTIQUES SENSORIELLES ET INGESTION VOLONTAIRE **29**

Présentation de l'article : Comportement alimentaire d'ovins alimentés avec un foin de luzerne ou un foin de graminées lorsque les conséquences post-ingestives sont contrôlées 31

Article 1 : Feeding behaviour of sheep fed lucerne vs. grass hays with controlled post-ingestive consequences 35

CHAPITRE 2 CARACTÉRISTIQUES SENSORIELLES ET APPRENTISSAGE : RÔLE D'INDICATEUR DES CONSÉQUENCES POST-INGESTIVES ? 61

Présentation de l'article : Les moutons utilisent les informations pré-ingestives en tant qu'indicateurs des conséquences post-ingestives afin d'améliorer leurs apprentissages alimentaires 63

Article 2 : Sheep use pre-ingestive cues as indicators of post-ingestive consequences to improve food learning 67

CHAPITRE 3 LES GOUTS UMAMI ET AMER : PREFERENCE SPONTANEE ET ROLE DANS LES APPRENTISSAGES 91

Présentation de l'article : Est-ce que les ovins utilisent les goûts umami et amer en tant qu'indicateurs des conséquences post-ingestives lorsqu'ils sélectionnent leur alimentation ? 93

Article 3 : Do sheep use umami and bitter tastes as cues of post-ingestive consequences when selecting their diet? 97

DISCUSSION GÉNÉRALE 121

I. Les principaux résultats 125

I.1. Expérimentation "introduction ruminale" 125

I.2. Expérimentation "indicateurs" 126

I.3. Expérimentation "goûts primaires" 126

II. Le rôle des caractéristiques sensorielles en l'absence de conséquences post-ingestives 127

II.1. Préférences spontanées en l'absence de conséquences et variabilité individuelle 128

II.2. Caractéristiques sensorielles et composantes de l'ingestion 130

II.3. La valeur hédonique du changement 133

III. Le rôle des caractéristiques sensorielles dans les apprentissages alimentaires 135

III.1. Le rôle d'indicateur 135

III.2. Le rôle des préférences initiales 137

IV. L'évaluation des caractéristiques sensorielles peut-elle changer avec les conséquences post-ingestives ? 138

V. Conclusion et Perspectives 143

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES **147**

LISTE DES PUBLICATIONS **161**

ANNEXES **165**

Annexe 1 : Quelle combinaison de 2 fourrages présente des préférences relatives à 70 - 30 % ? **167**

I. Expérimentation 1 167

II. Expérimentation 2 170

Annexe 2 : Quelle proportion de fourrage peut-on introduire dans le rumen des ovins sans perturber leur ingestion journalière totale? **172**

Annexe 3 : Recherche de substances appétantes et répulsives **175**

Annexe 4 : Quelle combinaison de 2 flaveurs présente des préférences initiales équilibrées et stables ? **180**

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Contexte général et scientifique

Les élevages d'herbivores doivent aujourd'hui concilier l'efficacité de la production à des attentes sociétales fortes en terme de préservation de l'environnement, de qualité des produits et de bien-être animal. L'augmentation de la part de l'herbe, sur pied et conservée, dans l'alimentation animale constitue une piste privilégiée dont l'intérêt se trouve renforcée par l'augmentation des coûts des matières premières. En effet, les ressources en herbe constituent d'une manière générale une ressource alimentaire peu coûteuse, et plus particulièrement l'herbe pâturée se trouve être l'énergie alimentaire disponible la moins chère. Du point de vue du consommateur, les systèmes d'élevage herbagers renvoient une image positive d'alimentation naturelle et saine qui améliore le bien-être des animaux de rente et la qualité des produits tant au niveau nutritionnel que sensoriel. Enfin, au niveau environnemental, l'exploitation agricole des prairies assure leur entretien ce qui permet de préserver la diversité floristique et faunistique, de stocker du carbone dans les sols et d'éviter leurs érosion par les eaux de ruissellement.

Dans ce contexte, chercher à optimiser l'utilisation des ressources fourragères par l'animal, qu'il soit alimenté au pâturage ou à l'auge, constitue une voie à privilégier pour améliorer la rentabilité des systèmes d'élevage herbager et contribuer à leur durabilité.

Au pâturage, les herbivores peuvent être confrontés à diverses situations, de la monoculture à la prairie permanente très diversifiée, offrant une large gamme d'items alimentaires variant en qualité et disponibilité du fait de la diversité des espèces végétales présentes, de leurs stades phénologiques et de leurs états (hauteur, densité, etc.). A l'auge, l'offre alimentaire peut également être diversifiée puisque les rations comptent le plus souvent au moins deux fourrages (ensilage + foin par exemple) et plusieurs aliments concentrés, et que les composants de la ration peuvent être distribués séparément, en mélange partiel ou en mélange complet selon le mode d'affouragement.

Dans tous les cas, les herbivores expriment un comportement alimentaire qui consiste en une série de décisions plus ou moins complexes selon la situation d'alimentation. Ces décisions sont prises à différentes échelles temporelles (*i.e.*, de phénomènes instantanés à d'autres dont la régulation intervient à l'échelle du repas voire de la journée) et spatiales lorsque l'animal est au pâturage (*i.e.*, de la préhension d'une simple bouchée au choix d'un site alimentaire

plus vaste au sein d'une parcelle). De plus, chacune de ces décisions correspond à un compromis entre les préférences de l'animal et différentes contraintes qui peuvent être liées i/ au milieu (agencement et accessibilité des différents items alimentaires, risques pathogènes, conditions climatiques, etc…), ii/ à la conduite d'élevage (chargement, temps d'accès au pâturage, nombre de distributions quotidiennes, etc…), iii/ à l'aliment (hauteur, densité, fibrosité, palatabilité, etc…) et iv/ à l'animal lui-même de par ses caractéristiques morphologiques, physiologiques, sociales et cognitives. De ces décisions résultent la nature du régime sélectionné et les quantités ingérées qui déterminent les performances zootechniques des animaux, ainsi que leur impact sur les prairies. C'est en cherchant à comprendre comment sont prises ces décisions que l'on pourra agir sur la manière dont les animaux exploitent les ressources fourragères, et ainsi optimiser leur utilisation par l'animal.

La compréhension du comportement alimentaire des herbivores, d'un point de vue quantitatif (quantité ingérée) **et qualitatif** (nature du régime alimentaire sélectionné)**, apparaît donc comme une étape essentielle pour optimiser l'utilisation des ressources fourragères** (Ginane *et al.*, 2008 pour revue)**.** Dans le cadre de cette thèse, nous nous plaçons à l'échelle de l'aliment et de l'animal, et nous nous intéressons plus particulièrement au rôle des caractéristiques sensorielles des aliments dans les décisions prises par l'animal au cours de son activité alimentaire.

I. LES INFORMATIONS PRE- ET POST-INGESTIVES EMANANT DES ALIMENTS

Chaque item alimentaire peut être évalué par l'herbivore consommateur via deux types d'informations : i/ les informations pré-ingestives qui sont perçues avant sa déglutition et qui correspondent à l'ensemble de ses caractéristiques sensorielles (forme, odeur, texture, goût, etc.) et ii/ les informations post-ingestives qui comprennent l'ensemble des conséquences digestives et métaboliques ressenties par l'animal après la déglutition de l'aliment.

Les informations pré-ingestives permettent aux herbivores de prendre connaissance des différents items alimentaires qui les entourent à travers leurs différents sens, incluant la vue, l'odorat, le goût et le toucher. On suppose que la vue et l'odorat permettent une première évaluation sensorielle de l'aliment par l'animal sans contact direct entre eux, alors que le goût et le toucher ressentis au niveau des lèvres et de la bouche ne peuvent être sollicités que si l'animal s'apprête à prélever ou prélève directement un échantillon de l'aliment considéré.

Arnold (1966a) a démontré que la détérioration de la vue, via l'utilisation d'œillères, n'affecte que très peu la sélection alimentaire et l'ingestion chez le mouton ; il en conclut que le rôle de la vue serait plutôt d'orienter les animaux dans l'espace. Arnold (1966b) ainsi que Krueger *et al.* (1974) ont démontré que l'odorat, la vue et le toucher jouent un rôle, seul ou par interaction avec un autre sens, dans la sélection alimentaire et l'ingestion selon les conditions de pâturage. La vue et l'odorat permettraient notamment aux animaux de discriminer certaines espèces végétales, comme cela a été montré chez les ovins avec du ray-grass et du trèfle (Edwards *et al.*, 1997). Le goût a été plus particulièrement étudié puisqu'il est souvent rapporté comme étant celui des cinq sens influençant le plus la sélection alimentaire et l'ingestion (Krueger *et al.*, 1974 ; Provenza et Villalba, 2006). Des tests de choix de type "two-bottle" ont permis de mettre en évidence la sensibilité des moutons pour les goûts sucré, salé, acide et amer (Goatcher et Church, 1970a et b). Plus tardivement, le goût umami a été reconnu comme étant le cinquième goût primaire. Il est induit par une substance appelée glutamate monosodique (MSG) qui est perçue par les ovins puisque i/ sa présence augmente l'ingestion de granulés de luzerne (Grovum et Chapman, 1988), et ii/ les animaux expriment une préférence marquée pour le foin vaporisé avec du MSG par rapport à un même foin sans MSG (Gherardi et Balck, 1991).

Les informations post-ingestives proviennent des conséquences digestives et métaboliques qui interviennent après la déglutition de l'aliment. Chez un ruminant les premières conséquences qui surviennent après l'ingestion d'un repas sont les modifications physico-chimiques au niveau du rumen. L'encombrement ruminal est induit par les aliments ingérés et est ressenti par l'animal via des tensio- et des mécano- récepteurs (Leek, 1986). L'effet d'encombrement induit par un aliment dépend principalement de son temps de séjour dans le rumen, qui est d'autant plus long que l'aliment se digère lentement (Baumont *et al.*, 2000). Pour les fourrages, la vitesse de digestion dépend principalement de la taille des particules ingérées, de la teneur en parois végétales, et de leur degré de lignification. Les conséquences post-ingestives sont également liées à la valeur nutritive des aliments qui englobe principalement les apports énergétiques et azotés. Les apports énergétiques de l'aliment sont liés à son contenu glucidique, qui englobe les glucides cytoplasmiques dont la fermentation est rapide et presque totale tels que les sucres solubles et l'amidon et les glucides des parois végétales dont la fermentation est plus lente et partielle (Journet *et al.*, 1995). Les enzymes microbiennes, situées dans le rumen, hydrolysent les glucides des aliments en oses qui sont ensuite fermentés par les microbes du rumen pour obtenir l'énergie nécessaire à leur

croissance. Les produits finaux de cette fermentation anaérobie sont des acides gras volatils (AGV) qui sont absorbés à travers la paroi du rumen pour devenir la source principale d'énergie pour l'animal. Ces substrats énergétiques acides entraînent également une diminution du pH ruminal, qui, lorsqu'elle est trop importante, comme avec les rations très riches en glucides rapidement et hautement fermentescibles, provoque un phénomène d'acidose (Martin *et al.*, 2006) ressenti par l'animal (Commun, 2009). La valeur nutritive de l'aliment ingéré est également caractérisée par sa valeur azotée. La dégradation de protéines de l'aliment va fournir l'azote nécessaire à la croissance des microbes du rumen, et c'est cette protéosynthèse microbienne qui fournira la majorité des acides aminés nécessaires à l'animal. Enfin, les conséquences post-ingestives peuvent provenir des mécanismes de défense des végétaux. En effet, de nombreuses plantes possèdent des composés secondaires qui peuvent réduire la digestibilité de la plante (*e.g.* tannins) et/ou attaquer chez l'herbivore certains tissus et en perturber le fonctionnement (*e.g.* action neurotoxique ou hépatotoxique des composés phénoliques et des alcaloïdes) (Iason, 2005).

II. ASPECT QUALITATIF DU COMPORTEMENT ALIMENTAIRE : LA SELECTION ALIMENTAIRE

Les effets des différentes contraintes liées à l'environnement, à l'aliment, à l'animal et à sa conduite ont été largement étudiés chez les grands herbivores domestiques et sauvages afin d'élaborer différentes théories, ayant pour vocation d'expliquer et prédire leur sélection alimentaire (pour synthèse, voir Illius, 1986 ; Senft *et al.*, 1987 ; Provenza et Balph, 1990 ; Dumont, 1995). Cinq principales théories contribuent à comprendre la sélection alimentaire des ruminants; ce sont l'euphagie (ou sagesse nutritionnelle), l'hédyphagie, les caractéristiques morpho-physiologiques, "l'optimal foraging theory" et la théorie des apprentissages alimentaires.

II.1. L'euphagie

Elle considère que les animaux possèdent une capacité innée à percevoir, à travers le goût et l'odeur, les éléments nutritifs et toxiques présents dans les plantes, ce qui leur permettrait de sélectionner un régime équilibré et sain. Les animaux exprimeraient donc une sagesse nutritionnelle innée (*innate nutritional wisdom*). Cette théorie s'appuie sur le fait que les herbivores sélectionnent un régime alimentaire plus nutritif et moins toxique que la

moyenne de ce qui leur est offert dans le couvert végétal (Arnold, 1981). Le seul "appétit" inné qui ait été réellement établi concerne le sodium chez le rat. Il peut être mis en évidence dès 72h après la naissance et correspond à une augmentation de la motivation à chercher et ingérer du sodium pendant une période de déficience (Leshem, 1999). La recherche d'aliments salés se retrouve chez différentes espèces telles le pigeon (Epstein et Massi, 1987), le macaque rhésus (Schulkin *et al.*, 1984), mais aussi chez les ovins (Denton et Sabine, 1963 ; Denton, 1965) et les bovins (Bell, 1984) sans que l'on sache si cette motivation à ingérer du sodium est innée ou acquise. Concernant le phosphore, une récente étude de Villalba *et al.* (2006) conclut plutôt en faveur d'un "appétit" acquis ce qui ne va pas dans le sens de la sagesse nutritionnelle innée. De plus, compte tenu du nombre très important de nutriments existants, il semble peu probable que les herbivores aient développé un "appétit" spécifique pour chacun d'entre eux (Kyriazakis *et al.*, 1999). A ce jour, l'absence de démonstration claire montrant que les animaux peuvent sentir directement les nutriments et minéraux dans les aliments qu'ils consomment, discrédite cette théorie (Arnold, 1970 ; Provenza et Balph, 1990). Cependant, la notion de sagesse nutritionnelle basée sur l'existence d'appétits innés a récemment évolué vers la notion de sagesse nutritionnelle basée sur l'existence d'appétits appris ce qui donne un nouvel intérêt à cette théorie ; les animaux sont alors considérés comme "génétiquement programmés" pour apprendre les associations entre des flaveurs et leurs effets post-ingestifs (Provenza et Villalba, 2006).

II.2. L'hédyphagie

Elle postule qu'un animal choisit un aliment si celui-ci est directement "plaisant" pour les sens (goût, odeur, toucher) et le rejette dans le cas contraire, et donne donc une importance majeure aux informations pré-ingestives (Arnold, 1985). Elle se base sur l'existence d'un processus évolutif qui aurait agi de telle sorte que les aliments nutritifs aient bon goût et que les aliments non nutritifs ou toxiques aient mauvais goût. Les animaux possèderaient alors une connaissance innée de ce qui est "bon" et de ce qui ne l'est pas. Les variations de l'équipement sensoriel des animaux pourraient expliquer les différences de choix entre espèces et entre individus d'une même espèce (Arnold, 1985). Cependant, les recherches sur les apprentissages alimentaires suggèrent que la valeur hédonique d'un aliment dépend fortement de ses conséquences post-ingestives (Provenza *et al.*, 2007) et que, seule, elle n'influencerait pas les préférences. Par conséquent, et compte tenu de la difficulté à dissocier

expérimentalement les effets des informations pré- et post-ingestives, cette théorie n'a été que très peu considérée et n'a pas fait l'objet de démonstration convaincante.

II.3. Les caractéristiques morpho-physiologiques

Cette théorie repose sur les différences morphologiques et physiologiques entre espèces de ruminants, acquises au cours d'un processus évolutif induit par des milieux de vie différents. Ces différentes caractéristiques imposeraient aujourd'hui des limites à l'animal qui doit orienter son régime alimentaire vers les espèces végétales auxquelles il est adapté. Hoffman (1989) a ainsi classé les ruminants en trois catégories : i/ les "grazers" ou brouteurs comme les bovins et les ovins qui sont capables de digérer efficacement les parois végétales des graminées grâce à leur réticulo-rumen développé, ii/ les "browsers" ou sélecteurs comme le chevreuil qui sont plus adaptés pour prélever et digérer des fourrages riches en contenu cellulaire facilement digestible tels que les feuilles des arbres (museau plus étroit et glandes salivaires plus développées notamment), et iii/ les "consommateurs mixtes" comme les cerfs et les caprins qui pâturent de façon opportuniste tout en évitant autant que faire se peut les régimes trop riches en fibres. Cependant, Illius et Gordon (1999) suggèrent que la classification de Hoffman, basée sur la comparaison des régimes alimentaires sélectionnés par ces différents types d'herbivores et sur leurs différences anatomiques (notamment digestives), n'a pas de fondement solide puisqu'il n'y a pas de preuves directes d'un lien entre anatomie et fonction du système digestif. Les différentes orientations alimentaires constatées entre espèces seraient plutôt liées à la taille corporelle et donc au volume du tube digestif (Illius et Gordon, 1999), ainsi qu'à des différences de comportements et de perception de l'environnement alimentaire (Gordon, 2003) bien que des travaux expérimentaux seraient nécessaires pour étayer cette hypothèse.

Enfin, les explications apportées par les différences entre espèces, que ce soit au niveau de la morphologie et de la physiologie, ne peuvent expliquer qu'une part du processus de la sélection alimentaire. Elles ne peuvent en aucun cas être prises en compte comme seules explications puisqu'elles négligent totalement, selon Provenza et Balph (1990), l'existence d'un comportement propre à chaque individu au sein d'une même espèce, lié à des expériences et apprentissages individuels différents, et d'une plasticité intra espèce au niveau neurologique, morphologique et physiologique ayant notamment une base génétique.

II.4. La théorie de l'alimentation optimale

Egalement appelée Optimal Foraging Theory (OFT, voir Pyke, 1984 ; Stephens et Krebs, 1986), elle représente une approche synthétique (ou ultime) qui postule que l'animal recherche l'aliment offrant le meilleur compromis entre les bénéfices (ingestion de nutriments) et les coûts liés à sa consommation (coût de prélèvement, toxicité, exposition aux prédateurs…) afin de maximiser ses gains énergétiques, et à plus long terme son succès reproducteur (*i.e.* sa fitness). La sélection naturelle favoriserait alors les individus ayant la meilleure stratégie d'alimentation. Si cette théorie permet de prévoir avec succès la sélection alimentaire des carnivores ou des nectarivores, le modèle général a du être adapté pour les herbivores ruminants afin de prendre en compte certaines contraintes qui leur sont propres, notamment en terme de digestion et d'accès à des ressources hétérogènes et variables dans l'espace et dans le temps. Le comportement alimentaire optimal s'est alors traduit par la recherche de l'aliment procurant la vitesse d'ingestion de matière sèche ou d'énergie la plus élevée (Stephens et Krebs, 1986).

Les études menées pour tester l'OFT ont donc le plus souvent fait varier la vitesse d'ingestion par l'application de contraintes alimentaires, liées à la nature, la hauteur, la densité et la qualité du couvert végétal. Les lois de réponses à court terme des ovins (Dumont *et al.*, 1998 ; Prache *et al.*, 2006), des bovins (Distel *et al.*, 1995 ; Ginane *et al.*, 2002) et des chèvres (Illius *et al.*, 1999) à ces contraintes sont alors globalement en accord avec les prédictions qualitatives de l'OFT. Cependant, la prise en compte des contraintes digestives propres aux ruminants explique en partie les écarts par rapport aux prédictions de la théorie dès lors qu'on s'intéresse à des pas de temps plus longs. En effet, les préférences observées envers l'aliment ne procurant pas les vitesses d'ingestion d'énergie instantanées les plus importantes mais étant de meilleure qualité semble être une stratégie intéressante pour maximiser l'ingestion de nutriments à l'échelle de la journée (Wallis de Vries et Daleboudt, 1994 ; Ginane *et al.*, 2003 ; Baumont *et al.*, 2005). Le modèle développé par Newman *et al.* (1995), qui intègre l'influence des processus digestifs, indique alors qu'un régime mixte présenterait le meilleur compromis entre vitesse d'ingestion, de transit et d'absorption des nutriments. Ces prédictions sont en accord avec ce que l'on observe plus généralement puisque les régimes sélectionnés sont rarement composés du seul aliment procurant le gain énergétique le plus important, comme le prévoit la stricte application des modèles de sélection optimale, mais d'un mélange de plusieurs aliments parmi ceux disponibles (Duncan *et al.*,

2003). Ainsi, quand des brebis ont le choix entre du trèfle et du ray-grass, elles sélectionnent les deux espèces (Parsons *et al.*, 1994) bien que leur vitesse d'ingestion soit plus élevée sur le trèfle (Penning *et al.*, 1991). Outre une réponse aux contraintes digestives, plusieurs explications ont été avancées pour expliquer ce comportement, parmi lesquelles la nécessité pour l'animal d'échantillonner son environnement en raison des difficultés à évaluer les différents aliments présents dans son environnement (Illius *et al.*, 1999) et du besoin d'actualiser sa connaissance des aliments (Westoby, 1974), la recherche d'un équilibre nutritionnel (Parsons *et al.*, 1994) et du maintien de conditions physiologiques favorables au niveau ruminal (Cooper *et al.*, 1995). Ainsi l'OFT, en supposant que les animaux ont une connaissance parfaite de leur environnement (Pyke, 1984), ignore les problèmes liés à l'abondance des informations alimentaires présentes dans un environnement complexe et changeant et aux limites cognitives des animaux en termes d'acquisition et d'intégration des connaissances (Illius et Gordon, 1990).

Malgré ses postulats restrictifs et donc ses limites pour prédire les choix, l'OFT reste une théorie de référence qui, par une approche fonctionnelle, permet des prédictions quantitatives (Parsons *et al.*, 1994 ; Newman *et al.*, 1995 ; Prache *et al.*, 1998) permettant de discuter des écarts entre les choix prédits et les choix observés afin de comprendre ceux-ci.

II.5. La théorie des apprentissages alimentaires

La théorie des apprentissages alimentaires (Provenza, 1995 ; Forbes et Provenza, 2000) est une approche analytique (ou proximale) qui suppose que le développement et les modifications des régimes alimentaires des herbivores ruminants sont le résultat des associations établies puis apprises par l'animal entre les caractéristiques sensorielles de l'aliment consommé (caractéristiques pré-ingestives) et les conséquences digestives et métaboliques qu'il ressent après avoir ingéré cet aliment (conséquences post-ingestives) (Figure 1). La capacité d'apprentissage alimentaire serait le fruit de la sélection naturelle liée à des milieux changeants, et à des ressources alimentaires par conséquent variables.

La théorie des apprentissages alimentaires possède un double avantage : celui d'offrir un cadre théorique flexible dans l'explication et la compréhension des processus de sélection alimentaire et celui d'être non exclusive.

La plupart des théories présentées précédemment peut en effet trouver un fondement dans ce processus d'apprentissage :

- la vision historique de la sagesse nutritionnelle est basée sur des appétits innés et une motivation instinctive à rétablir l'homéostasie de l'animal à travers la sélection de substances adaptées mais, récemment, ce concept a évolué pour aboutir au fait que l'animal pourrait être programmé génétiquement pour effectuer des apprentissages associatifs lui permettant de sélectionner des aliments nutritifs et de rejeter des aliments toxiques,
- la valeur hédonique d'un aliment serait étroitement liée aux conséquences qui lui sont associées et pourrait même être considérée comme uniquement calibrée par ces conséquences (Provenza *et al.*, 2007),
- l'intensité des conséquences nutritives et/ou toxiques ressenties par l'animal dépend de sa morphologie et de sa physiologie, ce qui est en accord avec le modèle relatif aux limites morpho-physiologiques,
- enfin si l'Optimal Foraging Theory suppose que les animaux ont une connaissance parfaite des aliments disponibles (valeur nutritive, vitesse d'ingestion, etc.) pour pouvoir choisir celui procurant le gain optimal, elle ne fait pas de supposition sur la façon dont les animaux acquièrent cette connaissance; elle pourrait relever d'un processus d'apprentissage.

La théorie des apprentissages alimentaires est donc une théorie très intéressante pour expliquer et prévoir la sélection alimentaire des herbivores ruminants, d'autant plus que ceux-ci possèdent les capacités cognitives nécessaires pour réaliser ces apprentissages.

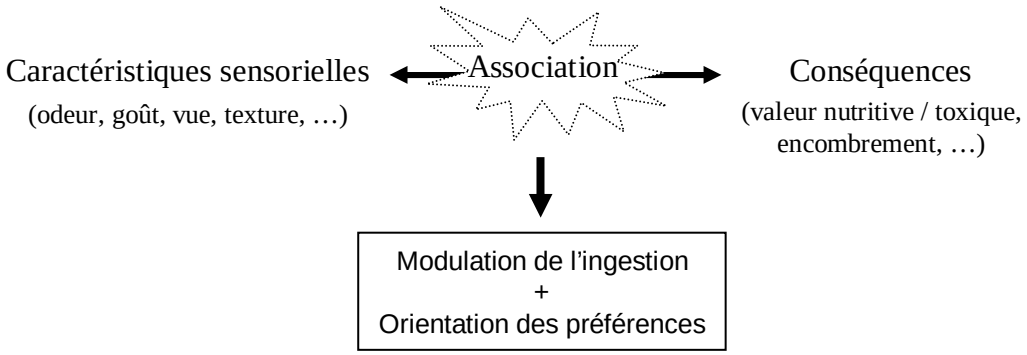
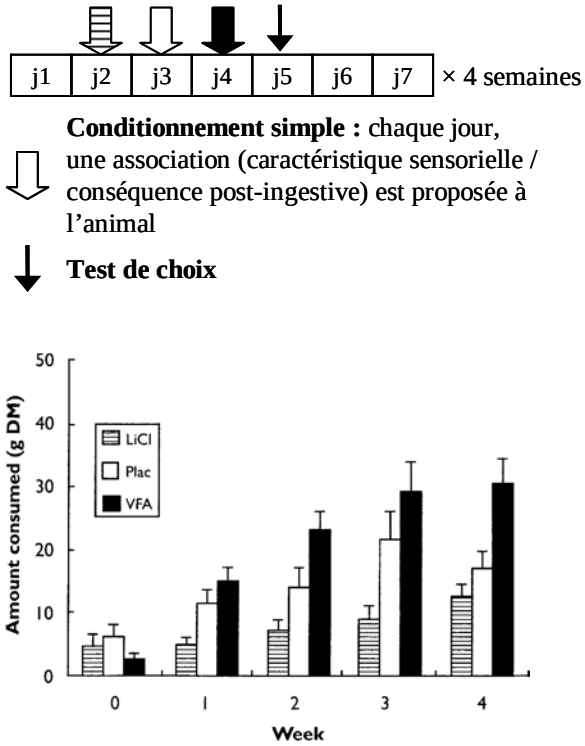


Figure 1 : Principe général de la théorie des apprentissages alimentaires. L'animal apprend à associer les caractéristiques sensorielles de l'aliment à ses conséquences post-ingestives. Il module son ingestion et oriente ses préférences alimentaires à la lumière de cette connaissance.

Les conséquences post-ingestives ont un rôle primordial dans le processus d'apprentissage et donc dans la sélection alimentaire. En effet, de nombreuses expérimentations ont démontré que les ovins, les bovins et les caprins sont capables d'établir des aversions et des préférences pour des aliments ou des flaveurs artificielles lorsqu'elles sont associées, via une procédure de conditionnement, à des conséquences post-ingestives négatives ou positives. Ainsi les animaux développent des aversions pour les aliments associés à des substances émétiques (*e.g.* chlorure de lithium, du Toit *et al.*, 1991), divers composés végétaux secondaires (*e.g.* tannins, terpènes, oxalates, Kyriazakis *et al.*, 1997 ; Duncan *et al.*, 2000 ; Villalba *et al.*, 2004), des excès de nutriments (Ralphs *et al.*, 1995) ou même un encombrement ruminal trop important (Baumont *et al.*, 2007 ; Villalba *et al.*, 2009). Inversement, les animaux développent des préférences pour les aliments associés à des récompenses énergétiques (*e.g.* glucose ; Burritt et Provenza, 1992), protéiques (*e.g.* caséine ; Arsenos et Kyriazakis, 1999), ou minérales (*e.g.* phosphore ; Villalba *et al.*, 2006).

Les ruminants sont ainsi capables d'apprendre à associer aliments et conséquences dans ces situations expérimentalement simplifiées. Cependant, les herbivores rencontrent des situations d'apprentissage alimentaire qui sont loin d'être aussi simples dès lors qu'ils s'alimentent dans des environnements diversifiés. En effet, ils consomment rarement un seul aliment par repas et ils expérimentent le plus souvent plusieurs conséquences post-ingestives simultanément soit du fait d'un même aliment à la composition chimique complexe soit par le mélange de plusieurs aliments aux conséquences variées. Quelques études récentes ont donc expérimentalement complexifié les procédures de conditionnement soit en offrant simultanément plusieurs items alimentaires différents (Duncan et Young, 2002 ; Figure 2), soit en augmentant le nombre de conséquences qui leur sont associées (Ginane *et al.*, 2005 ; Ginane *et al.*, 2009) ou encore en modifiant la durée des périodes d'alimentation et le taux d'administration des nutriments (Duncan *et al.*, 2007). Elles ont alors permis de tester les capacités d'apprentissage des animaux dans des situations qui tendent à se rapprocher de la réalité. Ces recherches ont mis en évidence des difficultés pour l'animal à relier correctement les conséquences ressenties aux aliments qui en sont responsables, dès lors que la procédure de conditionnement est complexifiée (Figure 2).

a/ Situation d'apprentissage simple



b/ Situation d'apprentissage complexe

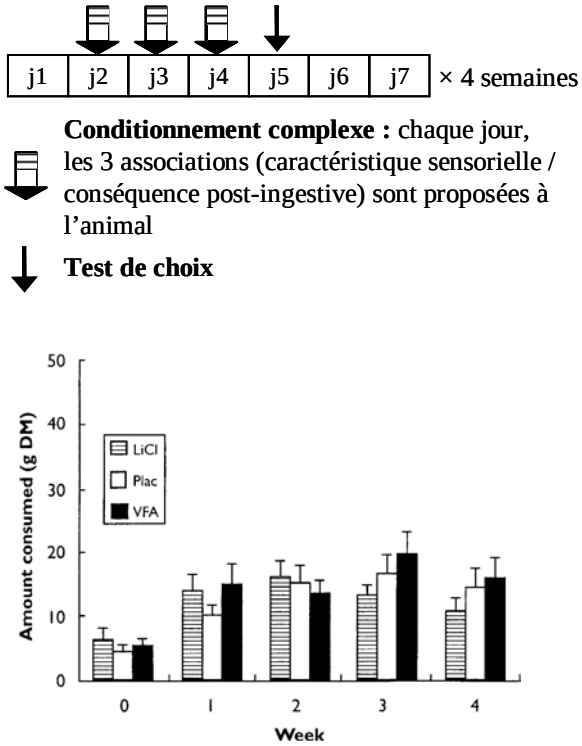


Figure 2 : Présentation des procédures de conditionnements utilisées en situation d'apprentissage simple (a) ou complexe (b), ainsi que les résultats obtenus à la suite de ces conditionnements. Les graphiques montrent l'influence des conséquences post-ingestives (Chlorure de Lithium, LiCl ; Placébo, Plac ; Propionate de Sodium, VFA) sur l'ingestion des espèces de conifères qui leur sont associées lors d'un test de choix à 3 items alimentaires, quand la situation d'apprentissage alimentaire est simple (a) ou complexe (b) (Duncan et Young, 2002).

Les auteurs ont alors supposé que ces perturbations d'apprentissage en situation complexifiée pourraient être liées aux procédures expérimentales utilisées. En effet, étant donné que la théorie des apprentissages alimentaires considère que les caractéristiques pré-ingestives permettent essentiellement aux animaux de discriminer les aliments entre eux (Provenza et Balph, 1990), les procédures expérimentales visant à tester les capacités d'apprentissage associent arbitrairement les différentes caractéristiques sensorielles utilisées (flaveurs artificielles ou différents aliments) aux conséquences post-ingestives (administration de substances), sans logique pour l'animal *a priori*. Par exemple, une même conséquence pourra être associée à un aliment A pour un animal et à un aliment B pour un autre. De ce fait, les caractéristiques pré-ingestives utilisées dans ces expérimentations ne permettent pas à l'animal d'anticiper, au moins lors du premier conditionnement, quelle conséquence sera associée à chaque aliment. Or dans la nature, les espèces végétales possèdent diverses

caractéristiques sensorielles qui pourraient être autant d'indicateurs des conséquences post-ingestives à venir (*e.g.* une plante au goût amer est souvent associée à une toxicité ; Garcia et Hankins, 1975) ce qui pourrait aider les animaux à réaliser les bonnes associations entre caractéristiques sensorielles et conséquences post-ingestives.

Par ailleurs, divers exemples indiquent l'existence d'une influence des caractéristiques sensorielles des aliments *per se* sur la sélection des ruminants. Ainsi, certains arômes sont spontanément préférés (l'orange par rapport à la réglisse, Ralphs *et al.*, 1995). Les ovins et les bovins expriment également une préférence temporairement accrue pour l'aliment qui n'a pas été récemment consommé (Newman *et al.*, 1992 ; Parsons *et al.*, 1994) y compris lorsque les différents aliments présentent des caractéristiques nutrititives très voisines (Ginane *et al.*, 2002).

Ainsi, dans la théorie des apprentissages alimentaires, le poids donné aux caractéristiques pré-ingestives est faible en comparaison de celui donné aux conséquences post-ingestives. Leur rôle dans la sélection alimentaire, de part leur valeur propre ou en tant qu'indicateur des conséquences, est probablement sous-estimé.

III. ASPECT QUANTITATIF DU COMPORTEMENT ALIMENTAIRE : L'INGESTION VOLONTAIRE

Une fois l'aliment choisi, l'animal procède à son ingestion. L'ingestion volontaire est définie comme la quantité d'aliment consommé par un animal ayant libre accès à la nourriture pendant une période donnée (Forbes, 1995). Classiquement on exprime les données d'ingestion à l'échelle de la journée, les activités d'ingestion se reproduisant de jour en jour selon un rythme circadien. Sous les climats tempérés et en dehors de toute intervention humaine, les troupeaux pâturent de 5 à 9 heures par jour, au cours de 6 à 8 périodes dont les deux principales se situent au lever et au coucher du soleil ; ce profil d'activité correspond à ce que l'on rencontre en période estivale et est modifié au cours des saisons pour s'adapter aux variations de la durée d'éclairage journalière et de température (Arnold, 1981 ; Jarrige et *al.*, 1995 pour revue). A l'auge, lorsque les animaux disposent en permanence de nourriture, ils manifestent un rythme d'activité alimentaire relativement semblable à celui observé au pâturage avec un pic d'activité en début et en fin de journée (Jarrige et *al.*, 1995 pour revue).

L'ingestion quotidienne résulte de la somme des repas successifs réalisés. Au plan comportemental, elle peut s'analyser comme le produit du temps passé à ingérer et de la vitesse à laquelle l'ingestion est réalisée (Allden et Whittaker, 1970). La durée d'ingestion est elle-même le produit du nombre de repas quotidiens et de la durée de chaque repas, et la vitesse d'ingestion est, quant à elle, le produit de la masse des bouchées et de leur fréquence. Ainsi, lorsque la vitesse d'ingestion décroît, par exemple parce que l'aliment ou le couvert pâturé devient moins facilement préhensible ou parce qu'il nécessite un temps de mastication plus élevé, l'animal va augmenter sa durée d'ingestion pour tenter de maintenir ses quantités ingérées (Allden et Whittaker, 1970 ; Rook *et al.*, 1994). Inversement si le temps d'accès à l'aliment est limité, l'animal va augmenter sa vitesse d'ingestion aussi bien à l'auge (Baumont *et al.*, 1988) qu'au pâturage (Ginane *et al*., 2005).

L'ingestion et l'ensemble de ses composantes comportementales dépendent de facteurs liés à l'animal (*e.g.* besoins énergétiques, état des réserves corporelles, taille du rumen, etc.) définissant sa capacité d'ingestion, et de facteurs liés à l'aliment (*e.g.* valeur nutritive, effet d'encombrement, palatabilité) définissant son ingestibilité (Jarrige *et al.*, 1995), qui est modulée au pâturage par la biomasse disponible et l'architecture du couvert végétal (Delagarde *et al.*, 2001 ; Baumont *et al.*, 2004) . Bien entendu, des facteurs environnementaux tels que la température (Morand-Fehr et Doreau, 2001), ou encore les relations sociales (Dumont et Boissy, 1999) affectent l'ingestion. L'ensemble des facteurs liés à l'animal, à l'aliment et à l'environnement agissent sur un processus dynamique de motivation à ingérer et de satiété (Faverdin *et al.*, 1995).

Dans le cadre de ce travail de thèse, nous considérons uniquement les facteurs liés à l'aliment et plus particulièrement les effets des caractéristiques sensorielles et des conséquences post-ingestives des aliments sur l'ingestion journalière.

III.1. Effets des conséquences post-ingestives sur l'ingestion journalière

III.1.a. Distension gastrique et contrôle physique de l'ingestion

Le premier indice d'un contrôle de l'ingestion lié à la distension gastrique est la présence de tensio- et mécano-récepteurs au niveau de la paroi du rumen d'où partent des fibres afférentes en relation avec le système nerveux central (Leek, 1986).

Depuis les années 60, de nombreuses études ont démontré que l'ingestion chez les ruminants est limitée par la capacité du rumen (Balch et Campling, 1962 pour synthèse). De nombreux auteurs ont augmenté le volume ou la masse du contenu ruminal que ce soit avec des matériaux indigestibles comme des ballons (Campling et Balch, 1961 ; Anil *et al.*, 1993), des cubes de polystyrène (Baumont *et al.*, 1990a) ou encore de la sciure de bois (Weston, 1966), ou avec des matériaux digestibles tels que des fourrages (Weston, 1966 ; Greenhalgh et Reid, 1971), et ont démontré que l'encombrement ruminal réduit l'ingestion volontaire des animaux (Faverdin *et al.*, 1995 pour synthèse ; Figure 3). Ainsi, toute variation au niveau des paramètres digestifs qui tend à diminuer le volume ou la masse du contenu ruminal induit une augmentation d'ingestion, et inversement. Par exemple, une augmentation de la digestibilité ou du taux de passage des aliments induit une baisse de la masse du contenu ruminal par unité d'aliment ingérée, ce qui permet une augmentation de l'ingestion (Balch et Campling, 1962).

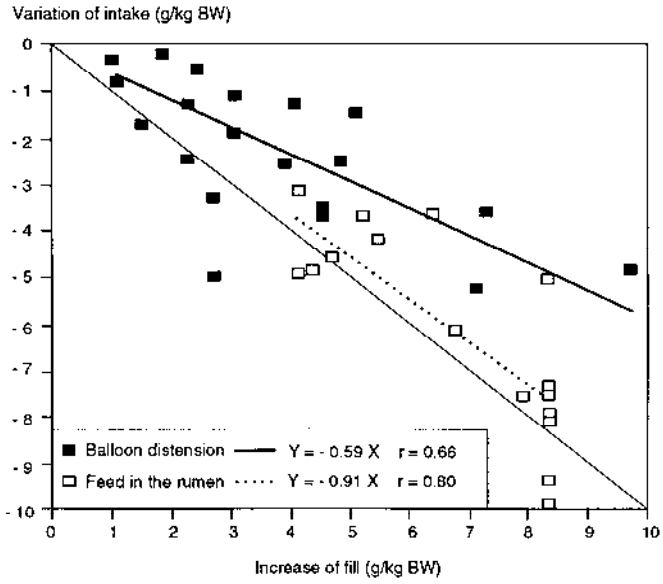


Figure 3 : Variation de l'ingestion en fonction de l'augmentation de l'encombrement ruminal, soit par la distension d'un ballon soit par l'introduction d'aliment ou de digesta dans le rumen. Données issues d'études menées sur bovins et ovins, et synthétisées dans Faverdin *et al.* (1995).

III.1.b. Contrôle nutritif de l'ingestion

Il semblerait que les facteurs physiques de limitation de l'ingestion des fourrages agissent en premier, puis, selon un seuil dépendant des besoins nutritifs de l'animal et du taux de passage des particules en dehors du rumen, le contrôle nutritif deviendrait majoritaire ; l'ingestion diminuant ainsi au fur et à mesure que la concentration en énergie digestible augmente (Forbes, 1995). La fermentation microbienne produit en effet des acides gras

volatils (AGV) qui représentent une des sources principales d'énergie chez les ruminants (*i.e.* entre 70 et 80 % de l'énergie totale absorbée). Ils sont perçus via des chémorécepteurs présents à différents endroits du tractus digestif selon la nature de l'AGV (rumen pour l'acétate, foie pour le propionate, etc.) et agissent comme un feedback négatif au niveau du système nerveux central (Forbes, 2007). De nombreux travaux ont montré que la réponse à court terme des ruminants suite à une infusion ruminale d'AGV correspond à une diminution de l'ingestion dont le niveau dépend de la nature de l'AGV et de la quantité infusée par rapport aux besoins énergétiques de l'animal (Faverdin *et al.*, 1995 ; Figure 4). Toutefois, la plupart des études ont consisté à infuser dans le rumen des animaux des AGV sous forme de sels de sodium ; par conséquent, en plus d'augmenter la concentration en AGV dans le rumen, elles ont augmenté la concentration en sodium et donc l'osmolalité du fluide ruminal. Ainsi, les AGV et le sodium peuvent induire plusieurs effets qui, dans ces études, sont confondus mais qui, tous deux, concourent à démontrer qu'il existe une régulation métabolique de l'ingestion chez les ruminants. Enfin, la présence de chémorécepteurs sensibles aux AGV, au niveau de la paroi du rumen pour l'acétate ou au niveau du foie pour le propionate, est un fait établi (Forbes, 2007).

L'ingestion est également influencée par les produits de la dégradation des protéines et du métabolisme azoté, et par la concentration en minéraux, vitamines et acides aminés (Forbes, 1995). Les aliments riches en protéines ou en azote non protéique mènent à une production excessive d'ammoniaque, une concentration sanguine en ammoniaque élevée et donc à une toxicité que l'animal cherche à éviter en réduisant son ingestion. Les aliments pauvres en protéines ne sont pour autant pas consommés en grande quantité car l'animal qui augmenterait son ingestion pour tenter de maintenir un apport adéquat de protéines souffrirait dans le même temps d'un excès d'autres nutriments, ou d'un encombrement ruminal excessif. L'animal doit donc gérer son ingestion pour maintenir l'homéostasie générale de son organisme. De la même manière que pour les protéines, un excès de minéraux induit un malaise, que l'animal va vouloir éviter en réduisant son ingestion, même si cela réduit ses apports en énergie et protéines. Enfin, un déficit en minéraux essentiels perturbe également le métabolisme et réduit l'ingestion (Forbes, 1995).

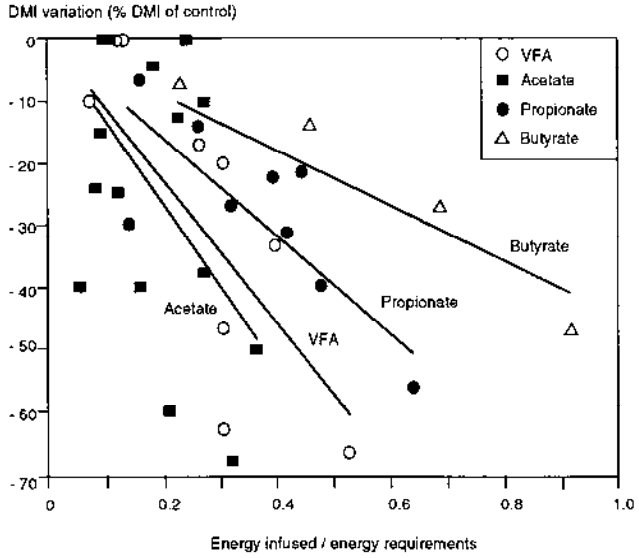


Figure 4 : Effet de la quantité d'acides gras volatils infusés dans le rumen relativement aux besoins, et de leur nature sur la variation journalière d'ingestion volontaire de matière sèche. Ces données sont issues de la littérature et synthétisées dans Faverdin *et al.* (1995).

D'une manière générale, il est accepté que la régulation de l'ingestion soit plurifactorielle et les modèles de prédiction des quantités ingérées s'accordent à dire que les effets des différents facteurs sont additifs. Ainsi, les effets d'une infusion d'AGV et d'une distension gastrique s'additionnent pour réduire les quantités ingérées (Adams et Forbes, 1981).

III.2. Effets des caractéristiques sensorielles sur l'ingestion journalière

Les caractéristiques sensorielles de l'aliment jouent également sur son évaluation par l'animal et peuvent influencer par conséquent la quantité qu'il décide d'en consommer. Par exemple, la diversité des stimulations sensorielles pourrait expliquer l'augmentation d'ingestion souvent observée lorsque les animaux sont en situation de choix (Cortes *et al.*, 2006) y compris lorsque les différents aliments présentent des caractéristiques nutritives très voisines (Ginane *et al.*, 2002) ou qu'un même foin est associé à différentes flaveurs (Distel *et al.*, 2007), même si dans ce dernier cas l'augmentation d'ingestion dépend de la qualité du foin considéré.

Le terme de palatabilité est celui qui revient le plus dans la littérature concernant la régulation de l'ingestion par les sens. Cependant, cette notion est difficile à appréhender et

s'est vue attribuer de nombreuses définitions (Baumont, 1996 pour revue). Dans le dictionnaire, un aliment palatable est défini comme étant agréable au goût ce qui reste assez vague puisque cette définition ne précise pas si la palatabilité est une caractéristique de l'aliment, de l'individu qui consomme l'aliment ou des deux. Greenhalgh et Reid (1971) ont proposé que la palatabilité, ou appétibilité, désigne les caractéristiques de l'aliment qui provoquent une réponse des sens de l'animal et donc un appétit, ou appétence, plus ou moins développé pour cet aliment. Cette réponse provoquée est de nature hédonique, ou affective, selon Fantino (1992). Par la suite, Provenza (1995) a critiqué la notion de palatabilité et a proposé qu'elle soit directement dépendante et calibrée par les conséquences post-ingestives associées. Ainsi, un aliment riche en nutriments induit une palatabilité élevée, et inversement.
Pour résumer, la notion de palatabilité semble intégrer plusieurs aspects :
- un aspect sensoriel puisque la palatabilité dépend de la perception par l'animal des caractéristiques physiques (la texture) et chimiques (le goût et l'odeur) de l'aliment (Greenhalgh et Reid, 1971 ; Jarrige, 1988),
- un aspect physiologique puisqu'elle dépend de l'état de faim et plus globalement de l'état métabolique de l'animal (Gallouin et Le Magnen, 1987 ; Forbes, 1995),
- un aspect cognitif lié à l'expérience de l'animal par rapport à cet aliment (Forbes, 1995) et à l'apprentissage des conséquences post-ingestives associées à l'aliment (Provenza, 1995).

La notion de palatabilité est donc difficile à appréhender en raison de la difficulté d'évaluer dans quelle mesure les caractéristiques sensorielles de l'aliment jouent un rôle en tant que telles et dans quelle mesure elles jouent un rôle parce qu'elles sont perçues aux travers des conséquences post-ingestives qui leurs sont associées. Il semblerait qu'il existe une palatabilité "intrinsèque" qui est une propriété de l'aliment et une palatabilité "apprise" qui correspond à une réponse basée sur de précédents apprentissages alimentaires (Kissileff, 1990). Cependant, il est difficile de dissocier les deux dans la mesure où on ne peut maîtriser que très rarement la totalité des apprentissages antérieurs des animaux.

Quoiqu'il en soit**, la palatabilité ne peut être mesurée que dans des conditions expérimentales très précises visant à séparer les effets des caractéristiques sensorielles de ceux des conséquences post-ingestives.** Cela peut être obtenu en mesurant la quantité ingérée et la vitesse d'ingestion pendant les premières minutes qui suivent la distribution alimentaire puisqu'on peut supposer que les conséquences post-ingestives n'ont pas pu s'exprimer dans un délai aussi bref (Baumont *et al.*, 1990b). Greenhalgh et Reid (1971) ont également proposé une méthode selon laquelle un aliment A est consommé par un animal à

l'auge tandis qu'un aliment identique (A) ou différent (B) est introduit directement dans son rumen, dans une proportion égale à la moitié de la quantité totale reçue (*i.e.* consommée et introduite) la veille. On peut ainsi soumettre l'animal à deux traitements proposant des aliments différents à l'auge (A ou B) mais des conséquences post-ingestives similaires puisque induites par un régime composé à 50% de l'aliment A et 50% de l'aliment B (Figure 5). Une autre technique pour se soustraire des effets post-ingestifs des aliments consiste à éviter que les ingesta n'atteignent le tube digestif de l'animal par la mise en place d'une dérivation via une fistule oesophagienne (Grovum et Chapman, 1988).

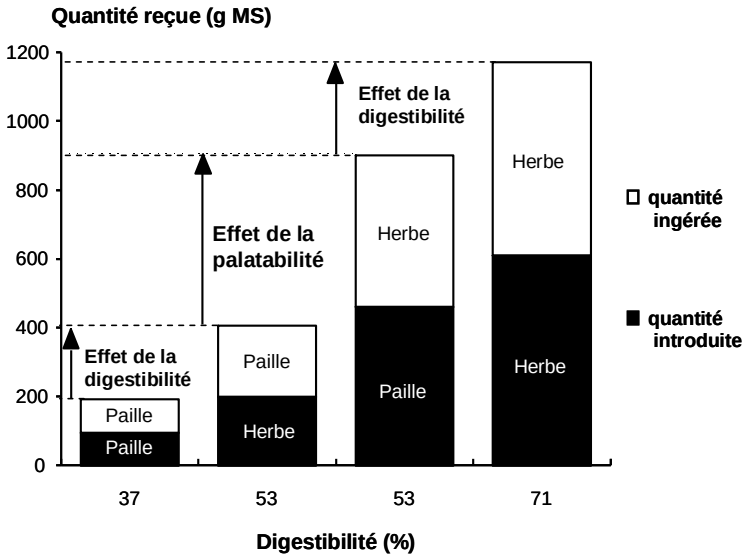


Figure 5 : Quantité reçue (*i.e.* ingérée et introduite dans le rumen) en fonction des traitements et de leur digestibilité respective. Cette méthode permet de mesurer l'effet de la palatabilité en mesurant la différence de quantité reçue dans le cas où i/ la paille est ingérée et l'herbe est introduite et ii/ l'herbe est ingérée et la paille est introduite ; ce qui, dans les deux cas, correspond à une composition et une digestibilité de la ration similaire (d'aprés Greenhalgh et Reid, 1971 dans Baumont, 1996)

IV. CONCLUSIONS

La compréhension du comportement alimentaire et de l'ingestion des herbivores domestiques présente de multiples intérêts au regard d'objectifs zootechniques et environnementaux en élevage. Elle nécessite à la fois la compréhension d'un processus qualitatif (sélection alimentaire) dès lors que l'animal a le choix entre différents items alimentaires, et d'un processus quantitatif (régulation de l'ingestion). Ces deux processus sont sous l'influence de facteurs liés à l'animal, à l'aliment et au milieu. Nous nous focalisons au cours de ce travail de thèse sur les facteurs liés à l'aliment qu'ils soient de nature sensorielle ou post-ingestive. Ils sont en effet perçus et intégrés par l'animal, lui-même caractérisé par ses

connaissances et son état interne, et influencent son comportement alimentaire à la fois qualitativement et quantitativement (Figure 6).

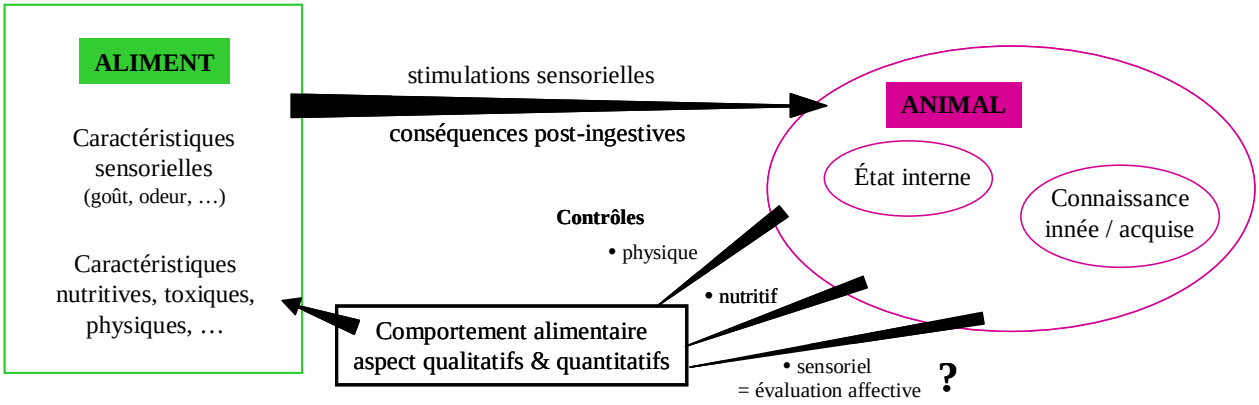


Figure 6 : Schéma de l'interaction entre l'aliment et l'animal. L'aliment est défini par un ensemble de caractéristiques qui induisent des stimulations sensorielles et des conséquences post-ingestives. Ces informations sont perçues et intégrées par l'animal, en fonction de ses connaissances et de son état interne. Elles exercent de nombreux rétrocontrôles (physique, nutritif, voire même sensoriel) qui modulent le comportement alimentaire de l'animal, aussi bien au niveau qualitatif (sélection alimentaire) que quantitatif (quantité ingérée).

D'un point de vue théorique, les apprentissages alimentaires retiennent toute notre attention étant donné i/ que les ruminants sont effectivement capables de réaliser des associations entre caractéristiques pré-ingestives et conséquences post-ingestives, ii/ que cette théorie est la seule à considérer la capacité d'adaptation des animaux, et iii/ qu'elle est la seule dont le mécanisme de cause à effet soit impliqué, de façon variable, dans chacune des autres théories. Néanmoins, elle montre des limites lorsqu'il s'agit d'expliquer les difficultés d'apprentissage rencontrées par les animaux en situation d'apprentissage expérimentalement complexifiée, ce qui pourrait être lié à une sous-estimation du rôle des caractéristiques pré-ingestives dans le processus de sélection alimentaire.

Les facteurs de régulation post-ingestifs (distension gastrique et apport nutritif) de l'ingestion journalière sont reconnus et intégrés depuis longtemps de façon empirique dans les modèles de prévision de l'ingestion (e.g. Jarrige, 1988) et de façon plus mécaniste dans des modèles de simulation de l'ingestion et du comportement alimentaire (e.g. Sauvant *et al.*, 1996) alors que les facteurs de régulation pré-ingestifs, abordés sous le terme de palatabilité, manquent encore d'une définition claire et de méthodes d'étude efficaces capables de se soustraire de l'effet des facteurs post-ingestifs. De plus, les études sur la palatabilité ne se sont

intéressées qu'à son effet éventuel sur l'ingestion journalière alors que l'ensemble des comportements alimentaires qui aboutissent à une quantité ingérée est très vraisemblablement également influencé.

Une meilleure compréhension du comportement alimentaire des ruminants doit permettre d'optimiser l'utilisation des ressources fourragères dans leur alimentation, en vue de satisfaire des enjeux zootechniques et environnementaux. Pour cela, il nous paraît important de préciser le rôle des caractéristiques sensorielles des aliments dans le comportement alimentaire des ruminants en l'absence de conséquences post-ingestives d'une part, et de déterminer dans quelle mesure ces caractéristiques sensorielles peuvent moduler le rôle des conséquences post-ingestives au cours des processus d'apprentissage alimentaire d'autre part.

Objectifs et stratégie expérimentale

Mon travail de thèse a ainsi pour objectif général de préciser le rôle des caractéristiques sensorielles des aliments dans le comportement alimentaire des ruminants. L'analyse bibliographique précédente nous a permis de dégager deux axes de travail (Figure 7**) :**

- le premier axe de la thèse a pour objectif de préciser le rôle des caractéristiques sensorielles des aliments sur les préférences alimentaires spontanées, l'ingestion, et les activités alimentaires des ovins indépendamment des conséquences post-ingestives qui peuvent leur être associées. Nous avons tout d'abord étudié ce rôle en travaillant avec des fourrages contrastés porteurs d'une multitude d'informations pré-ingestives différentes, puis nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux goûts primaires en ajoutant des substances qui les induisent sur un même fourrage.

- le second axe de la thèse a pour objectif de déterminer si des caractéristiques sensorielles, artificielles ou naturellement présentes dans les plantes, peuvent jouer un rôle d'indicateur des conséquences post-ingestives dans le cadre des apprentissages alimentaires. Nous nous sommes demandés plus particulièrement dans quelle mesure un apprentissage alimentaire peut être amélioré, notamment en situation complexe, si les caractéristiques sensorielles d'un aliment fournissent à l'animal une indication sur ses conséquences, lui permettant ainsi d'anticiper sa valeur.

Nous avons fait le choix d'effectuer nos expérimentations à l'auge pour nous extraire des effets des conditions environnementales (variabilité spatiale et temporelle des aliments, interactions sociales entre animaux) qui influencent le comportement alimentaire et l'activité d'ingestion, et ainsi étudier spécifiquement les effets des facteurs alimentaires. Par conséquent, on ne parlera plus de sélection alimentaire mais de préférence alimentaire, la préférence correspondant à ce que l'animal exprime dans une situation de complète liberté de choix (Hodgson, 1979).

Tout au long de l'étude bibliographique, nous avons constaté que le rôle des caractéristiques sensorielles est souvent ignoré car confondu avec celui des effets des conséquences post-ingestives. Il est fort probable que les difficultés méthodologiques rencontrées pour isoler les effets des caractéristiques sensorielles de ceux des conséquences

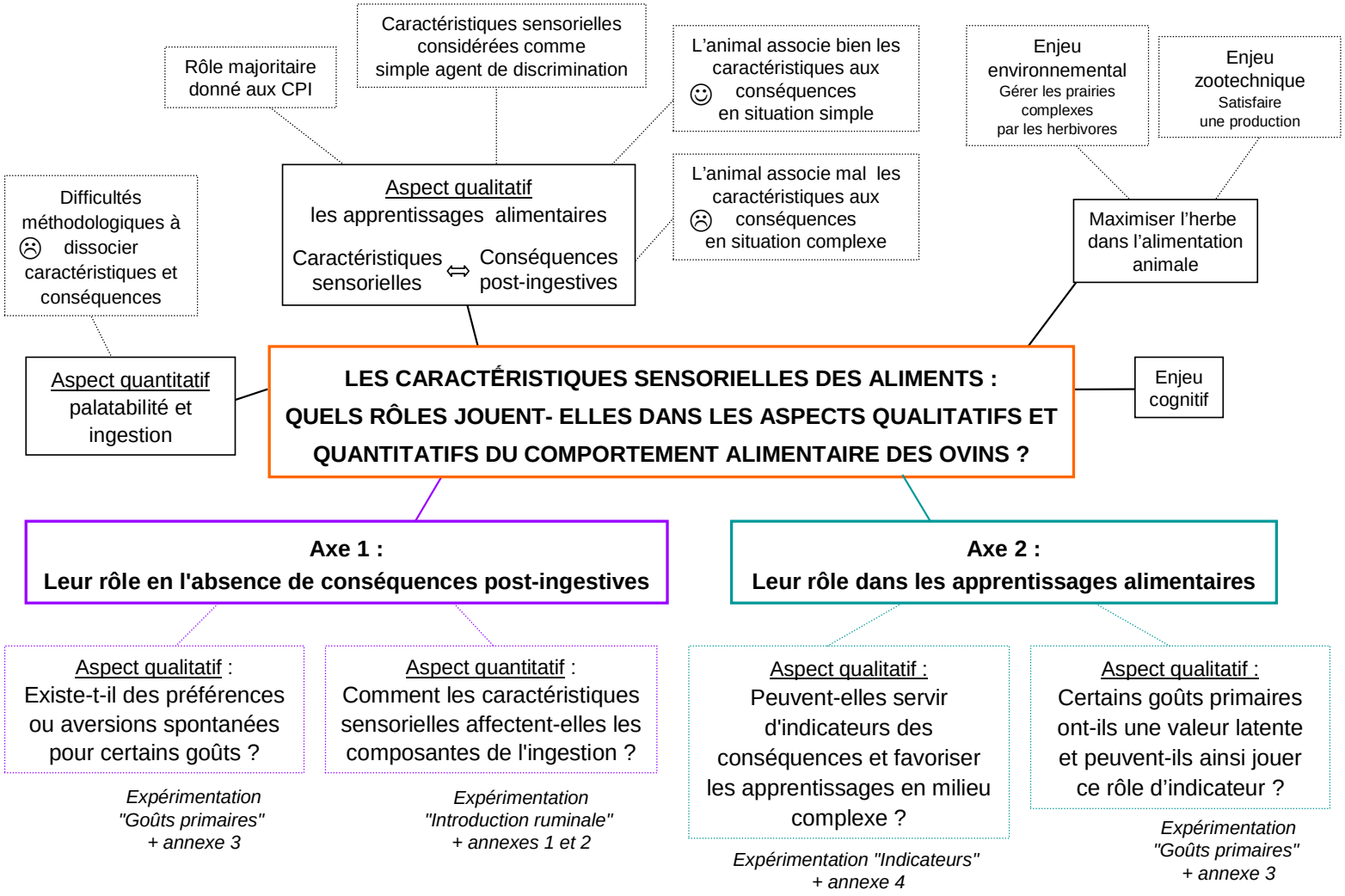


Figure 7 : Représentation schématique de l'objectif général de la thèse et de la stratégie expérimentale mise en place selon 2 axes, auxquels s'ajoutent les enjeux et le contexte général de travail au niveau des aspects qualitatifs et quantitatifs du comportement alimentaire.

post-ingestives soient responsables de cette situation. **Nous avons utilisé des méthodologies adaptées** à la séparation des effets des caractéristiques sensorielles de ceux des conséquences post-ingestives, basées sur des introductions intra-ruminales et des conditionnements.

I. ROLE DES CARACTERISTIQUES SENSORIELLES EN L'ABSENCE DE CONSEQUENCES POST-INGESTIVES

De nombreuses études ont démontré que l'ingestion journalière est influencée par les conséquences post-ingestives, notamment par la distension gastrique et la concentration en AGV. Cependant, quand on cherche à étudier les effets des caractéristiques sensorielles des fourrages sur l'ingestion et l'activité alimentaire des animaux, on se heurte à la difficulté de pouvoir séparer les effets des caractéristiques sensorielles de ceux des conséquences post-ingestives car ils sont en général intimement liés. Ainsi, diminuer la taille des particules d'un fourrage pour le rendre plus ingestible, jouera également sur sa digestibilité. Une méthode intéressante pour séparer ces effets consiste à introduire une partie de la ration directement dans le rumen d'animaux équipés de canules tandis qu'ils consomment oralement l'autre partie de la ration (Weston, 1966 ; Greenhalgh et Reid, 1971 ; Van Niekerk *et al.*, 1973).

Dans la première expérimentation, appelée **"introduction ruminale"**, nous avons repris la méthode élaborée par Greenhalgh et Reid (1971) selon laquelle un aliment A est offert à l'auge à volonté de telle sorte qu'il soit consommé oralement (o) par les ovins tandis qu'un aliment identique, A, ou différent, B, est introduit directement dans leur rumen (r). La quantité d'aliment introduite dans le rumen correspond à la moitié de la quantité totale reçue la veille (*i.e.* quantité ingérée + introduite) de telle sorte que les traitements Ao/Br et Bo/Ar sont constitués de 50% de A plus 50% de B, induisant ainsi des conséquences post-ingestives similaires. D'un côté, on peut déterminer les effets des caractéristiques sensorielles en comparant les situations où deux aliments différents sont consommés oralement à conséquences post-ingestives similaires (Ao/Br vs Bo/Ar). D'un autre côté, on étudie les effets des conséquences post-ingestives en comparant les situations où un même aliment est consommé oralement alors que l'aliment introduit dans le rumen des animaux diffère (Ao/Ar vs Ao/Br et Bo/Br vs Bo/Ar).

Ainsi l'objectif de l'expérimentation "introduction ruminale" est de déterminer comment varient les différentes composantes du comportement alimentaire (quantité ingérée, activités et préférences alimentaires)
- lorsque deux aliments sont associés à des conséquences post-ingestives similaires,
- et lorsqu'un même aliment est associé à différentes conséquences post-ingestives.
Cette expérimentation a été précédée d'un essai méthodologique portant sur les introductions ruminales (annexe 1) et d'un essai pour identifier une combinaison de fourrages présentant des préférences équilibrées et stables dans le temps (annexe 2).

Au cours de l'expérimentation qui a été réalisée en dernier d'un point de vue chronologique et que l'on appellera **"goûts primaires"**, nous avons cherché à savoir si **certains goûts primaires peuvent induire des préférences ou aversions alimentaires spontanées et stables, en l'absence de conséquences post-ingestives.** En effet, le goût semble être la sensorialité principalement sollicitée pour la sélection alimentaire chez les ruminants (Arnold, 1966b). Les goûts sont généralement considérés comme des agents de discrimination, permettant uniquement à l'animal de différencier les aliments entre eux, mais ils n'influenceraient pas les préférences alimentaires en l'absence de conséquences post-ingestives (Provenza, 1995). Toutefois, certains goûts seraient préférés et d'autres évités de manière instantanée et en l'absence de toutes conséquences post-ingestives immédiatement associées (Goatcher et Church, 1970a, 1970b ; Grovum et Chapman, 1988 ; Gherardi et Black, 1991) ce qui pourrait être le signe d'une valeur latente, acquise au cours de processus évolutifs à long terme ou au cours d'expériences précédentes. Suite aux résultats contradictoires obtenus avec différents goûts et en particulier avec le goût sucré (ensemble d'expérimentations présentées en annexe 3), nous nous sommes focalisés sur les goûts umami et amer. Si des préférences ou aversions spontanées et stables sont observées en l'absence de toutes conséquences post-ingestives, c'est que les goûts ne sont pas uniquement des agents de discrimination mais qu'ils peuvent porter d'autres fonctions, telle qu'une fonction d'indicateur des conséquences, ce qui sera étudié dans le second axe de la thèse.

II. ROLE DES CARACTERISTIQUES SENSORIELLES DANS LES APPRENTISSAGES ALIMENTAIRES

Nous avons dans cet axe porté notre attention sur le rôle des caractéristiques sensorielles dans les apprentissages alimentaires puisqu'il a semble-t-il été sous-estimé par

rapport à celui attribué aux conséquences post-ingestives. Lorsque la situation d'apprentissage est expérimentalement complexifiée, afin de se rapprocher des conditions naturelles, les animaux montrent des difficultés à réaliser les bonnes associations entre caractéristiques sensorielles et conséquences post-ingestives (Duncan et Young, 2002 ; Ginane *et al.*, 2005). La procédure expérimentale classiquement utilisée pour tester ces capacités d'apprentissage met en jeu des informations pré-ingestives qui n'ont *a priori* pas de valeur pour l'animal (e.g. flaveurs artificielles) et ne permettent donc initialement qu'une discrimination des aliments entre eux. Or, en milieu naturel, les espèces végétales portent diverses caractéristiques sensorielles qui pourraient jouer le rôle d'indicateurs des conséquences. Par conséquent, l'absence de ces indicateurs pourrait expliquer les difficultés d'apprentissage observées spécialement dans un contexte complexifié.

Notre 2ème expérimentation, appelée **"indicateurs",** a pour objectif de **déterminer dans quelle mesure l'apprentissage alimentaire peut être amélioré si les caractéristiques pré-ingestives d'un aliment fournissent à l'animal une indication sur ses conséquences et lui permettent ainsi d'anticiper sa valeur.** Pour tester notre hypothèse, nous avons créé nos indicateurs lors d'une première phase d'apprentissage en utilisant des flaveurs artificielles, afin de contrôler la connaissance des animaux concernant ces flaveurs et les conséquences associées. Le choix des flaveurs a fait l'objet de tests préliminaires présentés en annexe 4.

A la suite des résultats obtenus dans l'expérimentation "indicateurs"**,** nous avons cherché des indicateurs naturellement présents dans les végétaux pour notre 3ème expérimentation (**"goûts primaires")**. Nous avons choisi les goûts, qui sont considérés comme la sensorialité principalement sollicitée dans la sélection alimentaire, et plus particulièrement les goûts umami et amer, présents naturellement dans les végétaux et qui pourraient jouer le rôle d'indicateur de conséquences de nature protéique (Yamaguchi et Ninomiya, 2000) ou toxique (Garcia et Hankins, 1975) des aliments, respectivement.

L'objectif de cette 3ème expérimentation est donc de **déterminer si certains goûts primaires peuvent être porteurs d'une valeur latente qui ferait d'eux des indicateurs des conséquences post-ingestives. Pour cela, après avoir testé les préférences des animaux pour ces goûts, sans conséquence post-ingestive associée, nous les avons placés dans des situations d'apprentissage alimentaire cohérentes ou non, du point de vue de leur évaluation initiale des goûts.** Nous formulons l'hypothèse que si les goûts umami et amer portent respectivement une valeur positive et négative, les animaux devraient apprendre plus facilement les associations cohérentes (umami - conséquence positive et amer – conséquence

négative) que les associations incohérentes (umami – négative et amer – positive). Cette meilleure efficacité d'apprentissage pourrait venir du fait que les animaux utilisent les goûts comme des indicateurs, leur permettant d'anticiper les conséquences.

Nous présenterons dans la suite du manuscrit les 3 expérimentations présentées précédemment sous la forme de 3 chapitres successifs, dans la mesure où chacune d'entre elles fait l'objet d'une publication. Les essais méthodologiques et les pré-tests nécessaires à la mise en œuvre de ces trois expérimentations principales sont présentés en annexes. Le positionnement des essais principaux et des essais annexes par rapport aux axes de la thèse est indiqué dans la Figure 7.

CHAPITRE 1

Caractéristiques sensorielles et ingestion volontaire

Comportement alimentaire d'ovins alimentés avec un foin de luzerne ou un foin de graminées lorsque les conséquences post-ingestives sont contrôlées

I. CONTEXTE ET OBJECTIFS

De nombreuses études ont démontré que l'ingestion journalière est influencée par les conséquences post-ingestives, notamment par la distension gastrique (e.g. Campling et Balch, 1961 ; Baumont *et al.*, 1990b) et la concentration en acides gras volatils (Faverdin *et al.*, 1995 ; Forbes, 2007). Les conséquences post-ingestives participent au processus de satiété et sont intégrées dans le contrôle de l'ingestion afin de prévenir tout excès (Faverdin *et al.*, 1995; Baumont *et al*., 2000).

Isoler l'effet des caractéristiques sensorielles sur l'ingestion et l'activité alimentaire nécessite de pouvoir contrôler les effets post-ingestifs associés aux aliments. Greenhalgh et Reid (1971) ont été parmi les premiers à dissocier les effets des caractéristiques sensorielles de ceux des conséquences post-ingestives et ont ainsi démontré leur influence au niveau de l'ingestion des ovins. Ils ont pour cela utilisé des animaux équipés de canules du rumen, ce qui permettait d'introduire des aliments directement dans leur rumen sans stimuler leur zone oro-pharyngée. Cependant, l'étude des réponses de l'animal s'est limitée à des mesures de quantités ingérées quotidiennement sans analyse des activités alimentaires ni des préférences.

Le but de cette expérimentation, appelée "introduction ruminale", est d'étudier la quantité ingérée, l'activité alimentaire et les préférences alimentaires exprimées par des ovins à l'auge afin de déterminer :

- les effets des caractéristiques sensorielles lorsque deux aliments différents sont associés à des conséquences post-ingestives similaires
- les effets des conséquences post-ingestives lorsqu'un même aliment est associé à différentes conséquences post-ingestives

II. METHODES

Six moutons mâles castrés de race Texel, équipés de canules du rumen ont expérimenté, selon la procédure du carré latin, 4 traitements au cours de 4 périodes expérimentales de 11 jours, entrecoupées de périodes de repos. Les traitements étaient

caractérisés par la nature du fourrage (luzerne, L, ou foin de graminées, G) consommé oralement (o) et introduit dans le rumen (r) : Go/Gr, Go/Lr, Lo/Gr, et Lo/Lr (méthode inspirée de Greenhalgh et Reid, 1971). Les animaux étaient alimentés à volonté de 9h00 à 15h00. Les introductions ruminales étaient réalisées avant la distribution alimentaire, à hauteur de ½ de la quantité totale reçue la veille (*i.e.* quantité ingérée + introduite en matière fraiche). En période expérimentale, la quantité ingérée et l'activité masticatoire étaient enregistrées en continu. A 15h, les choix des animaux entre les 2 fourrages étaient testés pendant 5 min. Des récoltes de fèces, des échantillons de jus de rumen et des vidages du rumen ont été effectués au cours de chaque période afin de contrôler les paramètres ruminaux.

Ainsi, les traitements Go/Lr et Lo/Gr impliquent des aliments différents à l'auge mais des conséquences post-ingestives similaires car induites par 50% de G et 50% de L. A l'inverse, en comparant les traitements Go/Gr et Go/Lr d'une part et Lo/Lr et Lo/Gr d'autre part, on observe les effets des conséquences post-ingestives.

III. RESULTATS

L'introduction de luzerne à la place du foin de graminées dans le rumen a augmenté la quantité de foin ingérée de 597 ± 43 à 729 ± 58 g de MS/jour ($P < 0.05$). A l'inverse, l'introduction du foin de graminées dans le rumen à la place de la luzerne a diminué la quantité ingérée de luzerne de 951 ± 57 à 746 ± 56 g MS/jour ($P < 0.05$). La quantité ingérée était identique pour les traitements combinant les deux fourrages avec 729 ± 58 g de MS/jour lorsque le foin est ingéré à l'auge et 746 ± 56 g MS/jour lorsque c'était la luzerne ($P > 0.05$). Toutefois, durant les 20 premières minutes de l'offre alimentaire ainsi que durant la dernière heure, le foin de légumineuse était ingéré en plus grande quantité (Lo/Gr) que ne l'était le foin de graminées (Go/Lr).

Le foin de luzerne ayant une teneur en parois végétales plus faible que le foin de graminées (528 vs 671 g/kg MS) ainsi qu'une dégradabilité dans le rumen plus élevée (554 vs 493 g/kg MS), le temps de séjour a diminué entre Go/Gr et Go/Lr d'une part et a augmenté entre Lo/Gr et Lo/Lr d'autre part, ce qui peut expliquer les variations de l'ingestion volontaire. Le temps de séjour de la ration totale reçue par l'animal était identique entre les traitements Lo/Gr et Go/Lr, ce qui peut expliquer les ingestions similaires observées entre ces deux traitements. Aucune différence de digestibilité n'a été mesurée entre les quatre traitements.

Selon la nature du foin proposé à l'auge, l'augmentation de l'ingestion quotidienne moyenne n'implique pas les mêmes ajustements comportementaux : lorsque G était consommé oralement, les moutons ingéraient plus longtemps (149 min pour Go/Gr vs 192 min pour Go/Lr, $P < 0.01$) mais pas plus vite ; au contraire, lorsque L était consommé oralement, les moutons n'ingéraient pas plus longtemps mais plus vite (4.81 g MS/min pour Lo/Gr vs 6.13 g MS/min pour Lo/Lr, $P < 0,05$).

Lors des tests de choix, les animaux ont préféré le fourrage non consommé à l'auge précédemment quelles que soient les conséquences post-ingestives imposées par les traitements. De plus, à conséquences post-ingestives similaires (Go/Lr vs Lo/Gr), les moutons ont eu tendance à préférer d'autant plus le foin non consommé au préalable qu'il s'agissait du foin de luzerne.

IV. CONCLUSIONS

Nos résultats confirment le rôle prédominant des conséquences post-ingestives, en particulier celles liées à l'encombrement du rumen, sur l'ingestion journalière des moutons. A conséquences post-ingestives similaires, la nature du fourrage n'a pas influencé le niveau d'ingestion des animaux. Cependant, les caractéristiques sensorielles des fourrages influencent les activités alimentaires et les choix à court terme. Ainsi, les ovins préfèrent l'aliment non consommé précédemment, indépendamment de tout effet post-ingestif, ce qui suggère qu'ils recherchent un régime alimentaire diversifié plus pour le plaisir qu'à des fins fonctionnelles.

Feeding behaviour of sheep fed lucerne *vs.* grass hays with controlled post-ingestive consequences

Animal, accepted February 04 2010, doi:10.1017/S1751731110000443

A. Favreau [1, a], C. Ginane [1], R. Baumont [1]

[1] *INRA, UR1213 Herbivores, Site de Theix, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France*

[a] Corresponding author: angelique.favreau@clermont.inra.fr

ABSTRACT

Understanding what determines feeding behaviour in herbivores is essential to optimize the use of forages in breeding systems. Herbivores can evaluate foods by associative learning of their pre-ingestive characteristics (taste, odour, etc.) and their post-ingestive consequences. Post-ingestive consequences are acknowledged as influencing intake and food choices, but the role of pre-ingestive characteristics is still being debated.

Our experiment was designed to test their separate effects on daily intake, intake patterns and short-term choices in sheep by crossing the nature of the hay orally consumed (o) *ad libitum*, lucerne (L) or grass (G), with the nature of the hay introduced into the rumen (r), L or G, at a rate of half the total amount of hay received the day before. We applied four treatments, Go/Gr, Go/Lr, Lo/Gr and Lo/Lr, to test the effects of (i) post-ingestive consequences with similar pre-ingestive characteristics (Go/Gr *vs.* Go/Lr; Lo/Gr *vs.* Lo/Lr) and (ii) pre-ingestive characteristics with similar post-ingestive consequences at the end of the feeding period (Go/Lr *vs.* Lo/Gr). Six rumen-fistulated sheep underwent all the treatments over 11-day periods in a latin square design. Eating time was restricted to 6 hours daily, intraruminal introductions were performed just before food offer and choice tests were conducted after food removal.

For similar pre-ingestive characteristics, daily dry matter intake (DMI) increased when L hay was introduced into the rumen rather than G ($P < 0.05$), possibly owing to a lower fill effect of L due to its lower neutral detergent fiber (NDF) content and higher rumen degradability. The increased DMI resulted from longer eating time when G was orally consumed (149 *vs.* 192 min, $P < 0.05$), whereas it resulted from higher intake rate with L (4.8 *vs.* 6.1 g/min,

$P < 0.05$). For similar post-ingestive consequences at the end of the feeding period (Go/Lr and Lo/Gr), DMI were similar ($P > 0.05$). Pre-ingestive characteristics or palatability *per se* did not therefore influence daily intake, although they influenced eating patterns. Pre-ingestive characteristics also greatly influenced short-term choices in favour of the hay that was not previously consumed, independently of any post-ingestive influence.

This study confirms the effects of post-ingestive consequences on daily intake, but demonstrates that these variations are obtained by different behavioural adjustments under the influence of pre-ingestive characteristics. Preference for novelty, regardless of post-ingestive consequences, thus suggests that sheep may seek a diverse diet more for pleasure than for functional purposes, with implications for animal welfare.

Keywords: feeding behaviour, intake, sensory characteristics, rumen, sheep

IMPLICATIONS

Breeding systems tend to increase the proportion of forages in the total diet of ruminants, both for economic gain and in response to social demand for environmental protection and welfare. However, their use remains to be optimised. To do this we need a better understanding of how food characteristics influence feeding behaviour.

The post-ingestive consequences of hays are important in meeting an animal's nutritional requirements. Yet sheep express a strong motivation for a diversity of pre-ingestive characteristics regardless of post-ingestive consequences. Breeders should thus offer animals a mixed diet to improve their welfare.

INTRODUCTION

Increasing forage in the diet of ruminants offers a way to lower production costs while at the same time meeting social demand for environmental protection and welfare. To optimise forage use we need a better understanding of how forage characteristics influence feeding behaviour as intake rate, eating time and choices largely determine intake.

Two types of forage characteristics influence choices and feeding behaviour: pre-ingestive characteristics perceived by the animals before the food is swallowed (taste, texture, odour, etc.), and post-ingestive consequences experienced after the food is swallowed (nutritive value, rumen fill, toxicity, etc.).

Post-ingestive consequences are widely acknowledged as influencing feeding behaviour. For instance, the negative relationship between rumen fill and voluntary intake has been demonstrated experimentally by Campling and Balch (1961). Post-ingestive consequences contribute to the satiation process and are integrated in the control of intake to prevent excess (Faverdin *et al.*, 1995; Baumont *et al*., 2000).

By contrast, the pre-ingestive control of feeding behaviour has been less considered in the literature and is still a subject of debate. Greenhalgh and Reid (1971) were among the first to demonstrate the influence of food palatability on intake in sheep by experimentally separating its effects from those of digestibility. Intake in sheep was only 0.4 kg/day when they ate straw and received grass in the rumen, but rose to 0.9 kg/day in the reverse situation, even though the digestibility of the diets was similar. Unpleasant sensations when eating straw may explain its very low intake. Palatability can be considered to reflect those characteristics of a food which invoked a sensory response in the animal (Greenhalgh and Reid, 1971; Baumont, 1996). For instance, the sensory motivation induced by offering a fresh meal of a palatable hay in satiated sheep could override satiety signals and induced a new meal (Baumont *et al.*, 1990a). However, the food learning theory considers that palatability and post-ingestive consequences are interrelated (Provenza, 1995), because ruminants can learn to associate the pre-ingestive characteristics of a food with its post-ingestive consequences and adjust their choices accordingly (Forbes and Provenza, 2000). Pre-ingestive characteristics are thus firstly considered as a tool to discriminate between food items and then to be calibrated by post-ingestive consequences (Garcia, 1989) but not to influence intake on their own.

Using a methodological approach close to that used by Greenhalgh and Reid (1971) to dissociate the effects of pre-ingestive characteristics and post-ingestive consequences of two different hays, our study aimed to determine to what extent choices and feeding behaviour were affected by (i) modifying the post-ingestive consequences associated with the same hay and (ii) changing the nature of the hay consumed orally, with post-ingestive consequences held constant.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted from mid-November 2008 to mid-February 2009 at the UR1213 INRA experimental farm, in central France. The experimental protocol has been submitted to and validated by the Auvergne Region Ethical Committee (ref. CE 7-07).

Animals and forages

Six Texel wethers (2-3 years old) weighing 61.8 ± 0.9 kg at the beginning of the experiment were used. At least one year before the experiment, they were fitted with a polyamide cannula (i.d. 75 mm) in the dorsal region of the rumen by an authorized surgeon. They were anesthetised by Halothane in a sterile environment and received analgesic (flunixine) during four days. They were housed in metabolic crates (0.7 x 1.3 m) except from day 1 to day 5 of the adaptation periods, when they lived in individual pens (1 x 2 m) bedded with sawdust. They were kept under constant light (LD 12:12) and temperature (14.4 ± 0.7 °C) conditions in both cases and had free access to water and salt blocks.

Throughout the experiment we used a lucerne hay (L; *Medicago sativa L.*; Rumiluz®, Désialis, Paris, France) and a grass hay (G) made from a permanent pasture dominated by grasses (more than 80% grasses in the total biomass). Sheep had access to forage for 6 hours per day, between 0900h and 1500h, in an amount that allowed 15% refusals.

Experimental design and feeding procedure

The experiment was designed to separate the effects of pre-ingestive characteristics from those of post-ingestive consequences on sheep feeding behaviour. For this purpose, sheep received one of the experimental hays (L or G) at trough to be orally consumed (o), and either the same hay or the other hay placed directly in the rumen (r). Thus four treatments (Go/Gr, Go/Lr, Lo/Gr and Lo/Lr) were allocated to the six sheep during four experimental periods according to a latin square design. One sheep fell ill during the third experimental period, and so was removed from the experiment for the last two experimental periods. As a consequence, at the end of the experiment, two treatments were tested on six sheep, and two others were tested on five sheep.

Each experimental period was preceded by an adaptation period lasting 10 days (Figure 1). From day 1 to day 3, all sheep received a limited amount of the two foods (800 g fresh matter (FM) of each) provided separately in two compartments of the trough so that they ate both of them. By this way, we made sure all the animals consumed the same diet and had the same recent experience of both forages before initiating a new experimental period, hence reducing potential carry-over effects between successive treatments. From day 4 to day 10, the sheep were offered *ad libitum* the single forage that would be orally consumed in the following experimental period. Six days are considered as a minimum to allow the adaptation of digestive processes and intake (Demarquilly *et al.*, 1995). In the early morning of day 6

(0800 h), animals were transferred to metabolic crates to be habituated to the experimental environment.

The experimental periods lasted 11 days, during which the forage previously offered during the last days of the adaptation period was still offered *ad libitum* to be orally consumed, while the same hay or the other hay was introduced intra-ruminally (Figure 1). Ruminal introductions were made daily at 0800 h, before the sheep had access to food, in an amount equal to half the total amount received on the previous day (amount orally consumed + amount introduced into the rumen). For the first ruminal introduction of an experimental period, we introduced half the average voluntary food intake of the last 3 days of the adaptation period. When offered at trough the hays were chopped into lengths of 5 to 7 cm. The forage introduced into the rumen was ground through a 1.5 cm sieve so that the average particle sizes obtained (2.6 mm for grass hay and 3.3 mm for lucerne hay) were consistent with the value of about 2.9 mm measured for chewed chopped hay in sheep (Bernard *et al.*, 2000). These ground hays were then mixed with five times their weight of artificial saliva (Church, 1988) and left overnight before being introduced into the rumen.

Measurements

Feeding behaviour and pattern of intake. The daily pattern of food intake, and time spent eating and ruminating, were monitored individually using an automated system described in Baumont *et al*. (1998; 2004). Briefly, the trough was weighed continuously by sensors fitted with strain gauges. The scales under the troughs were wired up to a data processing system that allowed the changes in trough weight and so the increase in intake over the day to be monitored on 1-min time scale. In addition, jaw movements were recorded by a polyurethane-foam-filled balloon placed in the submandibular space by means of a halter and connected to the microcomputer *via* a pressure transducer. Data were analysed using Microsoft Excel with macro-commands written in Visual Basic. For each 1-min interval, eating activity was assessed as follows: (i) if the weight of the trough had changed from the previous interval and jaw movements were recorded, then the animal was considered to be eating, (ii) if jaw movements were detected for at least 5 min without the trough showing weight change, the animal was considered to be ruminating, (iii) otherwise, the animal was considered to be neither eating nor ruminating.

Short-term choice tests. On all the days of the experimental periods (except for day 11), we performed a short-term choice test between L and G at 1500 h just after the 6-hour long access to food (Figure 1). We offered 200 g FM of each hay in a two-compartment trough for 5 min. These test conditions were chosen to minimise post-ingestive effects of the hay that was not offered at trough. We changed the side that the hays were presented between days to prevent any lateralisation bias. During these tests, two persons stood in adjacent room, which was darkened and separated from the test room by a glass panel; they watched three sheep each, and every 30 seconds scanned the behaviour expressed by the animal (eating, ruminating, and idling) and when the animal was eating, whether its head was in the L or G compartment. The choice for the hay not offered at trough during the previous 6 hours was expressed as the proportion of total eating scans devoted to it.

In vivo *digestibility.* Digestibility measurements were performed following the method of Demarquilly *et al.* (1995) during the last 6 days of each experimental period (Figure 1) through daily collection of faeces every morning before ruminal introductions. Daily aliquots of faeces were weighed, mixed, sampled and dried in a forced air oven at 60°C for 72 h. They were then pooled per sheep and per period.

Ruminal parameters. Estimates of the total weight of the rumen digesta were made by manually removing the liquid and the solid contents of the reticulo-rumen and weighing it. This procedure was made twice during each experimental period: once in the morning of day 4, before the daily intra-ruminal introduction, and once in the afternoon on day 11, after the 6-hour long access to food (Figure 1). Just after the removal, the rumen content was mixed and three subsamples of about 250 g FM were taken for dry matter determination. The remainder was then returned to the rumen. The whole process took about 30 min per sheep. These weighings of the minimal and maximal rumen content allowed the mean rumen content weight to be estimated for each sheep in each treatment. The apparent retention time of the diet in the rumen was then calculated by dividing the mean rumen content (in DM) by the daily DM flow (intake + the amount introduced into the rumen) (Baumont *et al.*, 1997).
Rumen fluid samples were collected for each sheep on day 3 and day 10 of the experimental periods at four different times: at 0800 h just before the intra-ruminal introduction and food distribution, 1000 h, 1200 h and 1500 h (Figure 1). For each sample, about 150 ml of rumen fluid was taken and muslin-filtered, and the rumen pH was immediately measured. Sub-

samples (4 ml for volatile fatty acids (VFAs) and 0.75 ml for NH_3 determinations) were mixed with 5% H_3PO_4 and stored at -20°C for future analysis.

In situ *forage degradability.* The *in situ* DM degradability of the hays was measured after the experiment on three fistulated sheep according the procedure described by Aufrère *et al.* (2008) using incubation times of 3, 6, 12, 24 and 48 h and two replications per sheep and per incubation time. Rumen DM effective degradability was calculated as proposed by Ørskov and Mc Donald (1979) after fitting the data using a non-linear procedure.

Sample processing and analyses. All the samples of hay and rumen content were oven dried (60°C for 72 h). Samples of forages were then ground through a 0.8 mm sieve and analysed for their contents in crude protein. Fibre contents (neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL)) were estimated via near-infrared spectroscopy (NIRS) based on Goering and Van Soest (1970) laboratory method. Samples were scanned by NIRS and laboratory determinations were performed on samples selected according to their spectral information (Shenk and Westerhaus, 1994). These laboratory analyses were then used with the NIR spectra, to expand the prediction equations that were used to estimate the fibre fractions contents of all samples.
The samples of rumen fluid were analysed for total volatile fatty acids content by the method of Jouany (1982), and for ammonia concentrations using a method adapted from Weatherburn (1967).

Statistical analysis

For all the analyses we used the Mixed procedure of the SAS software package (Statistical Analysis System, 1999). Data were transformed (square root or arcsine as appropriate) when needed so that they satisfied the conditions for parametric analyses. All non-significant interactions were systematically removed from the model.
Data for total voluntary intake and eating time over the 6 hours were first analysed using the Repeated statement to account for the day effect in each experimental period. As only the first two days differed from the others, we considered them as a time of adaptation to forage introduction into the rumen, and so we carried out subsequent analyses on data averaged over days 3 to 11. For consistency, data concerning rumination time, intake rate and choice were also analysed on data averaged over days 3 to 11. We considered treatment, period and their

interaction as fixed effects and sheep as a random effect. Average digestibility over the last 6 days of each experimental period, rumen content and diet retention time were similarly analysed. Finally, for choices, we used the Student *t*-test, comparing actual choice with equal preference to determine whether one of the forages was preferred in each treatment.

Data concerning patterns of intake and eating time were analysed in 20 min-long intervals throughout the 6 hours of food offer. For each interval, we averaged the data per sheep and per treatment over days 3 to 11 and analysed them using the Repeated statement to account for the interval effect. We considered period, treatment, interval and their interactions as fixed effects, and sheep as a random effect.

Data from ruminal fluid samples were averaged over days 3 and 10 and analysed using the Repeated statement to account for sampling effects. We considered period, treatment, sampling and interactions as fixed effects, and sheep as a random effect.

RESULTS

Forage characteristics

The grass hay had a lower crude protein content and a higher NDF content than the lucerne hay (Table 1). By contrast, the ADF content was similar in the two hays and the ADL content was higher in the lucerne hay. In line with the differences in NDF content, the *in situ* effective degradability of DM was higher for the lucerne hay than for the grass hay.

Feeding behaviour

Introducing lucerne instead of grass hay into the rumen led to a significant increase in voluntary intake whichever hay was offered at trough (Table 2). However, this increase in intake resulted from different behaviours according to the nature of the hay offered at trough. When G hay was offered at trough, the increase in voluntary intake was due to an increase in eating time, whereas when it was L, it was due to an increase in intake rate. In treatments with mixed diets (Go/Lr and Lo/Gr), sheep ate for longer but tended to eat more slowly on Go/Lr than on Lo/Gr, which finally led to similar voluntary intakes (Table 2).

The amount of hay introduced into the rumen of sheep showed the same trend as for voluntary intake (Table 2). This shows that the processing in the experimental method was correct, as the amount of hay introduced into the rumen has to be half the total amount received on the previous day (*i.e.*, amount orally consumed plus amount introduced into the rumen).

Neither the rumination time during the 6 hours of food offer nor the daily rumination time was affected by the treatments ($P > 0.1$; Table 2).

Patterns of intake and eating time

All the tested fixed effects (treatments, intervals and their interaction) except for period were significant ($P < 0.05$) and all the patterns were influenced by the nature of the hay offered at trough, considering both intake and eating time (Figure 2a, b).

The shape of the intake pattern was influenced by the nature of the hay offered at trough (Figure 2a). When L was offered at trough, intake was maximal during the first interval (0-20), decreased to the third one (40-60), slightly increased up to interval 100-120 and then levelled off. When G was offered at trough, patterns were different as intake increased between the first two intervals, peaked at the second one (20-40) and then decreased until the fifth interval (80-100) to a slightly decreasing plateau.

The nature of the hay introduced into the rumen influenced the level of intake but not its distribution over time (Figure 2a). When G hay was eaten, introducing L into the rumen rather than G led to a higher intake at almost all time intervals, but significantly so only for the fourth time interval ($P < 0.05$ at min 60-80). When L was eaten, a higher intake was measured as L was introduced into the rumen compared with G for the first, the second and the sixth time intervals ($P < 0.05$).

The patterns of the mixed diets showed that intake of L hay (Lo/Gr) was higher than intake of G hay (Go/Lr) just after food distribution ($P < 0.05$ at min 0-20) and almost throughout the last hour ($P < 0.1$ for 300-320 and 320-340; $P < 0.05$ for 340-360). On the contrary, intake of grass hay was higher than intake of lucerne hay from the second to the fourth time intervals ($P < 0.05$).

Similarly to the intake patterns, eating time (Figure 2b) decreased from min 20 to min 80 and then slightly increased until min 120, levelling off when L hay was offered at trough without any effect of the nature of the forage introduced into the rumen ($P > 0.1$ at any interval except at 300-320). When G was eaten, eating time first increased until time interval 20-40 and then decreased, levelling off from the sixth time interval; it was longer when L was introduced into the rumen compared with G from time intervals 40-60 to 80-100 and for 140-160, 200-220 and 220-240 ($P < 0.05$).

Short-term choice tests

Choices expressed after 6 hours of free access to forage favoured the hay that was not orally consumed during this time, whichever the treatment ($P < 0.05$; Figure 3). The treatment only affected the amplitude of this preference ($P = 0.05$), with a slightly greater preference for lucerne hay when grass hay was offered at trough than for grass hay when lucerne hay was offered at trough. Thus in treatments with equal post-ingestive consequences (Go/Lr and Lo/Gr) the preference for L in Go/Lr tended to be higher than the preference for G in Lo/Gr ($P < 0.1$). On the other hand, the nature of the hay introduced into the rumen did not affect short-term preference ($P > 0.05$; Figure 3).

Diet digestibility and ruminal parameters

The diet digestibility did not differ between treatments ($P > 0.05$; Table 3). The DM rumen content tended to be higher for the treatments in which L was consumed or introduced into the rumen compared with Go/Gr ($P < 0.1$; Table 3).

By contrast, diet retention time decreased when L hay was consumed or introduced into the rumen, whichever hay was offered at trough ($P < 0.05$): the highest diet retention time was measured for Go/Gr and the lowest for Lo/Lr, whereas intermediate and similar values were measured for Go/Lr and Lo/Gr ($P > 0.1$).

The interaction between sampling and treatment effects influenced the total VFA content ($P < 0.01$). It was similar across treatments before food offer at 0800 h ($P > 0.1$; Figure 4a). Two hours later, the nature of the hay introduced into the rumen influenced VFA content, with higher values for L than for G ($P > 0.05$). The nature of the hay orally consumed then progressively affected VFA content so that at the end of the feeding period (at 1500 h), total VFA content was highest for Lo/Lr ($P < 0.01$), lowest for Go/Gr ($P < 0.01$) and intermediate with similar values for Lo/Gr and Go/Lr ($P > 0.1$).

The interaction between sampling and treatment effects influenced ammonia concentration ($P < 0.01$; Figure 4b): it was highest for Lo/Lr ($P < 0.01$ at all sampling times), lowest for Go/Gr ($P < 0.01$ except at 1500 h where it was just different from Lo/Lr) and intermediate for treatments with mixed diets with similar values ($P > 0.05$ at all sampling times).

Finally, the different treatments did not induce any differences in pH ($P > 0.1$; Figure 4c), which decreased almost regularly throughout the feeding period ($P < 0.01$).

DISCUSSION

The aim of this work was to study feeding behaviour in sheep fed lucerne hay or grass hay under a controlled post-ingestive environment. The experiment was designed to test the crossing effects of the nature of the forage orally consumed with the nature of the forage introduced into the rumen so that we could investigate (i) to what extent variation in the post-ingestive consequences associated with a given hay could affect feeding behaviour and choice for that hay and (ii) to what extent feeding behaviour and choice for two different hays could differ when these hays were associated with similar post-ingestive consequences.

The experimental procedure

One of the specific features of the experimental procedure (Greenhalgh and Reid, 1971) was the introduction into the rumen of about 50% of the total amount of received forage. Despite this high proportion, sheep showed good adaptability, as they decreased their voluntary daily intake accordingly and stabilized it within three days. Sheep in treatments Lo/Lr and Go/Gr consumed an amount of hay such that they received similar total amounts as sheep orally fed lucerne or grass hay *ad libitum* with no time restriction (Baumont *et al.*, 1990a). Our results are thus consistent with previous studies in which addition of 1 g of feed into the rumen lowered voluntary intake by about 0.9 g (Faverdin *et al.*, 1995 for review).

Our experimental procedure also implied that half the total amount of hay received on the previous day was introduced in one go just before food distribution. Consequently, as time elapsed, the major post-ingestive influence of the hay introduced was progressively balanced by that of the forage eaten at trough, as reflected in the evolution of VFA contents. The succession of post-ingestive consequences experienced by the animals throughout the six hours of the feeding period were thus different between Go/Lr and Lo/Gr, which explains why we studied the dynamics of feeding behaviour. In both treatments, the rumen content was however similar at the end of the feeding period and throughout the fasting period for eleven days, and so was the ruminal parameters (ammonia and AGV concentrations, fill effect, …). We then considered post-ingestive consequences as similar for treatments with mixed diets (Go/Lr and Lo/Gr).

Greenhalgh and Reid (1971) were among the first to use this method to investigate the effects of palatability and digestibility of two forages on sheep intake, although they did not look at explicative variables of food intake such as eating time and eating rate, patterns of feeding

behaviour or choice between forages. Their results, derived from two distinct experiments involving either dried grass *vs.* oat straw, or dried grass *vs.* meadow hay, proved the method to be useful for showing different effects depending on the pair of foods considered.

Offering the same hay for different post-ingestive consequences

Whether the lucerne or the grass hay was offered at trough, introducing lucerne hay rather than grass hay in the rumen raised voluntary daily intake in the sheep. This can be related to a lower fill effect of the diet when introducing lucerne hay, as shown by the lower diet retention time, which could be attributed to a lower NDF content and a higher rumen degradability of lucerne hay compared with grass hay. The relation between rumen fill and feed intake is well known (Faverdin *et al.*, 1995 for a review). Several authors have increased the volume or mass of the rumen content with indigestible material such as balloons (Anil *et al.*, 1993) or particles (Weston, 1966; Baumont *et al.*, 1990b), or with digestible materials (Weston, 1966; Greenhalgh and Reid, 1971), and demonstrated an associated decrease in intake. In addition, the higher crude protein content of the lucerne hay could have improved the efficiency of the ruminal microbial population, as introducing lucerne hay in the rumen rather than grass hay led to increased ammonia concentration and total VFA content in the rumen. The increase in voluntary daily DMI measured in our study is consistent with that observed by Greenhalgh and Reid (1971), who replaced oat straw or grass hay as introduced forages by a less bulky one, such as dried grass. In their work, variations in voluntary intake were also linked to variations in digestibility between the forages, dried grass being more digestible than grass hay and straw. By contrast, variation of intake observed in our study occurred independently of differences in digestibility, as lucerne and grass hays showed similar values. This highlights the major role of the rate and extent of ruminal degradation in accounting for differences in voluntary intake between forages (Carro *et al.*, 1991), especially between grasses and legumes.

Intake modifications can be analysed from animal behavioural adjustments on intake rate and feeding time. For instance, cattle have been shown to increase their feeding time (Campling and Balch, 1961) or their intake rate (Gregorini *et al.*, 2007) in response to decreases in the volume or mass of rumen contents. In our study, the modifications of intake in relation to rumen fill resulted in different adaptations in feeding behaviour depending on the nature of the forage orally consumed. The resulting differences in intake were strikingly close to food distribution and then lessened along the 6-hour feeding period (Figure 2a). This indicates that

sheep instantaneously analysed the post-ingestive consequences of the introduced hay (*i.e.*, their rumen load) and evaluated their satiety level to modulate their motivation to eat the hay offered at trough, even if they adapted their behaviour according to the pre-ingestive characteristics of the hay orally consumed. Sheep ate for longer when grass hay was orally consumed, whereas they ate faster when it was lucerne hay. This could be explained by the physical differences between lucerne and grass hays: lucerne hay is less fibrous than grass hay, favouring easier prehension and mastication by sheep (Jarrige *et al.*, 1995; Baumont *et al.*, 2006) and allows more flexibility in intake rate compared with coarse hays that need intense mastication activity.

Offering two different hays for similar post-ingestive consequences

At the end of the 6-hour feeding period, treatments with mixed diets (Go/Lr and Lo/Gr) showed similar post-ingestive consequences (digestibility, diet retention time, and ruminal parameters) and daily DMI values were similar. We may therefore conclude that pre-ingestive characteristics or palatability *per se* did not influence voluntary intake between lucerne and grass hays. This would then be consistent with Greenhalgh and Reid (1971), who observed, for similar post-ingestive consequences, a significant effect of palatability between oat straw and dried grass, but not between grass hay and dried grass, and concluded that palatability was probably not an important determinant of intake for better-quality forages, whereas it may limit intake of poor-quality forages,

Our results are, however, surprising as sheep generally prefer legumes to grass (Rutter, 2006), so that we expected lucerne hay to be more palatable than grass hay. This finding could be explained either by a decrease in lucerne palatability due to sheeps' reassessment of lucerne hay, associating it with the consequences of grass hay introduced into the rumen, or by a short-term satiation effect induced by the intra-ruminal introduction of the bulky grass hay. The recorded patterns of intake of Go/Lr and Lo/Gr showed that the pre-ingestive characteristics of lucerne hay still induced a higher palatability in the short term, as intake was higher with Lo/Gr than with Go/Lr just after food distribution. However, intake of grass hay exceeded intake of lucerne hay during the subsequent hour, which may be interpreted as a consequence of higher fill effect due to the ruminal introduction of grass hay (in Lo/Gr) compared with lucerne hay (in Go/Lr). Finally, during the last hour, when it could be assumed that the post-ingestive consequences of the two mixed diets were balanced, intake of lucerne hay was again higher than that of grass hay. We can therefore hypothesise that the palatability

of lucerne was not modified, but that sheep adjusted their behaviour finely according to their internal state.

Short-term choices: effect of recent dietary experiences

The literature has widely reported that sheep can develop conditioned food aversions or preferences when either negative (du Toit et al., 1991; Kyriazakis *et al.*, 1997; Ralphs *et al.*, 1995) or positive (Buritt and Provenza, 1992; Arsenos and Kyriazakis, 1999; Villalba *et al.*, 2006) post-ingestive consequences are associated with that food. Recently, introduction of straw in the rumen (Baumont *et al.*, 2007) or distension with a balloon (Villalba *et al.*, 2009) were used to demonstrate that rumen fill is perceived as a negative post-ingestive signal, leading to a decreased preference for the associated forage. We could thus expect the choice of grass hay to be enhanced when it is associated with intraruminal administration of lucerne hay, and conversely the choice of lucerne hay to be decrease when associated with introduction of grass hay, due to differences in fill effect between these two hays. However, the short-term choices of sheep measured after food offer systematically favoured the hay that was not previously orally consumed. Thus it seems that sheep did not update their knowledge of the hays according to the treatments in the course of the experimental periods or that they did not express this knowledge in the short-time scale of the choice test.

Whatever the case, their choices suggest that their motivation for diversity overrode post-ingestive consequences on this short-term scale. This motivation for diversity may be explained by the "satiety hypothesis" (Provenza *et al.*, 2007; Villalba *et al.*, 2009) which suggests that animals acquired transient aversions for a food just eaten as a result of sensory input and post-ingestive feedbacks (nutrients and toxins) interacting along concentration gradients. This transient change in food palatability caused animal to search for a different food and then to eat a diverse diet. Preferences for the food opposite to the one animals previously ate has also been found in ewes grazing monocultures of clover or rye-grass (Newman *et al.*, 1992; Parsons *et al.*, 1994) and in heifers fed on hays (Ginane *et al.*, 2002). In these studies, the authors suggested that these preferences could be explained by the desire of animals to balance their diet, or to maintain gut flora diversity by seeking rarity, but also by an attractive effect of novelty, considered as a search for diversity. However, the authors could not draw any firm conclusion as they had not controlled the post-ingestive parameters felt by the animals before and during the choice tests.

We did so and even when the post-ingestive consequences felt before and during the choice tests were similar in nature and intensity with mixed diets (Go/Lr vs. Lo/Gr), sheep demonstrated a high motivation for diversity. This indicates that the motivation to eat something new may influence diet choices, at least in the short term, and independently of post-ingestive consequences, because it probably induced pleasure associated with the diversity of the diet. This conclusion was in agreement with the sensory specific satiety which refers to the changing hedonic response to the sensory properties of a food as it is consumed (Rolls, 1986).

In conclusion, post-ingestive consequences are predominant in the control of daily food intake of hays, although pre-ingestive characteristics mostly influenced the behavioural adjustments and patterns of eating activity. Pre-ingestive characteristics also greatly influenced short-term choices in favour of the hay that was not previously consumed, independently of any post-ingestive influence. This suggests that sheep sought a diverse diet more for pleasure than for functional purposes. This finding has relevance for improving animal welfare.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by grants from Auvergne Region and the INRA-PHASE Division. The authors thank the staff of the INRA-UR1213 experimental farm, particularly Bernard Sepchat, Bernard Mallet and Daniel Thomas, for their technical assistance and laboratory technicians (Aline Le Morvan, Jean-Marie Ballet and Laurent Lanore) for their help in this experiment.

REFERENCES

Anil MH, Mbanya JN, Symonds HW and Forbes JM 1993. Responses in the voluntary intake of hay or silage by lactating cows to intraruminal infusions of sodium acetate or sodium propionate, the tonicity of rumen fluid or rumen distension. British Journal of Nutrition 69, 699-712.

Arsenos G and Kyriazakis I 1999. The continuum between preferences and aversions for flavoured foods in sheep conditioned by administration of casein doses. Animal Science 68, 605-616.

Aufrere J, Dudilieu M and Poncet C 2008. *In vivo* and *in situ* measurements of the digestive characteristics of sainfoin in comparison with lucerne fed to sheep as fresh forages at two growth stages and as hay. Animal 2 (9), 1331-1339.

Baumont R 1996. Palatability and feeding behaviour in ruminants. A review. Annales de Zootechnie 45, 385-400.

Baumont R, Seguier N and Dulphy JP 1990a. Rumen fill, forage palatability and alimentary behaviour in sheep. Journal of Agricultural Science 115, 277-284.

Baumont R, Malbert CH and Ruckebsch Y 1990b. Mechanical stimulation of rumen fill and alimentary behaviour in sheep. Animal Production 50, 123-128.

Baumont R, Jailler M and Dulphy JP 1997. Dynamic of voluntary intake, feeding behaviour and rumen function in sheep fed three contrasting types of hay. Annales de Zootechnie 46, 231-244.

Baumont R, Vimal T and Détour A 1998. An automatic system to record and analyse kinetics of intake in sheep fed indoors with one or two feeds offered at the same time. Proceedings of the IXth European Intake Workshop, 21-22.

Baumont R, Prache S, Meuret M and Morand-Fehr P 2000. How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: a review. Livestock Production Science 64 (1), 15-28.

Baumont R, Chenost M and Demarquilly C 2004. Measurement of herbage intake and ingestive behaviour by housed animals. In Herbage intake handbook (ed Penning P), pp 121-150. British Grassland Society, Reading, UK.

Baumont R, Doreau M, Ingrand S and Veissier I 2006. Feeding and mastication behaviour in ruminants. In Feeding in domestic vertebrates: from structure to behaviour (Ed. Bels V), pp 241-262. CAB International, Paris, France.

Baumont R, Jamot J and Ginane C 2007. Are sheep able to develop preferences or aversions in reponse to an increase of rumen fill? Journal of Animal and Feed Sciences 16, Suppl. 2, 454-459.

Bernard L, Chaise JP, Baumont R and Poncet C 2000. The effect of physical form of orchardgrass hay on the passage of particulate matter through the rumen of sheep. Journal of Animal Science 78 (5), 1338-1354.

Buritt EA and Provenza FD 1992. Lambs form preferences for nonnutritive flavors paired with glucose. Journal of Animal Science 70, 1133-1136.

Campling RC and Balch CC 1961. Factors affecting the voluntary intake of food by cows. 1. Preliminary observations on the effect, on the voluntary intake of hay, of changes in the amount of the reticulo-rumen contents. British Journal of Nutrition 15, 523-530.

Carro MD, Lopez S, Gonzalez JS and Ovejero FJ 1991. The use of the rumen degradation characteristics of hay as predictors of its voluntary intake by sheep. Animal Production 52, 133-139.

Church DC 1988. Salivary function and production. In The ruminant animal: digestive physiology and nutrition (ed Church DC), pp 117-124. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N. J.

du Toit JT, Provenza FD and Nastis A 1991. Conditioned taste aversions: how sick must a ruminant get before it learns about toxicity in foods? Applied Animal Behaviour Science 30, 35-46.

Faverdin P, Baumont R and Ingvartsen KL 1995. Control and feed intake in ruminants. In Recent developments in the nutrition of herbivores (eds M Journet, E Grenet, MH Farce, M Theriez and C Demarquilly), pp 95-120. INRA Editions, Versailles, France.

Forbes JM and Provenza FD 2000. Integration of learning and metabolic signals into a theory of dietary choice and food intake. In Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction (ed. P. Cronje), pp 3-19. CAB International, Wallingford, U.K.

Garcia J 1989. Food for Tolman: Cognition and cathexis in concert. In Aversion, avoidance, and anxiety: Perspectives on aversively motivated behavior (Eds T Archer and LG Nilsson), pp 45-85. Lawrence Erlbaum Associates, Hillsdale, NJ.

Ginane C, Baumont R, Lassalas J and Petit M 2002. Feeding behaviour and intake of heifers fed on hays of various quality, offered alone or in a choice situation. Animal Research 51, 177-188.

Goering HK and Van Soest PJ 1970. Forage fiber analyses: apparatus, reagents, procedures, and some applications. Angricultural Handbook n°379. Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Washington DC.

Greenhalgh JFD and Reid GW 1971. Relative palatability to sheep of straw, hay and dried grass. British Journal of Nutrition 26, 107-116.

Gregorini P, Gunter SA, Masino CA and Beck PA 2007. Effects of ruminal fill on short-term herbage intake rate and grazing dynamics of beef heifers. Grass and Forage Science 62,346-354.

Jarrige R, Dulphy JP, Faverdin P, Baumont R and Demarquilly C 1995. Activités d'ingestion et de rumination. In Nutrition des ruminants domestiques : ingestion et digestion (Eds Jarrige R, Ruckebusch Y, Demarquilly C, Farce MH and Journet M), pp 123-181. INRA Editions, Versailles, France.

Jouany JP 1982. Volatile Fatty Acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. Science des aliments 2, 131-144.

Kyriazakis I, Papachristou TG, Duncan AJ and Gordon IJ 1997. Mild conditioned food aversions developed by sheep towards flavors associated with plant secondary compounds. Journal of Chemical Ecology 23, 727-746.

Manteca X, Villalba JJ, Atwood SB, Dziba L and Provenza FD 2008. Is dietary choice important for animal welfare? Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research 3 (5), 229-239.

Newman JA, Parsons AJ and Harvey A 1992. Not all sheep prefer clover: diet selection revisited. Journal of Agricultural Science 119 (2), 275-283.

Ørskov ER and Mc Donald I 1979. Estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science 92, 499-503.

Parsons AJ, Newman JA, Penning PD, Harvey A and Orr RJ 1994. Diet preference of sheep: effects of recent diet, physiological state and species abundance. Journal of Animal Ecology 63, 465-478.

Provenza FD 1995. Role of learning in food preferences of ruminants: Greenhalgh and Reid revisited. In Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction. (Eds Engelhardt WV, Leonhard-Marek S, Breves G and Giesecke D), pp. 231-245. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, Germany.

Provenza FD, Villalba JJ, Haskell J, MacAdam JW, Griggs TC and Wiedmeier RD 2007. The value to herbivores of plant physical and chemical diversity in time and space. Crop Science 47 (1), 382-398.

Ralphs MH, Provenza FD, Wiedmeier RF and Bunderson FB 1995. Effects of energy source and food flavor on conditioned preferences in Sheep. Journal of Animal Science 73 (6), 1651-1657.

Rutter SM 2006. Diet preference for grass and legumes in free-ranging domestic sheep and cattle: Current theory and future application. Applied Animal Behaviour Science 97 (1), 17-35.

Shenk JS and Westerhaus MO 1994. The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In Forage quality, evaluation, and utilization (ed. Fahey GC, Collins M, Mertens DM and Moser ME), pp. 406–449. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI.

Villalba JJ, Provenza FD, Hall JO and Peterson C 2006. Phosphorus appetite in sheep: dissociating taste from postingestive effects. Journal of Animal Science 84, 2213-2223.

Villalba JJ, Provenza FD and Manteca X 2009. Links between ruminants' feeding behaviour and their welfare. In: Proceedings of the XIth International Symposium on Ruminant Physiology (Eds Chilliard Y, Glasser F, Faulconnier Y, Bocquier F, Veissier I and Doreau M), pp 63. Wageningen Academic Publisher, Wageningen, The Netherlands.

Villalba JJ, Provenza FD and Stott R 2009. Rumen distension and contraction influence feed preference by sheep. Journal of Animal Science 87, 340-350.

Weston RH 1966. Factors limiting the intake of feed by sheep.1.The significance of palatability, the capacity of the alimentary tract to handle digesta, and the supply of glycogenic substrate. Australian Journal of Agricultural Research 17, 939-954.

Weatherburn MW 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. Analytical Chemistry 39, 971-974.

Table 1: Chemical composition of the experimental hays and their *in situ* degradability

	Lucerne hay	Grass hay
Dry Matter (% DM, mean ± s.d.)	92.1 ± 0.3	91.4 ± 0.4
Crude Protein ($g.kg^{-1}$ DM)	156 ± 4	72 ± 2
NDF ($g.kg^{-1}$ DM)	528 ± 6	671 ± 5
ADF ($g.kg^{-1}$ DM)	360 ± 7	368 ± 2
ADL ($g.kg^{-1}$ DM)	95.1 ± 0.8	45.9 ± 1.1
Rumen DM degradability ($g.\ kg^{-1}$ DM)	554 ± 3.8	493 ± 12

Table 2: Feeding behaviour of sheep during the 6-hour access to food, according to whether grass (G) or lucerne (L) hay was orally consumed (o) and introduced into the rumen (r) (mean ± s.e. of data averaged over days 3 to 11 of each experimental period).

Treatments	Go / Gr	Go / Lr	Lo / Gr	Lo / Lr	*P* value
Voluntary intake (g DM)	597 ± 43 [a]	729 ± 58 [b]	746 ± 56 [b]	951 ± 57 [c]	< 0.0001
Amount of hay introduced into the rumen (g DM)	577 ± 54 [a]	709 ± 54 [b]	748 ± 60 [b]	924 ± 58 [c]	< 0.0001
Eating time (min)	149 ± 10 [a]	192 ± 10 [b]	162 ± 13 [a]	155 ± 8 [a]	0.0086
Intake rate (g DM/min)	4.0 ± 0.2 [a]	3.8 ± 0.3 [a, t]	4.8 ± 0.6 [a, t]	6.1 ± 0.2 [b]	0.0012
Rumination time over 6 h (min)	109 ± 10 [a]	91 ± 10 [a]	97 ± 17 [a]	70 ± 13 [a]	0.129
Rumination time over 24 h (min)	514 ± 43 [a]	503 ± 18 [a]	525 ± 30 [a]	527 ± 16 [a]	0.827

Within a row, different superscript letters indicate significant differences at $P < 0.05$ and values with superscript t tend to differ from each other ($0.05 < P < 0.1$).

Table 3: Diet digestibility, weight of rumen content and diet retention time according to whether grass (G) or lucerne (L) hay was orally consumed (o) and introduced into the rumen (r) (mean ± s.e.).

	Go / Gr	Go / Lr	Lo / Gr	Lo / Lr	*P* value
Digestibility (% DM)	55.2 ± 2.2 [a]	56.1 ± 0.5 [a]	56.2 ± 2.1 [a]	55.0 ± 1.5 [a]	0.585
Rumen content (g DM)	1655 ± 115 [a, t1]	1792 ± 150 [ab, t2]	1955 ± 59 [b, t2]	1833 ± 81 [ab, t1]	0.042
Diet retention time (d)	1.42 ± 0.14 [a]	1.27 ± 0.11 [b]	1.33 ± 0.07 [b]	0.99 ± 0.08 [c]	0.002

Within a row, different superscript letters indicate significant differences at $P < 0.05$ and values with a common superscript t1 or t2 tend to differ from each other ($0.05 < P < 0.1$).

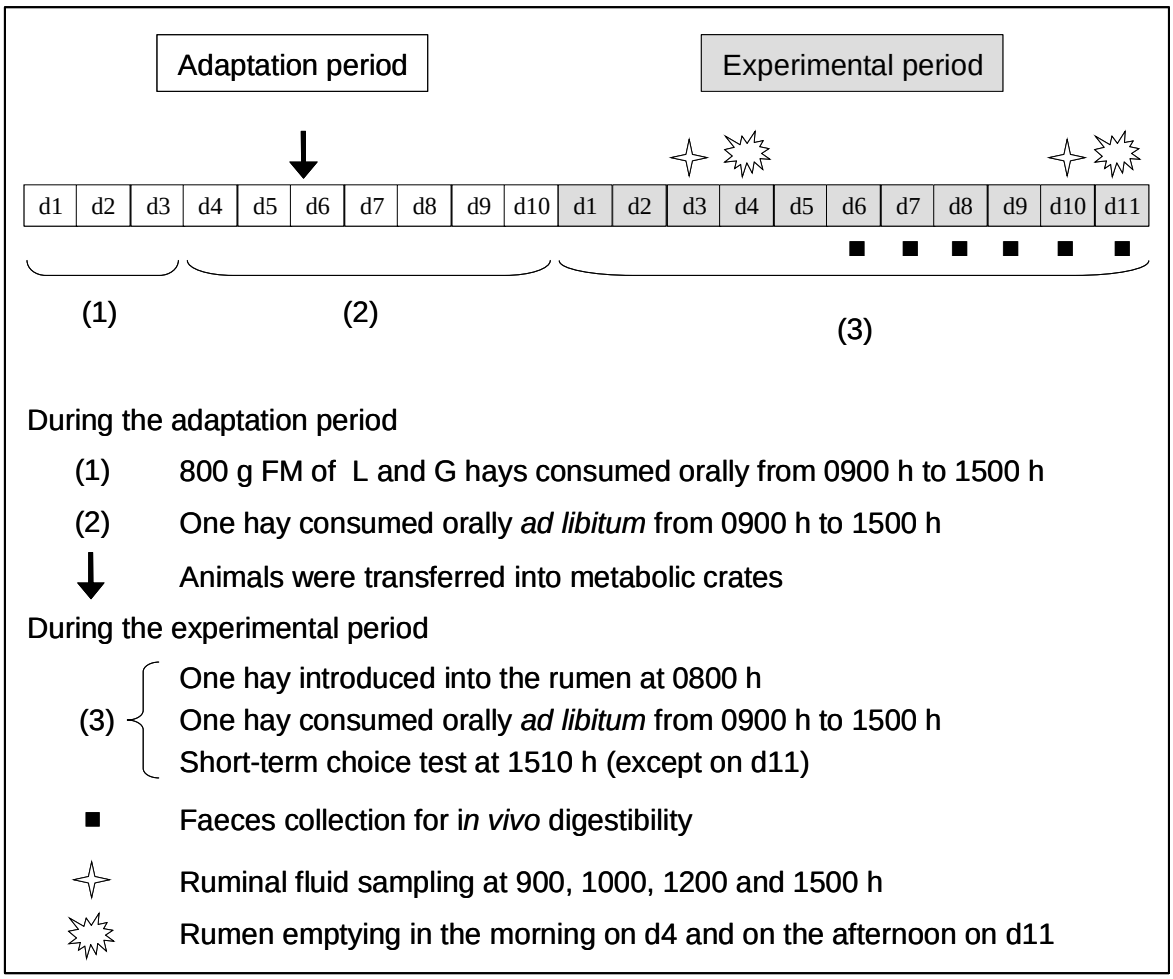


Figure 1: Over the course of the experiment, sheep (n=6) were subjected four times to an adaptation period followed by an experimental period so that they were tested on the four treatments according to whether grass (G) or lucerne (L) hay was orally consumed (o) and introduced into the rumen (r).

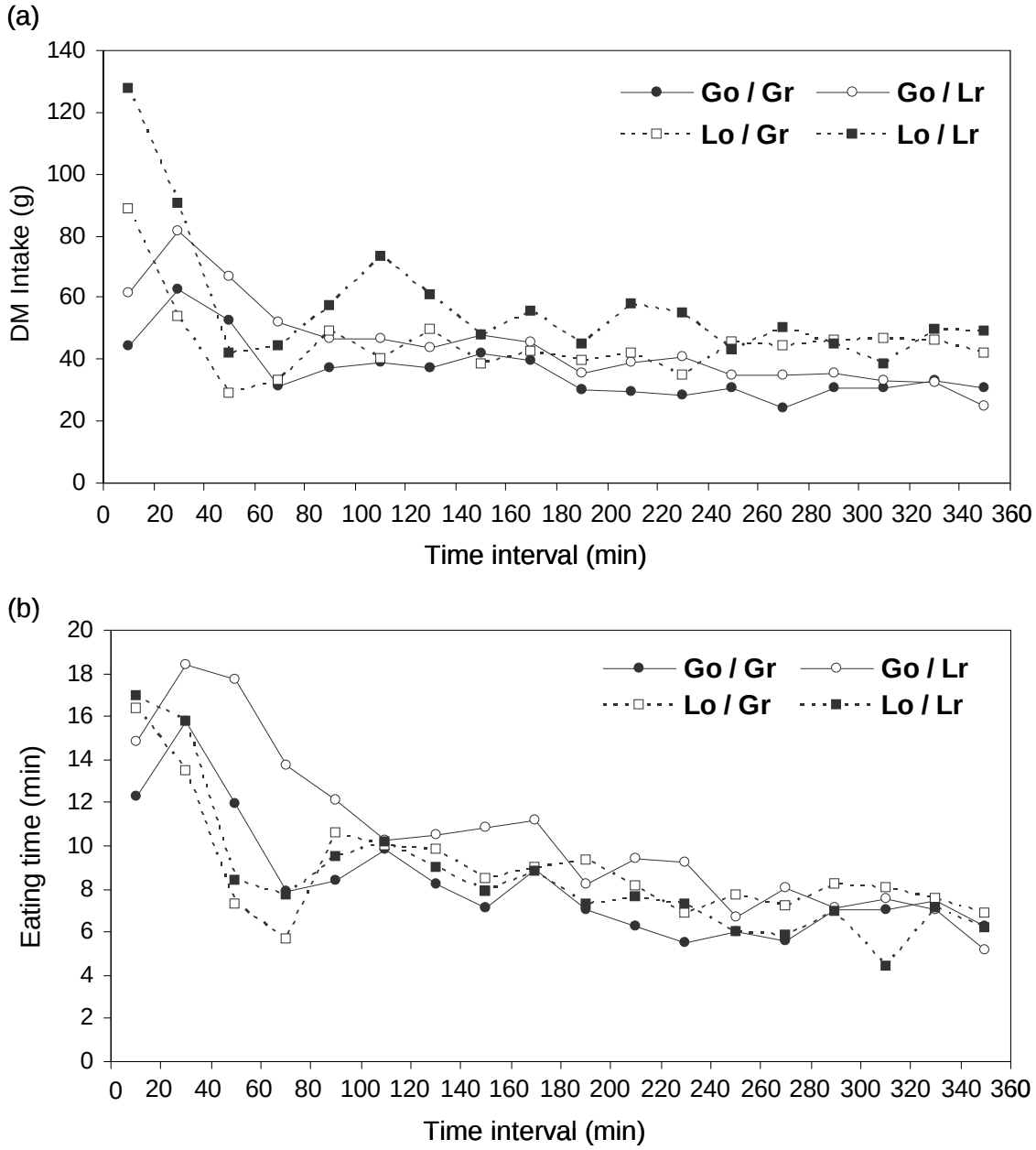


Figure 2: Patterns of intake (a) and eating time (b) over the 6 hours of food offer, over 20-min intervals for the four treatments, according to whether grass (G) or lucerne (L) hay was orally consumed (o) and introduced into the rumen (r).

Standard errors of the means were calculated on square root transformed data for both DM intake and eating time. In (a), they were equal to 0.266 for Go/Gr, 0.251 for Go/Lr and Lo/Gr, and 0.273 for Lo/Lr. In (b), they were equal to 0.093 for Go/Gr, 0.086 for Go/Lr and Lo/Gr, and 0.097 for Lo/Lr.

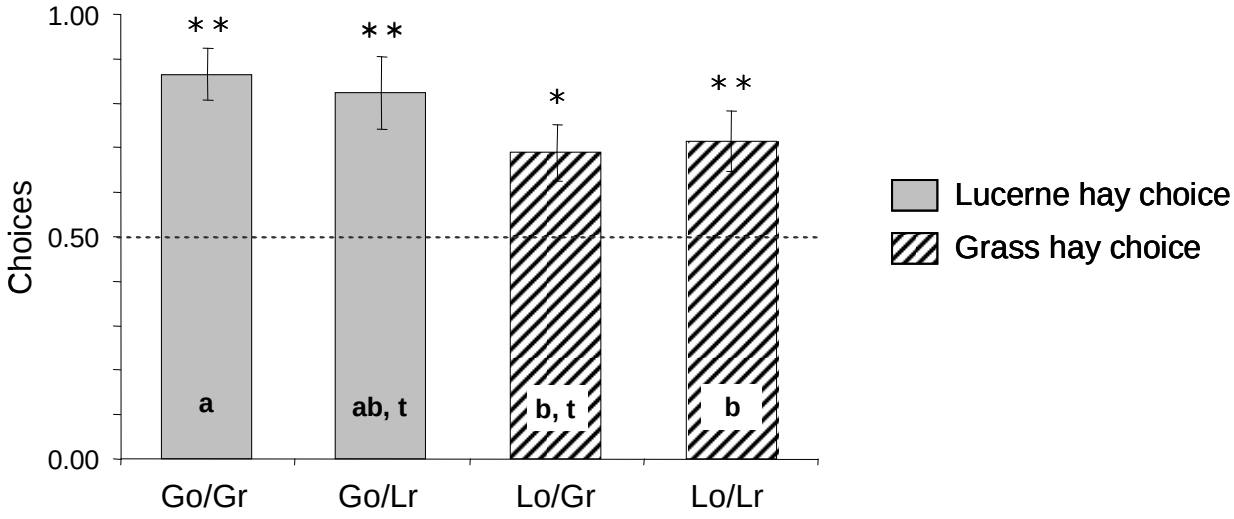


Figure 3: Choices for the hay that was not previously offered at trough, expressed as the proportion of total feeding scans (mean ± s.e.), according to whether grass (G) or lucerne (L) hay was offered at trough (o) and introduced into the rumen (r).

Asterisks indicate significant deviation from the theoretical 0.5 proportion of non-choice.

In the columns, different superscript letters indicate significant differences at $P < 0.05$ and values with superscript t tend to differ from each other ($0.05 < P < 0.1$).

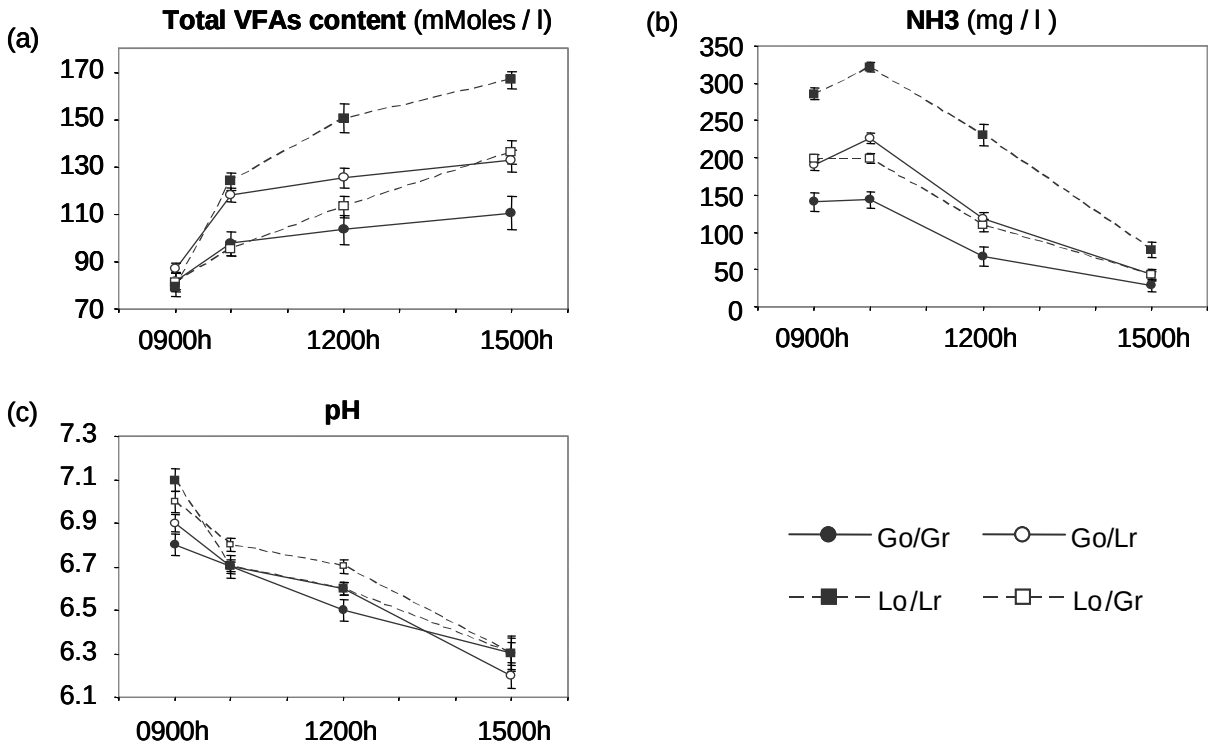


Figure 4: Ruminal determination trial (mean ± s.e. of day 3 and 10). Evolution of total volatile fatty acid content (a), ammonia concentration (b) and pH (c) of rumen fluid through successive samplings, according to whether grass (G) or lucerne (L) hay was offered at trough (o) and introduced into the rumen (r).

CHAPITRE 2

Caractéristiques sensorielles et apprentissage : rôle d'indicateur des conséquences post-ingestives ?

Les moutons utilisent les informations pré-ingestives en tant qu'indicateurs des conséquences post-ingestives afin d'améliorer leurs apprentissages alimentaires

I. CONTEXTE ET OBJECTIFS

L'apprentissage alimentaire repose sur l'association établie par l'animal entre les caractéristiques sensorielles de l'aliment qu'il ingère et les conséquences ressenties suite à cette ingestion (Provenza, 1995). Les moutons sont aptes à réaliser de tels apprentissages lorsque l'offre alimentaire est expérimentalement simplifiée, *i.e.* une seule information pré-ingestive à associer à une seule conséquence post-ingestive (Du Toit et al., 1991 ; Buritt et Provenza, 1992). Cependant, lorsque l'offre alimentaire est expérimentalement complexifiée pour se rapprocher des conditions naturelles, *e.g.* lorsque plusieurs associations entre des caractéristiques sensorielles et des conséquences post-ingestives doivent être apprises simultanément, les animaux ont du mal à apprendre (Duncan et Young, 2002). Que ce soit dans le cas d'une situation d'apprentissage expérimentalement simplifiée ou complexifiée, les informations pré-ingestives mises en jeu permettent uniquement une discrimination des aliments entre eux mais ne possèdent *a priori* aucune valeur post-ingestive pour l'animal. Or, au pâturage, les espèces végétales portent des caractéristiques sensorielles qui pourraient avoir un sens et ainsi jouer le rôle d'indicateurs des conséquences post-ingestives à venir (*e.g.* une plante au goût amer est souvent synonyme de toxicité ; Garcia et Hankins, 1975).

Par conséquent, cette expérimentation, que l'on nomme "indicateurs", a pour objectif de déterminer si la présence d'informations pré-ingestives, ayant un sens pour l'animal, peut améliorer la capacité des ovins à effectuer des apprentissages alimentaires notamment en situation complexe, confirmant ainsi l'hypothèse que les caractéristiques sensorielles peuvent jouer un rôle d'indicateur des conséquences post-ingestives.

II. METHODES

Lors d'une 1ère phase, nous avons cherché à créer des indicateurs pré-ingestifs pour la moitié des animaux, qualifiés d'expérimentés (n=16), en les soumettant à une situation simple d'apprentissage. Ils ont ainsi été conditionnés pour associer une flaveur (orange ou anis), saupoudrées sur un foin de luzerne, à une conséquence (positive ou négative), à raison d'une

association par jour (j2 et j3) pendant deux semaines. Chaque semaine, les animaux étaient soumis à un test de choix à j4. Pendant ce temps, d'autres animaux (n=16) ont été soumis au même rythme d'alimentation mais ne sont exposés ni aux flaveurs, ni aux conséquences associées ; ils ont ainsi été qualifiés de naïfs.

Lors de la 2nde phase, nous nous sommes intéressés à l'efficacité d'apprentissage de chacun de ces groupes dans une situation d'apprentissage alimentaire simple ou complexe. La situation simple était la même que dans la phase précédente, excepté que le foin support était un foin de dactyle ; la situation complexe correspondait à la présentation simultanée sur deux jours consécutifs (j2 et j3) des deux flaveurs, imposant un apprentissage simultané des deux associations entre flaveurs et conséquences. Les 4 groupes ainsi formés étaient : naïfs / simple, naïfs / complexe, expérimentés / simple et expérimentés / complexe (n=8 dans chacun des groupes).

L'hypothèse formulée est que les animaux expérimentés devraient être plus efficaces que les animaux naïfs notamment en situation d'apprentissage complexe où la connaissance de la valeur post-ingestive associée à chaque flaveur devrait les aider à anticiper la conséquence à venir, et donc à apprendre.

III. RESULTATS

Lors de la 1ère phase, les moutons ont progressivement diminué leur préférence, exprimée proportionnellement à la quantité ingérée totale (en MS), pour la flaveur associée à la conséquence post-ingestive négative ($P < 0.05$), et inversement pour la flaveur associée à la conséquence positive. Cette procédure a donc permis de créer des indicateurs puisque les stimuli pré-ingestifs ont acquis une valeur post-ingestive pour ces moutons désormais qualifiés d'expérimentés.

Lors de la 2nde phase, l'interaction entre l'effet de l'expérience et l'effet de la complexité étant non significative ($P > 0.05$), ces deux effets ont été analysés séparément. D'une part, les animaux en situation d'apprentissage complexe ont moins fortement rejeté la flaveur associée à la conséquence post-ingestive négative que les animaux en situation d'apprentissage simple ($P < 0.01$). D'autre part, les animaux expérimentés ont plus fortement rejeté la flaveur associée à la conséquence négative que les animaux naïfs ($P < 0.05$).

Enfin, la préférence initiale exprimée en faveur de la flaveur anis a fortement influencé les apprentissages qui ont suivi de telle sorte que les moutons conditionnés négativement sur la

flaveur anis ont exprimé un rejet moins fort de cette flaveur par rapport aux animaux conditionnés négativement sur la flaveur orange ($P < 0.01$).

IV. CONCLUSIONS

Présenter simultanément deux flaveurs et les conséquences post-ingestives qui leurs sont respectivement associées entraîne une perturbation du processus d'apprentissage alimentaire. Cependant, les moutons expérimentés sont plus efficaces que les moutons naïfs qu'ils soient en situation d'apprentissage simple ou complexe. Les animaux semblent donc être capables de généraliser la connaissance de la valeur post-ingestive d'une flaveur et d'utiliser cette connaissance dans une nouvelle situation d'apprentissage alimentaire, en particulier lorsque celle-ci est complexe. Les stimuli pré-ingestifs ne sont donc pas uniquement utilisés comme des agents de discrimination mais semblent également jouer un rôle d'indicateur des conséquences post-ingestives. De plus, les préférences initiales jouent sur la propension d'un animal à effectuer un apprentissage alimentaire.

Cette étude nous a donc renseigné sur le rôle que pouvaient jouer les informations pré-ingestives dans les apprentissages alimentaires et a fourni de nouvelles connaissances afin de mieux comprendre les processus de sélection alimentaire en milieu complexe.

Sheep use pre-ingestive cues as indicators of post-ingestive consequences to improve food learning [1, 2]

Journal of Animal Science, 2010.88:1535-1544

A.Favreau*[3], R.Baumont*, A.J. Duncan[†], and C.Ginane*

* INRA, UR1213 Herbivores, Site de Theix, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France

[†] International Livestock Research Institute, PO Box 5689 Addis Ababa, Ethiopia

[1]This research was supported by grants from Auvergne Region and INRA-PHASE Division.

[2] The authors are grateful to Simon Eskinazi from BFI Innovations Ltd for providing us the artificial flavors. We also thank the staff of the INRA experimental farm for their technical assistance and lab technicians for analyzing the forage samples.

[3]Corresponding author: angelique.favreau@clermont.inra.fr

ABSTRACT

Previous work shows that herbivores successfully learn to associate food sensory characteristics with post-ingestive consequences when the conditioning procedure is simple, whereas this ability breaks down when the learning task is made more complex. We hypothesized that sensory characteristics could act as indicators of post-ingestive consequences and that the presence of pre-ingestive cues would improve food learning of sheep in learning situations varying in complexity. Sixteen sheep were subjected to a first-conditioning phase to associate 2 flavors added to alfalfa hay with either a positive or a negative consequence, induced by intraruminal administration of starch (330 mg/g DMI) or LiCl (5 mg/g DMI). Sheep progressively decreased their choice for the flavored hay associated with the negative consequence ($P < 0.05$). This procedure provided sheep with experience of the post-ingestive consequences associated with different flavors. In a second-conditioning phase, the experienced sheep and 16 naïve ones were split into groups of 8 and subjected to either a simple or a complex conditioning procedure, i.e. the 2 flavors were offered on separate days (simple) or simultaneously within day (complex). The flavors were put on grass hay and associated with positive (starch, 330 mg/g DMI) or negative (LiCl, 10 mg/g DMI) consequences. As hypothesized, sheep in the simple group expressed a higher

aversion to the flavored hay associated with the negative consequence than those in the complex group (0.303 ± 0.035 *vs.* 0.474 ± 0.035 respectively; $P < 0.01$). Experienced sheep more strongly rejected the flavor associated with the negative consequence than naïve ones whatever the conditioning procedure (0.304 ± 0.029 *vs.* 0.470 ± 0.041 respectively; $P < 0.05$). The high initial preference for aniseed (0.80 ± 0.04) however greatly influenced food learning as sheep negatively conditioned on this flavor expressed a lower avoidance than those negatively conditioned on orange (0.53 ± 0.04 vs. 0.25 ± 0.03 respectively; $P < 0.01$). In conclusion, the simultaneous scenario was actually perceived as complex by all sheep and experienced sheep were more efficient in food learning than naïve ones in both simple and complex learning contexts. Sheep were thus able to generalize the association between sensory cues and post-ingestive consequences, especially in complex environment, and then to use sensory cues as indicators of post-ingestive consequences.

Keywords: food preferences, generalization, learning, sensory cues, sheep

INTRODUCTION

Food learning is one of the main processes that help herbivores to select diets richer in nutrients and poorer in toxins than the average composition of the available vegetation (Provenza, 1995a). Animals can learn to associate pre-ingestive sensory characteristics of food with post-ingestive consequences and, thereby, adjust their food choices accordingly (Forbes and Provenza, 2000). Several experiments have shown that sheep can learn about both negative (du Toit *et al.*, 1991) and positive (Villalba and Provenza, 1997) food consequences when presented with simple conditioning procedures (i.e. one pre- and post-ingestive association at a time); however, recent research has highlighted the impairment of the learning process when the experimental learning procedure becomes more complex and closer to the situation encountered in the field, either by offering several foods simultaneously during conditioning (Duncan and Young, 2002), by increasing the number of consequences associated with foods (Ginane *et al.*, 2005), or by modifying the length of feeding bouts and the rate of nutrient delivery (Duncan *et al.*, 2007).

In these studies designed to test ruminants' food learning ability, sensory characteristics of food do not indicate, *a priori*, the potential consequences of their ingestion; initially animals could only use them as discriminators, whereas diverse sensory characteristics of plants may act as crude indicators of their nutritional and/or toxic consequences (Garcia and Hankins,

1975). We hypothesized that herbivores use these cues to improve food learning, especially in complex contexts and that the learning impairments stated above could derive from the lack of cues when artificial learning tasks are presented to herbivores. Thus, we aimed to test whether the presence of pre-ingestive cues that could serve as indicators of post-ingestive consequences would improve food learning efficiency of sheep in learning situations varying in complexity.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted indoors at the INRA Clermont-Ferrand/Theix experimental farm (45°42'N, 03°30'E) in central France between April and November 2008. The main experiment has been submitted to and validated by our Ethical Regional Committee (ref. CE 16-08).

Experimental strategy

The study consisted of a series of experiments during which flavored hays were associated with positive and negative post-ingestive stimuli through conditioning sessions and preferences for flavored hays were measured during choice sessions. Firstly, we ran a simple methodological experiment to determine the dose of our negative stimulus that was sufficient to induce partial feed aversions without causing complete aversions. Secondly, we ran our main experiment during which we investigated the effect of previous experience of the consequences associated with food of a particular flavor (naïve vs. experienced animals) as well as the degree of complexity of the learning task (simple vs. complex conditionings). In this main experiment, we aimed to test whether animals' prior knowledge of a food's sensory characteristics could help them to learn in a complex feeding scenario. The main experiment consisted of 3 phases (Table 1). The first 2 phases were dedicated to prepare animals for the last phase, which tested the treatments of interest. The first phase was a familiarization phase, which lasted for 14 d and allowed 32 sheep to be accustomed to the feeding pattern of the whole experiment and to the hays mixed with flavors. We also measured initial preferences to allow balancing of our experimental groups in subsequent phases. This familiarization phase was followed by the first-conditioning phase that was aimed to establish the 2 flavors as cues of positive and negative post-ingestive consequences for half of the animals by using a simple conditioning procedure over the course of 2 wk. These animals were hereafter referred to as experienced animals, whereas the other half were referred to as naïve because they had not

been subjected to conditionings. Once naïve and experienced groups had been formed, we ran the second-conditioning phase during which we added a “complexity” factor. Within each of the experienced and naïve groups, half the sheep were subjected to a simple conditioning procedure and the other half was subjected to a complex one. The combination of these factors led to 4 treatments: naïve-simple, naïve-complex, experienced-simple, and experienced-complex.

Conditioning and choice test procedures

Simple conditioning procedure. During both the methodological and the main experiments we used a simple conditioning procedure. It consisted of offering the flavored hays on separate days so that each animal was subjected to one flavor-consequence association daily (Table 1). Each day we offered 530 g fresh matter (FM) of 1 of the 2 flavored hays to the sheep from 1400 h to 1415 h. At the end of this 15-min exposure, we weighed the feed buckets to measure the amount of hay consumed, and in proportion to the hay consumed, dosed intraruminally treatments solutions containing the post-ingestive stimulus. This dosing procedure took approximately 15 min. Just after the sheep were dosed, refusals were offered for a further 45 min (from 1430 h to 1515 h). At the end, we again weighed the feed buckets and dosed the sheep again following the same procedure with the same stimulus.

Complex conditioning procedure. This procedure was used only in the second-conditioning phase of the main trial. It consisted of offering simultaneously 2 flavor-consequence associations each day (Table 1). Animals were daily offered at 1400 h 530 g FM of both flavored-hays in 2 adjacent buckets. At 1415 h, we weighed the buckets to measure the amount of each flavored hay eaten and dosed the animals intraruminally with both the positive and the negative post-ingestive stimuli according to the amount of each flavored hay consumed. This procedure took approximately 15 min. Just after the sheep had been dosed, refusals were offered for a further 45 min (from 1430 h to 1515 h). At the end of this second meal, we weighed the buckets again and dosed the sheep following the same procedure.

For both simple and complex conditioning procedures, sheep were dosed after a first meal of 15 min and again after the second one to allow them to perceive the consequences of their ingestion while they were still eating. Basal diet was withheld until 1930 h so that the food learning process was not influenced by other food information.

Choice test procedure. Whatever the trial and the phase, choice tests were performed weekly, on the day following the last conditioning (Table 1). At 1400 h, sheep were offered a choice between both flavored hays, placed in 2 adjacent buckets, for 20 min. At the end of such a test, the buckets were weighed to determine how much of each hay had been consumed, thereby allowing preference for each flavored hay to be assessed. This choice ratio considered the DMI of 1 of the 2 flavored hay divided by the total DMI of the 2 flavored hays. This allowed us to determine whether sheep had learned to associate post-ingestive consequences with flavors during conditioning days.

Methodological experiment

Animals and forages. We used 16 adult Texel wethers of 4.2 ± 0.3 yr of age, weighing 61.2 ± 1.5 kg and fitted with rumen cannulae. Cannulae had been inserted at least 3 yr prior to our study. Sheep were housed in individual pens (1 x 2 m), bedded with sawdust, and had free access to water and salt blocks. They were kept under natural conditions of light (LD 13:11 in April). The animals were fed a basal diet composed of permanent pasture hay (Table 2) in amounts that complemented the intake of the experimental forage during tests and that allowed 10% of refusals. They received 400 g FM of their basal diet in the morning between 0830 h and 1030 h, and the remaining feed at 1930 h. The experimental forage was an orchard grass hay (*Dactylis glomerata L.*; Table 2).

*Flavors***.** We used thyme and fenugreek powders (BFI Innovations Ltd, Chester, England) to flavor the experimental hay. Flavors (20 g/kg FM of hay) were mixed with cellulose powder (40 g/kg FM of hay) so as to dilute them and to better homogenize flavor concentration in the hay. Powder mixtures (flavor + cellulose) were then mixed with hay for each sheep individually.

Positive and negative post-ingestive stimuli. We used starch (Glucidex21®, IMCD France SAS, St Denis La Plaine, France) to induce positive post-ingestive consequence (POS) and LiCl (Sigma-Aldrich) to induce negative consequence (NEG). They were both administered to sheep as a proportion of DMI. Starch was administered at a dose rate of 330 mg/g DMI of hay, which elicited preferences in sheep in previous experiments (Villalba and Provenza, 1997; Ginane *et al.*, 2009). Lithium chloride causes nausea (Provenza, 1994) that induces food aversions (Du Toit *et al.*, 1991). Both substances elicit their first physiological effects in

the short term: sheep experienced the effects of LiCl within 1 h after it was dispersed in the rumen (Provenza *et al.*, 1993) and the fermentation of starch in the rumen begins immediately but is progressive (Duncan e*t al.*, 2007). We tested 2 doses of LiCl (10 mg/g DMI, NEG1 and 20 mg/g DMI, NEG2) in order to determine a dose rate that would elicit only partial aversions in the second-conditioning phase of our main experiment. Only the dose of the negative consequence varied in this trial because starch had already been shown to elicit preferences at the considered dose rate in similar experimental conditions, and animals are generally more sensitive to negative than to positive consequences with the risk that they could stop eating in case of acute malaise.

Starch and LiCl powders were diluted in tap water so that 1 g FM of hay ingested corresponded to 1 mL of solution (POS, NEG1 or NEG2) given to the animal. The aim was to avoid large differences in the volume of solutions administered between individuals. Solutions were administered directly through the rumen cannula because we were constrained by the amounts of substances that we had to deliver; delivery via capsule and veterinary dosing gun would have required multiple doses during several weeks and this approach was rejected on ethical grounds.

Experimental design. The 16 wethers were assigned to 4 groups characterized by the LiCl dose and the nature of the flavor associated with the consequences: (1) fenugreek- NEG1 / thyme-POS, (2) fenugreek-NEG2 / thyme-POS, (3) thyme-NEG1 / fenugreek-POS and (4) thyme-NEG2 / fenugreek-POS. The groups were balanced according to live weight. The allocation of flavored hays to animals and days was balanced for each group. Simple conditionings were conducted over 1 wk from d 1 to d 4. Sheep were offered 1 flavored hay on even days and the other hay on odd days; they were conditioned with LiCl or starch according to their treatment. On d 5, we conducted a short term choice test to assess food learning.

Main experiment

Animals and forages. We used 32 adult Texel wethers of 3.2 ± 0.2 yr of age, weighing 67.2 ± 0.4 kg and fitted with rumen cannulae. Cannulae had been inserted at least 2 yr prior to our study. Animals' live weight was kept stable throughout the experiment. The animals were housed in individual pens (1 x 2 m), bedded with sawdust, and had free access to water and salt blocks. They were kept under constant conditions of light (LD 14:10).

They were fed a basal diet composed of grass hay cubes (Table 2) at 0730 h (1/3 of the total amount) and 1930 h (2/3 of the total amount); the basal diet complemented the intake of the experimental forages during tests in order to satisfy 110% of maintenance requirements (INRA, 2007). The average of the total amount offered as a basal diet ranged from 800 to 1100 g FM each day. On rest days (i.e. days without a conditioning procedure or choice test) the basal diet was supplemented by 400 g FM of permanent pasture hay (Table 2) at 1400 h still maintaining the 110% of maintenance regimen, to keep the rhythm of 3 distributions per day. The experimental forages were an alfalfa hay (*Medicago sativa L.*; Rumiluz, Désialis, Paris, France; Table 2) during the familiarization and the first-conditioning phases, and an orchard grass hay (Table 2) during the familiarization and the second-conditioning phases. We modified the hay between the 2 conditioning phases so that experienced animals were faced with a new learning situation and had to rely only on the pre-ingestive cues (i.e. flavors) created in the first-conditioning phase.

Flavors. As some sheep used in the methodological experiment were included in the main experiment (n=8), we worked with 2 new powdered flavors, aniseed and orange (BFI Innovations Ltd, Chester, England). All sheep were naïve with respect to these flavors. They were used at a dose rate of 20 g/kg FM of hay. Flavors were mixed with cellulose powder (40 g/kg FM of hay) so as to dilute them and to better homogenize flavor concentration in the hay. Powder mixtures (flavor + cellulose) were then mixed with hay for each sheep individually.

Post-ingestive stimuli in the first and second-conditioning phases. The positive stimulus (POS) was starch at a dose rate of 330mg/g of DMI, and the negative stimulus (NEG) was LiCl, but its dose rate varied according to the phases. From the results of the methodological experiment, the LiCl dose rate was decreased to 5 mg/g of DMI for the first-conditioning phase because we wanted to prevent a complete rejection of the flavor associated with the negative consequence before starting the second-conditioning phase. Then the LiCL dose rate was set to 10 mg/g of DMI during the second-conditioning phase. We needed to use a LiCl dose strong enough to contrast with the positive stimulus and to influence animals' choice even when sheep were subjected to the simultaneous conditioning procedure during which post-ingestive consequences were diluted due to the simultaneous administration of the two stimuli.

Starch and LiCl powders were diluted in tap water so that 1 g FM of hay ingested corresponded to 1 mL of solution. Solutions were then administered directly through the rumen cannula.

Familiarization phase. The familiarization phase (Table 1) lasted for 14 d and allowed sheep to become accustomed to the feeding pattern of the whole experiment. At 1400 h, they received 400 g FM of permanent pasture hays except on the d 8, 9, 11 and 12. On d 8 and 9, sheep were successively offered 212 g FM of each flavored hay (200 g FM orchard grass hay plus 12 g mix of flavor and cellulose powders) for 10 min in order to avoid unfamiliarity and hence rejection of flavors during the subsequent preference tests. On d 11, animals were offered the choice between the 2 flavored orchard grass hays (424 g FM each) for 18 min. On d 12, we conducted a similar choice test with the same 2 flavors but with alfalfa hay.

First-conditioning phase on alfalfa hay. The 32 sheep were divided into 2 groups (n=16) that were balanced for live weight and preferences for flavored orchard grass hays measured on d 11 of the familiarization phase.

The experienced group followed a simple conditioning procedure with alfalfa hay on d 2 and 3 of each week over the course of 2 wk, between 1400 h and 1515 h (Table 1). Sheep were offered 1 flavored hay on d 2 and the other hay on d 3 and were conditioned with LiCl or starch according to their treatment. The allocation of flavored hays to animals, days and post-ingestive stimuli were balanced for each group. Choice tests were run on d 4 at 1400 h.

The naïve group received, on d 2 and 3, 500 g FM of alfalfa hay mixed with 20 g of cellulose powder between 1400 h and 1515 h so that they would remain accustomed to the cellulose powder in the hays (Table 1).

Second-conditioning phase on orchard grass hay. In this phase, we used the same flavors (orange and aniseed) but they were mixed with an orchard grass hay (Table 2). All sheep were faced with a new food although experienced sheep knew the previous consequences of the flavors. We expected them to use this experience in their feeding behavior. Half the naïve sheep and half the experienced sheep were subjected to a simple conditioning, while all other sheep were submitted to a complex conditioning procedure. The 4 groups (n=8/group) were then naïve-simple, naïve-complex, experienced-simple, and experienced-complex; they were balanced for live weight and preferences for flavored orchard grass hays measured on d11 of the familiarization phase.

During 4 successive weeks, all sheep were conditioned on d 2 and 3 (Table 1). The 2 simple groups received only 1 flavored hay per day, whereas complex groups received both flavored hays each day. The allocation of flavored hays to animals, days, and post-ingestive stimuli was balanced for each group.

On d 4 of each week, all sheep were subjected to a choice test to assess if sheep had learned the associations between pre- and post-ingestive stimuli that was applied during conditioning days.

Statistical analyses

Methodological experiment. For DMI during conditionings and choice ratio, statistical analyses were performed with non-parametric tests due to the fact that behavioural data were not normally distributed even after transformations (the Lilliefors test, $P < 0.05$). We used the Mann–Whitney test for independent data and the Wilcoxon test for paired data both in the XLstat v.2007.1 software (Addinsoft, New York, NY). We firstly compared between groups the DMI of the flavored hay associated with the negative consequence and the DMI of the flavored hay associated with the positive consequence during conditionings. We then compared the choice ratio of the flavor associated to the negative consequence depending on the flavor (thyme and fenugreek). Then we pooled the data of both flavors and for each LiCl dose, we compared the choice ratio of the flavored-hay associated to the negative consequence to 0.50, the theoretical value of non choice. At the end, we analyzed the choice for the hays associated with the negative consequence, by pooling results for both flavors, and tested the effect of the NEG dose.

For DMI during choice test, the data satisfied the conditions for parametric testing so we performed the MIXED procedure of the SAS v.8.1 software (SAS Inst. Inc., Cary, NC), with the group, the flavor and their interaction as fixed effects.

Main experiment. For the familiarization phase considering choices for aniseed- or orange-flavored orchard grass hay, we used the Student t-test to compare the initial preference between flavors to a theoretical mean of 0.50 which would indicate no preference. For both first- and second-conditioning phases, we performed parametric analyses using the MIXED procedure of the SAS v.8.1 software (SAS Inst. Inc., Cary, NC). We used the REPEATED statement with the autoregressive covariance structure of the correlation matrix to account for the progressive learning process through experimental weeks. Data were subjected to

transformation so as to satisfy conditions for parametric analyses (e.g. arcsine of square root transformation for the choice ratios during the second-conditioning phase). Data from the first- and the second-conditioning phases were treated separately, but for both, we analyzed the total DMI during choice tests, and the choice for the flavored hay associated with the negative consequence, expressed as a ratio of DMI. For the first-conditioning phase, we tested the effect of week, flavor associated with the negative stimulus (aniseed or orange) and their interaction. For the second-conditioning phase, we tested the effect of animals' experience (experienced vs. naïve), conditioning procedure (simple vs. complex), flavor associated with the negative stimulus (aniseed or orange), experimental week and the two-way interactions between these factors. We also measured the total DMI and the doses (mg/kg of BW) of the positive and negative consequences received by sheep during weekly conditioning sessions (d 2 + d 3), i.e. before each choice test. Dry matter intake data were analyzed for a potential effect of the nature of the post-ingestive consequence, flavor, week and their interactions for the first-conditioning phase and for the same effects to which we added those of experience and conditioning procedure for the second-conditioning phase. Finally, concerning the doses of starch and LiCl animals received during successive weeks of the second-conditioning phase, we analyzed separately each consequence for a potential effect of flavor, week, experience, conditioning procedure and their interactions.

All non significant interactions ($P > 0.05$) were systematically removed from the initial model.

RESULTS

Methodological experiment

During conditionings, the flavored hay associated with the negative consequence were consumed in similar amounts whatever the LiCl dose (467 ± 8 g of DM for NEG1 and 468 ± 6 g of DM for NEG2; $P = 0.98$). The conclusion is the same for the flavored hay associated with positive consequence (456 ± 17 and 429 ± 14 g of DM when offered in choice respectively with NEG1 and NEG2; $P = 0.06$).

During choice tests, mean total DMI was not affected by the flavor associated with the negative consequence ($P = 0.75$) nor by its interaction with the group ($P = 0.74$); sheep in the NEG1/POS group, however, consumed a greater total amount of flavored hay than sheep in the NEG2/POS group, respectively 274 ± 12 and 206 ± 13 g of DM ($P < 0.01$). The choice for the flavored hay associated with the negative consequence was not affected by the nature of

the flavor (0.04 ± 0.04 for thyme and 0.07 ± 0.03 for fenugreek, *P* =0.17; Table 3). The average preferences for the hays associated with NEG1 and NEG2 were respectively 0.10 ± 0.04 and 0.01 ± 0.01. As they both differed from the theoretical value of non preference (*P* = 0.01 for both), the 2 LiCl doses tested were efficient to induce flavored hay aversions when they were imposed in combination with a POS stimulus. The preferences for the hays associated with NEG1 and NEG2 were furthermore similar (*P* = 0.69), whereas we observed that all the 8 wethers in NEG2 / POS group expressed total aversions (i.e. when the choice for the flavored hay associated with the NEG stimulus was ≤ 0.05) whereas only 4 out of 8 wethers in NEG1 / POS group expressed the same behavior.

Main experiment

The initial choice test using orchard grass hay during the familiarization phase indicated that the preference for the aniseed-flavored hay was 0.80 ± 0.04 which differed from the value of 0.50 which would be expected if sheep had shown no preference (*P* < 0.01).

First-conditioning phase. During conditionings, experienced animals consumed similar amounts of flavored hay whether the post-ingestive stimulus was NEG or POS (450 ± 7 and 435 ± 11 g of DM respectively; P=0.08) and there was no effect of the week of conditioning (*P* = 0.30). Mean DMI during conditionings was influenced by the flavors with sheep eating more when the hay was flavored with orange than aniseed (451 ± 8 and 433 ± 9 g of DM respectively; *P* < 0.01). Sheep received an average of 2,048 ± 62 mg/kg of BW of the positive consequence or 32 ± 1 mg/kg of BW of the negative consequence on each conditioning day.
During choice tests, animals consumed on average 382 ± 20 g of DM and this intake did not differ by week (*P* = 0.19). They decreased their choice for the flavored hay associated with NEG post-ingestive consequence as the first-conditioning phase progressed (*P* < 0.01 between wk 0 and 2; Figure 1). Aniseed-flavored hay was furthermore preferred to orange-flavored hay (*P* < 0.01), whatever the week (flavor x week, *P* = 0.99).

Second-conditioning phase. During conditionings, mean DMI was not influenced by the animals' experience (*P* = 0.16) or the week of conditioning (*P* = 0.70). There were, however, differences between simple and complex groups (*P* < 0.01; Table 4). As a consequence, the dose of each stimulus received by sheep was influenced by the conditioning procedure (*P* < 0.01; Table 4) with complex groups receiving higher doses of both starch and LiCl than

simple ones. Sheep in naïve-simple, naïve-complex and experienced-simple groups consumed similar amounts whether the consequence associated with the flavored hay was POS or NEG ($P = 0.96$, $P = 0.21$ and $P = 0.94$ respectively) contrary to those in the experienced-complex group where the POS stimulus resulted in enhanced intakes ($P < 0.01$; Table 4). Mean DMI during conditionings was also influenced by the flavors: sheep ate more when the hay was flavored with aniseed than orange (560 ± 14 and 502 ± 14 g of DM respectively; $P < 0.01$).

During choice tests, mean total DMI was affected neither by animals' experience ($P = 0.88$), conditioning procedure ($P = 0.92$), week ($P = 0.75$) nor by the flavor associated with the negative stimulus ($P = 0.48$). Sheep consumed an average of 286 ± 7 g of DM.

The choice for the flavored hay associated with the negative stimulus was affected by both experience ($P = 0.02$) and complexity ($P < 0.01$), but not by the conditioning week ($P = 0.35$). Experienced sheep rejected the flavored hay associated with the NEG stimulus more than the naïve ones whatever the conditioning procedure (0.304 ± 0.029 *vs*. 0.470 ± 0.041 respectively). Groups subjected to simple conditioning rejected it more than those subjected to complex conditioning whatever the sheep's experience (0.303 ± 0.035 *vs.* 0.474 ± 0.035 respectively; Figure 2). The choice for the flavored hay associated with the negative stimulus was also affected by the nature of the flavor ($P < 0.01$) with aniseed-flavored hay (0.53 ± 0.04) preferred over orange-flavored hay (0.25 ± 0.03). This lower preference for orange flavor made the flavor interact with animals' experience on the choice for the hay associated with the negative stimulus ($P = 0.05$). Thus, when the hay associated with the negative stimulus was aniseed-flavored, the rejection of this hay was higher in the experienced than in the naïve groups (0.37 ± 0.04 and 0.67 ± 0.05 respectively; $P < 0.01$); when it was orange-flavored, this difference was not observed (0.24 ± 0.05 and 0.27 ± 0.05 respectively; $P = 0.82$).

DISCUSSION

This experiment aimed to test whether the presence of pre-ingestive cues that could serve as indicators of post-ingestive consequences, would improve food learning of sheep in learning situations varying in complexity.

The notion of indicators of food value is based on the theory of cognitive generalization. Generalization is considered as an adaptive response (Ghirlanda and Enquist, 2003) that implies a cognitive evaluation of an object on the basis of similarity criteria: animals respond the same way to various objects if they possess similar characteristics (Benard *et al.*, 2006)

but this response is graded, i.e. it decreases with increased differences between stimuli (Ghirlanda and Enquist, 2003). Sheep have the ability to generalize food preferences (Villalba and Provenza, 2000a, b) and aversions (Launchbaugh and Provenza, 1994; Ginane and Dumont, 2006) on the basis of flavors or plant species following a simple learning procedure (i.e. one pre- and post-ingestive association at a time) to a new simple situation. As we needed to control the animals' knowledge about pre-ingestive cues in our experiment, we used this generalization ability to create pre-ingestive indicators of post-ingestive consequences during the first-conditioning phase for half our animals. Then, we compared the learning efficiency of these sheep that knew the value of pre-ingestive cues (experienced sheep) with the ones that did not (naïve sheep), in simple and complex learning contexts. As the results showed no interaction between experience and complexity, we will discuss these factors separately.

Experience effect

Experienced sheep were more efficient in food learning than naïve ones in both simple and complex learning contexts. In fact, through the whole second-conditioning phase (no week effect), experienced animals showed a greater avoidance of the flavored hay associated with the negative post-ingestive consequence than the naïve ones. Experienced sheep then used their knowledge about pre-ingestive cues to better deal with new learning tasks than naïve counterparts, in both simple and complex situations. Likewise, lambs used their previous knowledge by avoiding, when given a choice between these two food items while receiving LiCl, a food that had been previously paired with LiCl but not a novel food (Burritt and Provenza, 1996). Our own result also supports our hypothesis that pre-ingestive stimuli were not only used by sheep to discriminate between different food items but can also be used as cues to indicate post-ingestive consequences. This was previously demonstrated in common ringtail and brushtail possum where terpenes appear to act as a cue to levels of toxins (jensenone) in the leaves (Lawler *et al.*, 1999). In this way, pre-ingestive cues can help sheep to improve their food learning efficiency and could play a role in diet selection, especially in complex environments. Our experimental design brought into play binary choice test between the flavor associated with the positive consequence and the flavor associated with the negative consequence so that an aversion to one flavor implies (by default) a preference for the other. The potential role of 'indicator' of each flavor could have been further specified by a choice test with a third flavor (i.e., a flavor not paired with starch or LiCl, only vehicle). This 'indicator' role was, however, not included in previous studies

involving complex learning scenarios (Duncan and Young, 2002; Duncan *et al.*, 2007; Ginane *et al.*, 2005, 2009): the vegetation used in these studies possessed natural pre-ingestive stimuli that did not necessarily tie in with the actual post-ingestive rewards imposed experimentally; as a consequence, pre-ingestive stimuli could not indicate to animals a potential positive or negative consequence. This potentially misleading effect of pre-ingestive stimuli may explain why sheep encountered difficulties to make adequate associations between pre- and post-ingestive stimuli in these complex learning contexts in previous work.

Our results also confirm the ability of sheep to generalize on the basis of food flavor from a simple learning context (first-conditioning phase) to another simple learning context (simple groups in the second-conditioning phase), as previously shown (Launchbaugh and Provenza, 1994; Villalba and Provenza, 2000a, b). Our results further indicate the ability of sheep to generalize to a complex learning context (complex groups in the second-conditioning phase), which would allow us to better assess the role of food learning on diet selection in complex environment, as at pasture.

Complexity of the learning procedure

As herbivores in the field are faced with and consume many plants in a short space of time, we varied the complexity of the learning procedure by offering foods on separate days (i.e. simple conditioning procedure) or simultaneously within day (i.e. complex conditioning procedure). This was close to the procedure used by Duncan and Young (2002), although our experiment only involved two different food items and two extreme post-ingestive consequences associated with them (positive *vs.* negative, no neutral one). Despite these differences, our simultaneous scenario was perceived as complex by our sheep as shown by the lower learning efficiency of the complex groups compared to the simple ones during the second-conditioning phase, whatever the sheep's previous experience of the post-ingestive consequences associated with the flavors. This would indicate that the generalization process was not totally achieved for experienced-complex sheep due to the changes made between the first and the second-conditioning phases, namely the nature of the experimental hay, the dose of lithium chloride and the conditioning procedure.

Sheep subjected to a complex conditioning procedure were less efficient in learning than those subjected to a simple one despite receiving higher doses of both positive and negative stimuli during conditionings (Table 4). This furthermore suggested that the contrast between the negative and the positive consequences was more striking for them compared to sheep in a

simple learning scenario. Considering starch, one could argue that this higher dose (up to an average of 3.3 g/kg BW for the experienced-complex group) could lead to negative consequences due to an excess of nutrients (Provenza, 1995a). Nevertheless, previous works demonstrated that similar doses of starch induced preferences in sheep (3.8 g/kg BW in Villalba and Provenza, 1999; 3.7 g/kg BW in Ginane *et al.*, 2009). We therefore consider that the higher doses of starch received by sheep in the complex groups did not induce negative consequences that could have impaired their learning process.

Flavor effect and interaction between experience and conditioning procedure

Throughout the experiment, we observed a strong flavor effect. The initial choice test between aniseed- and orange-flavored orchard grass hay demonstrated an unexpected preference for aniseed (0.80 vs. 0.20 respectively), because previous studies reported no significant differences in preference for these flavors (Kyriazakis *et al.*, 1997; Arsenos *et al.*, 2000). This could be explained both by restricted sample size in these studies and by a variability in hedonic responses of naïve animals. We allowed for the difference in individual hedonic acceptability of the 2 flavors by balancing sheep in our 4 treatments. After the conditioning procedure of the second-conditioning phase, however, the choice ratio for the flavored hay associated with the negative post-ingestive consequence was influenced by the nature of the flavor used: sheep negatively conditioned on aniseed, the flavor which was initially preferred, expressed a lesser avoidance than those negatively conditioned on orange. This flavor effect may explain the absence of interaction between experience and complexity and may be responsible for the poor learning efficiency of naïve-simple animals, which did not clearly avoid the flavored hay associated with the negative consequence. All sheep were subjected to a simple classical conditioning procedure for a long period (4 wk), and conditioned food aversions are considered as a fundamental adaptive behavior for herbivores' survival. Therefore, it appears that the initial hedonic value of a food influences the evaluation of this food by sheep in a learning context, i.e. it might be easier for animals to associate a food initially preferred with a positive consequence than with a negative one. Usually, food preferences are understood as the result of the interaction between taste and post-ingestive feedback, with a post-ingestive feedback that calibrates taste in accord with a food's homeostatic utility (Provenza, 1995b). Although the importance of pre-ingestive stimuli *per se* was not clearly demonstrated, it appears that sensory stimuli greatly influence the propensity to make an associative learning between pre- and post-ingestive stimuli.

In conclusion, experienced sheep were more efficient in food learning than naïve ones in both simple and complex learning contexts. This implies that sheep can use pre-ingestive cues as indicators of post-ingestive consequences to help them to learn about new foods. The condition for this is that animals can associate plant cues with biological consequences, either via previous learning or innately, and that they are able to generalize their knowledge. The present experiment reinforces the few previous ones (Launchbaugh and Provenza, 1994; Villalba and Provenza, 2000a, b; Ginane and Dumont, 2006) to indicate an ability of sheep to generalize food knowledge and offers a better understanding of herbivores' learning abilities and diet selection especially in complex environments.

LITERATURE CITED

Arsenos, G., J. Hills, and I. Kyriazakis. 2000. Conditioned feeding responses of sheep towards flavoured foods associated with casein administration: the role of long delay learning. Anim. Sci. 70:157-169.

Benard J., Stach S., and Giurfa M. 2006. Categorization of visual stimuli in the honeybee *Apis mellifera*. Anim. Cogn. 9:257-270.

du Toit, J. T., F. D. Provenza, and A. Nastis. 1991. Conditioned taste aversions: how sick must a ruminant get before it learns about toxicity in foods? App. Anim. Behav. Sci. 30:35-46.

Duncan, A. J. and S. A. Young. 2002. Can goats learn about foods through conditioned food aversions and preferences when multiple food options are simultaneously available? J. Anim. Sci. 80:2091-2098.

Duncan, A. J., C. Elwert, J. J. Villalba, J. Yearsley, I. Pouloupoulou, and I. J. Gordon. 2007. How does pattern of feeding and rate of nutrient delivery influence conditioned food preferences? Oecologia 153:617-624.

Forbes, J. M., and F. D. Provenza. 2000. Integration of learning and metabolic signals into a theory of dietary choice and food intake. Pages 3-19 in Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction. P. Cronje, ed.CAB International, Wallingford, U.K.

Garcia, J., and W. G. Hankins. 1975. The evolution of bitter and the acquisition of toxiphobia. Pages 39-45 in Olfaction and Taste: Proc. 5th Int. Symp. D. A. Denton and J. P. Coghlan, ed. Academic Press, New York, USA.

Ghirlanda, S. and M. Enquist. 2003. A century of generalization. Anim. Behav. 66:15-36.

Ginane, C., A. J. Duncan, S. A. Young, D. A. Elston, and I. J. Gordon. 2005. Herbivore diet selection in response to simulated variation in nutrient rewards and plant secondary compounds. Anim. Behav. 69:541-550.

Ginane, C. and B. Dumont. 2006. Generalization of conditioned food aversions in grazing sheep and its implication for food categorization. Behavioral Processes 73:178-186.

Ginane C., Baumont R., and Duncan A.J. 2009. Diet learning through post-ingestive consequences in sheep: the case of starch and casein variously combined in the same foods. Animal 3:135-142.

INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux - Valeurs des aliments. Ed. Quae, INRA Versailles, FRA.

Kyriazakis, I., T. G. Papachristou, A. J. Duncan, and I. J. Gordon. 1997. Mild conditioned food aversions developed by sheep towards flavors associated with plant secondary compounds. J. Chem. Ecol. 23:727-746.

Launchbaugh, K. L. and F. D. Provenza. 1994. The effect of flavor concentration and toxin dose on the formation and generalization of flavor aversions in lambs. J. Anim. Sci. 72:10-13.

Lawler, I.R., J. Stapley, W.J. Foley, B.M. Eschler. 1999. Ecological example of conditioned flavor aversion in plant-herbivore interactions: effect of terpenes of *Eucalyptus* leaves on feeding by common ringtail and brushtail possums. J. Chem. Ecol. 25:401-415.

Provenza, F.D., J.V Nolan, J.J. Lynch. 1993. Temporal contiguity between food ingestion and toxicosis affects the acquisition of food aversions in sheep. App. Anim. Behav. Sci. 38:269-281.

Provenza, F. D., L. Ortegareyes, C. B. Scott, J. J. Lynch, and E. A. Burritt. 1994. Antiemetic Drugs Attenuate Food Aversions in Sheep. J. Anim. Sci. 72:1989-1994.

Provenza, F.D. 1995a. Postingestive feedback as an elementary determinant of food preference and intake in ruminants. J. Range Manage. 48:2-17.

Provenza, F.D. 1995b. Role of learning in food preferences of ruminants: Greenhalgh and Reid revisited. Pages 231-245 in Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction. Proc.VIII International Symposium on Ruminant Physiology, Stuttgart, Germany.

Villalba, J. J. and F. D. Provenza. 1997. Preference for wheat straw by lambs conditioned with intraruminal infusions of starch. Br. J. Nutr. 77:287-297.

Villalba, J. J. and F. D. Provenza. 2000a. Roles of novelty, generalization, and postingestive feedback in the recognition of foods by lambs. J. Anim. Sci. 78:3060-3069.

Villalba, J. J. and F. D. Provenza. 2000b. Roles of flavor and reward intensities in acquisition and generalization of food preferences: do strong plant signals always deter herbivory? J. Chem. Ecol. 26:1911-1922.

Table 1: Procedures taking place at 1400 h during the 3 phases of the main experiment, which was conducted to test whether animals' prior knowledge of a food's sensory characteristics could help them to learn in a complex feeding scenario

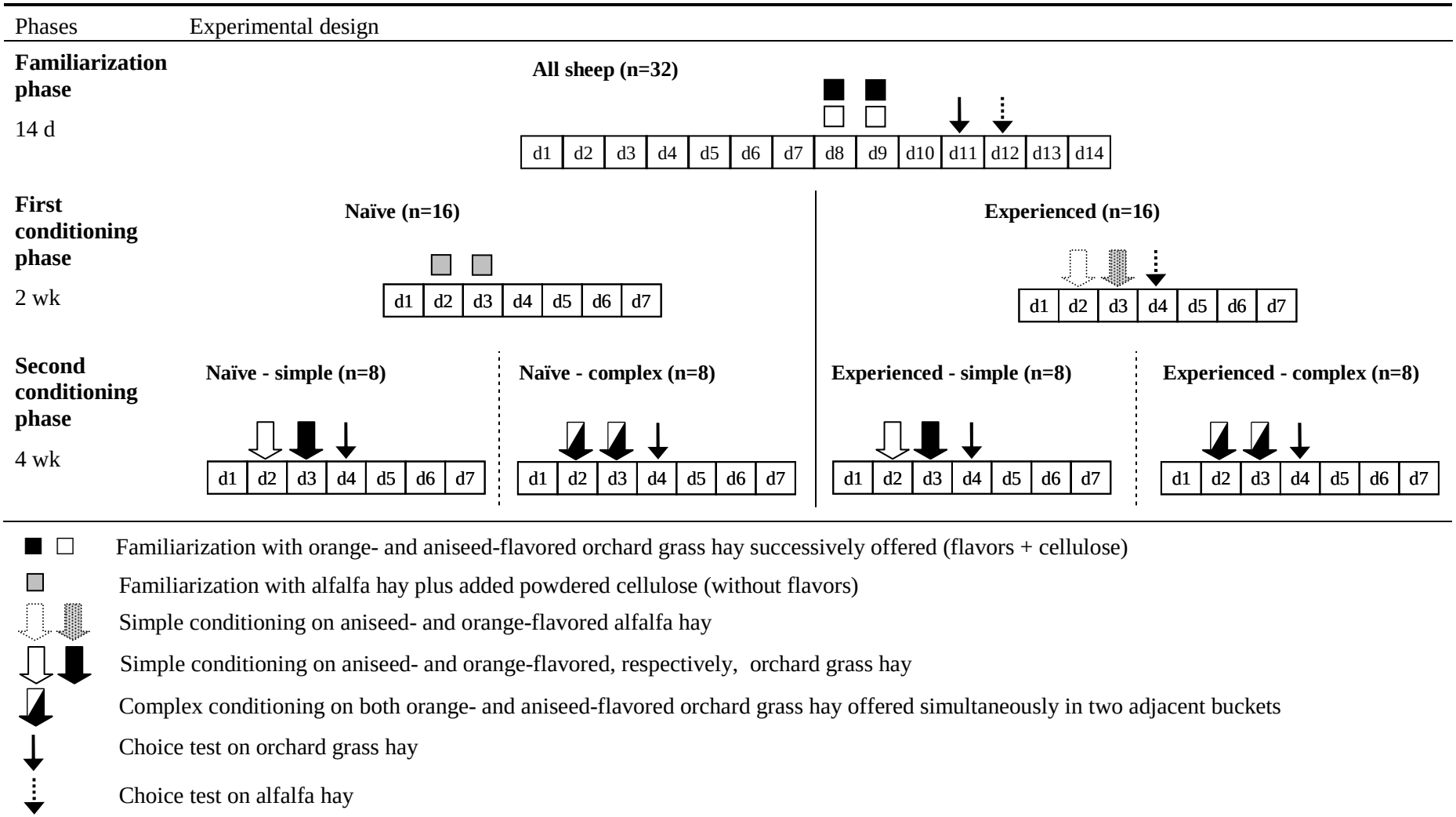


Table 2: Chemical characteristics of experimental hays used both in the methodological experiment and the main experiment, which were conducted respectively to determine the dose of the negative stimulus sufficient to induce partial feed aversions, and to investigate the effect of previous experience of the consequences associated with food of a particular flavor (naïve vs. experienced animals) as well as the degree of complexity of the learning task (simple vs. complex conditionings)

Item	Grass hay cubes	Permanent pasture hay	Alfalfa hay	Orchard grass hay
DM[1], %	91 ± 1	89 ± 1	91 ± 2	90 ± 3
NDF, g/kg of DM	730.8	659.5	564.0	692.5
ADF, g/kg of DM	404.4	367.7	390.2	355.0
CP, g/kg of DM	76.9	70.5	138.5	95.7

[1] Mean ± SD

Table 3: Methodological experiment: Choice ratios[1] of DMI (mean ± SEM) by sheep for the flavored hay associated with the negative consequence depending on the dose and the flavor of each group.

Groups[2]	Choice ratio for the flavored hay associated with NEG
Thyme NEG1 / Fenugreek POS	0.074 ± 0.085
Fenugreek NEG1 / Thyme POS	0.128 ± 0.051
Thyme NEG2/ Fenugreek POS	0.001 ± 0.001
Fenugreek NEG2 / Thyme POS	0.017 ± 0.010

[1] The choice ratio considered the DMI of the flavored hay associated with the NEG consequence divided by the total DMI of the 2 flavored hays.

[2]NEG1 and NEG2 were induced by LiCl at 10 and 20 mg/g of DMI, respectively. POS was induced by starch at a dose rate of 330 mg/g of DMI.

Table 4: Second-conditioning phase of the main experiment: DMI of flavored hay associated with negative (NEG) or positive (POS) consequences, and doses of each consequence received by sheep (mean ± s.e.) during a week of conditioning, in each treatment

	Treatments			
	Naïve-simple	Naïve-complex	Experienced-simple	Experienced-complex
Intake, g of DM				
NEG[1]	439 ± 8	667 ± 29	449 ± 6	515 ± 30
POS[2]	442 ± 7	637 ± 39	449 ± 8	647 ± 29
Doses, mg/kg of BW				
NEG [1]	70 ± 1	98 ± 4	68 ± 2	78 ± 5
POS[2]	2310 ± 42	3103 ± 185	2254 ± 61	3277 ± 167

[1]NEG was induced by LiCl at a dose rate of 10 mg/g of DMI

[2]POS was induced by starch at a dose rate of 330 mg/g of DMI.

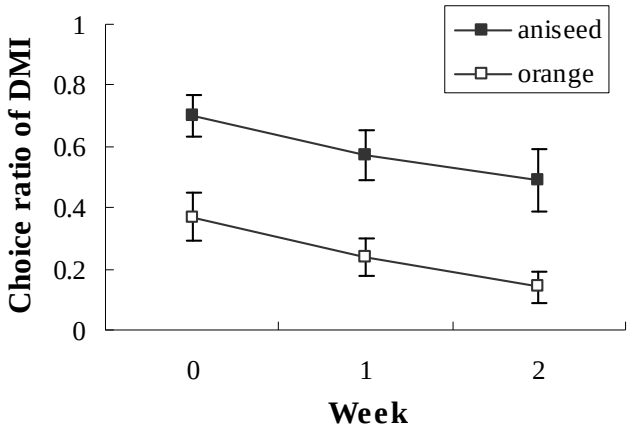


Figure 1: First-conditioning phase of the main experiment: Mean choice ratio of DMI for the alfalfa hay associated with the negative consequence through experimental weeks in 2 groups of sheep characterized by the nature of the flavor (aniseed or orange) associated with the negative consequence. Week 0 corresponded to the initial choice before the first conditioning of each group. Error bars denote standard errors of untransformed data means.

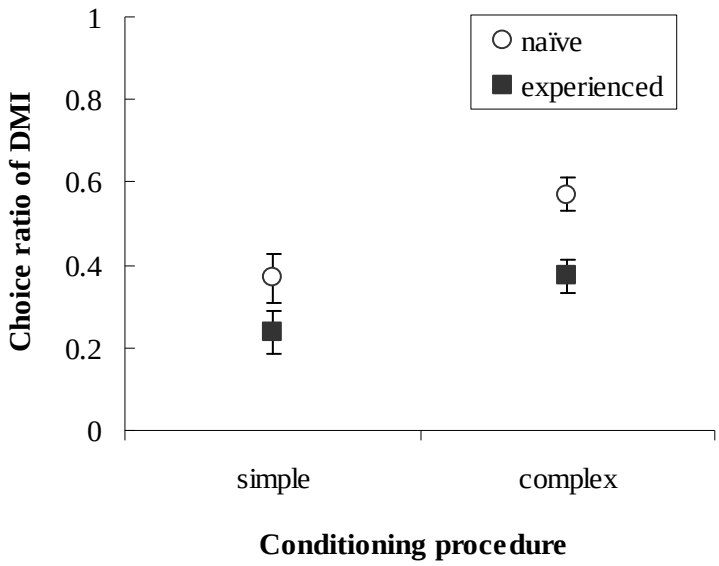


Figure 2: Second-conditioning phase of the main experiment: Mean choice ratio of DMI for flavored orchad grass hays associated with the negative consequence, depending on the animals experience and the complexity of the conditioning procedure. The choice ratio considered the DMI of the flavored hay associated with the negative consequence divided by the total DMI of the two flavored hays. Error bars denote standard errors of untransformed data means.

CHAPITRE 3

Les goûts umami et amer : préférence spontanée et rôle dans les apprentissages

Est-ce que les ovins utilisent les goûts umami et amer en tant qu'indicateurs des conséquences post-ingestives lorsqu'ils sélectionnent leur alimentation ?

I. CONTEXTE ET OBJECTIFS

Chez les ruminants, le goût semble être le sens principalement sollicité lors de la sélection alimentaire (Arnold, 1966b). Les sens seraient essentiellement utilisés comme des agents discriminants, en d'autres termes ils permettraient à l'animal de discriminer les aliments, mais ils ne pourraient vraisemblablement pas influencer les préférences alimentaires en l'absence de conséquences post-ingestives associées (Provenza, 1995). Toutefois, certains goûts seraient préférés et d'autres évités de manière instantanée et en l'absence de toute conséquence post-ingestive immédiatement associée (Goatcher et Church, 1970a, 1970b ; Grovum et Chapman, 1988 ; Gherardi et Black, 1991) ce qui pourrait être le signe d'une valeur latente, innée ou acquise. Suite aux résultats contradictoires obtenus avec le goût sucré (annexe 3) et rapportés par Baumont (1996), nous avons choisi deux autres goûts présents naturellement dans les végétaux, et qui possèdent potentiellement une valeur latente au vu des données présentes dans la bibliographie : le goût umami et le goût amer. L'umami est le cinquième goût primaire, découvert assez récemment, qui correspond à une sensation caractérisée de savoureuse. Il est provoqué par la présence de glutamate monosodique, un acide aminé présent dans les protéines et pourrait donc être synonyme d'une conséquence post-ingestive positive liée à un apport protéique (Yamaguchi et Ninomiya, 2000). A l'inverse, le goût amer serait synonyme d'une conséquence post-ingestive négative du fait que ce goût caractérise de nombreux composés végétaux secondaires qui sont toxiques pour les animaux (Garcia et Hankins, 1975 ; Rogosic *et al.*, 2008).

Au cours de cette expérimentation dénommée "goûts primaires", nous avons donc étudié les préférences des ovins pour les goûts umami et amer, et leur rôle dans les apprentissages alimentaires. Nous avons cherché à savoir, dans un premier temps, si ces deux goûts peuvent induire des préférences ou aversions alimentaires spontanées et stables, en l'absence de toute conséquence post-ingestive immédiate. Dans un 2ème temps, nous avons voulu déterminer dans quelle mesure ces goûts sont porteurs d'une valeur latente qui ferait d'eux des indicateurs des conséquences post-ingestives.

II. METHODES

Le goût umami est induit par du monosodium glutamate (MSG) testé aux doses de 15 (MSG1) et 25 (MSG2) g/kg MS de foin. Le goût amer est induit par de la quinine hydrochloride (Quin) testée aux doses de 2 (Quin1) et 3 (Quin2) g/kg MS de foin. Ces goûts sont dilués dans de l'eau puis vaporisés sur un foin de dactyle.

Nous avons soumis 24 agnelles Romane à une série de tests de choix à court terme afin de déterminer leurs préférences relatives pour les deux goûts umami et amer comparés l'un par rapport à l'autre, puis chacun par rapport au même aliment témoin (sans goût ajouté, uniquement vaporisé à l'eau). Les préférences relatives sont calculées proportionnellement à la quantité ingérée totale (en MS). Les combinaisons binaires testées selon un schéma expérimental en carré latin sont donc MSG1-Quin1, MSG1-Quin2, MSG2-Quin1, MSG2-Quin2, MSG1-Témoin, MSG2-Témoin, Quin1-Témoin, et Quin2-Témoin.

Puis 20 des 24 agnelles ont été réparties en deux lots de 10 soumis à une procédure de conditionnement impliquant soit une association cohérente entre le goût et la conséquence (goût préféré / conséquence positive et inversement) soit une association incohérente (goût préféré / conséquence négative et inversement) par rapport à leur préférence initiale pour ces goûts. Nous avons utilisé du propionate de sodium et du chlorure de lithium pour induire les conséquences positive et négative, respectivement. L'hypothèse était que l'apprentissage serait plus facile et l'intensité des aversions plus forte dans la situation cohérente que dans la situation incohérente. Enfin, nous avons procédé à des tests de choix *post hoc* entre chacun des goûts et un aliment témoin afin de déterminer si leur valeur latente a été modifiée par ces apprentissages réalisés en situation cohérente ou incohérente.

III. RESULTATS

Les tests de choix menés avant les procédures de conditionnement ont révélé que, quelles que soient les doses utilisées, le foin traité au goût umami était préféré face à un foin témoin (0.71 ± 0.04) et face à un foin traité avec le goût amer (0.77 ± 0.02 ; $P < 0.05$), alors que le foin porteur du goût amer n'était ni préféré ni évité lorsqu'il était testé face à un foin témoin (0.49 ± 0.03). Nous avons alors choisi les doses MSG1 et Quin1 pour la phase d'apprentissage suivante. A ces doses, la quinine est bien perçue par les agnelles puisqu'elles l'évitent suite à des conditionnements aversifs (essai méthodologique 1 présenté dans l'article), et la quinine, tout comme le MSG, n'induisent pas de conséquence post-ingestive

pouvant entraîner des préférences ou des aversions alimentaires (essai méthodologique 2 présenté dans l'article).

L'aversion pour le goût associé à la conséquence négative était plus forte en situation d'apprentissage cohérente (amer) qu'incohérente (umami) (0.04 ± 0.02 et 0.19 ± 0.08, respectivement, $P < 0.05$). Néanmoins, il est difficile d'en conclure que les animaux apprennent mieux en situation d'apprentissage cohérente dans la mesure où ce résultat peut aussi être lié à l'important écart de préférence initiale entre les goûts amer et umami.

Les tests de choix *post hoc* face à l'aliment témoin, menés après les procédures de conditionnement, montrent que la préférence pour le goût umami est modifiée de manière logique avec la nature des conditionnements (augmentation lorsqu'il est associé avec une conséquence positive et diminution dans le cas inverse) ; en revanche, la préférence pour le goût amer, n'est pas modifiée quelle que soit la nature des conditionnements. Celle-ci se trouve être équivalente à celle observée pour le goût umami après les conditionnements négatifs.

IV. CONCLUSIONS

Certains goûts primaires influencent, au moins à court terme, les préférences alimentaires des ovins en l'absence de conséquence post-ingestive. Ainsi, le goût umami est préféré par les agnelles, avec une faible variabilité individuelle. L'absence d'aversion marquée pour le goût amer pourrait être liée au fait que son seuil de rejet serait plus élevé que son seuil de détection. En effet, le seuil de rejet de l'amertume serait plus élevé chez les herbivores que chez les carnivores pour éviter qu'ils ne rejettent trop d'items alimentaires, ce goût étant très répandu dans le règne végétal du fait des composés végétaux secondaires. Les goûts primaires possèderaient également différentes valeurs latentes qui rendraient les ovins plus ou moins enclins à les associer aux conséquences post-ingestives associées selon qu'elles sont cohérentes ou incohérentes par rapport à leur évaluation initiale. Au vu des résultats obtenus lors des tests de choix après les conditionnements, le goût umami aurait une valeur latente positive mais serait toutefois rejeté lorsqu'il est exceptionnellement associé à une conséquence négative afin d'assurer la survie de l'individu. Le goût amer, quant à lui, aurait une valeur latente négative qui inciterait l'animal, pour assurer sa survie, à rester méfiant à son égard même lorsqu'il est exceptionnellement associé à une conséquence positive. Nos résultats amènent aussi à l'idée que les signaux négatifs sont plus forts que les signaux positifs, que ce soit en tant que conséquence post-ingestive ou comme indicateur.

Do sheep use umami and bitter tastes as cues of post-ingestive consequences when selecting their diet?

Applied Animal Behaviour Science, Accepted April 20 2010,
doi:10.1016/japplanim.2010.04.007

Angélique Favreau [a], René Baumont [a], Guillaume Ferreira [b, †],
Bertrand Dumont [a], Cécile Ginane [a,*]

[a] INRA, UR1213 Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France

[b] INRA, UMR85 Physiologie de la Reproduction et des Comportements,
F-37380 Nouzilly, France

† Present address : INRA, UMR1286 Psychoneuroimmunologie, Nutrition et Génétique, CNRS UMR 5226, Université de Bordeaux 2, 146 rue Léo Saignat, F-33076 Bordeaux, France

* Corresponding author: cecile.ginane@clermont.inra.fr

ABSTRACT

Grazing herbivores use their senses to select their diet. As tastes could reveal certain plant properties, we investigated whether sheep use them as cues to anticipate post-ingestive consequences. We focused on umami and bitter tastes reported to be associated with protein and toxin contents, respectively. We aimed to determine 1) lambs' preferences for umami and bitter tastes offered together or with a control, and 2) lambs' efficiency in learning positive and negative post-ingestive consequences associated with tastes coherently (i.e. umami taste → positive, bitter → negative) or incoherently (i.e. bitter → positive, umami → negative). The umami taste was induced by either 15 (MSG1) or 25 (MSG2) g monosodium glutamate per kg DM hay, whereas the bitter taste was induced by 2 (Quin1) or 3 (Quin2) g quinine per kg DM hay that were sprayed on an orchard grass hay. In the first experiment, 24 ewe lambs were tested on eight two-choice types: MSG1-Quin1, MSG1-Quin2, MSG2-Quin1, MSG2-Quin2, MSG1-Control, MSG2-Control, Quin1-Control, and Quin2-Control, in a Latin-square design. They always preferred the umami-tasting hay to the control and the bitter-tasting hay ($P < 0.01$) while they were indifferent to the bitter-tasting hay compared to control hay. After

having checked that the lambs perceived the bitter taste induced by quinine (experiment 2) and that none of the substances used to modify the tastes induced their own post-ingestive consequences (experiment 3), we conducted the fourth experiment. Then, both coherent and incoherent groups decreased their preference for the taste associated with negative consequences compared to the taste associated with positive consequences, and aversion was greater in the coherent than in the incoherent group (0.04 ± 0.02 and 0.19 ± 0.08, respectively, $P < 0.05$). This difference could however be a residual effect of the large difference between initial preferences. After conditionings, to assess changes in individual tastes values, we re-tested the lambs' preferences between umami- or bitter-tasting hay and control hay, and compared them with the initial preference patterns recorded in experiment 1. Preference for umami-tasting hay logically varied according to whether post-ingestive consequences were positive or negative, contrary to preference for bitter tasting-hay which was unaffected and close to umami value once negatively conditioned. Umami taste thus appears to have a positive value that can decrease after aversive conditionings, while bitter taste appears to have a negative value that made sheep suspicious about it even when associated with positive consequences.

Keywords: primary taste, cue, food learning, preference, herbivore.

INTRODUCTION

Understanding food preferences in herbivores is essential for optimizing forage utilization and pasture management. Ruminant herbivores at pasture are faced with a large variety of plant species and it is widely recognized that they select a diet richer in nutrients and poorer in toxins than the average composition of the available vegetation. Sheep use all their senses to gain information on the foods in their environment (Forbes, 1998), but taste appears to be of major importance in directing forage preference (Krueger et al., 1974). This is made possible by sheep's ability to perceive the five primary tastes (i.e. sweet, salty, sour, bitter, and umami) to which they respond in choice tests (Gherardi and Black, 1991; Goatcher and Church, 1970a, 1970b; Grovum and Chapman, 1988). Plants that animals encounter in the field have broadly different taste profiles, and some of these tastes may reveal certain properties. Hence, several secondary plant compounds that are toxic to herbivores have a bitter taste (Garcia and Hankins, 1975; Rogosic et al., 2008), whereas sweet and umami tastes have been proposed to

be associated with energy (Swithers and Davidson, 2008) and proteins (Naim et al., 1991), respectively. Mammalian herbivores could therefore use plant tastes as indicators of their toxic or nutritive value, as shown with invertebrates' aposematic colouring and protection from avian predation (Aronsson and Gamberale-Stille, 2008). This hypothesis is also supported by the fact that sheep can use artificial flavours as indicators of food consequences and generalize this knowledge to improve foraging efficiency in a complex conditioning procedure (Favreau et al., in press).

Preferences for primary tastes, whether based on natural selection (i.e. hedyphagia; Rhoades, 1979) or individual experience (Forbes and Provenza, 2000; Yearsley et al., 2006) paired with generalization (Ginane and Dumont, 2006; Launchbaugh and Provenza, 1994), would allow animals to forage more efficiently in complex environments presenting multiple food options of various quality (Yearsley et al., 2006). The use of pre-ingestive cues could shorten decision times and reduce risks of poisoning (Augner and Bernays, 1998). However, despite this potentially important role of primary food tastes in ruminant diet selection, the topic remains relatively unresearched. This paper focused on umami and bitter tastes, as they have been shown to induce preference and rejection in sheep, respectively (Gherardi and Black, 1991; Goatcher and Church, 1970b), while sweet taste gives variable results (Baumont, 1996). We first investigated whether sheep give any *a priori* value to the tastes by measuring their short-term preferences for umami and bitter taste (experiment 1). We checked that sheep were able to perceive the substances inducing the tastes (experiment 2) and that none of these substances caused for any own post-ingestive effects (experiment 3). We then submitted animals to a conditioning procedure that confronted them with either a coherent or an incoherent situation compared to their initial evaluation of the tastes (experiment 4). If umami and bitter tastes are considered as having positive and negative value, respectively, then sheep should more easily learn the coherent associations, i.e. umami taste with positive consequence and bitter taste with negative consequence, than the reverse incoherent associations, i.e. umami taste with negative consequence and bitter taste with positive consequence. Animals submitted to the coherent situation would be more efficient in the learning task because they could use tastes as cues allowing them to anticipate the associated consequences. Finally, we conducted *post hoc* preference tests between the tasted hays and the control hay to assess how the value of each taste changed with conditionings.

MATERIALS AND METHODS

Animals, forages and substances used to induce the bitter and umami tastes

The whole experiment took place between November 2008 and July 2009 at the INRA-UR1213 experimental farm in France (45°42'N, 03°30'E). The animals were handled by specialized personnel in accordance with EU Directive 609/1986 guidelines on animal care and welfare. We used Romane (Berrichon du Cher x Romanov crossbred) ewe lambs aged between 5 and 7 months. The lambs were first reared and fed by their mother and then fed on a permanent pasture for one month before the study began. Ten days before each step of the experiment, animals were housed in individual pens isolated from each other by openwork fences allowing social contact. They were maintained in 12 h light - 12 h dark conditions with free access to water and trace mineral salt blocks.

Throughout the study, basal diet was the same permanent pasture hay (80% of grasses) that was complemented by concentrate pellets (Alicoop, Pamproux, France) composed of straw, cereals (mainly wheat and barley), vitamins and minerals (2.7 Mcal of ME/kg and 19% CP (DM basis)). The forage to which were applied the taste-modifying solutions was the same orchard grass hay (*Dactylis glomerata*) chopped into 5-cm-long pieces. The DM content and the chemical characteristics of these foods, that were stable over experimental weeks, are given in Table 1.

The substances used to induce the umami and bitter tastes were L-Glutamic acid monohydrate monosodium salt (monosodium glutamate [MSG]; Sigma-Aldrich, France) and quinine hydrochloride dihydrate (quinine [Quin]; Merck, Germany), respectively. The experiments used MSG dosed at 15 and 25 g/kg DM hay (called MSG1 and MSG2) and Quin dosed at 2 and 3 g/kg DM hay (called Quin1 and Quin2). MSG and Quin were in powder form and were diluted with tap water at different concentrations according to dose, so that 1 kg of fresh orchard grass hay was always sprayed with 125 ml of the solution. In some experiments, the taste of the hay was not modified (control); the hay was sprayed with tap water only, in similar proportions. In all cases, the hay was sprayed and mixed manually about three hours before the tests.

The tests happened systematically at 14:00 h. On test days, animals were offered 200 g of pellets at 08:00 h until 10:00 h so that they could be tested at a constant feeding motivation. The rest of the basal diet was given to the animals between two and three hours after the end of the tests. They then received an average of 200 g FM of the permanent pasture hay and pellets in an amount that complemented the intake of experimental hay to allow a weight gain

of 150 g/d. This amount ranged between 580 and 720 g of pellets besides the 200 g offered in the morning, according to the experiment.

When animals were not tested, they received pellets (200 g) before 10:00 h, the permanent pasture hay (350 g FM on average) at 14:00 h and the rest of pellets (760 g on average) at 16:00 h. Over the whole study, the lambs consumed almost all the pellets offered as their refusals ranged from 0 to 3% of offer. Refusals of the permanent pasture hay ranged from 2 to 16 %.

Experiment 1: animal preferences for the bitter and umami tastes

Twenty-four 5-month old ewe lambs (mean liveweight 33 kg (S.D. 4.6)) were proposed two-way choice tests involving the orchard grass hay sprayed with either water (control), one of the two MSG doses (MSG1 and MSG2), or one of the two Quin doses (Quin1 and Quin2). These five foods led to eight choice types, namely: MSG1-Quin1, MSG1-Quin2, MSG2-Quin1, MSG2-Quin2, MSG1-control, MSG2-control, Quin1-control and Quin2-control that were offered in an 8x8 balanced Latin-square design (Table2).

The experiment lasted for four weeks, with two consecutive days (d1-d2 or d4-d5 each week) for each choice type. Each day, the animals were offered 300 g FM of each food in two adjacent buckets for 30 minutes. The buckets were then weighed to determine the amount of each hay consumed, thereby allowing preferences to be assessed as the ratio of each forage intake over total intake. Total intake averaged 203 ± 14 (s.e.m.) g FM.

Statistical analyses were performed with non-parametric tests because the data did not satisfy the conditions for parametric analyses. The Wilcoxon test for paired data revealed a significant day effect for half of the eight choice types. We therefore decided to work on data recorded on the second day only, considering the first day as an adaptation to the choice type. For each choice type, we compared the animals' preference with the theoretical value of non-preference (0.5) using the Wilcoxon test for paired data. Finally, we compared preferences in the different choice types using the Friedman test, which is a non-parametric alternative to ANOVA for repeated measurements. All these non-parametric tests were performed on Xlstat v.2007.1 software (Addinsoft, New York, NY).

Experiment 2: animal perception of bitter taste induced by quinine

In the first experiment, animals neither preferred nor rejected the bitter taste induced by quinine. We then needed to check that sheep actually perceived this taste and so discriminated

between the two foods offered during choice tests. We used the aversive conditioning procedure to assess this perception. A new batch of eight 6-month-old Romane ewe lambs weighing 38.2 kg (S.D. 2.9) were offered the choice between the orchard grass hay sprayed with the lowest dose of quinine, i.e. Quin1 (2 g/kg DM of hay) and with the hay sprayed with water (control hay). Animals were chosen on the basis of their initial preference for Quin1 measured during a single choice test, and on their liveweight. Lithium chloride (LiCl, Sigma Aldrich France), an emetic substance (Provenza et al., 1994), was used to induce a negative post-ingestive consequence after animals had consumed the quinine-sprayed hay. It was administered orally to the animals at 100 mg/kg BW, in gelatin capsules using a veterinary dosing gun.

After the initial preference test, the experiment lasted for two 1-week periods. Each week, animals were fed the quinine-sprayed hay on d1 and d3, and were offered the control hay on d2 and d4. On these conditioning days, 300 g FM of one of the hays was offered in a bucket to each lamb for 15 minutes. The amount of hay consumed was measured, and the animals were either administered a capsule containing half the required individual dose of LiCl for the quinine-sprayed hay or just handled with the empty dosing gun for the control hay. Forages were then offered to the animals for 30 more minutes, after which the animals were again either adversely conditioned (Quin1) or just handled (control). On d7, they were tested for choice between quinine-sprayed and control hay. During choice tests, 250 g FM of each hay were offered to the animals in two adjacent buckets for 20 minutes. The buckets were then weighed to determine preference for the quinine-sprayed hay. Animals consumed an average of 158 ± 23 (s.e.m) g FM during conditionings and 64 ± 17 g during choice tests.

Preference for the quinine-sprayed hay was arcsine-transformed to satisfy conditions for parametric analyses. It was analysed for a potential period effect using the Mixed procedure of SAS (v.8.1 software, SAS Inst. Inc., Cary, NC) with the repeated statement associated with the autoregressive covariance structure. We used the Student t-test to compare initial preference and average preference after conditioning to the theoretical value of non-preference (0.5).

Experiment 3: post-ingestive effect of the substances used to modify the tastes

This experiment aimed to check that none of the substances used to modify the tastes were responsible for any own post-ingestive effects that could have influenced the preferences measured in the first experiment. We used another new batch of twenty 5-month-old Romane

ewe lambs weighing 33 kg (S.D. 2.2). MSG and Quin were this time orally administered to the animals in gelatin capsules using a veterinary dosing gun. MSG or Quin was administered according to intakes during the conditioning days, at the rate of 15 g/kg DMI hay for MSG (MSG1) and 2 g/kg DMI of hay for Quin (Quin1). We used two powdered flavours, aniseed and orange (BFI Innovations Ltd, Chester, England), that were mixed with the orchard grass hay so that animals could discriminate between the two foods. Flavours (20 g/kg DM of hay) were mixed with cellulose powder (40 g/kg DM of hay) so as to dilute them and thereby homogenize their concentrations in the hay. During the week preceding the first conditioning phase, lambs were offered 200 g FM of orchard grass hay mixed with cellulose powder but no flavour to familiarize them with the special texture induced by the powder. On the two subsequent days, they were offered the choice between the two flavoured hays (200 g FM each) for 20 minutes to assess their initial preference, hereafter referred as preference at period 0 (P0). The 20 lambs were then divided into two groups of 10, balanced for liveweight and initial preferences. One of the groups was tested for the potential post-ingestive effects of MSG while the other group was tested for potential post-ingestive effects of Quin. In each group, for half the animals, aniseed was associated to the tested substance while orange was associated to human handling with the empty dosing gun, while the other half followed the opposite treatment.

The experiment lasted for three weeks. Each week, sheep were offered 350 g FM of one of the two flavoured hays for 15 minutes on d1 and d3 and the same amount of the other flavoured hay on d2 and d4. Feed buckets were weighed to measure the amount of hay consumed, and animals were handled or dosed with MSG or Quin according to their treatment. Refusals were offered for 30 more minutes, after which the same animals dosing procedure was followed. Animals were then tested for their choice between the two flavoured hays on d7. This choice test consisted of offering 300 g FM of each flavoured hay in two adjacent buckets for 20 minutes. The buckets were then weighed to determine preference for the flavoured hay associated with the substance. Animals' intake averaged 232 ± 5.5 g (s.e.m.) and 135 ± 5.4 g FM during conditionings and choice tests, respectively.

As data did not satisfy the conditions for parametric analyses, we used the Friedman test to assess the period (i.e. week) effect, including the initial preferences (P0), and the Wilcoxon test for paired data to compare preferences to the theoretical non-preference (0.5).

Experiment 4: bitter and umami tastes in coherent vs. incoherent learning situations

Twenty out of the 24 ewe lambs that performed experiment 1 were selected based on the stability of their preference between MSG and quinine, and on their liveweight (36 kg on average, S.D. 4.4). The 20 lambs were divided into two groups defined by coherence or incoherence of the association between tastes and their artificially-induced consequences. Umami and bitter tastes were due to MSG (15 g/kg DM of hay, MSG1) and quinine (2 g/kg DM of hay, Quin1), respectively. The substances used to induce the post-ingestive consequences were sodium propionate (Sigma Aldrich, France) for positive consequences and LiCl for negative consequences. They were both administered to sheep as a proportion of DM intake during conditioning. Propionate is one of the main volatile fatty acids (VFAs) produced in the rumen by microbes. It is an important source of energy for ruminants and was administered at the dose rate of 25 mg/g DMI of hay which elicited preferences in previous experiments (Villalba and Provenza, 1996). Lithium chloride was administered at the dose rate of 12.5 mg/g DMI which elicited aversions in previous experiments (Ginane et al., 2005). Both substances were orally administered to the animals in gelatin capsules with a veterinary dosing gun.

The experiment consisted in three 1-week periods. Each week, sheep were offered 350 g FM of one of the two taste-sprayed (i.e. quinine- or MSG-sprayed) hays for 15 minutes on d1 and d3, and the same amount of the other taste-sprayed hay on d2 and d4. Feed buckets were weighed to measure amount of hay consumed, and animals were dosed with propionate or LiCl according to their treatment and their intake. Refusals were offered for 30 more minutes, after which the same dosing procedure was followed. Animals were then tested for their choice between the two taste-sprayed hays on d7. This choice test consisted of offering 300 g FM of each taste-sprayed hay in two adjacent buckets for 20 minutes. The buckets were then weighed to determine preference for the hay taste associated with the negative consequence. At the end of this experiment, we ran two *post hoc* choice tests between each taste-sprayed hay and control hay (i.e. Quin1-control and MSG1-control) to assess how the value of each taste may have been modified by the conditionings, following the same experimental procedure. The allocation of choice type to animals and days was balanced within each group. Animals consumed an average of 231 ± 9.5 (s.e.m.) g FM during conditionings and 218 ± 6.8 g during choice tests.

Preference for the tasted hay associated with the negative consequence was arcsine-transformed to satisfy the conditions for parametric analyses (however, for purposes of

clarity, the figures present the original non-transformed values). This datasets were analysed for the potential effects of period, group (i.e. coherent or incoherent) and their interactions using the Mixed procedure of SAS with the repeated statement and the autoregressive covariance structure of the correlation matrix to account for the period effect. For the 20 lambs, we also considered the initial preferences (named Period 0, P0) measured in experiment 1 for the hay taste that was associated with the negative consequences in the current experiment. These initial preferences were included in the statistical analysis as an intercept to take account of the broad difference between groups, since the negative consequence was associated with the less-preferred bitter taste in the coherent group but with the more-preferred umami taste in the incoherent group. We then checked that differences in learning ability between coherent and incoherent groups could not be the result of different amounts of propionate or LiCl administrated to the animals during conditionings: we expressed the amount of these substances as g per kg liveweight and analysed them for the potential effects of group, period, and their interactions using the Mixed procedure of SAS with the repeated statement (autoregressive covariance structure) to account for period effect. All non-significant interactions were removed from the models. Finally, we analysed preferences for the taste-sprayed hays in the *post hoc* MSG1-control and Quin1-control tests recorded at the end of experiment 2 while considering the initial preferences of the same 20 lambs recorded for these choice types in experiment 1. We considered the potential effects of experiment (exp. 1 *vs*. 2), group (coherent *vs*. incoherent), taste (umami *vs*. bitter) and their interactions using the same Mixed procedure of SAS with the repeated statement to account for experiment effect. We ran a Student t-test to compare these preferences to the theoretical value of non-preference (0.5).

RESULTS

Experiment 1: animal preferences for the bitter and umami tastes

Ewe lambs clearly preferred the MSG-sprayed hay whatever the dose (MSG1 and MSG2) or the alternative (Quin1, Quin2 or control: $P < 0.01$ in all cases; Figure 1). Whatever the dose of quinine (Quin1, $P = 0.39$; Quin2, $P = 0.58$), they neither preferred nor rejected the quinine-sprayed hay when it was offered alongside control hay. The strength of the preference for MSG was similar over all choice types involving MSG, and was higher ($P < 0.0001$) than for the choice types involving quinine (Quin1 or Quin2) and controls (Figure 1). This led us to

consider the MSG1-Quin1 choice type in the following steps of the experiment, after having checked that animals were able to perceive the Quin1 dose in experiment 2.

Experiment 2: animal perception of bitter taste induced by quinine

Preference for the quinine-sprayed hay decreased as the result of aversive conditionings with LiCl ($P < 0.01$): there was a clear drop between the initial preference measured before any conditioning (0.63 ± 0.11 s.e.m.) and the preference measured at the end of the first conditioning period (0.16 ± 0.06 s.e.m.). Since there were no further decreases at the end of the second conditioning period ($P = 0.27$), we pooled the results of these two periods to compare lambs' preferences with the theoretical preference value of 0.5. Initial preference for quinine-sprayed hay did not differ from 0.5 ($P = 0.27$) while preference after conditionings was lower (0.22 ± 0.06; $P < 0.01$), indicating that animals rejected the Quin1 dose and thus had perceived it.

Experiment 3: post-ingestive effect of the substances used to modify the tastes

Preferences for the flavoured hays associated with post-ingestive administration of either MSG1 or Quin1 did not change with periods ($P = 0.50$ for MSG1 and $P = 0.93$ for Quin1), indicating the absence of any post-ingestive effect of these substances. Preference for the flavoured hay associated with MSG1 averaged 0.40 ± 0.07, which was not statistically different from 0.5 ($P = 0.13$). The same conclusion was drawn with Quin1 (average preference: 0.49 ± 0.06; $P = 0.96$).

Experiment 4: bitter and umami tastes in coherent vs. incoherent learning situations

The preference for the tasted hay that was adversely conditioned with LiCl was affected by group (coherent *vs*. incoherent: $P < 0.01$), period ($P < 0.01$) and their interaction ($P < 0.01$; Figure 2). In P0 before any conditioning, there was a strong between-group difference due to the high preference for MSG-sprayed hay compared to quinine-sprayed hay. Both groups nevertheless decreased their preference through successive conditionings, with a stronger aversion after six conditionings in P3 in the coherent group than the incoherent group, although the coherent-group preference only decreased significantly between P2 and P3 (Figure 2).

Both the coherent and incoherent groups received similar doses of LiCl ($P = 0.37$) whatever the period ($P = 0.10$), with an average of 60 ± 1.8 mg/kg BW. Animals in the coherent group

received a higher dose of sodium propionate than those of the incoherent group (158 ± 4.4 and 120 ± 5.5 mg/kg BW respectively; $P < 0.001$) without any period effect ($P = 0.06$).

In the *post-hoc* tests, preference for the tasted hay in choice with the control hay was not influenced by experiment ($P = 0.23$) but was affected by group ($P < 0.01$), taste ($P < 0.01$) and the interaction between these three factors ($P = 0.012$). Preference for the MSG-sprayed hay (umami taste) increased after conditionings in the coherent group ($P < 0.05$), i.e. when it was associated with the positive consequence, but decreased in the incoherent group ($P < 0.01$), i.e. when it was associated with the negative consequence (Figure 3). Conversely, preference for the quinine-sprayed hay (bitter taste) did not change after conditionings in either the coherent or the incoherent group ($P > 0.05$; Figure 3). After conditionings (exp. 2), preference for MSG-sprayed hay had thus became stronger in the coherent than in the incoherent group ($P < 0.0001$), while preference for quinine-sprayed hay remained similar between groups ($P = 0.74$). Preference for the taste associated with the negative consequence (bitter taste for the coherent group and umami taste for the incoherent one) was similar between groups ($P = 0.97$), whereas preference for the taste associated with the positive consequence was higher in the coherent than in the incoherent group ($P < 0.0001$; Figure 3). Compared to the theoretical non-preference value of 0.5, the MSG-sprayed hay was always preferred relative to the control hay before conditionings (exp. 1), but after conditionings (exp. 4) it was only preferred by the coherent group. Preference for the quinine-sprayed hay always ranged between 0.3 – 0.4, which was not significantly different from 0.5 ($P > 0.05$; Figure 3).

DISCUSSION

The aim of the study was to investigate whether sheep give an *a priori* positive or negative value to umami and bitter tastes. The umami taste could reveal a nutritional reward while the bitter taste could reflect a toxic load, therefore acting as cues allowing animals to anticipate the consequences of their choices. For this purpose, we assessed the spontaneous preferences of sheep for umami and bitter tastes independently of any immediate post-ingestive consequence, before submitting the animals to a conditioning procedure that confronted them with either a coherent or an incoherent situation compared to their initial evaluation of the tastes. The main results are that lambs expressed a strong spontaneous preference for umami taste although it did not induce any positive post-ingestive consequence, and that they were indifferent to bitter taste although it was perceived. The lambs confronted with either a

coherent or an incoherent learning situation decreased their preference for the tasted hay associated with the negative consequence and thus increased their preference for the tasted hay associated with the positive consequence. The *post hoc* evaluation of the value of the tastes (compared to control) showed that lambs reacted to the consequences associated with the umami-tasting hay according to whether these consequences were positive or negative, whereas their choice for the bitter-tasting hay was unaffected by conditionings.

Are umami and bitter tastes evaluated by sheep as good or bad tastes?

First discovered by Ikeda in 1908, umami is a distinctive taste that has been recognised as the fifth basic taste (see Kurihara, 2009 for review). It is delivered by glutamate, a derivative of glutamic acid which is a major component of plant and animal proteins (Yamagushi and Ninomiya, 2000). In humans, glutamate is recognised to play important roles in the taste, palatability and acceptability of foods (Yamaguchi and Ninomiya, 2000).

Whatever the doses of MSG used (MSG, 15 or 25 g/kg MS) and whatever the alternative, the lambs expressed a clear, roughly 80% preference for hay sprayed with MSG, and there was remarkably little variation between individuals (Figure 1). These results support those of Gherardi and Black (1991) who obtained similar preferences with MSG solutions ranging from 2.4 to 44 g/kg hay, without any dose effect. Moreover, this preference appears to be independent of any immediate post-ingestive effect of MSG, as shown in experiment 3, indicating that this preference for the umami taste cannot derive from any immediate animal learning processes. However, considering that all lambs followed the same feeding schedule before the experiment, this preference could come from previous associative learning, as MSG is involved in a variety of essential metabolic processes (synthesis of other amino acids such as glutamine and glutathione) and carbohydrate metabolism, and may also be a source of energy (Prescott, 2004). Finally, the preference for umami taste could also derive from evolutionary processes conferring this taste with a positive hedonic value (hedyphagia) linked to a food protein signalling function (Naim et al., 1991). Whatever the process(es) underlying this preference, our results combined with those showing MSG to increase intake in sheep (Colucci and Grovum, 1993; Grovum and Chapman, 1988) suggest that monosodium glutamate, which delivers umami taste, increases food palatability.

Quinine is a natural alkaloid of some trees of the genus *Cinchona*, and which is recognised for its bitter taste. We used it for this purpose and to mimic certain sensory characteristics of secondary plant compounds, many of which are recognised to have a bitter taste (e.g.

sesquiterpenes, cyanogenic glycosides, alkaloids, flavonoids or saponins; Rogosic et al., 2008).

In our experiment, quinine neither induced preference nor aversion in ewe lambs, whatever the tested dose. Experiment 2 demonstrated that lambs perceived the bitter taste of quinine, since they rejected the quinine-flavoured hay after negative conditionings. This means that they were indifferent to this taste at the doses used in our experiment. This runs contrary to the general assumption that rejection of bitterness is an adaptive behaviour which has evolved as a way to facilitate avoidance of toxic foods (Garcia and Hankins, 1975; Glendinning, 1994). Goatcher and Church (1970b) used two-bottle choice tests to show that the discrimination threshold of bitter taste induced by quinine was lower than its rejection threshold, so we can assume that quinine may have been perceived but not rejected because of a dose effect. Glendinning (1994) hypothesized that animals including herbivores that have a relatively high incidence of bitter and potentially toxic compounds in their diet have evolved a high rejection threshold for bitter taste and tolerance to dietary poisons so that the range of their potential foods is not drastically limited. This is supported by the fact that sheep have also evolved behavioural and internal adaptive mechanisms to lessen the impact of toxic compounds (Launchbaugh et al., 2001). We thus suppose that the doses of quinine used in this study allowed sheep to perceive the bitter taste but were too low to induce the adaptive rejection response.

Are umami and bitter tastes used by sheep as indicators of post-ingestive consequences?

In experiment 2, we associated the umami and bitter tastes with positive and negative consequences in either a coherent or an incoherent setting on the basis of their initial taste evaluations. Both groups learnt to associate the consequences with the tastes, as they both decreased preference for the tasted hay associated with the negative consequence at the end of the third experimental period (Figure 2). Absolute aversion was stronger from coherent-group lambs than incoherent-group lambs, including after the third experimental period (i.e. after six conditionings) when both groups had received similar doses of lithium chloride per kg body weight. Unfortunately, the high between-group differences in initial preferences hinder the comparison of learning efficiency between groups due to the different potential amplitudes of choice variation as learning progressed. Even considering individual initial preferences as an intercept, we cannot conclude on a better learning efficiency of the coherent group compared to the incoherent group.

The *post hoc* choice tests performed between control hay and each of the taste-sprayed hays at the end of the second experiment did however enable us to investigate how the initial value of each taste recorded in experiment 1 had evolved after six positive or negative conditionings. The value of the umami taste varied logically according to the nature of the post-ingestive consequences, as lambs' preference for this taste increased after conditionings with sodium propionate but decreased after conditionings with LiCl (Figure 3). Our post-ingestive consequences were thus adequate in eliciting preference or aversion, which is consistent with previous trials using sodium propionate and LiCl at similar doses (Du Toit et al., 1991; Villalba and Provenza, 1996). Conversely, the value of the bitter taste did not significantly vary after positive or aversive conditionings (Figure 3), and was similar to umami taste values once negatively-conditioned. The aversive conditionings thus acted differently according to taste of the hay on which they were applied, but led to similar levels of aversion. This level was, in the circumstances ,a moderate aversion (0.35 on average) due to the moderate dose rates of LiCl administered (60 ± 1.8 mg/kg BW) that were very close to the voluntarily supported threshold in sheep, which ranges from 57 mg/kg BW (Wang and Provenza, 1997) to 63 mg/kg BW (Launchbaugh et al., 1993). The value of the bitter taste did not increase after positive conditionings, in contrast with the value of the umami taste. This could be explained by sheep's wariness to bitter taste. From an evolutionary point of view, it is certainly adaptive to reject the hay that has a taste usually associated with the negative post-ingestive consequences, regardless of whether it tastes 'good' or 'bad', and to respond in a dose-responsive manner (e.g. a moderate rejection for a moderate negative consequence; Du Toit et al., 1991). It could also be adaptive to not increase preference for a food that has a taste suggestive of toxicity although this taste was exceptionally associated with a positive post-ingestive consequence, and to take the more prudent option of selecting a mixed diet to help dilute the toxin (Burritt and Provenza, 2000) and sample food to update animal knowledge.

CONCLUSION

This study showed that primary tastes do influence sheep diet selection, at least in the short term. Firstly, tastes can shape animal preferences without associated post-ingestive consequences, as is the case of the umami taste which always induced strong preferences with low individual variability. Secondly, tastes can have different values that prompt sheep to be more or less prepared to associate them with consequences that are coherent or incoherent

relative to their *a priori* evaluation. We supposed that the umami taste had a positive value and the bitter taste had a negative value. Sheep easily decreased their preference for an *a priori* positive taste that had become negative due to a survival challenge, but they remained suspicious towards an *a priori* negative taste that was associated with positive reward. This difference in behaviour suggests sheep attribute *a priori* values to the tastes tested. Consequently, sheep could use tastes as cues to anticipate food consequences and thus to forage more efficiently and safely.

ACKNOWLEDGMENTS

The work was funded by the INRA division on animal physiology and breeding systems (PHASE). We thank S. Eskinazi from BFI Innovations Ltd for providing us with the artificial flavourings, and M. Pauchet for contributing to the study. We are grateful to M. Bernard, M. Fabre, B. Mallet, C. Mathevon and J.-B. Teuma from the INRA experimental farm, and L. Lanore and F. Decuq for technical assistance, as to A. Le Morvan and P. Capitan for help with the forage analyses.

REFERENCES

Aronsson, M., Gamberale-Stille, G., 2008. Domestic chicks primarily attend to colour, not pattern, when learning an aposematic coloration. Anim. Behav. 75, 417-423.

Augner, M., Bernays, E., 1998. Plant defence signals and Batesian mimicry. Evol. Ecol. 12, 667-679.

Baumont, R., 1996. Palatability and feeding behaviour in ruminants: a review. Ann. Zootech. 45, 385-400.

Burritt, E.A., Provenza, F.D., 2000. Role of toxins in intake of varied diets by sheep. J. Chem. Ecol. 26, 1991-2005.

Colucci, P.E., Grovum, W.L., 1993. Factors affecting the voluntary intake of food by sheep. 6. The effect of monosodium glutamate on the palatability of straw diets by sham-fed and normal animals. Br. J. Nutr. 69, 37-47.

Du Toit, J.T., Provenza, F.D., Nastis, A., 1991. Conditioned taste aversions: how sick must a ruminant get before it learns about toxicity in foods? Appl. Anim. Behav. Sci. 30, 35-46.

Favreau, A., Baumont, R., Duncan, A.J., Ginane, C., in press. Sheep use pre-ingestive cues as indicators of post-ingestive consequences to improve food learning. J. Anim. Sci. 1910. doi: 10.2527/jas.2009-2455.

Forbes, J.M., 1998. Dietary awareness. Appl. Anim. Behav. Sci. 57, 287-297.

Forbes, J.M., Provenza, F.D., 2000. Integration of Learning and Metabolic Signals into a Theory of Dietary Choice and Food Intake. In: Cronjé, P.B. (Ed.), Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction, CAB International, Wallingford, UK, pp. 3-19.

Garcia, J., Hankins, W.G., 1975. The evolution of bitter and the acquisition of toxiphobia. In: Denton, D.A., Coghlan, J.P. (Eds.), Olfaction and Taste: Proc. 5th Int. Symp., Academic Press, NY, USA, pp. 39-45.

Gherardi, S.G., Black, J.L., 1991. Effect of palatability on voluntary feed intake by sheep. I-Identification of chemicals that alter the palatability of a forage. Austr. J. Agric. Res. 42, 571-584.

Ginane, C., Dumont, B., 2006. Generalization of conditioned food aversions in grazing sheep and its implication for food categorization. Behav. Proc. 73, 178-186.

Ginane, C., Duncan, A.J., Young, S.A., Elston, D.A., Gordon, I.J., 2005. Herbivore diet selection in response to simulated variation in nutrient rewards and plant secondary compounds. Anim. Behav. 69, 541-550.

Glendinning, J.I., 1994. Is the bitter rejection response always adaptive? Physiol. Behav. 56 (6), 1217-1227.

Goatcher, W.D., Church, D.C., 1970a. Taste responses in ruminants. I. Reactions of sheep to sugars, saccharin, ethanol and salts. J. Anim. Sci. 30, 777-783.

Goatcher, W.D., Church, D.C., 1970b. Taste responses in ruminants. II. Reactions of sheep to acids, quinine, urea and sodium hydroxide. J. Anim. Sci. 30, 784-790.

Grovum, W.L., Chapman, H.W., 1988. Factors affecting the voluntary intake of food by sheep. 4. The effect of additives representing the primary tastes on sham intakes by oesophageal-fistulated sheep. Br. J. Nutr. 59, 63-72.

INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux - Valeurs des aliments. Ed. Quae, INRA Versailles, France.

Krueger, W.C., Laycock, W. A., Price, D.A., 1974. Relationship of taste, smell, sight, and touch to forage selection. J. Range Manage. 27, 258-262.

Kurihara, K., 2009. Glutamate: from discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami). Am. J. Clin. Nutr. 90, 719-772.

Launchbaugh, K.L., Provenza, F.D., 1994. The effect of flavor concentration and toxin dose on the formation and generalization of flavor aversions in lambs. J. Anim. Sci. 72, 10-13.

Launchbaugh, K.L., Provenza, F.D., Burritt, E.A., 1993. How herbivores track variable environments: response to variability of phytotoxins. J. Chem. Ecol. 19, 1047-1056.

Launchbaugh, K.L., Provenza, F.D., Pfister, J.A., 2001. Herbivore response to anti-quality factors in forages. J. Range Manage. 54, 431-440.

Naim, M., Ohara, I., Kare, M.R., Levinson, M., 1991. Interaction of MSG taste with nutrition - Perspectives in consummatory behavior and digestion. Physiol. Behav. 49 (5), 1019-1024.

Prescott, J., 2004. Effects of added glutamate on liking for novel food flavors. Appetite 42, 143-150.

Provenza, F. D., Ortegareyes, L., Scott, C.B., Lynch, J.J., Burritt, E.A., 1994. Antiemetic drugs attenuate food aversions in sheep. J. Anim. Sci. 72, 1989-1994.

Rhoades, D.F., 1979. Evolution of plant chemical defense against herbivores, in: Rosenthal, G.A. Janzen, D.H. (Eds), Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites. Academic Press, New York, pp 4-55.

Rogosic, J., Estell, R.E., Ivankovic, S., Kezic, J., Razov, J., 2008. Potential mechanisms to increase shrub intake and performance of small ruminants in Mediterranean shrubby ecosystems. Small Rum. Res. 74, 1-15.

Swithers, S.E., Davidson, T.L., 2008. A role for sweet taste: Calorie predictive relations in energy regulation by rats. Behav. Neurosci. 122, 161-173.

Villalba, J. J., Provenza, F.D., 1996. Preference for flavored wheat straw by lambs conditioned with intraruminal administrations of sodium propionate. J. Anim. Sci. 74, 2362-2368.

Wang, J., Provenza, F.D., 1997. Dynamics of preference by sheep offered foods varying in flavors, nutrients, and a toxin. J. Chem. Ecol. 23, 275-288.

Yamaguchi, S., Ninomiya, K., 2000. Umami and food palatability. J. Nutr. 130, 921-926.

Yearsley, J. M., Villalba, J. J., Gordon, I. J., Kyriazakis, I., Speakman, J. R., Tolkamp, B. J., Illius, A. W., Duncan, A. J., 2006. A theory of associating food types with their postingestive consequences. Amer. Nat. 167, 705-716.

Table 1: Chemical characteristics (mean ± s.d.) of the foods used in the study

	Experimental orchard grass hay	Permanent pasture hay	Pellets
Dry matter (% DM)	89.3 ± 2.7	88.7 ± 3.1	90.1 ± 0.6
Crude Protein (g / kg DM)	109.1 ± 9.1	77.0 ± 13.1	188.4 ± 7.2
Neutral Detergent Fibre (g / kg DM)	651.5 ± 21.6	671.3 ± 24.0	327.1 ± 15.6
Acid Detergent Fibre (g / kg DM)	341.4 ± 11.9	376.4 ± 13.3	165.2 ± 10.2
OM digestibility (%)	57.7 ± 2.4	53.2 ± 1.6	78.2 ± 0.9

Organic matter digestibility was assessed using the pepsin-cellulase method (Aufrère and Michalet-Doreau, 1983).

Table 2

Sequences of choice tests for each ewe lamb, within the 8x8 Latin square design in experiment 1. Choice tests involved orchard grass hay sprayed with either Msg at two doses (M1 and M2), quinine at two doses (Q1 and Q2) or water (control, C)

	Week 1		Week 2		Week 3		Week 4	
Lambs	d1-d2	d4-d5	d1-d2	d4-d5	d1-d2	d4-d5	d1-d2	d4-d5
1 to 3	M1-C	M2-Q2	M2-C	M2-Q1	Q1-C	M1-Q2	Q2-C	M1-Q1
4 to 6	M2-Q2	M2-Q1	M1-C	M1-Q2	M2-C	M1-Q1	Q1-C	Q2-C
7 to 9	M2-Q1	M1-Q2	M2-Q2	M1-Q1	M1-C	Q2-C	M2-C	Q1-C
10 to 12	M1-Q2	M1-Q1	M2-Q1	Q2-C	M2-Q2	Q1-C	M1-C	M2-C
13 to 15	M1-Q1	Q2-C	M1-Q2	Q1-C	M2-Q1	M2-C	M2-Q2	M1-C
16 to 18	Q2-C	Q1-C	M1-Q1	M2-C	M1-Q2	M1-C	M2-Q1	M2-Q2
19 to 21	Q1-C	M2-C	Q2-C	M1-C	M1-Q1	M2-Q2	M1-Q2	M2-Q1
22 to 24	M2-C	M1-C	Q1-C	M2-Q2	Q2-C	M2-Q1	M1-Q1	M1-Q2

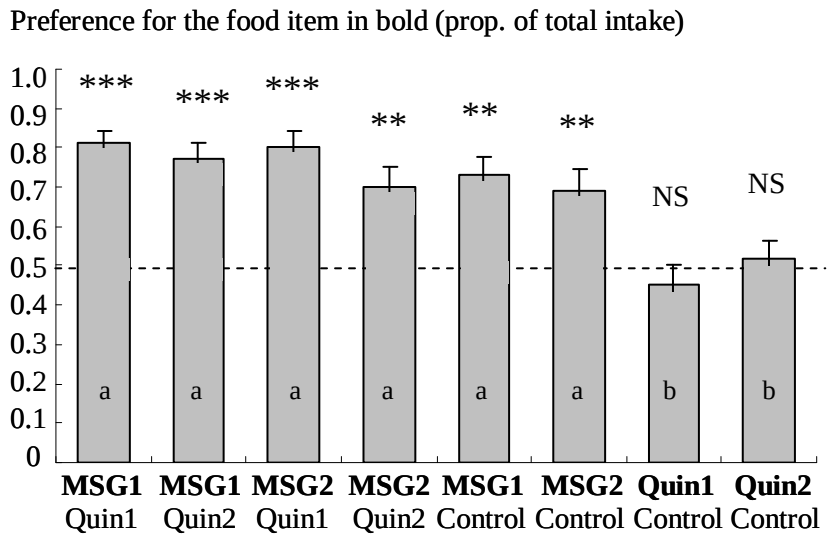


Figure 1: Experiment 1. Preferences (mean ± s.e.m.) of lambs (n=24) for the food item in boldface depending on choice type, on day 2. MSG1, MSG2, Quin1 and Quin2 correspond to doses of monosodium glutamate (15 g/kg DM of hay (MSG1) or 25 g/kg DM of hay (MSG2)) or quinine (2 g/kg DM of hay (Quin1) or 3 g/kg DM of hay (Quin2)) sprayed onto orchard grass hay. Control corresponds to the same hay sprayed only with water.

Asterisks represent differences from the theoretical value of 0.5: *** ($P < 0.001$), ** ($P < 0.01$), NS ($P > 0.05$). Bars with different letters indicate differences in preference between choice types.

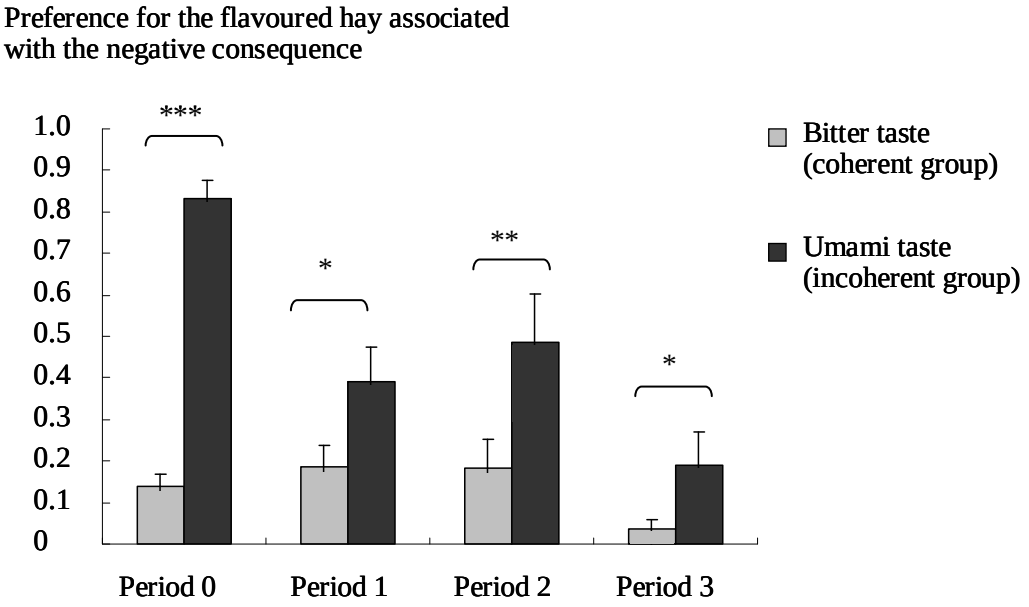


Figure 2: Experiment 4. Preferences (mean ± s.e.m.) for the flavoured hay associated with the negative consequence during conditionings depending on the taste (umami vs. bitter) associated with this consequence, through the experimental periods. The bitter taste, induced by quinine (2 g/kg DM hay), was associated with lithium chloride (negative consequence) in the coherent group. The umami taste, induced by monosodium glutamate (15 g/kg DM hay), was associated with LiCl in the incoherent group. Period 0 corresponds to the preferences expressed before any negative conditioning, i.e. during exp. 1.

Asterisks represent differences between tastes: *** ($P < 0.0001$), ** ($P < 0.01$), * ($P < 0.05$).

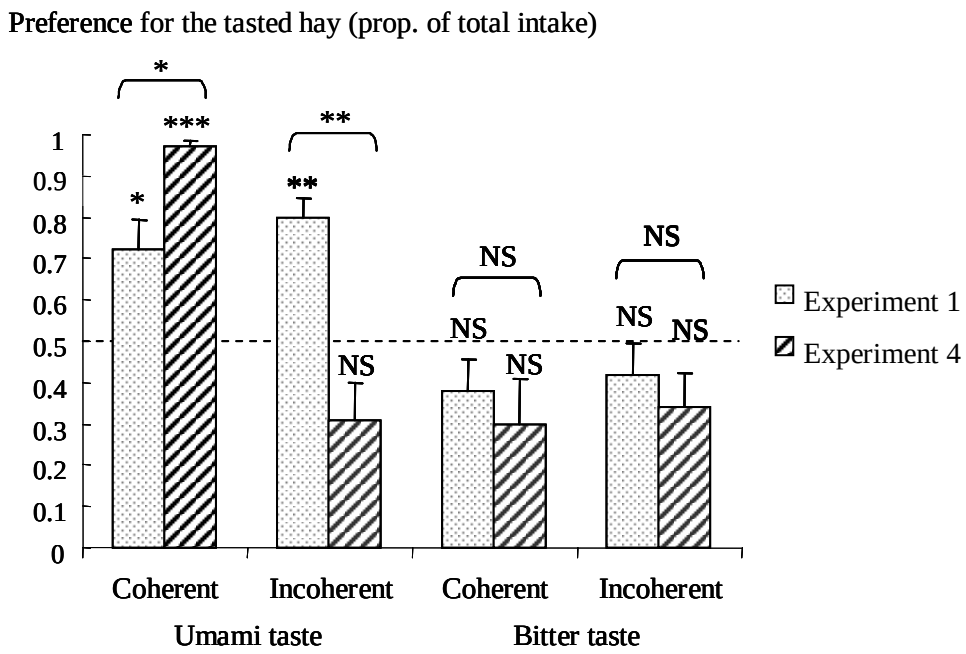


Figure 3: *Post hoc* tests in experiment 4. Preferences (mean ± s.e.m.) for the tasted hay offered in choice with control hay, depending on taste (umami, MSG1 or bitter, Quin1), group (coherent vs. incoherent) and experiment (experiment 1: before conditioning vs. experiment 4: after conditioning). During the conditioning in experiment 4, the umami and bitter tastes were associated to positive and negative consequences, respectively, for the coherent group, and vice versa for the incoherent group.

Asterisks above each bar represent differences from the theoretical value of 0.5: *** ($P < 0.001$), ** ($P < 0.01$), * ($P < 0.05$), NS ($P > 0.05$). Asterisks between spanning a pair of bars represent differences between experiments.

DISCUSSION GÉNÉRALE

L'objectif général de cette thèse est de préciser le rôle des caractéristiques sensorielles dans les qualitatifs et quantitatifs du comportement alimentaire des ovins.

Nous avons travaillé selon un premier axe qui a pour ambition de déterminer si les caractéristiques sensorielles des aliments peuvent influencer, en l'absence de toutes conséquences post-ingestives associées, les préférences alimentaires spontanées, l'ingestion, et/ou les activités alimentaires des ovins (Figure 8). Pour traiter cette question, nous avons réalisé l'expérimentation "introduction ruminale" qui nous a permis de préciser l'influence des caractéristiques sensorielles et des conséquences post-ingestives sur l'ingestion journalière et l'activité alimentaire des ovins, pris comme modèle d'herbivores ruminants. Les effets des caractéristiques sensorielles et ceux des conséquences post-ingestives ont pu être dissociés grâce à une méthode expérimentale permettant de contrôler les aspects sensoriels et post-ingestifs de l'alimentation des animaux via un aliment offert à l'auge et un aliment (différent ou identique) introduit directement dans le rumen des animaux. Les différents tests de choix binaires réalisés au cours de l'expérimentation "goûts primaires", ainsi qu'au cours des tests présentés en annexe, ont également apporté des informations sur l'existence de préférences spontanées et stables pour certains goûts primaires, tels que l'umami et l'amer, lorsqu'ils sont comparés l'un à l'autre ou à un témoin.

Le second axe de la thèse concerne le rôle des caractéristiques sensorielles dans les apprentissages alimentaires en milieu complexe. L'expérimentation "indicateurs" s'est attachée à déterminer si les caractéristiques sensorielles peuvent jouer un rôle d'indicateur des conséquences post-ingestives et ainsi améliorer les performances d'apprentissage en milieu complexe (*i.e.*, présentation simultanée des aliments lors des conditionnements). Nous avons pour cela créé des indicateurs à partir de caractéristiques sensorielles qui étaient des flaveurs artificielles, afin de contrôler la connaissance des animaux. L'expérimentation "goûts primaires" avait quant à elle pour objectif de déterminer si certains goûts primaires, tels que les goûts umami et amer, peuvent jouer ce rôle d'indicateur. Nous avons d'abord testé les préférences des moutons pour ces goûts en l'absence de conséquences puis nous avons comparé leurs performances d'apprentissage selon qu'ils étaient soumis à une situation d'apprentissage, c'est-à-dire à une association goût – conséquence, cohérente ou incohérente relativement à leur évaluation initiale des goûts.

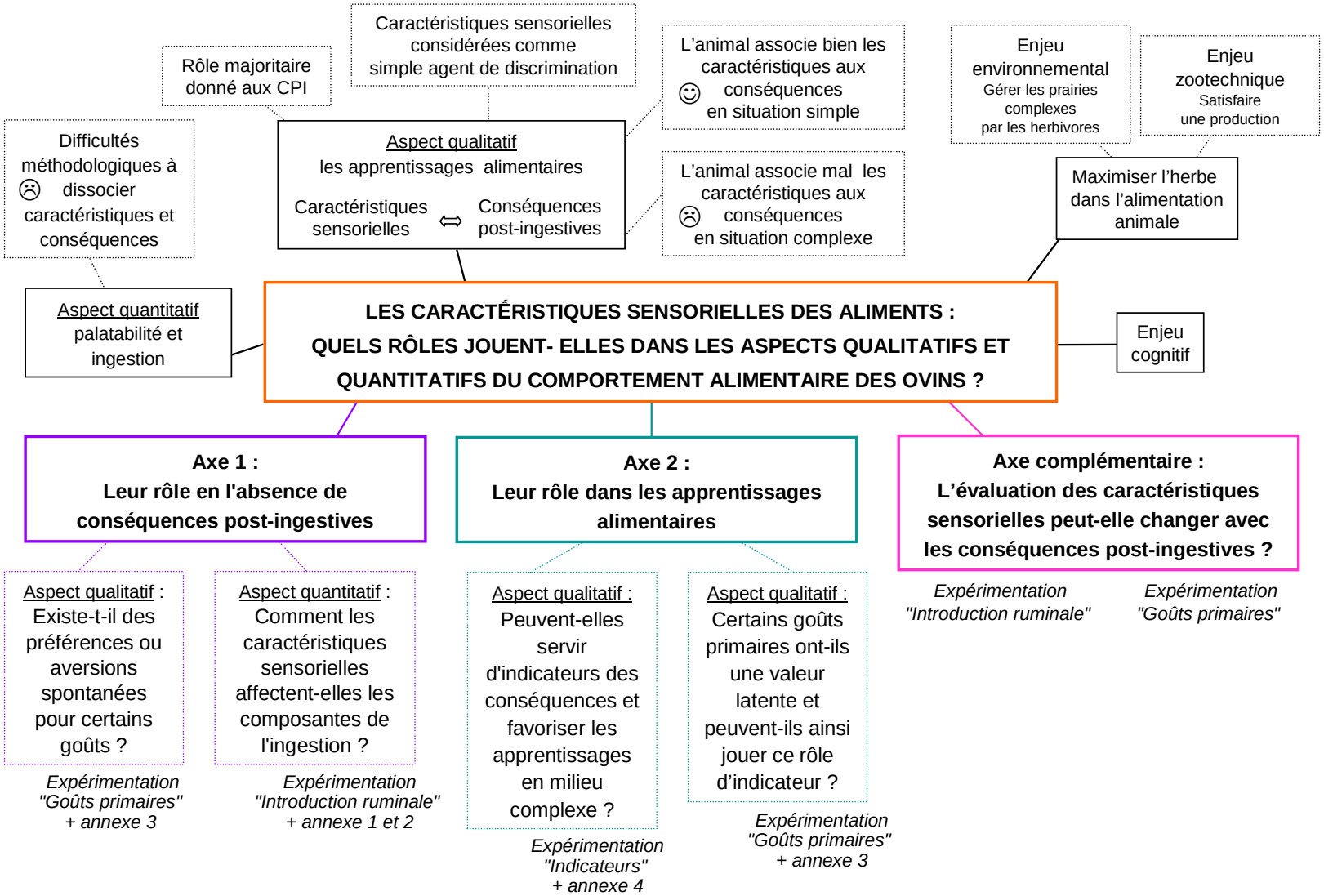


Figure 8 : Schéma de la question centrale de la thèse, de ses enjeux, du contexte scientifique aussi bien au sujet des aspects qualitatifs que quantitatifs du comportement alimentaire, et des trois axes de réflexion qui seront développés au cours de la discussion générale.

L'expérimentation "introduction ruminale" a également confronté les animaux à des aliments connus dont les conséquences post-ingestives étaient régulièrement modifiées (modification de l'encombrement du rumen notamment) ce qui nous a permis d'analyser dans quelle mesure l'animal réévalue l'aliment alors que ses caractéristiques sensorielles sont inchangées. De la même manière, les mesures des préférences alimentaires avant et après conditionnements, réalisées dans l'expérimentation "goûts primaires", nous permettent de déterminer si la valeur attribuée par l'animal à une même caractéristique sensorielle peut changer selon la nature de la conséquence post-ingestive associée. Nous avons donc choisi de créer un axe de discussion complémentaire aux deux précédents, portant sur la capacité de réévaluation des caractéristiques sensorielles à la suite d'une modification des conséquences post-ingestives qui leurs sont associées.

Ainsi, après avoir présenté un bilan synthétique des principaux résultats obtenus dans chacune des expérimentations, nous les discuterons selon les 3 axes présentés précédemment (Figure 8) tout en abordant brièvement certaines difficultés méthodologiques rencontrées, principalement dans le but de présenter les solutions adoptées et les limites des résultats obtenus. Les essais méthodologiques présentés en annexe, seront également mobilisés dans cette discussion

I. LES PRINCIPAUX RESULTATS

I.1. Expérimentation "introduction ruminale"

⇨ *Comment varient l'ingestion et l'activité alimentaire lorsque deux aliments différents sont associés à des conséquences post-ingestives similaires (Go/Lr vs Lo/Gr) ?*

• les quantités ingérées sur 6 heures sont identiques, mais avec différents ajustements comportementaux (L consommé plus rapidement et G consommé plus longtemps)

• la consommation de L est supérieure à celle de G les 20 premières minutes qui suivent l'offre alimentaire et durant la dernière heure d'offre alimentaire

⇨ *Comment varient l'ingestion et l'activité alimentaire lorsqu'un même aliment est associé à différentes conséquences post-ingestives (Lo/Gr vs Lo/Lr et Go/Gr vs Go/Lr) ?*

• la quantité ingérée sur 6 heures est augmentée quand le foin de légumineuse, le moins encombrant et le plus nutritif, est introduit dans le rumen des moutons ; c'est le résultat de

différents ajustements comportementaux en fonction du foin consommé oralement (les moutons mangent plus vite avec L et plus longtemps avec G)

⇨ *Comment varient les préférences alimentaires dans ces différentes situations ?*

• les préférences sont orientées en faveur du foin qui n'était pas préalablement consommé oralement quelle que soit la nature du foin introduit dans le rumen
• à conséquences post-ingestives similaires (Lo/Gr et Go/Lr), la préférence pour le foin non consommé au préalable a tendance à être plus marquée lorsque ce foin est la luzerne

I.2. Expérimentation "indicateurs"

⇨ *Les caractéristiques sensorielles jouent-elles un rôle d'indicateur des conséquences post-ingestives, permettant ainsi de faciliter les apprentissages alimentaires en milieu complexe ?*

• les performances d'apprentissage (rejet de l'arôme associé à la conséquence post-ingestive négative et inversement) sont meilleures en situation simple qu'en situation complexe quelle que soit l'expérience, et meilleures pour les animaux expérimentés que pour les animaux naïfs quelle que soit la complexité de la situation
• la forte préférence initiale pour la flaveur anis par rapport à l'orange persiste au cours des conditionnements et se traduit par un rejet de la flaveur conditionnée négativement moins important lorsqu'il s'agit de l'anis

I.3. Expérimentation "goûts primaires"

⇨ *Existe-t-il des préférences ou des aversions spontanées et stables pour certains goûts en l'absence de conséquences post-ingestives immédiates ?*

• le foin enrichi avec le goût umami est préféré au foin témoin et au foin enrichi avec le goût amer, qui lui n'est ni préféré ni évité face au foin témoin

⇨ *Certains goûts primaires, tels que l'umami et l'amer, ont-ils une valeur latente qui leur permettrait de jouer ce rôle d'indicateur ?*

• le rejet du goût associé à la conséquence négative est supérieur dans le lot pour lequel les associations sont cohérentes avec les préférences spontanées (umami – conséquence positive, amer – conséquence négative)
• les tests *post hoc* indiquent que la préférence pour le goût umami est augmentée ou diminuée, en accord avec la nature des conséquences associées. En revanche la préférence

pour le goût amer n'est pas modifiée quelle que soit la nature des conséquences ; elle est similaire à celle pour le goût umami après les conditionnements négatifs

II. LE ROLE DES CARACTERISTIQUES SENSORIELLES EN L'ABSENCE DE CONSEQUENCES POST-INGESTIVES

Lorsque l'on veut isoler les effets des caractéristiques sensorielles de ceux des conséquences post-ingestives afin de démontrer leur rôle tout en travaillant avec des aliments naturels (en l'occurrence des fourrages), on est confronté à des difficultés méthodologiques non négligeables du fait que les effets de ces deux paramètres sont généralement interdépendants. Pour illustrer ce propos, voici quelques exemples :

- pour modifier la texture d'un fourrage, on peut le hacher plus ou moins finement mais cela modifie dans le même temps de nombreux paramètres post-ingestifs tels que sa digestibilité, qui, en raison de l'augmentation de la surface disponible à l'action des micro-organismes du rumen, s'en trouve améliorée,
- pour modifier la couleur d'un fourrage, on peut travailler avec des fourrages de couleurs différentes, mais les différences de couleur sont généralement liées à des différences de maturité du foin et donc à des effets post-ingestifs différents (plus un fourrage est jaune, plus il est mature et moins il est nutritif). D'autres méthodes, qui mériteraient d'être testées, consisteraient à utiliser des spots de couleurs différentes ou des colorants alimentaires, après s'être assuré de l'absence d'effets post-ingestifs propres à ces substances,
- pour modifier les effets du goût sur le comportement alimentaire, on peut ajouter un goût à un foin, mais il faut s'assurer ici aussi que la substance utilisée n'induit pas de conséquence, comme c'est le cas par exemple avec une solution sucrée par du glucose.

Pour isoler les effets des caractéristiques sensorielles, nous avons travaillé en l'absence de conséquences post-ingestives ou à conséquences post-ingestives similaires. Les méthodes utilisées au cours de la thèse consistent i/ soit à ajouter des flaveurs ou des goûts à un même fourrage sans qu'ils induisent de conséquences post-ingestives, ii/ soit à réaliser des tests de choix de courte durée pour mesurer des préférences avant que les animaux ne ressentent les conséquences post-ingestives associées aux différents aliments, iii/ soit à induire des conséquences post-ingestives similaires pour différentes caractéristiques sensorielles grâce à des introductions intra-ruminales.

II.1. Préférences spontanées en l'absence de conséquences et variabilité individuelle

L'étude des préférences alimentaires est rendue complexe par une importante variabilité inter- et/ou intra-individuelle. En effet, lorsque nous avons cherché une combinaison de deux fourrages présentant des préférences relatives partielles (70 - 30 %) sur 6 jours consécutifs (annexe 1), nous avons constaté que, selon la nature des fourrages considérés, les animaux expriment soit des préférences extrêmes (autour de 95 - 5%) ce qui tend à réduire la variabilité des préférences exprimées, soit des préférences équilibrées en moyenne (autour de 50 %) mais avec une forte variabilité inter-individuelle traduisant des préférences individuelles parfois opposées. Prache *et al.* (2006) ont également été confrontés à une importante variabilité inter-individuelle. Ainsi, lorsque des brebis ont le choix entre deux monocultures contiguës de ray-grass et de fétuque élevée pendant 10 jours, la proportion moyenne de ray-grass dans la ration alimentaire totale sur l'ensemble des 10 jours d'étude varie de 46 à 74 %. Les auteurs attribuent cette importante variabilité inter-individuelle aux différentes expériences individuelles des brebis. Il existait également une variabilité intra-individuelle avec certains animaux qui inversaient totalement leur préférence.

Afin d'augmenter la probabilité de succès des études menées sur les préférences et apprentissages alimentaires, il est donc important de travailler avec des effectifs importants ce que nous avons cherché à faire avec 32 animaux au total (8 par groupe) dans l'expérimentation "indicateurs", et de 20 (10 par groupe) à 24 animaux dans l'expérimentation "goûts primaires". Dans l'expérimentation "introduction ruminale" il n'était pas possible de travailler avec des lots importants d'animaux. Nous avons donc travaillé selon un schéma en carré latin qui permet de tester tous les traitements sur tous les animaux, 6 dans notre cas. Un effectif supérieur aurait cependant été souhaitable pour augmenter la puissance statistique du dispositif.

Malgré les difficultés liées à la variabilité individuelle, nous avons réussi à montrer, dans l'expérimentation "goûts primaires", qu'il existe une préférence spontanée pour le goût umami, induit par le MSG. Cette préférence est bien l'effet propre du goût puisque le MSG, aux doses utilisées, n'a pas d'effet post-ingestif suffisant pour induire une modification des préférences pour le foin auquel il est associé (cf. expérience 3 de l'expérimentation "goûts primaires").

De même, lors de l'expérimentation "indicateurs", nous avons vu qu'il existe des préférences initiales pour la flaveur anis par rapport à la flaveur orange. Ces préférences ont été mesurées

sur du court terme et sur des animaux naïfs par rapport à ces flaveurs, ce qui rend peu probable la perception de conséquences post-ingestives d'une part et l'expression d'un phénomène d'apprentissage antérieur d'autre part.

Ainsi, il existe des préférences pour des goûts primaires ou des flaveurs artificielles qui s'expriment en dehors de toute récompense post-ingestive immédiate.

Cependant, nous avons constaté une variabilité de réponse entre expérimentations. Les préférences initiales mesurées pour les flaveurs anis et orange lors de l'expérimentation "indicateurs" sont respectivement de 80% et 20%. Ces proportions diffèrent nettement des préférences rapportées dans la littérature pour ces deux mêmes flaveurs (Kyriazakis *et al.*, 1997 ; Arsenos *et al.*, 2000) et de celles que nous avons obtenues lors d'une étude préliminaire (annexe 4), qui se situaient toutes autour de 50%. Ces variations d'une expérimentation à l'autre signifient probablement que la taille de nos effectifs est encore trop faible vu l'importante variabilité inter-individuelle présente dans la population générale.

Cette variabilité de réponse se retrouve également avec le goût sucré. Les essais méthodologiques réalisés sur la saccharine, un édulcorant sucré, ont globalement révélé une importante variabilité inter- et intra-individuelle aboutissant dans la majorité des doses testées à des préférences non différentes de 50%, considérées comme une absence de préférence, et à des préférences pouvant aller de 25 à 58% pour une même dose testée sur deux groupes différents (annexe 3). Goatcher et Church (1970a) ont testé les préférences pour ce goût induit par de la saccharine diluée dans l'eau face à de l'eau (tests de type two-bottle) et ont montré que les préférences, proches de 50% aux doses les plus faibles, diminuent ensuite avec l'augmentation des doses. A l'inverse, Grovum et Chapman (1988) ont utilisé le sucrose mélangé à un aliment, et par une dérivation oesophagienne l'empêchant d'atteindre le rumen et assurant ainsi l'absence de conséquence post-ingestive, ils ont montré une augmentation de l'ingestion avec le goût sucré.

Cette variabilité de réponse entre les expérimentations n'est cependant pas la règle puisque les résultats obtenus concernant le goût umami, induit par le MSG, sont reproductibles. Ainsi, lors de l'expérimentation "goûts primaires", nous avons mesuré des préférences pour le goût umami allant de 69 % lors du choix MSG2-Contrôle à 81 % lors du choix MSG1-Quin1. Des résultats similaires ont été obtenus lors d'essais méthodologiques (annexe 3) et lors d'une précédente étude (Gherardi et Black, 1991).

On peut supposer que cette variabilité inter-expérimentation est normale car, en l'absence de toutes conséquences post-ingestives, les préférences exprimées dépendent uniquement de l'individu, de ses connaissances innées et acquises et de son état interne. On peut alors supposer que les résultats stables rencontrés dans le cas de l'umami indiquent que ce goût primaire a une valeur commune pour tous les ovins, à l'inverse du goût sucré et des flaveurs artificielles testées.

II.2. Caractéristiques sensorielles et composantes de l'ingestion

Nous avons travaillé à conséquences post-ingestives similaires afin de déterminer l'effet des caractéristiques sensorielles sur le comportement alimentaire des ovins dans l'expérimentation "introduction ruminale" en utilisant la méthode de Greenhalgh et Reid (1971). Dans notre étude, réalisée avec un foin de prairie permanente (essentiellement composé de graminées) et un foin de luzerne nous avons observé des quantités ingérées journalières similaires entre les traitements induisant des conséquences post-ingestives similaires, c'est-à-dire Lo/Gr et Go/Lr. Greenhalgh et Reid (1971) ont, de leur côté, obtenu des résultats différents selon les fourrages impliqués. Ils ont mis en évidence des différences d'ingestion lorsqu'il s'agissait de paille d'avoine et d'herbe séchée, mais aucune différence d'ingestion lorsqu'il s'agissait d'herbe séchée et de foin de prairie (Figure 9). Selon ces auteurs, la palatabilité ne serait pas un déterminant important des ingestions journalières avec des fourrages de bonne qualité mais elle limiterait les ingestions des fourrages de mauvaise qualité tels que la paille. Dans notre étude, il est frappant de constater que l'ingestion réalisée par les animaux dans le cas des régimes mixtes (761 ± 15 g MS / j) correspond à la moyenne des ingestions observées avec les régimes contenant un seul des deux fourrages (753 ± 22 g MS / j). Cela suggère que la régulation de l'ingestion par les conséquences post-ingestives liées à l'encombrement des fourrages agit selon un principe d'additivité, hypothèse utilisée dans le système des unités d'encombrement, et que la place des caractéristiques sensorielles dans cette régulation serait faible. Les différences de valeur azotée entre les fourrages ne semblent pas avoir influé sur l'ingestion des animaux ; cela est probablement lié en partie au modèle animal utilisé, dont les besoins azotés sont faibles. Nous avons également constaté un effet additif mais aussi un effet linéaire de l'encombrement sur la quantité ingérée dans l'expérimentation méthodologique où des niveaux croissants d'introduction ruminale (20, 35 et 50% voir annexe 2) avaient été testés.

Ainsi, deux fourrages de bonne qualité nutritive vis-à-vis des besoins des animaux ne présenteraient pas un contraste sensoriel suffisant pour influencer l'ingestion journalière indépendamment de leurs conséquences post-ingestives.

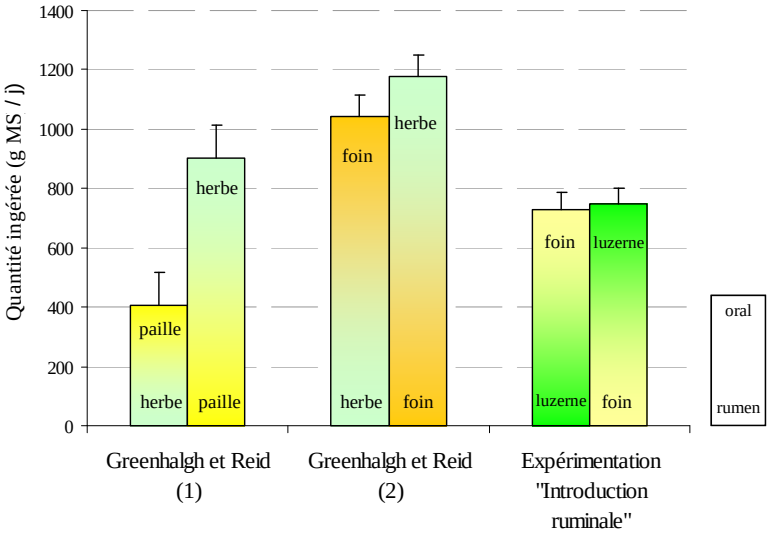


Figure 9 : Comparaison graphique des résultats obtenus dans les expérimentations 1 et 2 de Greenhalgh et Reid (1971) et dans notre expérimentation "introduction ruminale". Chaque barre d'histogramme représente la quantité ingérée (moyenne ± e.s.) de l'aliment consommé à l'oral (noté en haut) tandis qu'un autre aliment est introduit dans le rumen (aliment noté en bas).

Toutefois, les quantités ingérées quotidiennement résultent d'une succession de décisions prises par l'animal sur l'ensemble des 6 heures d'alimentation et qui dépendent des informations qu'il possède à chaque instant. Ces informations ne sont pas identiques pour les animaux des traitements Lo/Gr et Go/Lr sur l'ensemble des 6 heures du fait que la totalité de l'aliment à introduire dans le rumen est introduite à 8h00 alors que l'aliment offert à l'auge à 9h00 est progressivement consommé au cours des 6 heures d'offre alimentaire (Figure 10).

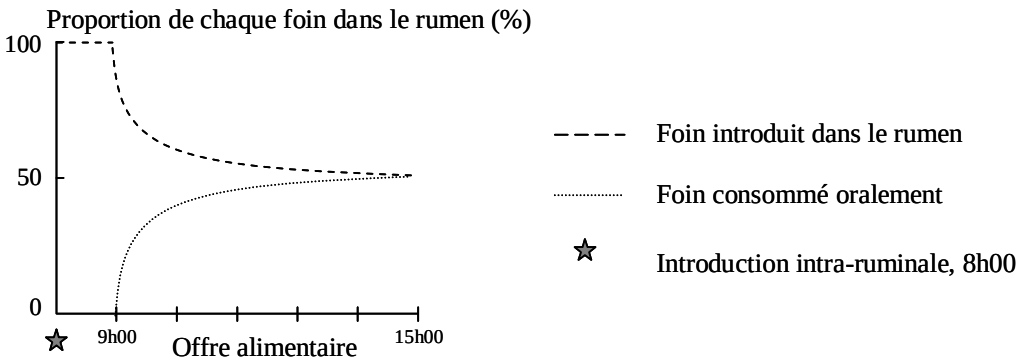


Figure 10 : Représentation schématique de l'implication relative du foin introduit et du foin consommé oralement dans les effets post-ingestifs ressentis par l'animal au cours du temps.

Ce problème ne peut être résolu car il semble difficile de produire des effets post-ingestifs similaires durant toute l'offre alimentaire avec cette méthode. Il serait ainsi plus juste de considérer que les effets post-ingestifs des traitements Go/Lr et Lo/Gr sont véritablement similaires vers la fin de l'offre alimentaire, ce qui a été confirmé notamment par les mesures de concentrations en AGV dans le rumen. L'analyse de l'activité alimentaire des animaux au cours des 6 heures de la période d'alimentation nous permet d'avoir une idée plus précise des évènements dynamiques qui se produisent.

On constate alors que les ingestions journalières résultent de différents ajustements comportementaux qui dépendent de l'aliment consommé oralement. En effet, même lorsque les conséquences post-ingestives sont comparables, le pattern des activités alimentaires (quantités ingérées et durée d'ingestion) au cours des 6 heures est fortement influencé par la nature du foin. De plus, sur l'ensemble des 6 heures d'offre alimentaire, les moutons mangent plus vite et sur une plus courte durée lorsque l'aliment à l'auge est le foin de luzerne et inversement lorsque c'est le foin de graminées. La fibrosité du fourrage jouant sur sa facilité de préhension et de mastication (Jarrige *et al.*, 1995 ; Baumont *et al.*, 2006), la moindre fibrosité du foin de luzerne permet à l'animal d'avoir une vitesse d'ingestion élevée pour satisfaire son ingestion. Au contraire, avec le foin de graminées plus fibreux, l'animal est limité dans la vitesse à laquelle il peut le consommer du fait des contraintes physiques exprimées, et il augmente alors sa durée d'ingestion pour aboutir à la même quantité ingérée. Etant donné que la facilité de préhension et de mastication est un des paramètres pris en compte par l'animal pour évaluer la palatabilité de l'aliment (Baumont, 1996), il est possible que le foin de légumineuse soit plus palatable en partie du fait de cet avantage sur le foin de graminées.

Enfin, avec les traitements mixtes, l'ingestion instantanée du foin de luzerne est supérieure à celle du foin de graminées soit juste après la distribution de l'aliment à l'auge soit durant la dernière heure de l'offre alimentaire. Au moment de la distribution alimentaire, les moutons sont à jeun depuis la veille, 15h00, on peut alors considérer que même s'ils ressentent l'encombrement lié à l'introduction intra-ruminale, leur motivation à ingérer à ce moment là est forte ; elle apparaît alors d'autant plus forte que l'aliment présent à l'auge est le foin de luzerne.

Le rôle des caractéristiques sensorielles des fourrages serait donc déterminant au niveau de l'organisation temporelle des activités alimentaires, notamment en relation avec les contraintes de mastication. Les caractéristiques sensorielles pourraient également influencer l'ingestion de l'animal sur des intervalles de temps courts quand la motivation à ingérer est forte et surpasse les effets des conséquences post-ingestives, et quand les conséquences post-ingestives sont similaires.

II.3. La valeur hédonique du changement

Dans l'expérimentation "introduction ruminale", les préférences exprimées par les moutons lors des tests de choix de courte durée réalisés entre le foin de luzerne et le foin de graminées, à la fin des 6 heures d'offre alimentaire, ont été fortement influencées par la nature du fourrage consommé oralement pendant ces 6 heures ; les animaux ayant systématiquement préféré l'aliment non consommé au préalable. L'effet du régime précédemment consommé sur les préférences alimentaires n'est pas un fait nouveau puisque cela a déjà été montré chez des brebis (Newman *et al.*, 1992 ; Parsons *et al.*, 1994) et des génisses (Ginane *et al.*, 2002), que ce soit au pâturage ou à l'auge. Selon les auteurs, cette préférence traduirait soit un besoin pour l'animal d'actualiser ses connaissances des aliments via une stratégie d'échantillonnage, soit un moyen de maintenir des conditions ruminales optimales et de sélectionner un régime équilibré. Le fait que les animaux puissent être attirés par la nouveauté et donc par la diversité alimentaire en tant que telle est également envisagé.

Notre travail démontre pour la première fois que cet effet de l'aliment consommé précédemment s'exprime, au moins à court terme, même lorsque les conséquences post-ingestives ressenties par l'animal au moment du choix sont équivalentes. Les ovins rechercheraient donc une certaine diversité de leur régime alimentaire, plus pour leur plaisir que pour leurs besoins.

Cette préférence, calculée proportionnellement au nombre total de scans passés à ingérer et non par rapport à la quantité totale ingérée afin d'éviter tout biais lié à la différence de préhensibilité et de masticabilité des fourrages, a néanmoins tendance à être plus forte pour le foin de légumineuse (0.88 ± 0.03) que pour le foin de graminées (0.69 ± 0.04), à situation post-ingestive similaire (*i.e.*, comparaison des traitements Lo/Gr et Go/Lr ; $P < 0.1$).

Ainsi, les différences de palatabilité entre les deux fourrages subsisteraient même lorsque les animaux sont motivés par une recherche de diversité alimentaire ; cela pourrait être une méthode intéressante pour tester les différences de palatabilité entre aliments.

Cependant, nous avons observé que des moutons, placés dans une situation de choix entre ces deux mêmes fourrages à raison de 6 heures par jour pendant 28 jours, modifient progressivement leurs préférences dans le sens d'une réduction de la part de diversité du régime. Ainsi, leur préférence pour le foin de luzerne de 74 % au début de l'étude augmente pour aboutir à 96 % au 28ème jour (annexe 1). Les notions de stratégie d'échantillonnage nécessaire à la mise à jour des connaissances alimentaires de l'animal (Kyriazakis *et al.*, 1997) et de recherche d'un régime alimentaire varié afin de profiter de nombreux bénéfices post-ingestifs (Provenza *et al.*, 2007 ; Villalba *et al.*, 2009) sont difficiles à défendre puisque les animaux ingèrent seulement 4 % de foin de graminées,ce qui représente 85 g MF de foin soit 3% du contenu ruminal total (en tenant compte de la salive associée, pour un contenu ruminal total en moyenne de 12 kg MF chez les animaux testés). Cette quantité parait également très faible pour satisfaire une recherche de diversité, d'autant plus que certains animaux consommaient le foin de luzerne à 100% (annexe 1). En revanche, cela ne remet pas forcément en cause la notion de recherche de diversité en tant que telle si on considère la diversité alimentaire plus comme la diversité des situations (*i.e.*, absence de monotonie), que comme la diversité des aliments offerts simultanément (*i.e.*, plusieurs aliments offerts). En effet, les animaux de notre étude ont eu à disposition les deux mêmes aliments pendant 28 jours, ce qui peut représenter une situation d'alimentation monotone. Ils orienteraient alors progressivement leur choix vers l'aliment satisfaisant pleinement leurs besoins, c'est-à-dire le foin de luzerne. D'ailleurs, Scott et Provenza (1998) ont montré que des agneaux évitent la monotonie en l'absence de tout bénéfice nutritionnel : ils préfèrent s'alimenter à l'endroit où l'aliment qu'ils ont l'habitude de consommer est présenté sous différentes flaveurs (varié) comparé à l'endroit où il est présenté sans flaveur ajoutée (monotone).

Les ovins rechercheraient une offre alimentaire diversifiée en terme d'absence de monotonie, et pas forcément en terme de nombre d'aliments consommés. Ceci supporte l'idée que le changement possède une valeur hédonique entraînant une modification des préférences instantanées. Ceci s'apparente à la notion de satiété sensorielle spécifique qui

précise que la réponse hédonique liée à une caractéristique sensorielle donnée va diminuer au fur et à mesure de sa consommation (Rolls, 1986).

III. LE ROLE DES CARACTERISTIQUES SENSORIELLES DANS LES APPRENTISSAGES ALIMENTAIRES

III.1. Le rôle d'indicateur

Nous avons tout d'abord voulu déterminer si les caractéristiques sensorielles peuvent jouer un rôle d'indicateur des conséquences post-ingestives, permettant notamment de faciliter les apprentissages alimentaires en milieu complexe. Pour cela nous avons créé des indicateurs à l'aide d'une procédure de conditionnement appliquée à des flaveurs artificielles, mélangées à un foin de luzerne. Puis nous avons soumis ces animaux expérimentés et d'autres animaux naïfs à une situation d'apprentissage simple (*i.e.*, une seule association flaveur - conséquence à réaliser chaque jour) ou complexe (*i.e.*, deux associations flaveur - conséquence à réaliser simultanément chaque jour). Les flaveurs étaient alors mélangées à un nouveau support fourrager, un foin de dactyle. Nous avons ainsi montré que les moutons expérimentés sont plus efficaces que les moutons naïfs, que la situation d'apprentissage soit simple ou complexe. Les moutons expérimentés utilisent donc leur connaissance de la valeur des informations pré-ingestives afin de gérer plus efficacement une nouvelle situation d'apprentissage alimentaire. De même, des brebis utilisent leur expérience antérieure puisqu'elles évitent, quand on leur donne le choix entre deux items alimentaires tandis qu'elles reçoivent une dose de chlorure de lithium (LiCl), l'aliment qui avait été précédemment associé au LiCl mais pas l'aliment nouveau (Burritt et Provenza, 1996). Cela est possible grâce à la capacité des ovins à généraliser leur connaissance des flaveurs, d'un support alimentaire (foin de luzerne) à un autre (foin de dactyle). Cette capacité de généralisation d'une situation simple à une autre situation simple sur la base des flaveurs a déjà été démontrée chez des ovins (Launchbaugh et Provenza, 1994 ; Villalba et Provenza, 2000a, b).

Les moutons sont donc capables de généraliser, sur la base des flaveurs, une connaissance acquise en situation simple à une nouvelle situation d'apprentissage plus complexe. C'est en ce sens que les caractéristiques sensorielles peuvent jouer un rôle

d'indicateur des conséquences post-ingestives afin d'aider les ovins à apprendre en situation complexe et ainsi à sélectionner leur régime alimentaire plus efficacement.

L'expérimentation "goûts primaires" a ensuite eu pour objectif de déterminer si les goûts primaires peuvent être considérés comme des indicateurs de conséquences post-ingestives. L'hypothèse avancée est que le goût umami posséderait une "valeur latente" positive car il pourrait indiquer une récompense protéique (Naim *et al.*, 1991) alors que le goût amer posséderait une "valeur latente" négative puisqu'il indiquerait une certaine toxicité (Garcia et Hankins, 1975). Les agnelles testées expriment une forte préférence pour le goût umami, induit par le monosodium glutamate, en dehors de toute conséquence post-ingestive associée, mais elles sont indifférentes au goût amer, induit par la quinine, même si elles le perçoivent bien. Cela pourrait venir du fait que les herbivores qui rencontrent souvent des composés végétaux secondaires amers ont évolué de sorte à avoir un seuil de rejet de l'amertume suffisamment élevé pour ne pas les obliger à réduire démesurément leur gamme de choix alimentaires (Glendinning, 1994). Nous avons ensuite associé les goûts umami et amer à une conséquence post-ingestive positive ou négative de manière soit cohérente soit incohérente par rapport à l'évaluation initiale de ces goûts. Les tests de choix *post hoc* face à un foin témoin ont été les plus informatifs. Ils révèlent que les agnelles associent le goût umami aussi bien à une conséquence post-ingestive positive que négative en augmentant ou diminuant leur préférence, respectivement. En revanche, elles ne modifient pas leurs préférences pour le goût amer quelle que soit la nature de la conséquence qui lui a été associée. Les préférences pour le goût amer sont alors similaires à celle observée lorsque le goût umami est rejeté car associé à une conséquence négative. Ce rejet est modéré car la dose de LiCl utilisée est elle-même modérée. Dans le cas où le goût amer est associé à une conséquence positive, l'absence d'augmentation de préférence pourrait correspondre à l'expression d'un comportement de méfiance vis-à-vis d'un goût qui indique habituellement une conséquence post-ingestive négative.

Ainsi, le goût umami peut être considéré comme un signal sensoriel positif qui est toutefois évité lorsqu'il est associé à une conséquence négative. Le goût amer, quant à lui, peut être considéré comme un signal sensoriel négatif envers lequel l'animal resterait méfiant même lorsqu'il est associé à une conséquence positive. Grâce à leurs valeurs latentes, les goûts pourrait être utilisés par les ovins comme des indicateurs de

conséquences post-ingestives leur permettant ainsi de s'alimenter plus efficacement, et à moindre risque.

III.2. Le rôle des préférences initiales

Au cours de l'expérimentation "indicateurs" impliquant des flaveurs artificielles, nous avons observé un fort effet de la flaveur. Les préférences relatives mesurées initialement (avant tout conditionnement) entre les flaveurs anis et orange étaient nettement en faveur de la flaveur anis (0.80 vs. 0.20 dans chacun des deux groupes). Après les conditionnements de la 2ème phase d'apprentissage, la préférence pour la flaveur associée à la conséquence post-ingestive négative est encore influencée par la préférence initiale de cette flaveur : les moutons dont le conditionnement négatif est associé à la flaveur anis (groupe "anis") montrent un rejet plus faible que ceux dont le conditionnement négatif est associé à la flaveur orange (groupe "orange" ; Figure 11a). De même, dans l'expérimentation "goûts primaires", le goût umami était initialement clairement préféré au goût amer et cet écart de préférence entre les goûts a persisté même après 6 conditionnements négatifs (Figure 11b). La valeur hédonique initiale des aliments influence donc leur évaluation relative dans un contexte d'apprentissage alimentaire : il serait plus "difficile" pour un animal d'associer une conséquence post-ingestive négative à un aliment initialement préféré plutôt qu'à un aliment initialement moins préféré.

Bien que les caractéristiques sensorielles soient habituellement considérées comme de simples outils aidant les animaux à discriminer les aliments, il apparaît que leur valeur hédonique (innée ou acquise) influence non seulement les préférences relatives observées avant tout conditionnement, mais aussi la propension des ovins à effectuer un apprentissage associatif entre ces caractéristiques et les conséquences post-ingestives.

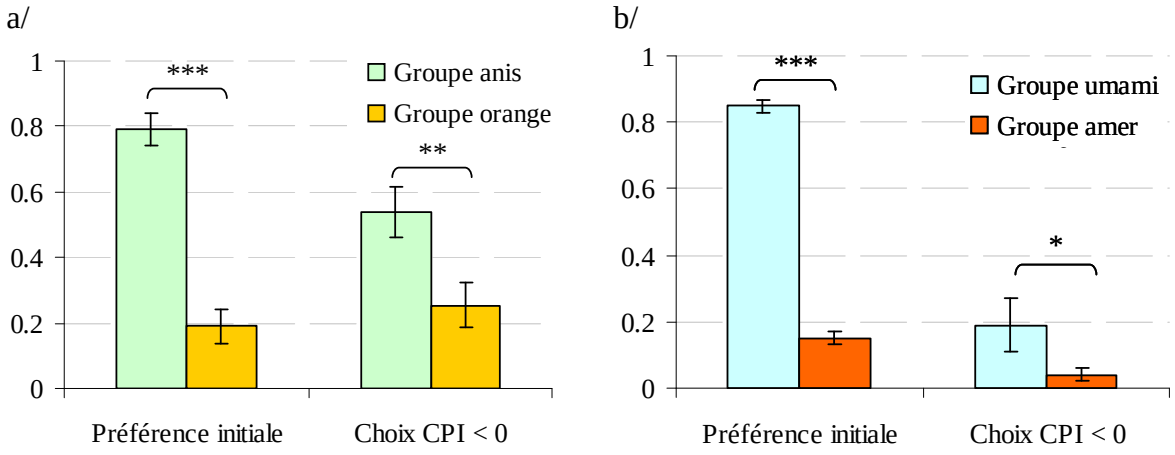


Figure 11 : Préférences pour la flaveur (a) ou le goût (b), avant (préférences initiales) et après les conditionnements négatifs (Choix CPI < 0), dans le cadre d'un test de choix entre les deux flaveurs ou goûts présentés sur la figure. La préférence est calculée proportionnellement à la quantité ingrée totale de MS.
Figure (a) : pour le groupe anis, la flaveur anis est associée à la CPI < 0 et la flaveur orange à la CPI > 0; pour le groupe orange, la flaveur orange est associée à la CPI < 0 et la flaveur anis à la CPI > 0.
Figure (b) : pour le groupe umami, le goût umami est associé à la CPI < 0 et le goût amer à la CPI > 0; pour le groupe amer, le goût amer est associé à la CPI < 0 et le goût umami à la CPI > 0.
Chaque comparaison entre les deux flaveurs/goûts est réalisée sur un lot différent d'animaux.
Mann Whitney : ***, $P < 0.0001$; **, $P < 0.01$; *, $P < 0.05$.

IV. L'EVALUATION DES CARACTERISTIQUES SENSORIELLES PEUT-ELLE CHANGER AVEC LES CONSEQUENCES POST-INGESTIVES ?

Nous nous sommes précédemment intéressés à l'influence de la préférence pour une caractéristique sensorielle dans la facilité de l'associer à une conséquence donnée. Certains de nos résultats nous permettent aussi d'analyser l'influence d'une conséquence dans la capacité à modifier la valeur attribuée à une caractéristique sensorielle, *i.e.* à la réévaluer (Figure 12). Etant donné que pour qu'il y ait réévaluation, il faut qu'il y ait eu une évaluation antérieure, nous allons nous intéresser ici aux cas où les caractéristiques sensorielles ont déjà acquis une valeur (aliments connus dans le cas de l'expérimentation "introduction ruminale" et goûts ayant une valeur latente dans le cas de l'expérimentation "goûts primaires").

D'une manière générale, les ruminants sont capables de modifier l'évaluation d'un aliment en fonction des variations des conséquences post-ingestives associées. Ainsi des chèvres peuvent adapter leurs préférences pour divers aliments suite à des variations

progressives d'intensité des conséquences, même si cela concerne principalement la conséquence négative (Duncan *et al.*, 2005). De même, le processus d'extinction (Ralphs et Provenza, 1999), qui consiste à un retour progressif aux préférences initiales (avant conditionnement) une fois les conséquences responsables du changement arrêtées, est un exemple de réévaluation des aliments. Enfin, une des raisons pour lesquelles les herbivores sélectionnent un régime alimentaire diversifié serait d'échantillonner les aliments à disposition afin de mettre à jour leurs connaissances et donc de les réévaluer, afin de s'adapter à un milieu où la qualité des plantes change au cours des saisons (Duncan et *al.*, 2003).

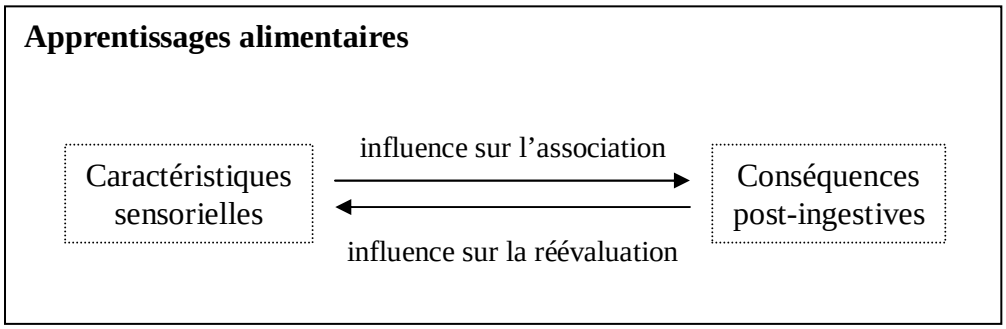


Figure 12 : Représentation schématique des interrelations entre caractéristiques sensorielles et conséquences post-ingestives au sein du processus des apprentissages alimentaires.

Cependant, la familiarité de l'aliment influence la capacité de réévaluation des aliments chez les ovins (Ralphs et Provenza, 1999). Il est ainsi difficile de créer des aversions pour des aliments familiers (Burritt et Provenza, 1996) ; cela nécessite des conséquences plus intenses qu'avec des aliments nouveaux, et les aversions apprises s'éteignent plus rapidement (Ralphs, 1997). Ceci est dû au fait que les aliments qui n'ont pas été responsables de conséquences négatives dans le passé acquièrent un statut de sécurité (Ralphs et Provenza, 1999). Cela relèverait alors d'un phénomène d'interférence proactive qui considère que la 1ère association apprise interfère avec l'expression d'une seconde association impliquant le même stimulus conditionné (Pineño et Miller, 2005).

Lors de l'expérimentation "introduction ruminale", les animaux ont modifié la quantité ingérée d'un même fourrage lorsque nous avons modifié les conséquences associées à ce fourrage en agissant sur la nature du foin introduit dans le rumen (Lo/Lr vs. Lo/Gr et Go/Lr vs. Go/Gr). L'ingestion journalière d'un même fourrage a augmenté avec l'introduction du

foin de luzerne qui est moins encombrant et plus nutritif que le foin de graminées. Le mécanisme sous-jacent à cette réaction peut être double :

- il peut provenir de l'influence de l'état interne de l'animal lié au moindre encombrement du foin de luzerne. Les résultats d'une étude préliminaire (annexe 2) montrent d'ailleurs que les moutons sont capables d'adapter la quantité journalière ingérée d'un fourrage donné en fonction de la proportion de ce même fourrage introduite directement dans leur rumen de telle sorte que la quantité journalière reçue (*i.e.*, ingérée + introduite) est constante,
- mais, il est également possible que l'évaluation par l'animal de la "valeur" du foin consommé oralement soit modifiée par le changement de conséquences associées. Faverdin *et al.* (1995) ont mentionné l'importance des apprentissages alimentaires dans le contrôle de l'ingestion en supposant qu'ils modulent la composante hédonique d'un aliment (*i.e.*, la palatabilité apprise) et qu'ils agissent par conséquent sur la motivation de l'animal à l'ingérer. Ainsi, lorsque le foin consommé à l'auge, dont les caractéristiques sont connues de l'animal, est associé à l'introduction intra-ruminale d'un fourrage moins encombrant, sa palatabilité peut être améliorée, augmentant ainsi la motivation de l'animal à le consommer et donc son ingestion. Cela est d'autant plus probable que récemment, des études ont démontré que l'encombrement ruminal est perçu par les ovins comme un signal post-ingestif négatif, menant à une baisse de la préférence du fourrage associé (Baumont *et al.*, 2007 ; Villalba *et al.*, 2009).

Les analyses des activités alimentaires ainsi que les résultats obtenus lors des tests de choix en fin d'offre alimentaire peuvent nous aider à faire la part des choses entre le rôle de l'état interne et celui de la réévaluation des fourrages. Les analyses des activités alimentaires montrent que les différences d'ingestion étaient particulièrement marquées en début d'offre alimentaire, c'est-à-dire après l'introduction intra-ruminale, puis s'estompaient au fur et à mesure du temps ce qui serait en faveur d'une modulation de l'ingestion liée à l'état interne de l'animal. Les résultats des tests de choix réalisés en fin d'offre alimentaire ont montré, quant à eux, une préférence pour l'aliment non consommé durant les 6 heures précédentes, quelle que soit la conséquence post-ingestive associée à l'aliment consommé oralement, ce qui ne va pas dans le sens d'un changement de valeur des foins en fonction des différentes introductions intra-ruminales expérimentées.

Ainsi, les variations d'ingestion seraient liées au fait que les moutons répondent à des variations d'état interne sans réelle modification de la valeur hédonique du fourrage. Plusieurs raisons peuvent expliquer cette absence de réévaluation des fourrages :

- les foins utilisés étaient des aliments familiers pour les animaux ce qui, nous l'avons vu, ne facilite par leur réévaluation,
- les conséquences (i.e. les introductions) étaient ressenties avant l'ingestion ce qui peut perturber les apprentissages,
- les conséquences étaient trop faibles pour modifier l'évaluation de ces fourrages familiers,
- les changements fréquents de conséquences associées à un même fourrage, dus à la procédure en carré latin, ont pu compliquer la réévaluation des aliments,
- aucune modification sensorielle du fourrage consommé oralement ne permettait d'indiquer la modification des conséquences post-ingestives.

Lors de l'expérimentation "goûts primaires", nous avons vu que le goût umami possèderait une valeur positive, potentiellement indicatrice d'un apport protéique, et le goût amer une valeur négative, potentiellement indicatrice d'une certaine toxicité. Ces goûts peuvent alors être considérés comme familiers, ce qui pourrait rendre leur réévaluation délicate. Les tests de choix *post hoc* ont montré que les agnelles ont aussi bien associé le goût umami à une conséquence positive que négative ; elles l'ont donc réévalué. En revanche, la valeur du goût amer n'a, semble-t-il, pas été modifiée. Les agnelles réussiraient donc à réévaluer des goûts familiers même si elles semblent avoir plus de difficultés à réévaluer positivement un goût possédant une valeur latente négative, certainement par méfiance. Il se peut que le foin vaporisé tel qu'il a été présenté aux animaux est apparu suffisamment nouveau pour ne pas limiter sa réévaluation. De plus, nous avons travaillé avec des animaux jeunes dont les préférences alimentaires sont plus modulables que celles d'animaux matures (Ralphs et Provenza, 1999).

Les herbivores sont donc capables de modifier la valeur attribuée à des caractéristiques sensorielles en fonction des conséquences post-ingestives associées. Il apparaît toutefois que le niveau de familiarité avec les aliments, la nature et l'intensité des conséquences post-ingestives, voire même la valeur latente initiale des caractéristiques sensorielles influencent cette capacité.

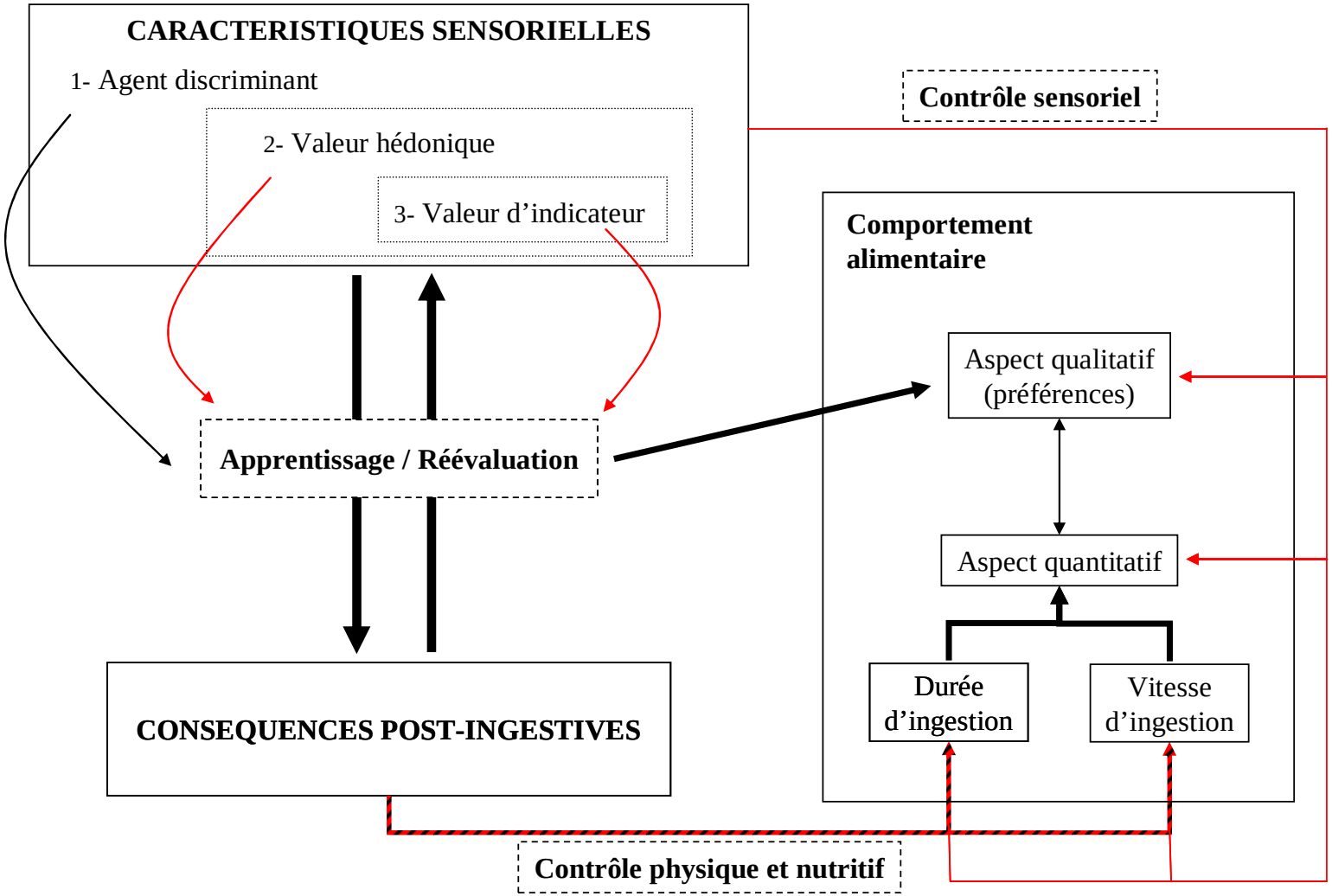


Figure 13 : Représentation schématique des influences des conséquences post-ingestives et des caractéristiques sensorielles des aliments sur le comportement alimentaire des ovins, via différents processus (apprentissage / réévaluation, contrôle physique et nutritif, et contrôle sensoriel). Ces influences sont connues (en noir) ou nouvellement mises en évidence par mon travail de thèse (en rouge), voire les deux (en rouge et noir).

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

A l'issue de ce travail de thèse nous avons acquis une meilleure connaissance du rôle joué par les caractéristiques sensorielles des aliments sur les aspects qualitatifs et quantitatifs du comportement alimentaire des ruminants. Nous proposons de hiérarchiser les trois rôles principaux identifiés à travers leur action sur le comportement alimentaire (Figure 13). Toutes les caractéristiques sensorielles des aliments sont reconnues pour être des agents discriminants qui permettent à l'animal de différencier les items alimentaires entre eux. Certaines de ces caractéristiques sensorielles jouent en plus un rôle en l'absence de conséquences post-ingestives de par leur valeur hédonique propre ; celle-ci est capable d'influencer les préférences des animaux, comme ce fut le cas avec la flaveur anisée par rapport à la flaveur orangée. Enfin, pour certaines caractéristiques sensorielles, cette valeur hédonique initiale peut avoir acquis un sens, positif ou négatif, au cours de l'évolution ou lors d'apprentissages antérieurs, ce qui leur confère une valeur latente ayant un rôle d'indicateur des conséquences post-ingestives associées.

Ma thèse confirme l'influence majeure des conséquences post-ingestives induites par les aliments dans le contrôle de l'ingestion volontaire d'une part, et dans l'acquisition de préférences alimentaires chez les ovins d'autre part, mais elle apporte des informations concernant leur influence sur l'expression des activités alimentaires (durée et vitesse d'ingestion). Elle démontre surtout que l'implication des caractéristiques sensorielles dans le comportement alimentaire des ovins a été sous-estimée et ne se réduit pas au simple rôle d'agent discriminant qui a été mis en avant dans la théorie des apprentissages alimentaires. Les influences des caractéristiques sensorielles sur le comportement alimentaire des ovins sont en effet multiples (Figure 13).

En ce qui concerne les aspects quantitatifs du comportement alimentaire, les caractéristiques sensorielles peuvent moduler l'influence des conséquences post-ingestives sur l'expression des activités alimentaires (durée ou vitesse d'ingestion), ou s'exprimer à court terme lorsque la motivation à ingérer induite par l'aliment est plus forte que le rassasiement lié à l'état interne dans lequel se trouve l'animal. Malgré cela, l'implication des caractéristiques sensorielles sur le niveau d'ingestion volontaire reste à éclaircir puisqu'il semble que, selon le contraste de qualité entre les aliments, les conclusions peuvent être différentes.

En ce qui concerne les aspects qualitatifs du comportement alimentaire, les caractéristiques sensorielles influencent les préférences alimentaires en l'absence de toutes conséquences post-ingestives associées, lorsqu'elles possèdent une valeur hédonique propre ou une valeur latente, positive ou négative. Cependant, les résultats qui démontrent la valeur hédonique de telle ou telle caractéristique sensorielle sont difficiles à généraliser du fait d'une importante variabilité de réponse. De plus, il est apparu que la valeur hédonique peut elle-même être influencée par le contexte de présentation des aliments, *i.e.* la monotonie vs la diversité de la situation d'offre alimentaire

Lors des apprentissages alimentaires, les caractéristiques sensorielles modulent l'intensité des associations avec des conséquences post-ingestives selon leur valeur hédonique, et agissent directement sur leur réévaluation de par leur valeur latente. Lorsque les caractéristiques sensorielles des aliments ont acquis une valeur latente, elles peuvent jouer le rôle d'indicateur des conséquences post-ingestives et permettent ainsi d'améliorer les performances d'apprentissages alimentaires, notamment en milieu complexe, via un processus de généralisation. Notre travail vient donc conforter la validité de la théorie des apprentissages alimentaires en milieu complexe en y introduisant la notion d'indicateurs des conséquences post-ingestives. De plus, certains goûts primaires, tels que l'umami et l'amer, pourraient jouer ce rôle d'indicateur puisqu'ils possèdent une valeur latente, positive et négative respectivement.

Plusieurs perspectives de recherches se dégagent de mon travail de thèse. Tout d'abord il serait intéressant d'approfondir l'étude du rôle des goûts primaires comme indicateurs des conséquences post-ingestives. Pour cela, la méthodologie originale que nous avons développée pour l'expérimentation "indicateurs" pourra être réutilisée. On pourrait également envisager de tester si d'autres sensorialités possèdent aussi une valeur latente susceptible d'intervenir dans les processus d'apprentissage alimentaire. Je pense en particulier à la couleur des aliments qui est communément associée au stade de maturité de la plante et donc à sa valeur nutritive (*i.e.*, une plante jeune est verte et nutritive). Mieux connaître la nature et le mode d'action des indicateurs que les animaux utilisent pour sélectionner leur régime alimentaire pourra permettre de mieux prévoir la sélection alimentaire et ainsi d'enrichir les modèles d'utilisation des ressources.

Les animaux au pâturage sont face à un milieu changeant et il est important de savoir s'ils sont réellement capables de mettre à jour leurs connaissances alimentaires afin de limiter

des intoxications, des déséquilibres nutritionnels, etc. Lors de l'expérimentation "introduction ruminale", il semble que les animaux n'ont pas réévalué les fourrages connus suite aux modifications de conséquences, et nous avons supposé que l'absence d'indication sensorielle du changement de conséquences post-ingestives pourrait en être responsable. Cette notion d'indication dans le processus de réévaluation des aliments pourrait être précisée. Faut-il obligatoirement une indication sensorielle en parallèle d'une modification des conséquences post-ingestives pour que l'animal réussisse à réévaluer l'aliment ? Cela dépend-il de la nature et/ou de l'intensité de la conséquence post-ingestive ? Le rôle des indicateurs sensoriels du changement de conséquences est-il influencé par la soudaineté du changement et /ou par sa fréquence ? Les capacités de réévaluation des animaux varient-elles avec l'âge et leur expérience alimentaire: un animal jeune et naïf est-il plus flexible qu'un animal mature et expérimenté ?

Dans notre projet initial, nous avions également prévu d'étudier l'importance relative de l'encombrement du rumen et des stimulations sensorielles en plaçant les animaux dans une situation de choix alimentaire permanent, tout en faisant varier l'encombrement du rumen. Cette situation aurait présenté l'avantage de laisser les animaux équilibrer eux-mêmes leur régime alimentaire (choix des aliments et quantité ingérée). Nous avons dû renoncer à ce projet notamment suite à l'évolution des préférences alimentaires sur le long terme (annexe 1). Ce problème semblait difficile à surmonter dans le temps d'une thèse. On pourrait, à l'avenir, envisager de travailler avec un lot "témoin" d'animaux qui permettrait de contrôler l'évolution des préférences en l'absence de tout déséquilibre ruminal, et également travailler avec un effectif de plus de 6 animaux pour pallier à la variabilité des réponses mesurées.

Nous avons essentiellement abordé l'influence de la valeur hédonique des aliments sur le comportement alimentaire mais la notion de plaisir alimentaire associée au bien-être animal serait, à mon avis, un sujet à creuser, notamment parce qu'on s'intéresse de plus en plus aux émotions positives chez les animaux d'élevage (Boissy *et al.*, 2007) et que les aliments pourrait être une source d'émotions positives.

Mon travail, de thèse pourrait avoir quelques applications pratiques dans les élevages herbagers.

On a vu, par exemple, que les ovins expriment des préférences marquées et stables pour le goût umami du fait de sa valeur latente positive. Ce goût pourrait être utilisé comme

un additif alimentaire visant à augmenter la palatabilité et la consommation de fourrage de "faible" qualité. Il faudrait alors en préciser les effets à long terme et définir les modalités pratiques d'utilisation. On peut également envisager son utilisation pour améliorer l'acceptation de nouveaux aliments, lors de transitions alimentaires (*e.g.*, au moment du sevrage et du passage à un aliment solide) souvent critiques pour l'animal en terme de baisse de consommation et d'état corporel général.

Dans un contexte où les consommateurs sont sensibles au bien-être des animaux d'élevage, on pourrait envisager de proposer une offre alimentaire diversifiée aux animaux afin de casser la monotonie générale de certaines situations d'élevage telles que les taurillons à l'engraissement, et ainsi peut-être générer une stimulation sensorielle plaisante (sorte d'enrichissement du milieu via l'alimentation). Si cette stimulation plaisante se maintient dans le temps, elle pourrait stimuler l'ingestion et ainsi avoir des répercussions sur la production. Par ailleurs, offrir une diversité alimentaire aux animaux pourrait permettre à chaque individu de choisir le régime alimentaire qui lui convient le mieux à un instant t (Manteca *et al.*, 2008), dans la mesure où ils sont capables d'apprendre en milieu complexe grâce aux indicateurs. Cela pourrait améliorer leur santé, et donc leur bien-être ainsi que leur productivité.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adams G.B. et Forbes J.M. 1981. Additivity of effects on ruminal acetate and either portal propionate or rumen distension on food intake in sheep. Proceedings of the Nutrition Society 40, 44A.

Allden W.G. et Whittaker I.A. 1970. The determinants of herbage intake by grazing sheep: the interrelations of factors influencing herbage intake and availability. Australian Journal of Agricultural Research 21: 755-766.

Anil M.H., Mbanya J.N., Symonds H.W. et Forbes J.M. 1993. Responses in the voluntary intake of hay or silage by lactating cows to intraruminal infusions of sodium acetate or sodium propionate, the tonicity of rumen fluid or rumen distension. British Journal of Nutrition 69: 699-712.

Arnold G.W. 1966a. The special senses in grazing animals I- Sight and dietary habits in sheep. Australian Journal of Agricultural Research 17: 523-529.

Arnold G.W. 1966b. The special senses in grazing animals II- Smell, taste, and touch and dietary habits in sheep. Australian Journal of Agricultural Research 17: 531-542.

Arnold G.W. 1970. Regulation of food intake in grazing ruminants. In: A.T. Phillipson (Ed.) Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. pp. 264-276.

Arnold G.W. 1981. Grazing behaviour. In: F.H.W. Morley (Ed.) Grazing animals. pp. 79-104.

Arnold G.W. 1985. Ingestive behaviour. In: A.F. Fraser (Ed.) Ethology of farm animals: A comprehensive study of the behavioural features of the common farm animals. pp. 183-200.

Arsenos G. et Kyriazakis I. 1999. The continuum between preferences and aversions for flavoured foods in sheep conditioned by administration of casein doses. Animal Science 68: 605-616.

Arnold G.W., De Boer E.S. et Boundy C.A.P. 1980. The influence of odour and taste on the food preferences and food intake of sheep. Australian Journal of Agricultural Research 31:571-587.

Arsenos G., Hills J. et Kyriazakis I. 2000. Conditioned feeding responses of sheep towards flavoured foods associated with casein administration: the role of long delay learning. Animal Science 70: 157-169.

Balch C.C. et Campling R.C. 1962. Regulation of voluntary food intake in ruminants. Nutrition Abstracts and Reviews 32: 669-686.

Baumont R. 1996. Palatabilité et comportement alimentaire chez les ruminants. INRA Productions Animales 9: 349-358.

Baumont R., Dulphy J.P. et Andrieu J. P. 1988. Comportement alimentaire et état de réplétion du réticulo-rumen chez le mouton nourri à volonté de foin de prairie ou de luzerne, avec accès continu ou limité : incidences sur le contrôle physique de l'ingestion. Reproduction Nutrition Développement 28: 573-588.

Baumont R., Malbert C.H. et Ruckebusch Y. 1990a. Mechanical stimulation of rumen fill and alimentary behaviour in sheep. Animal Production 50: 123-128.

Baumont R., Seguier N. et Dulphy J.P. 1990b. Rumen fill, forage palatability and alimentary behaviour in sheep. Journal of Agricultural Science 115: 277-284.

Baumont R., Prache S., Meuret M. et Morand-Fehr P. 2000. How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: a review. Livestock Production Science 64: 15-28.

Baumont R., Cohen-Salmon D., Prache S. et Sauvant D. 2004. A mechanistic model of intake and grazing behaviour in sheep integrating sward architecture and animal decisions. Animal Feed Science and Technology 112: 5-28.

Baumont R., Ginane C., Garcia F. et Carrère P. 2005. How herbivores optimise diet quality and intake in heterogeneous pastures, and the consequences for vegetation dynamics. Satellite workshop of the 20th International Grassland Congress, Glasgow, Scotland. Pastoral systems in Marginal Environments (Ed. J. Milne, Wageningen Academic Publishers). pp. 39-50.

Baumont R., Doreau M., Ingrand S., et Veissier I. 2006. Feeding and mastication behaviour in ruminants. In: V. Bels (Ed.) Feeding in Domestic Vertebrates: From Structure to Behaviour. pp. 241-262. CAB International, Paris.

Baumont R., Jamot J. et Ginane C. 2007. Are sheep able to develop preferences or aversions in response to an increase of rumen fill? Journal of Animal and Feed Sciences 16: 454-459.

Bell F.R. 1984. Aspects of Ingestive Behavior in Cattle. Journal of Animal Science 59: 1369-1372.

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., et Aubert A.. 2007. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. Physiology & Behavior 92: 375-397.

Buritt E.A. et Provenza F.D. 1992. Lambs form preferences for nonnutritive flavors paired with glucose. Journal of Animal Science 70: 1133-1136.

Burritt E.A. et Provenza F.D. 1996. Amount of experience and prior illness affect the acquisition and persistence of conditioned food aversions in lambs. Applied Animal Behaviour Science 48: 73-80.

Campling R.C. et Balch C.C. 1961. Factors affecting the voluntary intake of food by cows. 1. Preliminary observations on the effect, on the voluntary intake of hay, of changes in the amount of the reticulo-ruminal contents. British Journal of Nutrition 15: 523-530.

Commun L. 2009. Acidose subclinique et comportement des ruminants. Thèse de doctorat 177 p.

Cooper S.D.B., Kyriazakis I. et Nolan J. V. 1995. Diet selection in sheep: the role of the rumen environment in the selection of a diet from two feeds that differ in their energy density. British Journal of Nutrition 74: 39-54.

Cortes C., Damasceno J.C., Jamot J. et Prache S. 2006. Ewes increase their intake when offered a choice of herbage species at pasture. Animal Science 82: 183-191.

Delagarde R., Prache S., D'Hour P. et Petit M. 2001. Ingestion de l'herbe par les ruminants au pâturage. Fourrages 166: 189-212.

Denton D.A. 1965. Evolutionary aspects of the emergence of aldosterone secretion and salt appetite. Physiological Reviews 45: 245-295.

Denton D.A. et Sabine J.R. 1963. The behavior of Na deficient sheep. Behaviour 20: 264-276.

Distel R.A., Laca E.A., Griggs T.C. et Demment M.W. 1995. Patch selection by cattle: maximisation of intake rate in horizontally heterogeneous pastures. Applied Animal Behaviour Science 45: 11-21.

Distel R.A., Iglesias Rodriguez M.R., Arroquy J. et Merino J. 2007. A note on increased intake in lambs through diversity in food flavor. Applied Animal Behaviour Science 105: 232-237.

Du Toit J.T., Provenza F.D. et Nastis A. 1991. Conditioned taste aversions: how sick must a ruminant get before it learns about toxicity in foods? Applied Animal Behaviour Science 30: 35-46.

Dumont B. 1995. Déterminisme des choix alimentaires des herbivores au pâturage: principales théories. INRA Productions Animales 8: 285-292.

Dumont B. et Boissy A. 1999. Relations sociales et comportement alimentaire au pâturage. INRA Productions Animales 12: 3-10.

Dumont B., Dutronc A. et Petit M. 1998. How readily will sheep walk for a preferred forage? Journal of Animal Science 76: 965-971.

Duncan A.J. et Young S.A. 2002. Can goats learn about foods through conditioned food aversions and preferences when multiple food options are simultaneously available? Journal of Animal Science 80: 2091-2098.

Duncan, A. J., P. Frutos, et S. A. Young. 2000. The effect of rumen adaptation to oxalic acid on selection of oxalic-acid-rich plants by goats. British Journal of Nutrition 83: 59-65.

Duncan A.J., Ginane C., Gordon I.J. et Orskov E.R. 2003. Why do herbivores select mixed diets? VIth International Symposium on the Nutrition of Herbivores, Mérida, Mexico. Matching herbivore nutrition to ecosystems biodiversity (Eds. L. 't Mannetje, L. Ramirez-Avilés, C. Sandoval-Castro, J.C. Ku Vera). pp. 195-209.

Duncan A.J., Reid S.A., Thoss V. et Elston D. A. 2005. Browse selection in response to simulated seasonal changes in diet quality through postingestive effects. Journal of Chemical Ecology 31: 729-744.

Duncan A.J., Elwert C., Villalba J.J., Yearsley J., Pouloupoulou I. et Gordon I.J. 2007. How does pattern of feeding and rate of nutrient delivery influence conditioned food preferences? Oecologia 153: 617-624.

Edwards G.R., Newman J.A., Parsons A.J. et Krebs J.R. 1997. Use of cues by grazing animals to locate food patches: an example with sheep. Applied Animal Behaviour Science 51: 59-68.

Epstein A.N. et Massi M. 1987. Salt appetite in the pigeon in response to pharmacological treatments. The Journal of Physiology 393: 555-568.

Fantino M. 1992. Etat nutritionnel et perception affective de l'aliment. In: I. Giachetti (Ed.) Plaisir et préférences alimentaires, Plytechnica, Paris, pp. 31-45.

Faverdin P., Baumont R. et Ingvartsen K.L. 1995. Control and prediction of feed intake in ruminants. IVth International symposium on the nutrition of herbivores, Clermont-Ferrand, France. Recent developments in the nutrition of herbivores (Eds M. Journet, E. Grenet, M.H. Farce, M. Thériez et C. Demarquilly, INRA Editions, Paris). pp. 95-120.

Forbes J.M. 1995. Voluntary food intake and diet selection in farm animals. Wallingford, UK.

Forbes J.M. 2007. A personal view of how ruminant animals control their intake and choice of food: minimal total discomfort. Nutrition Research Reviews 20: 132-146.

Forbes J.M. et Kyriazakis I. 1995. Food preferences in farm animals: why don't they always choose wisely? Proceedings of the Nutrition Society 54: 429-440.

Forbes J.M. et Provenza F. D. 2000. Integration of learning and metabolic signals into a theory of dietary choice and food intake. In: Cronjé P.B. (Ed.) Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction. pp. 3-19. CAB International.

Gallouin F. et Le Magnen J. 1987. Evolution historique des concepts de faim, satiété et appétits. Reproduction Nutrition Développement 27: 109-128.

Garcia J. et Hankins W.G. 1975. The evolution of bitter and the acquisition of toxiphobia. Vth International Symposium, Melbourne, Australia. Olfaction and Taste (Eds D.A. Denton et J.P. Colan, NY Academic Press). pp. 39-45.

Gherardi S.G. et Black J.L. 1991. Effect of palatability on voluntary feed intake by sheep. I-Identification of chemicals that alter the palatability of a forage. Australian Journal of Agricultural Research 42: 571-584.

Ginane C., Baumont R., Lassalas J. et Petit M. 2002. Feeding behaviour and intake of heifers fed on hays of various quality, offered alone or in a choice situation. Animal Research 51: 177-188.

Ginane C., Petit M. et D'Hour P. 2003. How do grazing heifers choose between maturing reproductive and tall or short vegetative swards? Applied Animal Behaviour Science 83: 15-27.

Ginane C., Duncan A.J., Young S.A., Elston D.A., et Gordon I.J. 2005. Herbivore diet selection in response to simulated variation in nutrient rewards and plant secondary compounds. Animal Behaviour 69: 541-550.

Ginane C., Dumont B., Baumont R., Prache S., Fleurance G. et Farruggia A. 2008. Comprendre le comportement alimentaire des herbivores au pâturage : intérêts pour l'élevage et l'environnement. 15èmes Rencontres Recherches Ruminants, Paris. pp. 315-322.

Ginane C., Baumont R. et Duncan A.J. 2009. Diet learning through post-ingestive consequences in sheep: the case of starch and casein variously combined in the same foods. Animal 3: 135-142.

Glendinning J.I. 1994. Is the bitter rejection response always adaptive? Physiology & Behavior 56: 1217-1227.

Goatcher W.D. et Church D.C. 1970a. Taste responses in ruminants. I. Reactions of sheep to sugars, saccharin, ethanol and salts. Journal of Animal Science 30: 777-783.

Goatcher W.D. et Church D.C. 1970b. Taste responses in ruminants. II. Reactions of sheep to acids, quinine, urea and sodium hydroxide. Journal of Animal Science 30: 784-790.

Gordon I.J. 2003. Browsing and grazing ruminants: are they different beasts? Forest Ecology and Management 181: 13-21.

Greenhalgh J.F.D. et Reid G.W. 1971. Relative palatability to sheep of straw, hay and dried grass. British Journal of Nutrition 26: 107-116.

Grovum W.L. et Chapman H.W. 1988. Factors affecting the voluntary intake of food by sheep. 4. The effect of additives representing the primary tastes on sham intakes by oesophageal-fistulated sheep. British Journal of Nutrition 59: 63-72.

Hodgson J. 1979. Nomenclature and definitions in grazing studies. Grass and Forage Science 34: 11-18.

Hofmann R.R. 1989. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. Oecologia 78: 443-457.

Iason G. 2005. The role of plant secondary metabolites in mammalian herbivory: ecological perspectives. Proceedings of the Nutrition Society 64: 123-131.

Illius A.W. 1986. Foraging behaviour and diet selection. In: O. Gudmundsson (Ed.) Grazing Research at Northern Latitudes. pp. 227-236.

Illius A.W. et Gordon I.J. 1990. Constraints on diet selection and foraging behaviour in mammalian herbivores. In: R.N. Hughes (Ed.) Behavioural Mechanisms of Food Selection. pp. 369-392. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Illius A.W. et Gordon I. J. 1999. The physiological ecology of mammalian herbivory. Vth International Symposium on the Nutrition of Herbivores, San Antonio, Texas. Nutritional Ecology of Herbivores (Eds. H.G. Jung et G.C. Fahey). pp. 71-96.

Illius A.W., Gordon I.J., Elston D.A., et Milne J.D. 1999. Diet selection in goats: a test of intake-rate maximization. Ecology 80: 1008-1018.

Jarrige R. 1988. Alimentation des bovins, ovins & caprins (INRA Ed.), 471 p.

Jarrige R., Dulphy J.P., Faverdin P., Baumont R. et Demarquilly C. 1995. Activités d'ingestion et de rumination. In: INRA (Ed.) Nutrition des ruminants domestiques : ingestion et digestion. pp. 123-181.

Journet M., Huntington G. et Peyraud J.L. 1995. Le bilan des produits terminaux de la digestion. In: R. Jarrige, Y. Ruckebusch, C. Demarquilly, M.H. Farce et M. Journet (Eds.) Nutrition des ruminants domestiques : ingestion et digestion. pp. 671-720. INRA Editions, Paris.

Kissileff H.R. 1990. Some suggestions on dealing with palatability - Response to Ramirez. Appetite 14: 162-166.

Krueger W.C., Laycock W.A. et Price D.A. 1974. Relationship of taste, smell, sight, and touch to forage selection. Journal of Range Management 27: 258-262.

Kyriazakis I., Papachristou T.G., Duncan A.J. et Gordon I.J. 1997. Mild conditioned food aversions developed by sheep towards flavors associated with plant secondary compounds. Journal of Chemical Ecology 23: 727-746.

Kyriazakis I., Tolkamp B.J. et Emmans G.C. 1999. Diet selection and animal state: an integrative framework. Proceedings of the Nutrition Society 58: 765-772.

Launchbaugh K.L. et Provenza F.D. 1994. The effect of flavor concentration and toxin dose on the formation and generalization of flavor aversions in lambs. Journal of Animal Science 72: 10-13.

Leek B.F. 1986. Sensory receptors in the ruminant alimentary tract. In: L.P. Milligan, W.L. Grovum et A. Dobson (Eds.) Control of digestion and metabolism in ruminants. pp. 3-17. Prentice Hall, Englewood Cliffs.

Leshem M. 1999. The ontogeny of salt hunger in the rat. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 23: 649-659.

MacDonald D.W. et Baker S.E. 2004. Non lethal control of fox predation: the potential of generalised aversion. Animal Welfare 13:77-85.

Manteca X., Villalba J.J., Atwood S.B., Dziba L. et Provenza F.D. 2009. Is dietary choice important to animal welfare? Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research 3: 229-239.

Martin C., Brossard L. et Doreau M. 2006. Mécanismes d'apparition de l'acidose ruminale latente et conséquences physiopathologiques et zootechniques. INRA Productions Animales 19: 93-108.

Morand-Fehr P. et Doreau M. 2001. Ingestion et digestion chez les ruminants soumis à un stress de chaleur. INRA Productions Animales 14: 15-27.

Naim M., Ohara I., Kare M.R. et Levinson M. 1991. Interaction of Msg Taste with Nutrition - Perspectives in Consummatory Behavior and Digestion. Physiology & Behavior 49: 1019-1024.

Newman J.A., Parsons A.J. et Harvey A. 1992. Not all sheep prefer clover: diet selection revisited. Journal of Agricultural Science 119: 275-283.

Newman J.A., Parsons A.J., Thornley J.H.M., Penning P.D. et Krebs J.R. 1995. Optimal diet selection by a generalist grazing herbivore. Functional Ecology 9: 255-268.

Parsons A.J., Newman J.A., Penning P.D., Harvey A. et Orr R.J. 1994. Diet preference of sheep: effects of recent diet, physiological state and species abundance. Journal of Animal Ecology 63: 465-478.

Pineño O. et Miller R.R. 2005. Primacy and recency effects in extinction and latent inhibition: A selective review with implications for models of learning. Behavioural Processes 69: 223-235.

Penning P.D., Parsons A.J., Orr R.J. et Treatcher T.T. 1991. Intake and behaviour responses by sheep to changes in sward characteristics under continuous stocking. Grass and Forage Science 46:15-28.

Prache S., Gordon I.J. et Rook A.J. 1998. Foraging behaviour and diet selection in domestic herbivores. Annales de Zootechnie 47: 335-345.

Prache S., Bechet G. et Damasceno J.C. 2006. Diet choice in grazing sheep: A new approach to investigate the relationships between preferences and intake-rate on a daily time scale. Applied Animal Behaviour Science 99: 253-270.

Provenza F.D. 1995. Postingestive feedback as an elementary determinant of food preference and intake in ruminants. Journal of Range Management 48: 2-17.

Provenza F.D. et Balph D.F. 1990. Applicability of five diet-selection models to various foraging challenges ruminants encounter. In: R.N. Hughes (Ed.) Behavioural Mechanisms of Food Selection. pp. 424-460. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Provenza F.D. et Villalba J.J. 2006. Foraging in domestic herbivores: linking the internal and external milieux. In: V.Bels (Ed.) Feeding in Domestic Vertebrates: from structure to behaviour. pp. 210-240. CAB International.

Provenza F.D., Villalba J.J., Haskell J., MacAdam J.W., Griggs T.C. et Wiedmeier R.D. 2007. The value to herbivores of plant physical and chemical diversity in time and space. Crop Science 47: 382-398.

Pyke G.H. 1984. Optimal foraging theory: a critical review. Annual Review of Ecology and Systematics. 15: 523-575.

Ralphs M.H. 1997. Persistence of aversions to larkspur in naive and native cattle. Journal of Range Management 50: 367-370.

Ralphs M.H. et Provenza F.D. 1999. Conditioned food aversions: principles and practices, with special reference to social facilitation. Proceedings of the Nutrition Society 58: 813-820.

Ralphs, M. H., F. D. Provenza, R. D. Wiedmeier, et F. B. Bunderson. 1995. Effects of energy source and food flavor on conditioned preferences in Sheep. J. Anim. Sci. 73 (6):1651-1657.

Rogosic J., Estell R.E., Ivankovic S., Kezic J. et Razov J. 2008. Potential mechanisms to increase shrub intake and performance of small ruminants in mediterranean shrubby ecosystems. Small Ruminant Research 74: 1-15.

Rolls B.J. 1986. Sensory-specific satiety. Nutritional Reviews 44: 93-101.

Rook A.J., Huckle C.A. et Penning P.D. 1994. Effects of sward height and concentrate supplementation on the ingestive behaviour of spring-calving dairy cows grazing grass-clover swards. Applied Animal Behaviour Science 40: 101-112.

Santilli F., Mori L. et Galardi L. 2004. Evaluation of three repellents for the prevention of damage to olive seedlings by deer. European Journal of Wildlife Research 50:85-89.

Sauvant D., Baumont R. et Faverdin P. 1996. Development of a mechanistic model of intake and chewing activities of sheep. Journal of Animal Science 74: 2785-2802.

Scott L.L. et Provenza F.D. 1998. Variety of foods and flavors affects selection of foraging location by sheep. Applied Animal Behaviour Science 61: 113-122.

Senft R.L., Coughenour M.B., Bailey D.W., Rittenhouse L.R., Sala O.E. et Swift D.M. 1987. Large herbivore foraging and ecological hierarchies. Bioscience 37: 789-799.

Stephens D.W. et Krebs J.R. 1986. Foraging Theory. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Van Niekerk A.I., Greenhalgh J.F.D. et Reid G.W. 1973. Importance of palatability in determining the feed intake of sheep offered chopped and pelleted hay. British Journal of Nutrition 30: 95-105.

Villalba J.J. et Provenza F.D. 2000a. Roles of flavor and reward intensities in acquisition and generalization of food preferences: do strong plant signals always deter herbivory? Journal of Chemical Ecology 26: 1911-1922.

Villalba J.J. et Provenza F.D. 2000b. Roles of novelty, generalization, and postingestive feedback in the recognition of foods by lambs. Journal of Animal Science 78: 3060-3069.

Villalba J.J., Provenza F.D. et Han G.D. 2004. Experience influences diet mixing by herbivores: implications for plant biochemical diversity. Oikos 107: 100-109.

Villalba J.J., Provenza F.D., Hall J.O. et Peterson C. 2006. Phosphorus appetite in sheep: dissociating taste from postingestive effects. Journal of Animal Science 84: 2213-2223.

Villalba J.J., Provenza F.D. et Stott R. 2009. Rumen distension and contraction influence feed preference by sheep. Journal of Animal Science 87: 340-350.

Wallis de Vries M.F. et Daleboudt C. 1994. Foraging strategy of cattle in patchy grassland. Oecologia 100: 98-106.

Westoby M. 1974. An analysis of diet selection by large generalist herbivores. American Naturalist 108: 290-304.

Weston R.H. 1966. Factors limiting the intake of feed by sheep. 1- The significance of palatability, the capacity of the alimentary tract to handle digesta, and the supply of glycogenic substrate. Australian Journal of Agricultural Research 17: 939-954.

Wright I.A. et Milne J.A. 1996. Aversion of red deer and roe deer to denatonium benzoate in the diet. Forestry 69(1):1-4.

Yamaguchi S. et Ninomiya K. 2000. Umami and Food Palatability. The Journal of Nutrition 130: 921-926.

LISTE DES PUBLICATIONS

Articles scientifiques

Favreau A., Baumont R., Duncan A.J. et Ginane C. Sheep use pre-ingestive cues as indicators of post-ingestive consequences to improve food learning. Journal of Animal Science (in press), doi: 10.2527/jas.2009-2455.

Favreau A., Ginane C. et Baumont R. Feeding behaviour of sheep fed lucerne *vs.* grass hays with controlled post-ingestive consequences. Animal, accepté début février 2010.

Favreau A., Baumont R., Ferreira G., Dumont B. et Ginane C. Do sheep use umami and bitter tastes as cues of post-ingestive consequences when selecting their diet? Applied Animal Behaviour Science, acceptable après révisions modérées.

Communications orales

Favreau A., Ginane C. et Baumont, R. 2007. Choix alimentaire des moutons : importance relative des informations pré- et post-ingestives. In : Conseil Scientifique de l'Unité de Recherche sur les Herbivores, 27 février 2007. Clermont-Ferrand, France.

Favreau A., Ginane C. et Baumont, R. 2008. Comportement alimentaire des moutons : importance relative des informations pré- et post-ingestives. In : Conseil Scientifique de l'Unité de Recherche sur les Herbivores, 13 mars 2008. Clermont-Fd, France.

Favreau A., Ginane C., Baumont, R. 2008. Comportement alimentaire chez les ovins : importance relative des informations pré- et post-ingestives. In : Journées de l'Ecole Doctorale Sciences de la Vie et de la Santé, 15-16 mai 2008. Clermont-Fd, France.

Favreau A., Baumont R. et Ginane C. 2009. Les stimuli pré-ingestifs utilisés comme des indicateurs des conséquences post-ingestives améliorent les performances d'apprentissage alimentaire chez les ovins. In : Conseil Scientifique de l'Unité de Recherche sur les Herbivores, 10 avril 2009. Clermont-Fd, France.

Communications affichées

Favreau A., Baumont R, Ginane C. 2008. How can pre- and post-ingestive stimuli affect intake and feeding behaviour in sheep fed hay diet? 42nd Congress of the International Society of Applied Ethology, Dublin 5-9 August, p. 203.

Favreau A., Ginane C., Baumont R. 2008. Comment les stimuli pré- et post-ingestifs affectent l'ingestion et le comportement alimentaire de moutons alimentés avec des foins ? 15èmes Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants, Paris 3-4 Décembre, p. 346.

Favreau A., Baumont R., Ginane C. 2009. Sheep generalize pre-ingestive cues to improve food learning. 31st International Ethological Conference, Rennes 19-24 Août, p. 221.

Encadrement de stagiaires

Pauchet M. 2009 (encadrement: C. Ginane, A. Favreau et G. Ferreira). Préférences et aversions alimentaires chez les ovins : Rôle des goûts umami et amer. Master II Ethologie spécialité "Ethologie fondamentale et comparée", Université Paris 13, 25 p.

ANNEXES

Annexe 1 :
Quelle combinaison de 2 fourrages présente des préférences relatives à 70-30 % ?

I. EXPERIMENTATION 1

I.1. Objectif

On cherche à savoir si des moutons peuvent exprimer des préférences relatives partielles (autours de 70% - 30%) pour une combinaison de 2 fourrages, stable dans le temps pour un même individu et entre individus.

I.2. Matériel et Méthodes

I.2.a. Les animaux

Durant cette expérimentation, six mâles castrés de race Texel non canulés (79 ± 1.3 kg) et six mâles castrés de race Texel équipés de canules du rumen (61 ± 0.9 kg), tous âgés de 4 ans, ont été utilisés.

Ces animaux étaient logés dans des cases individuelles (1 x 2 m) dont le sol était recouvert de sciure de bois. Ils disposaient d'une pierre à sel et minéraux ainsi que d'eau en accès libre.

I.2.b. Leur alimentation et la procédure expérimentale

Les animaux étaient placés en situation permanente de choix binaire, c'est-à-dire qu'ils avaient à leur disposition 2 fourrages *ad libitum* situés dans une auge compartimentée, pendant 6 jours consécutifs. Une première offre alimentaire était effectuée à 8h30 et une deuxième offre venait la compléter à 16h30. Ces deux offres étaient nécessaires vu la taille limitée des auges qui rendait la distribution de la ration journalière en une seule fois impossible.

Sept fourrages secs différents (foins ou luzerne déshydratée) (Tableau 1) nous ont permis de tester 7 combinaisons de 2 fourrages : (1) Dactyle 1 / Dactyle 2, (2) Luzerne / Dactyle 1, (3) Luzerne / Dactyle 2, (4) Regain de dactyle / Foin de prairie permanente (PP), (5) Regain de PP / Foin de PP, (6) Rumiluz [1]/ Dactyle 1 et (7) Rumiluz / Foin de PP. Chaque combinaison a été testée sur 6 animaux.

[1] Rumiluz : luzerne déshydratée en brins longs (comparable à un foin de luzerne haché), Désialis, France

I.2.c. Les mesures

On a pesé les refus quotidiens de chaque aliment proposé en situation de choix afin de pouvoir déterminer les préférences relatives de chacun d'eux.

Le calcul de cette préférence relative correspond à la quantité ingérée (en MS) d'un des deux aliments que l'on divise par la quantité totale ingérée (en MS).

Tableau 1 : Caractéristiques des fourrages testés en terme de cellulose brute (CB), de matière azotée totale (MAT) et de digestibilité de la matière organique (dMO).

	Luzerne	Rumiluz	Dactyle 1	Dactyle 2	Regain de dactyle	Regain de PP	Foin de PP
Cellulose Brute (% MS)	35.7	30	31.8	26.8	30.6	28.4	34.9
MAT (% MS)	9.2	15.3	9.4	6.7	13.8	13.9	6.6

PP = Prairie Permanente ; Rumiluz, Désialis, France.

I.3. Résultats et Conclusions

Les préférences relatives mesurées dans les choix (1), (2) et (3) étaient variables, et situées autour de 50 % ce qui n'est pas différent d'un choix effectué au hasard (Figure 1 et Figure 2a). Les préférences relatives exprimées pouvaient également être extrêmes et stables comme pour le choix (4), ou encore extrêmes et variables dans le choix (5) (Figure 1).

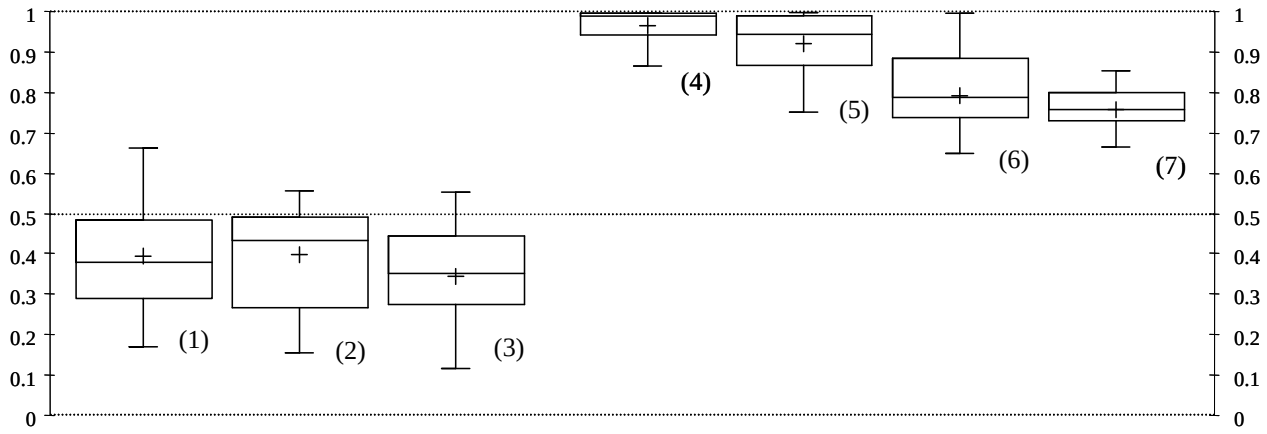


Figure 1: Préférences relatives pour le premier aliment mentionné dans les 7 combinaisons de 2 fourrages testées sur des moutons (n=6) en situation de choix : (1) Dactyle 1 / Dactyle 2, (2) Luzerne / Dactyle 1, (3) Luzerne / Dactyle 2, (4) Regain de dactyle / Foin de prairie permanente (PP), (5) Regain de PP / Foin de PP, (6) Rumiluz / Dactyle 1 et (7) Rumiluz / Foin de PP. Seules les données des jours 3 à 6 sont présentées pour ne pas intégrer une potentielle variabilité liée à une adaptation au régime alimentaire lors des jours 1 et 2.

La préférence relative est calculée proportionnellement à la quantité ingérée totale de MS.

Une boite à moustaches (ou box plot) fait apparaître, de haut en bas, la valeur maximale de la distribution, le 3ème quartile, la médiane (trait central) et la moyenne (croix centrale), le 1er quartile et la valeur minimale observée dans la distribution des données.

Des préférences relatives situées en moyenne autours de 75% - 25% ont été observées dans les cas des choix (6) et (7) mais elles n'étaient stables (inter et intra-individuellement) que dans le cas du choix (7) Rumiluz / Foin de PP (Figure 1 et Figure 2b).

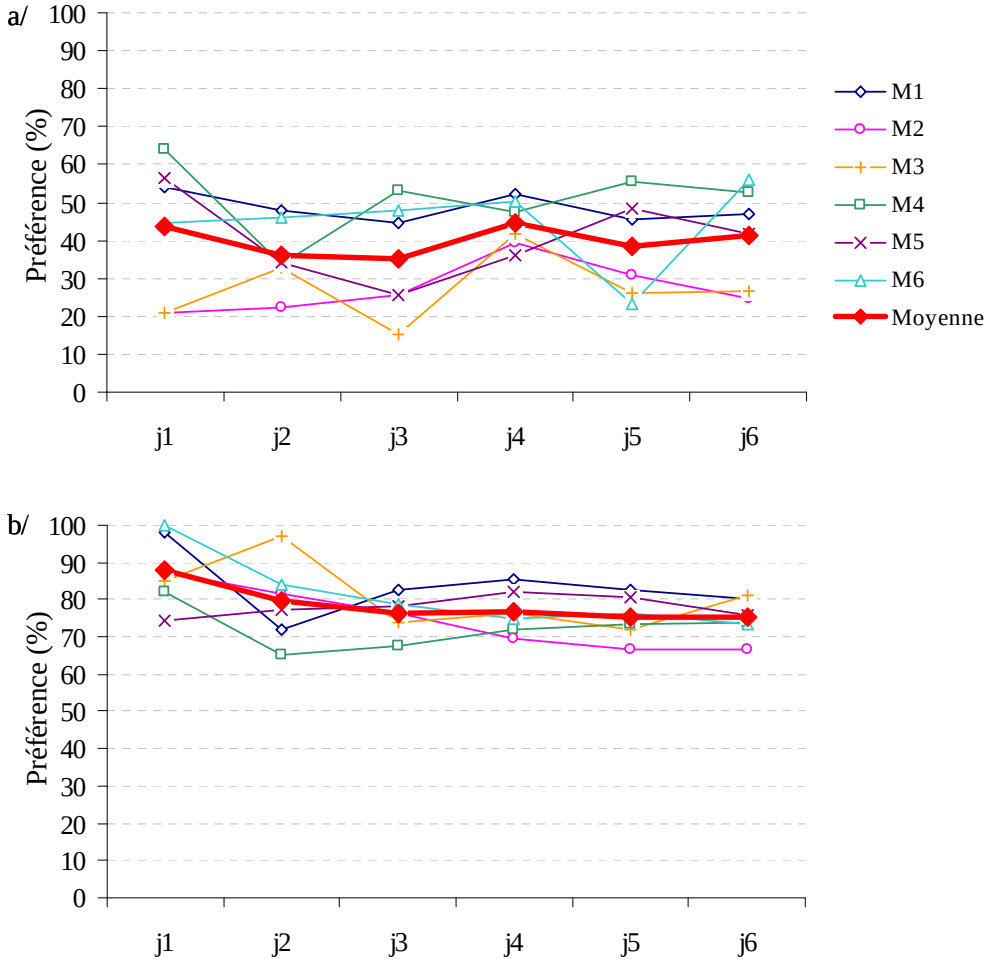


Figure 2 : Variabilité inter- et intra-individuelle des préférences (a) pour la luzerne en choix face au Dactyle 1 (choix (2)) et (b) pour le Rumiluz en choix face au foin de prairie permanente (choix (7)). On observe une importante variabilité dans le 1er cas mais pas dans le 2nd cas, dès le 3ème jour de test.

La préférence relative est calculée proportionnellement à la quantité ingérée totale de MS.

Il est difficile de trouver chez les ovins des préférences partielles et stables entre deux fourrages. Il semblerait que les animaux expriment des choix extrêmes (95% - 5%) et/ou variables dans une large gamme de combinaisons. Seule la combinaison Rumiluz/Foin de prairie permanente permet d'observer une préférence partielle et stable sur 6 jours.

II. EXPERIMENTATION 2

II.1. Objectif

On veut s'assurer que les préférences partielles (autours de 75% - 25%) observées lors du choix entre le Rumiluz et le foin de prairie permanente sont stables à plus long terme. On souhaite ainsi se rapprocher des conditions expérimentales qui seront imposées aux animaux au cours de l'expérimentation "introduction ruminale" avec une durée d'offre alimentaire limitée à 6 heures par jour et des animaux placés alternativement en case avec de la sciure au sol ou en case à digestibilité avec des caillebotis en bois au sol.

II.2. Matériel et Méthodes

II.2.a. Les animaux

Douze mâles castrés de race Texel, âgés de 3 à 4 ans et équipés de canules du rumen (59 ± 0.6 kg) ont été utilisés. Ils ont été répartis en 2 groupes de 6 animaux.
Ces animaux étaient tout d'abord logés dans des cases individuelles (1 x 2 m) dont le sol était recouvert de sciure de bois pendant 14 jours puis dans des cases à digestibilité (0.7 x 1.3 m) ; ils étaient alors sur des caillebotis en bois, pendant 14 jours, et équipés d'un licol ajouté d'un ballonnet de mousse sous la mâchoire inférieure qui permet d'enregistrer les mouvements de mâchoire et qui sera utilisée dans l'expérimentation "introduction ruminale". Le groupe 1 a débuté l'expérimentation 14 jours avant le groupe 2 ; ainsi lorsque les animaux du groupe 1 ont quitté les cases à digestibilité, les animaux du groupe 2 ont pris leur place.
Ils ont eu à disposition une pierre à sel et minéraux ainsi que de l'eau en accès libre.

II.2.b. Leur alimentation et les mesures

Les animaux ont été placés en situation de choix binaire, c'est-à-dire qu'ils ont eu à leur disposition le Rumiluz et le foin de prairie permanente *ad libitum* situés dans une auge compartimentée, durant 6 heures par jour et ce, pendant 28 jours consécutifs. Une première offre alimentaire a été effectuée à 8h30 et une deuxième offre est venue compléter la première à 11h30. Ces deux offres étaient nécessaires vu la taille limitée des auges qui rendait la distribution de la ration journalière en une seule fois impossible. Les refus ont été pesés à 14h30 afin de mesurer les quantités ingérées pour chacun des 2 fourrages. On a ensuite calculé la préférence relative d'un fourrage par rapport à l'autre en divisant la quantité ingérée d'un fourrage (en MS) par la quantité totale ingérée (en MS) pendant les 6 heures d'offre alimentaire.

II.3. Résultats et Conclusions

Au 1er jour de test, les moutons ont préféré la luzerne à hauteur de 74 ± 2.7 % mais cette préférence a augmenté dans le temps pour aboutir à 96 ± 2.1 % au 28ème jour (Figure 3). Certains animaux ont même consommé jusqu'à 100% de luzerne après le 15e jour. Un seul animal (M8) a maintenu au cours du temps une préférence partielle pour la luzerne entre 70 et 80 %.

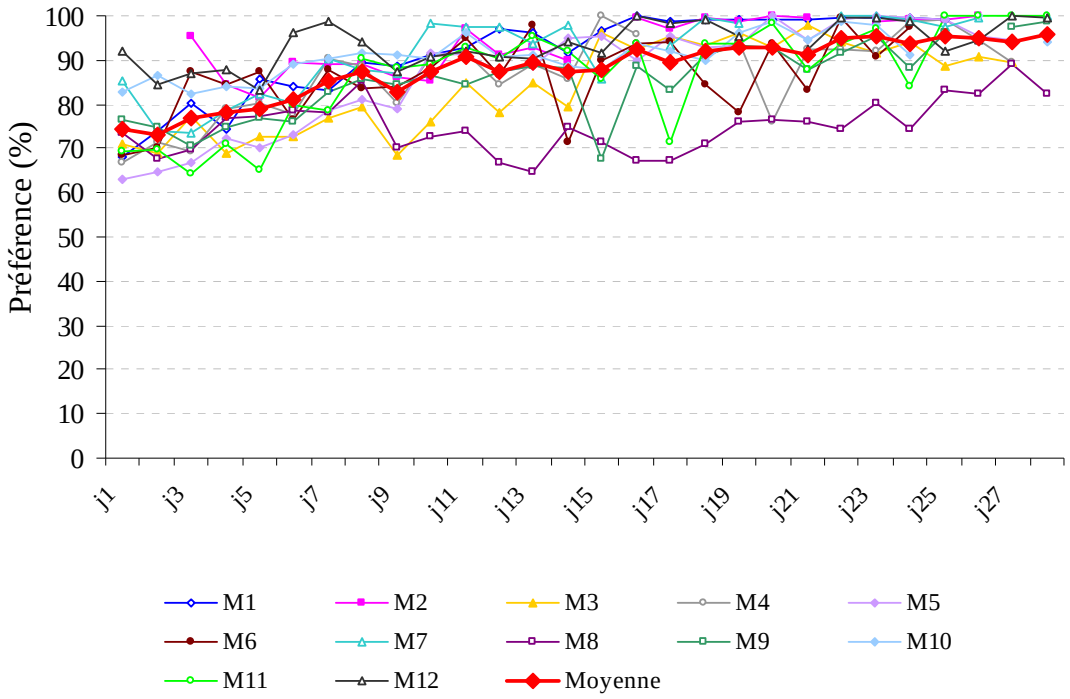


Figure 3 : Evolution de la préférence pour le Rumiluz en choix face à un foin de prairie permanente au cours des 28 jours pour chacun des 12 moutons testés, avec représentation de la préférence moyenne en rouge.

La préférence relative est calculée proportionnellement à la quantité ingérée totale de MS.

Une préférence relative partielle, stable sur quelques jours, évolue dans le temps en faveur de l'aliment préféré pour aboutir, après 15 jours, à une préférence quasi absolue. Ce résultat, intéressant en soi, nous a dissuadé de réaliser l'expérimentation "introduction ruminale" en situation de choix alimentaire. Nous avions en effet prévu initialement d'analyser les conséquences sur l'ingestion et les choix de l'introduction dans le rumen de l'un ou de l'autre des fourrages sur des animaux alimentés en choix. Mais cela perdait beaucoup d'intérêt si les animaux exprimaient déjà spontanément une préférence presque absolue pour l'un des fourrages.

Annexe 2 :
Quelle proportion de fourrage peut-on introduire dans le rumen des ovins sans perturber leur ingestion journalière totale?

I. OBJECTIF

On cherche à déterminer quelle quantité de chacun des 2 fourrages, définis précédemment, peut être introduire quotidiennement dans le rumen des animaux sans que cela ne perturbe leur ingestion journalière (quantité totale reçue). Pour cela, on teste l'effet d'introductions intra-ruminales correspondant à 20, 35 ou 50 % de la quantité totale d'aliment reçue la veille. La quantité totale d'aliment reçue la veille est définie comme étant la somme de la quantité ingérée volontairement par l'animal et la quantité introduite directement dans leur rumen.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Les animaux

Six mâles castrés de race Texel, âgés de 4 ans et qui pesaient 65 ± 1.0 kg au début de l'expérimentation, ont été utilisés. Ils ont été équipés d'une canule du rumen dès la fin de leur croissance. Ils étaient logés dans des cases individuelles (1 x 2 m) dont le sol était recouvert de sciure de bois. Ils disposaient d'une pierre à sel et minéraux, et d'eau en accès libre.

II.2. Leur alimentation

Deux fourrages différents ont été utilisées : une luzerne déshydratée de bonne qualité conditionnée en brins longs (Rumiluz) et un foin de prairie permanente de qualité moindre (Tableau 2). Les moutons ont reçu un seul et même fourrage à l'auge et lors des introductions ruminales. A l'auge, le fourrage était disponible à volonté pendant 6 heures par jour (de 9h à 15h). Les introductions intra-ruminales ont été effectuées avant la distribution alimentaire matinale.

Les fourrages introduits dans le rumen ont été préalablement broyés et mélangés à de la salive artificielle afin de mimer le traitement qu'aurait subi un aliment normalement ingéré lors de la phase masticatoire. Cette préparation a été laissée à imbiber toute la nuit précédent l'introduction intra-ruminale.

Tableau 2 : Composition chimique (moyenne ± e.s.) des foins offerts à l'auge et introduits dans le rumen des moutons.

	Foin de luzerne	Foin de prairie permanente
Matière sèche (% MS)	92.1 ± 0.3	91.4 ± 0.4
MAT ($g.kg^{-1}$ MS)	156 ± 4	72 ± 2
NDF ($g.kg^{-1}$ MS)	528 ± 6	671 ± 5
ADF ($g.kg^{-1}$ MS)	360 ± 7	368 ± 2
ADL ($g.kg^{-1}$ MS)	95.1 ± 0.8	45.9 ± 1.1

MAT = Matière azotée totale ; NDF = Neutral Detergent Fiber ; ADF = Acid Detergent Fiber ; ADL = Acid Detergent Lignin.

II.3. La procédure expérimentale

Chaque mouton a été testé sur chaque proportion à introduire (20-35-50 %) pour chacun des 2 fourrages (luzerne et foin de prairie permanente) successivement (Tableau 3).

Les animaux ont été mis en régime pendant 7 jours avant le début de chaque succession de trois traitements impliquant un fourrage donné, afin de les habituer à l'aliment et au rythme d'alimentation. Chaque mise en régime a été suivie de 3 périodes de test d'une durée de 5 jours chacune. Ces périodes de test ont été entrecoupées de 2 jours de repos lors desquels les moutons n'ont subi aucune introduction intra-ruminale.

Tableau 3 : Procédure expérimentale mise en place dans cette étude.

Période	Mouton 1	Mouton 2	Mouton 3	Mouton 4	Mouton 5	Mouton 6
Mise en régime 1	Luz	Luz	Luz	PP	PP	PP
Période 1-1	Luz-20%	Luz-35%	Luz-50%	PP-20%	PP-35%	PP-50%
Période 1-2	Luz-35%	Luz-50%	Luz-20%	PP-35%	PP-50%	PP-20%
Période 1-3	Luz-50%	Luz-20%	Luz-35%	PP-50%	PP-20%	PP-35%
Mise en régime 2	PP	PP	PP	Luz	Luz	Luz
Période 2-1	PP-20%	PP-35%	PP-50%	Luz-20%	Luz-35%	Luz-50%
Période 2-2	PP-35%	PP-50%	PP-20%	Luz-35%	Luz-50%	Luz-20%
Période 2-3	PP-50%	PP-20%	PP-35%	Luz-50%	Luz-20%	Luz-35%

II.4. Les mesures et les analyses statistiques

Chaque jour, les refus alimentaires ont été pesés au bout d'une heure et à la fin des 6 heures d'offre alimentaire, afin de déterminer les quantités ingérées par les animaux.

Les analyses statistiques avaient pour objectif de déterminer si les différentes proportions de fourrage introduites dans le rumen des animaux ont influencé les quantités moyennes reçues quotidiennement, en considérant séparément les deux fourrages. On a donc effectué un test de comparaison de plusieurs moyennes pour des échantillons appariés (*i.e.*, test de Friedman).

III. RESULTATS ET CONCLUSION

Chaque jour, les moutons ont reçu en moyenne 1978 ± 20 g MS de luzerne ou 1226 ± 25 g MS de foin de prairie permanente, quelle que soit la proportion de fourrage introduite dans leur rumen (P > 0.05 ; Figure 4).

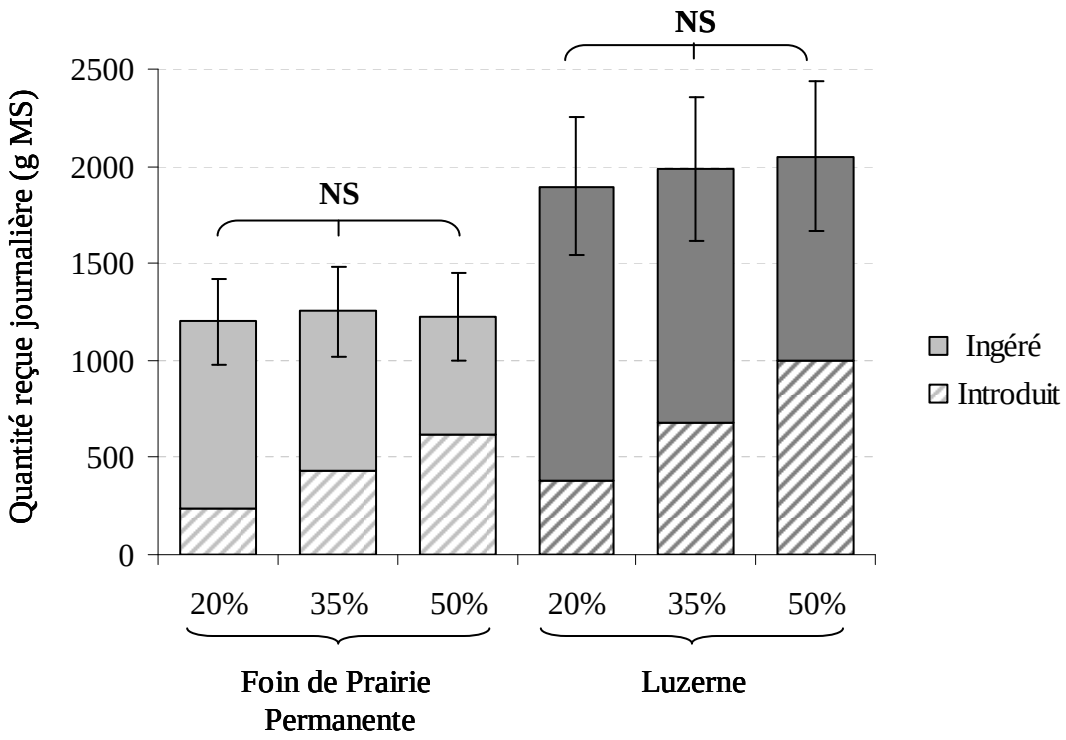


Figure 4 : Quantité reçue journalière (moyenne ± e.s., en g MS) en fonction du fourrage et de la proportion introduite dans le rumen des animaux, avec dissociation graphique de la quantité ingérée pendant 6h et la quantité introduite.

NS : test de Friedman, P > 0.10.

Les moutons sont donc capables d'adapter la quantité volontairement ingérée quotidiennement selon la proportion croissante de fourrage introduit dans leur rumen et ainsi de maintenir les quantités totales reçues similaires pour chacun des fourrages.

Annexe 3 :
Recherche de substances appétantes et répulsives

I. OBJECTIF

Dans le but de les utiliser comme des indicateurs de conséquences post-ingestives, nous recherchons des substances faisant référence à un goût primaire, *a priori* dépourvues d'effets post-ingestifs (d'où l'absence de tests pour des substances salées), et surtout capables d'induire des préférences ou aversions alimentaires spontanées et stables dans le temps.

II. MATERIEL ET METHODES

Des agnelles de race Romane ou Blanche du Massif Central (BMC) âgées de 4 à 9 mois ont été utilisées (Tableau 1). Elles étaient logées en cases individuelles avec un accès libre à de l'eau et une pierre à sels et minéraux. Le principe général des tests était le suivant : les agnelles étaient soumises à une période de jeûne avant les tests (de 8h00 à 11h00 ou de 8h00 à 14h00) ; puis pendant une courte période, un foin vaporisé avec de l'eau (témoin) et ce même foin vaporisé avec une solution aqueuse contenant la substance responsable du goût testé étaient offerts simultanément, à volonté. A l'issue de cette période de choix, les refus étaient pesés et la préférence relative pour chaque aliment était évaluée par le ratio de la quantité ingérée (en MS) de cet aliment sur la quantité ingérée totale (en MS) pendant le test. Les agnelles ont reçu leur alimentation hors test à partir de 16h00 ; celle-ci était composée de concentré pour agneaux et de foin.
L'eau seule ou les solutions aqueuses contenant les substances responsables des goûts étaient vaporisées à raison de 25mL pour 200g MF de foin. L'ensemble était brassé manuellement, au minimum 3 heures avant le test de choix de telle sorte que le foin ne soit pas trop humide.

Chaque goût a été testé avec une ou plusieurs substances, à différentes doses et avec un schéma expérimental adapté aux possibilités expérimentales du moment. Les procédures mises en œuvre sont résumées dans le Tableau 4. Le goût sucré a été testé avec plusieurs édulcorants, le Sucram 3D® (Pancosma, Suisse), la néohespéridine dihydrochalcone (NHDC) et la saccharine. Le goût umami a été testé avec le monosodium glutamate, noté MSG. Le goût amer a été testé avec le Bitrex® (IMCD, France) dont le nom chimique est le dénatonium de benzoate. Cette substance est reconnue pour être la substance la plus amère au monde, avec un effet répulsif notamment chez plusieurs espèces de cervidés (Wright et Milne, 1996 ;

Santilly *et al.*, 2004) et chez le renard (MacDonald et Baker, 2004). Pour le goût acide, nous avons testé l'acide malonique et l'acide acétique qui ont été mentionnés comme induisant une baisse de préférence face à un foin non traité (Gherardi et Black, 1981) ou face à de l'eau du robinet (Arnold *et al.*, 1980).

Tableau 4 : Procédures mises en œuvre pour mettre en évidence une substance appétante et répulsive chez les ovins.

Goût	Substance	Doses (g/kg MS)	Animaux	Durée du test de choix ; nombre de test par jour ; descriptif
Sucré	Sucram 3D®	0.1, 0.2, 0.3	9 agnelles Romanes, 4 mois	30 min ; 1 test/j ; au total 3 doses testées sur chaque agnelle, avec 2 répétitions (6j au total)
	NHDC	0.04, 0.06, 0.08	9 agnelles BMC, 8 mois	10 min ; 3 test/j ; 3 doses testées successivement par jour, sur chaque agnelle pendant 1 jour
	Saccharine			
	groupe 1	0.1, 0.2, 0.3	9 agnelles BMC, 8 mois	10 min ; 3 test/j ; chaque jour, 3 agnelles testent la dose 1, 3 la dose 2 et 3 la dose 3 ; les 3 doses sont testées sur chaque agnelle sur 3 jours
	groupe 2	0.3, 0.4, 0.5	9 agnelles BMC, 8 mois	10 min ; 3 test/j ; 3 doses testées successivement par jour, sur chaque agnelle pendant 3 jours
Umami	MSG	15, 25, 35	9 agnelles Romanes, 9 mois	10 min ; 3 test/j ; 3 doses testées successivement par jour, sur chaque agnelle : j1 = 15, 25 g/kg ; j2+3 = 15, 25, 35 g/kg
Amer	Bitrex®	0.05, 0.15, 0.25, 0.5, 0.75	9 agnelles Romanes, 7 mois	10 min ; 3 test/j ; chaque jour, 3 doses testées successivement sur chaque agnelle : j1 = 0.05, 0.15, 0.25 g/kg ; j2 = 0.25, 0.5, 0.75 g/kg
Acide	Acide malonique	2.5, 5, 7.5	9 agnelles BMC, 7 mois	15 min ; 2 test/j (matin et après-midi) ; 2 doses sur 3 testées sur chaque agnelle à raison d'1 dose par jour
	Acide acétique	1, 2	10 agnelles BMC, 7 mois	20 min ; 2 test/j (matin et après midi) ; chaque jour, 5 agnelles testent la dose 1 et 5 autres testent la dose 2 pendant 2 jours

III. RESULTATS ET CONCLUSIONS

III.1. Le goût sucré

La préférence moyenne pour le Sucram 3D® a été de 35 ± 4 %, sans aucun effet de la dose (Friedman, $P > 0.1$) et avec une très forte variabilité puisque la préférence a varié entre 0 % et 95%.

Les agnelles ont exprimé des préférences pour le NHDC variables selon la dose (Friedman, $P < 0.01$) avec la préférence la plus élevée pour la dose la plus faible (81 ± 4 %) intermédiaire pour dose la plus forte (65 ± 7 %) et la plus faible pour la dose intermédiaire (51 ± 5 %).

Avec la saccharine, les agnelles ont exprimé ni préférence ni aversion aux doses testées ($P > 0.05$; Figure 5), à l'exception du groupe 1 qui a montré une aversion à la dose de 0.3 g/kg ($P < 0.01$; Figure 5). Cependant, ce résultat n'était pas cohérent avec la préférence mesurée pour cette même dose dans le groupe 2.

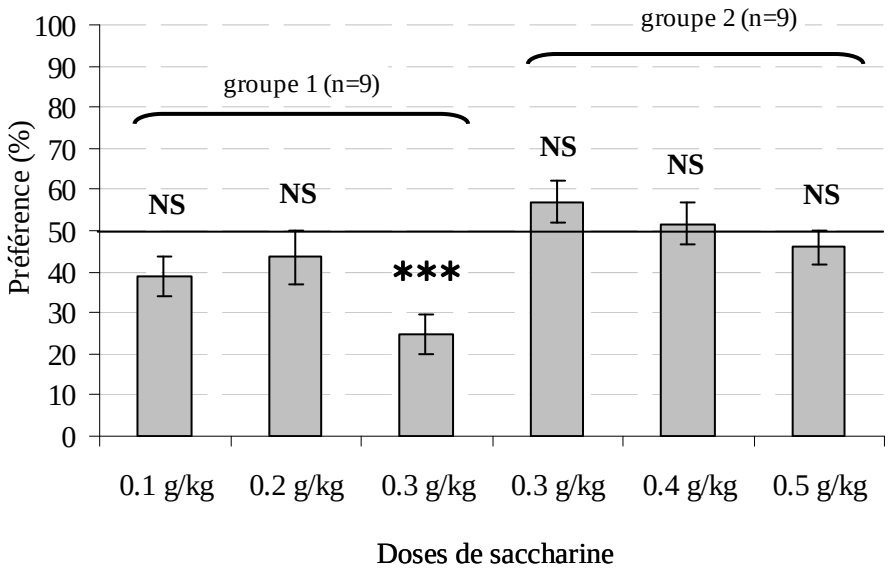


Figure 5 : Préférence (moyenne ± erreur standard) pour le foin vaporisé avec une solution aqueuse contenant de la saccharine à différentes doses face à ce même foin uniquement vaporisé avec de l'eau (témoin) lors de tests de choix de court terme (10 min), pour 2 groupes d'animaux différents.

La préférence relative est calculée proportionnellement à la quantité ingérée totale de MS.
Test de Mann Whitney : NS pour $P > 0.05$ et *** pour $P < 0.01$.

III.2. Le goût umami

Les agnelles n'ont pas exprimé de préférence significativement supérieure à 50% pour le foin vaporisé par une solution aqueuse de MSG à la dose de 15 g/kg MS (61 ± 4 %, $P > 0.05$; Figure 6) lorsqu'il a été offert en choix de courte durée face au même foin vaporisé à l'eau. En revanche, elles ont montré une préférence stable et avec une variabilité inter-individuelle faible pour le foin vaporisé par une solution aqueuse de MSG aux doses de 25 g/kg MS (70 ± 4 %, $P < 0.01$; Figure 6) et 35 g/kg MS (71 ± 6 %, $P < 0.01$; Figure 6).

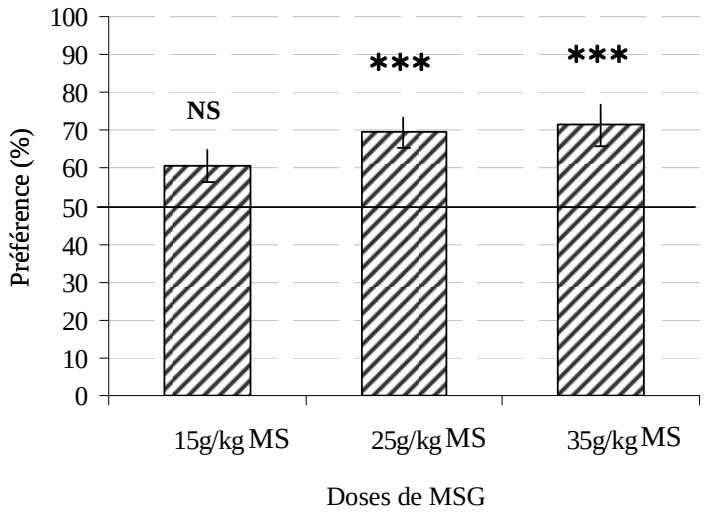


Figure 6 : Préférence (moyenne ± erreur standard) pour le foin vaporisé avec une solution aqueuse contenant du monosodium gultamate (MSG) à différentes doses face à ce même foin uniquement vaporisé avec de l'eau (témoin) lors de tests de choix de court terme.

La préférence relative est calculée proportionnellement à la quantité ingérée totale de MS.
Test de Mann Whitney : NS pour $P > 0.05$ et *** pour $P < 0.001$.

III.3. Le goût amer

Les tests ont révélé que les agnelles exprimaient en moyenne ni préférence ni aversion à l'égard du foin vaporisé avec la solution aqueuse contenant du Bitrex®, face au même foin vaporisé à l'eau (53 ± 3 % Friedman, $P > 0.1$) quelle que soit la dose appliquée. Cela s'explique par une très forte variabilité individuelle illustrée par la figure 7, avec une valeur minimale mesurée à 4% et une valeur maximale à 98%.

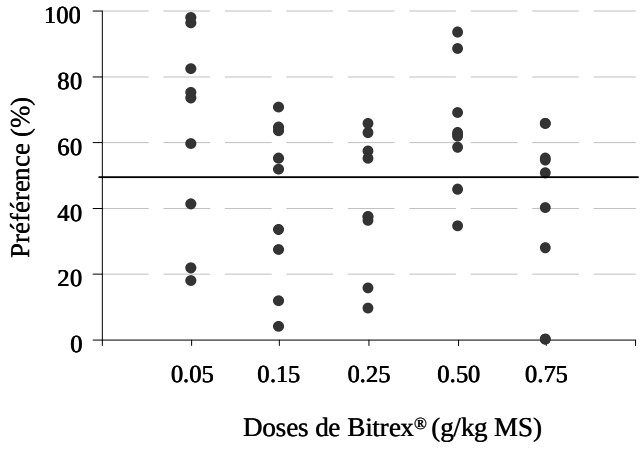


Figure 7 : Préférence individuelle (n=9) pour le foin vaporisé avec la solution aqueuse contenant du Bitrex® à différentes doses, lorsqu'il est proposé en choix face au même foin vaporisé à l'eau.

La préférence relative est calculée proportionnellement à la quantité ingérée totale de MS.
Les points concernant la dose de 0.25 g/kg MS sont la moyenne de j1 et j2 pour chaque agnelle.

III.4. Le goût acide

Il n'existait pas de différence de préférence pour le foin vaporisé par la solution aqueuse contenant de l'acide malonique entre le matin et l'après-midi (Mann Whitney, $P > 0.05$). Nous avons donc choisi de moyenner les données pour plus de clarté. Les agnelles n'ont alors montré ni préférence ni aversion à l'égard du foin vaporisé avec la solution d'acide malonique (Wilcoxon, $P > 0.05$) quelles que soient les doses (Kruskal Wallis, $P > 0.1$) ; certainement du

fait de la variabilité des réponses (Figure 8). Ainsi, la préférence moyenne pour le foin vaporisé à l'acide malonique s'élèvait à 48 % (± 5%).

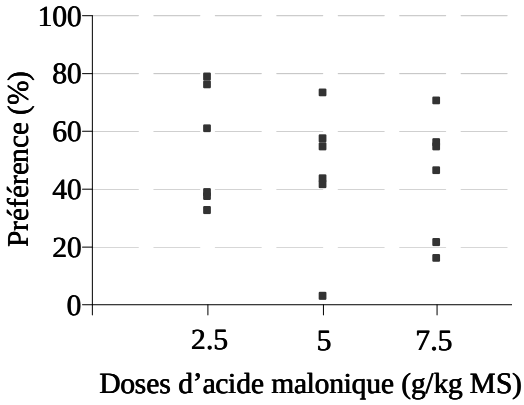


Figure 8 : Préférences individuelles (n=6) pour le foin vaporisé avec la solution aqueuse contenant l'acide malonique à différentes doses, lorsqu'il est proposé en choix face au même foin vaporisé à l'eau.

La préférence relative est calculée proportionnellement à la quantité ingérée totale de MS.

Avec l'acide acétique, on a trouvé une différence de préférence pour le foin traité avec cette substance entre le matin et l'après-midi, mais uniquement à la dose de 2 g/kg (Mann Whitney, $P < 0.05$). A cette dose, les agnelles n'exprimaient, le matin, ni préférence ni aversion pour ce foin (55 ± 8 % ; Wilcoxon, $P > 0.1$) alors qu'elles le préfèraient à hauteur de 76 ± 6 % (Wilcoxon, $P < 0.01$) lors du test de choix de l'après-midi. A la dose inférieure (1 g/kg), les agnelles n'ont pas montré de différence de préférence entre le matin et l'après-midi (Mann Whitney, $P > 0.05$) et préfèraient en moyenne le foin traité à l'acétate à hauteur de 66 ± 5 % (Wilcoxon, $P < 0.05$).

Ces différents tests ont permis de trouver une substance appétante (l'umami) mais n'ont pas permis de mettre en évidence une substance répulsive de manière spontanée et stable, chez les ovins. Nous nous sommes donc orientés vers des flaveurs artificielles afin de créer nous-même des indicateurs de conséquences post-ingestives (expérimentation "indicateurs").

Annexe 4 :
Quelle combinaison de 2 flaveurs présente des préférences initiales équilibrées et stables ?

I. OBJECTIF

Nous souhaitions trouver une combinaison de 2 flaveurs présentant des préférences relatives équilibrées et stables lorsqu'elles sont présentées en choix de courte durée chez des ovins. Nous les utiliserons, par la suite, couplées à des conséquences post-ingestives contrôlées par nos soins, afin de créer des indicateurs pré-ingestifs artificiels (expérimentation "indicateurs").

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Les animaux

Les animaux utilisés étaient 16 moutons adultes de Race Texel, castrés et équipés de canules du rumen. Ils étaient âgés de 3 à 7 ans et pesaient en moyenne 60.6 kg (e.s. 1.4 kg) au début de l'expérimentation. Ils étaient logés en case individuelle (1 x 2 m) sur copeaux de bois avec un accès libre à une source d'eau et une source de sel et minéraux.

II.2. Les flaveurs

On a testé deux combinaisons de 2 flaveurs : (1) anis - orange et (2) thym - fenugrec (BFI Innovations Ltd, Chester, England). Ces flaveurs se présentaient sous la forme de poudre. Elles étaient mélangées à de la cellulose, également en poudre, qui était utilisée ici en tant que support neutre aidant à une répartition homogène de la flaveur dans le fourrage. On incorporait 10 g de flaveur et 25 g de cellulose dans 500 g de foin de dactyle (en matière fraîche, MF).

II.3. Alimentation et procédure expérimentale

La moitié de l'effectif a été testé sur la combinaison anis - orange et l'autre moitié sur la combinaison thym - fenugrec. Chaque période expérimentale était composée de 7 jours : des tests de j1 à j5, et du repos à j6 et j7. La même procédure expérimentale a été répétée lors de 4 périodes. Tous les jours, les moutons recevaient 500 g MF d'un foin de prairie permanente de 8h00 à 10h30, puis ils étaient maintenus à jeun jusqu'au repas de l'après-midi. Les tests se déroulaient à partir de 14h00. De j1 à j4, 500 g MF du foin de dactyle aromatisé étaient offerts

aux animaux pendant 1 heure. La première des 2 flaveurs testées était offerte les jours pairs, tandis que l'autre l'était les jours impairs. Chaque jour, autant de moutons étaient testés sur les 2 flaveurs au sein d'un groupe. A j5, les animaux étaient soumis à un test de choix de courte durée (20 minutes) entre les 2 flaveurs, toujours disposées sur le même foin de dactyle mais offertes dans deux seaux distincts et adjacents. Les jours de repos, il n'y avait rien en début d'après-midi. Chaque jour, le dernier repas composé de foin de prairie permanente était offert à 16h30 de façon à autoriser 10% de refus.

II.4. Les mesures et les analyses statistiques

On a mesuré les ingestions pendant le test de début d'après-midi, de j1 à j4. On a également pesé les refus à la fin des tests de choix afin de déterminer la quantité ingérée pour chaque flaveur et ainsi calculer leurs préférences relatives, en proportion de la quantité ingérée totale (en MS). On a moyenné les préférences des 4 semaines et on les a comparé à la valeur théorique d'absence de choix (0.5) par le biais d'un test de Wilcoxon.

III. RESULTATS ET CONCLUSIONS

Les ingestions pendant le test de j1 à j4 ont été équivalentes entre les flaveurs : 454 ± 7 g MS pour l'anis, 457 ± 8 g MS pour l'orange, 420 ± 12 g MS pour le fenugrec, et 437 ± 8 g MS pour le thym ; les moutons ont consommé en moyenne 442 ± 5 g MS de foin aromatisé.

Pendant les tests de choix entre l'orange et l'anis, les préférences exprimées ont été équilibrées et stables sur l'ensemble des 4 périodes de test (Figure 9a). Sur le total des 4 périodes, les moutons n'ont pas exprimé de préférences significative pour l'orange ou pour l'anis (respectivement 0.47 et 0.53 (± 0.04) non différent de 0.5, $P > 0.1$).

Avec les animaux testés sur la combinaison thym - fenugrec, les préférences ont été moins stables au cours des 4 périodes de test (de 0.34 en période 1 à 0.62 en période 3), même s'il n'y a pas d'effet période (Friedman, $P > 0.05$) (Figure 9b), et en moyenne sur les 4 semaines, les moutons n'ont pas exprimé de préférence pour le thym ou le fenugrec (respectivement 0.51 et 0.49 (± 0.05) non différent de 0.50 ; $P > 0.1$).

Ainsi les combinaisons de 2 flaveurs testées montrent, en moyenne, des préférences équilibrées mais seule la combinaison orange - anis est stable au cours des 4 périodes de test.

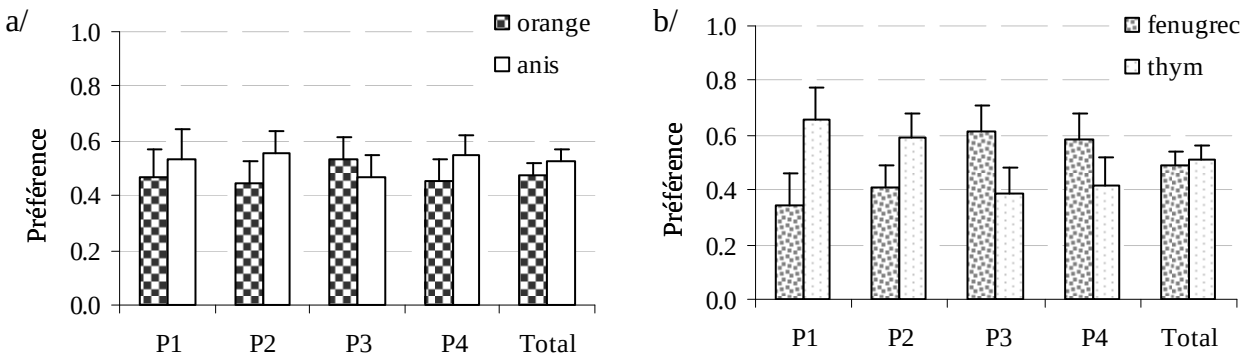


Figure 9 : Préférences relatives entre deux flaveurs exprimées lors d'un test de choix de 20 min répété sur 4 périodes (P1, P2, P3, P4) et sur la moyenne des 4 périodes (Total). Les deux combinaisons de deux flaveurs testées sont orange - anis (a) et thym - fenugrec (b).

La préférence relative est calculée proportionnellement à la quantité ingérée totale de MS.

Résumé Les caractéristiques sensorielles des aliments : quels rôles jouent-elles dans les aspects qualitatifs et quantitatifs du comportement alimentaire des ovins ?

La compréhension du comportement alimentaire des ruminants est nécessaire pour optimiser l'utilisation des ressources fourragères dans leur alimentation, en vue de satisfaire des enjeux zootechniques, incluant le bien-être, et environnementaux. Pour cela, nous nous sommes intéressés au rôle des caractéristiques sensorielles des aliments, jusque là probablement sous-estimé et restreint à celui d'agent discriminant, dans les aspects qualitatifs (sélection) et quantitatifs (ingestion) du comportement alimentaire des ovins. Nous nous sommes focalisés sur leur rôle indépendamment des conséquences post-ingestives des aliments d'une part, et en interaction avec les conséquences dans les processus d'apprentissage alimentaire d'autre part.
A conséquences post-ingestives similaires, les caractéristiques sensorielles n'ont pas influencé les quantités ingérées journalières mais elles ont joué i/ sur les quantités ingérées à court terme lorsque la motivation à ingérer un aliment est plus forte que l'état de rassasiement de l'animal, et ii/ sur les composantes de l'ingestion (durée et vitesse d'ingestion). Malgré cela, l'implication des caractéristiques sensorielles dans la régulation de l'ingestion volontaire reste à éclaircir puisque les conclusions diffèrent selon le contraste de qualité entre les aliments. Les caractéristiques sensorielles influencent également les préférences alimentaires lorsqu'elles possèdent une valeur hédonique ou une valeur latente potentiellement indicatrice de conséquences positives ou négatives. L'influence de la valeur hédonique est toutefois soumise à une importante variabilité individuelle qui rend la généralisation des résultats délicate. De plus, la valeur hédonique peut elle-même être influencée par le contexte de présentation des aliments. En effet, un aliment non préféré peut le devenir lorsqu'il n'a pas été consommé récemment, indiquant un certain attrait pour la diversité de l'offre alimentaire et tout particulièrement pour un changement d'aliments dans le temps.
Lors des apprentissages alimentaires, la valeur hédonique des caractéristiques sensorielles module la propension des animaux à les associer à des conséquences post-ingestives positives ou négatives. Lorsque les caractéristiques sensorielles des aliments ont acquis une valeur latente, elles peuvent jouer le rôle d'indicateur des conséquences et permettre ainsi aux animaux d'être plus performants dans leurs apprentissages, notamment en milieu complexe, via un processus de généralisation. Notre travail vient donc conforter la validité de la théorie des apprentissages alimentaires en milieu complexe. Certains goûts primaires, tels que l'umami et l'amer, possèdent une valeur latente (positive et négative respectivement) ; ils pourraient donc jouer ce rôle d'indicateur.
Les caractéristiques sensorielles, de par leur rôle d'agent discriminant, leur valeur hédonique et leur rôle d'indicateur des conséquences influencent donc à différents niveaux le comportement alimentaire des ovins. Elles constituent alors une perspective intéressante pour améliorer l'utilisation des aliments dans les rations et le bien-être des animaux d'élevage.

Mots-clés : caractéristiques sensorielles, conséquences post-ingestives, apprentissage, préférence, ingestion, ruminants.

Abstract Food sensory characteristics: how do they influence qualitative and quantitative aspects of feeding behaviour in sheep?

A better understanding of feeding behaviour of ruminants would help optimising the use of forages by these animals and improve their zootechnical performances, including welfare, and environmental interests. We studied the role of sensory characteristics of food in qualitative (diet selection) and quantitative (intake) aspects of feeding behaviour in sheep. Thus far these characteristics are believed to have only a discriminating role. We studied their role at similar post-ingestive consequences, on the one, and their role at different post-ingestive consequences, using food learning paradigms, on the other hand.
At similar post-ingestive consequences, sensory food characteristics did not influence voluntary daily intake but they influenced i/ short term intake when the motivation to eat induced by the food overruled the satiety state of the animal, and ii/ feeding activities (time spent eating and intake rate). Interestingly, results differed according to quality contrasts between food items. Further studies are needed to elucidate the exact role of sensory characteristics in the regulation of voluntary intake. Sensory characteristics influenced also food preferences when they possessed a hedonic or an *a priori* value subjectively indicating positive or negative consequences to the animal. The influence of the hedonic value was however difficult to analyse because of a great inter-individual variability in animal response. The hedonic value was furthermore influenced by the context of food presentation; a non preferred food item could become preferred if it was not recently consumed, which indicates an attraction for food diversity and especially for a change in food.
During food learning, the hedonic value of sensory characteristics modulates the animal's ability to associate them with post-ingestive consequences. When sensory food characteristics had acquired an *a priori* value, animals could use them as indicators of post-ingestive consequences. Consequently, they allowed animals to be more efficient in food learning, notably in complex environments, via a generalisation process. Our work is thus reinforcing the validity of the food learning theory in complex environments. Some primary tastes, such umami and bitter tastes, possess an *a priori* value (positive and negative, respectively). It is expected that these tastes have a role as indicator.
In conclusion, sensory food characteristics, because of their role as discriminator, their hedonic value or their role as indicator, influenced different aspects of feeding behaviour in sheep. Therefore, sensory food characteristics have the possibility to improve the use of forage in animal diets and to a certain extent, ameliorate farm animal welfare.

Keywords: sensory food characteristics, post-ingestive consequences, learning, preference, intake, ruminants.