

Effet de l'ombrage d'arbres intra parcellaires sur la production, le bien-être et le comportement de génisses laitières

AUPIAIS A. (1), PHILIBERT A. (1), MODE E. (1), BLONDY V. (2), VICET J.C. (2), FOUGERE M. (3)

(1) Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, 75595 Paris cedex 12

(2) Chambre d'Agriculture 44, La Géraudière, 44939 Nantes cedex 9

(3) Chambre d'Agriculture 44, Ferme expérimentale de Derval, La Touche, 44590 Derval

RESUME

Le changement climatique en cours entraîne une augmentation des températures et des événements climatiques extrêmes, notamment des vagues de forte chaleur. Des températures élevées en été peuvent entraîner une augmentation de la chaleur ressentie par les bovins et avoir un impact sur leur bien-être et sur la production. L'agroforesterie est une pratique consistant à associer des arbres, des cultures et/ou des animaux sur une même parcelle. L'objectif de cette étude est de tester l'effet de l'ombrage d'arbres agroforestiers intra parcellaires sur la production, le bien-être et le comportement de génisses laitières en situation de fortes chaleurs.

Pour ce faire, la Chambre d'Agriculture de Loire Atlantique et l'Institut de l'Élevage (Idele) ont mené une expérimentation sur des génisses laitières, sur la ferme expérimentale de Derval (44), deux années consécutives (2016-2017), de mai à août. Deux lots de 10 génisses Prim'holsteins ont été suivis pendant la période de fortes chaleurs, un lot bénéficiant d'ombre via des parasols disposés au milieu de la pâture sur des lignes d'orientation nord-sud et l'autre non. Différentes mesures ont été réalisées au cours de cette étude : des mesures zootechniques et des mesures de bien-être et de comportement. Concernant les performances de croissance, aucune différence significative n'a été trouvée entre les deux lots. L'ombre a par contre limité l'effet du stress thermique sur l'ingestion alimentaire des génisses puisque les animaux disposant de parasols ont consommé plus d'herbe que ceux qui n'en disposaient pas. Concernant le comportement, le lot bénéficiant d'ombre s'est significativement moins déplacé et a passé plus de temps à pâturer que le lot n'en bénéficiant pas. Lorsque le THI (Temperature Humidity Index) était supérieur à 76, le lot sans parasols a passé plus de temps debout que le lot disposant d'ombre, mais a passé moins de temps à pâturer. Plus le THI était élevé et plus le nombre de génisses présentes sous les parasols augmentait. Les génisses bénéficiant d'ombre semblent moins affectées par les fortes chaleurs.

The effects of shade providing by agroforestry trees on dairy heifer productivity, welfare and behavior.

AUPIAIS A. (1), PHILIBERT A. (1), MODE E. (1), BLONDY V. (2), VICET J.C. (2), FOUGERE M. (3)

(1) Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, 75595 Paris cedex 12

SUMMARY

Ongoing climate change is leading to increased temperatures and extreme weather events, including high heat waves. High temperatures in summer can increase the heat of cattle and affect their welfare and production. Agroforestry is a practice of associating trees, crops and / or animals on the same plot. The objective of this study is to test the effect of the shading of agroforestry trees on the production, the welfare and the behavior of dairy heifers in very hot conditions.

To do this, the Loire Atlantique Chamber of Agriculture and the Livestock Institute (Idele) conducted an experiment on dairy heifers, on the experimental farm of Derval (44), two consecutive years (2016-2017), May to August. Two lots of 10 Prim'holsteins dairy heifers were followed during the hot season, with one lot benefiting from shade via parasols placed in the middle of the pasture on north-south orientation lines and the other not. Various measures were carried out during this study: zootechnical measures and measures of well-being and behavior. Regarding the growth performance, there was no significant difference between the two lots. Shade limited the effect of heat stress on feed intake of heifers since animals with parasols consumed more grass than those without. Regarding the behavior, the lot with shade has moved significantly less and has spent more time grazing than the lot without parasol. When the THI (Temperature Humidity Index) was greater than 76, the lot without parasol spent more time standing than the lot with shade, but spent less time grazing. The higher the THI, the greater the number of heifers present under the parasols. Heifers with shade seem less affected by the heat.

INTRODUCTION

Le changement climatique en cours entraîne une augmentation des températures et des événements climatiques extrêmes, notamment des vagues de forte chaleur. L'agroforesterie est une pratique consistant à associer des arbres, des cultures et/ou des animaux sur une même parcelle. Ces pratiques ont des impacts bénéfiques sur l'environnement et sur les productions végétales qui s'accompagnent d'un gain économique. Malgré les nombreux avantages apportés par l'agroforesterie, cette pratique a été abandonnée au cours du XXème siècle en raison de

changements économiques et sociaux (entre autres l'intensification et la mécanisation de l'agriculture) (Fagerholm et al., 2016).

Des températures élevées en été peuvent entraîner une augmentation de la chaleur ressentie par les bovins et avoir un impact sur leur bien-être et sur la production. Le stress thermique entraîne des réponses comportementales et physiologiques affectant la production et les performances des bovins. Au niveau comportemental, on note une réduction de la prise alimentaire, une diminution du temps passé couché, une modification des habitudes d'alimentation (plus de pâturage aux heures les plus fraîches), le

regroupement à l'ombre ou autour d'un point d'eau et une augmentation de l'ingestion d'eau. On observe également moins de comportements agressifs lorsque les vaches disposent d'une plus grande surface d'ombre (Schütz et al., 2010). Au niveau physiologique, les animaux vont augmenter leur rythme respiratoire et leur température corporelle (Bucklin et al., 1991; Fisher et al., 2008; Lemerle et Goddard, 1986). On observe une augmentation des problèmes de boiterie lorsque la température augmente (Sanders et al., 2009), peut-être dû à l'augmentation du temps passé debout. Silva et al. (2010) ont mesuré les radiations solaires dans une région équatoriale semi-aride. Ainsi, les vaches sur une pâture ouverte absorbent en moyenne 640 W.m⁻². A l'ombre d'un arbre ou d'une autre sorte d'abri, la quantité de radiations absorbées sera moindre en raison de l'absence de radiations solaires directes et diffuses. Apporter de l'ombre aux animaux est un moyen efficace de les protéger contre les radiations de courte longueur d'onde (tel que les rayons ultraviolets qui sont à haute dose, dangereux pour les organismes) et de minimiser les problèmes de stress thermique et de coups de soleil (Silva, 1999, Silva, 2000). D'après Glaser (2008), l'ombre améliore le confort thermique et facilite la thermorégulation des animaux.

L'objectif de cette étude est de tester l'effet de l'ombrage d'arbres agroforestiers intra parcellaires sur la production, le bien-être et le comportement de génisses laitières en situation de fortes chaleurs.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. MATERIEL

La Chambre d'Agriculture de Loire Atlantique et l'Institut de l'Élevage ont mené une expérimentation sur des génisses laitières, sur la ferme expérimentale de Derval (44), deux années consécutives (2016-2017), de mai à août. Deux lots de 10 génisses Prim'holsteins équilibrés selon l'âge, le poids et la couleur de la robe ont été constitués et ont été suivis sur deux parcelles successives pour chaque lot (Période 1 = premières parcelles et Période 2 = deuxièmes parcelles), pendant la période de fortes chaleurs, un lot bénéficiant d'ombre via des parasols (noté : lot P) disposés au milieu de la pâture et l'autre non (noté : lot SP). Le lot avec parasols bénéficie de huit parasols projetant une ombre de 3 x 3 m, soit 7,2 m² d'ombre par génisse. Les parasols sont disposés sur des lignes d'orientation nord-sud, espacés les uns des autres de 12 mètres sur une ligne centrale de 100 mètres dans la parcelle.

1.2. METHODES

L'année 2016 nous a servi à élaborer et tester le protocole expérimental et les résultats présentés dans cet article sont ceux recueillis au cours de l'année 2017.

Différentes mesures ont été réalisées au cours de cette étude : des mesures zootechniques (pesée de tous les animaux en entrée et en sortie d'expérimentation qui ont permis de calculer le Gain Moyen Quotidien (GMQ), consommation d'eau via des compteurs placés sur les abreuvoirs et relevés en entrée et sortie de chaque parcelle, ingestion d'herbe via les hauteurs d'herbe estimées à l'aide d'herbomètres en entrée et sortie de parcelles), des mesures de bien-être (blessures, boiteries, coups de soleil...) et de comportement (temps passé debout/ couché, temps passé dans chaque activité : à pâturer, à dormir, immobile, à ruminer, à se déplacer). Le comportement des génisses a été enregistré par l'intermédiaire d'activimètres Ice Qub (pour le temps passé debout/ couché, le nombre de pas, le nombre de lever) et Life Corder (pour le temps passé à pâturer) placés aux membres postérieurs et autour du cou des animaux respectivement, tout au long de l'expérimentation. Des observations ponctuelles directes ont été réalisées au cours de l'étude, pendant la phase diurne, à trois périodes, les jours de forte chaleur. Des scannings ont été réalisés

toutes les 10 minutes pendant la phase diurne de ces trois journées afin de noter la répartition des activités des génisses au cours de cette phase et la localisation des animaux sur les parcelles et, entre autre, sous les parasols pour le lot P. Les conditions météorologiques (mesures horaires de température de l'air, humidité relative, vitesse du vent et pression atmosphérique) ont été mesurées par l'intermédiaire de la station météorologique de la ferme expérimentale de Derval. L'index température-humidité ($THI = 0,8 \times Ta + HR(Ta - 14,4) + 46,4$, avec Ta = température de l'air (°C) et HR = humidité relative de l'air) a été développé par Thom (1959) puis ajusté pour les bovins par Mader et al. (2006). Le THI est un indicateur cohérent du stress thermique auquel sont confrontés les animaux. Le seuil critique pour cet indicateur a été établi à 76 pour des vaches laitières.

TRAITEMENTS STATISTIQUES :

Les données de performance ont été traitées par analyse de covariance avec un modèle linéaire. L'effet fixe est le lot. Le poids au début de l'essai a été centré et utilisé comme co variable.

Pour les résultats obtenus avec les activimètres (Ice Qub et Life Corder) on a testé, dans un premier temps, si l'effet du traitement (P versus SP) sur le comportement des génisses reste le même pour tous les jours de mesure. Pour cela un modèle d'analyse de variance à mesures répétées a été utilisé avec la procédure PROC MIXED du logiciel SAS. Les effets fixes sont : le lot (P versus SP), le THI le jour considéré et l'interaction entre les deux. Dans un second temps, l'effet lot pour les jours chauds et ensuite pour les jours moins chauds a été testé. Pour cela un modèle d'analyse de variance a été utilisé avec la procédure PROC MIXED du logiciel SAS. Les effets fixes sont : le lot, le jour, la classe de THI ainsi que les trois interactions d'ordre 1 du modèle.

Les résultats des observations comportementales ponctuelles ont été traités par analyse de variance à mesures répétées avec la procédure PROC MIXED du logiciel SAS avec trois effets : le lot (P versus SP), le THI le jour de l'observation et l'interaction lot*THI.

2. RESULTATS

2.1. MESURES ZOOTECHNIQUES

2.1.1. GMQ

Nous n'observons pas de différence significative entre les GMQ moyen des deux lots. Il faut cependant considérer que la variabilité est très importante entre les individus d'un même lot, particulièrement pour le lot P.

2.1.2. Consommation d'eau

Les génisses du lot SP consomment autant d'eau, voire moins que les génisses du lot P (Figure 1). Les génisses des deux lots consomment plus d'eau pendant la période très chaude (période 1) que pendant la période chaude (période 2).

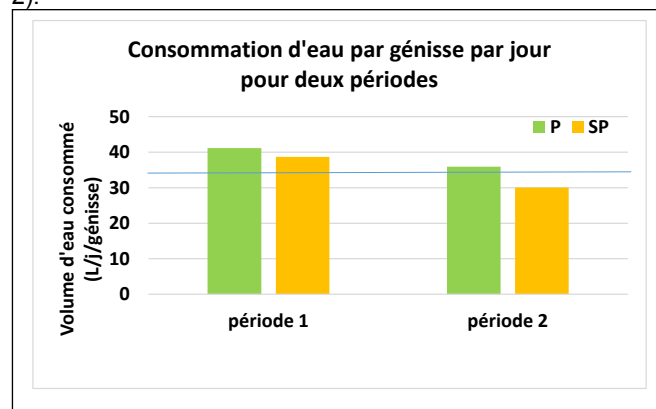


Figure 1 Consommation d'eau en litre consommé par génisse et par jour pour deux périodes de l'étude : période 1 = présence sur la première parcelle = période très chaude (environ 50% des jours avec $THI > 76$) ; période 2 = présence

sur la deuxième parcelle = période chaude (environ 40% des jours avec THI>76). Le trait bleu représente la consommation moyenne journalière d'une génisse au pâturage sans condition de stress thermique (Boudon et al., 2013)

2.1.3. Ingestion d'herbe

Au cours de cette période chaude, les génisses du lot P ont consommé significativement plus d'herbe que les génisses du lot SP (Figure 2).

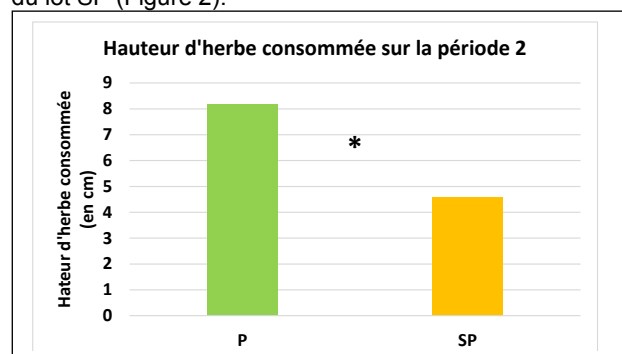


Figure 2 Ingestion d'herbe (en cm) au cours de la période 2 (= présence sur la deuxième parcelle = période chaude) pour chaque lot (P = avec parasol et SP = sans parasol) déterminé à partir des différences entre les hauteurs d'herbe en entrée et en sortie de parcelle (* indique une différence significative au seuil $\alpha = 5\%$)

2.2. MESURES DE BIEN-ETRE

Concernant les blessures, les boiteries, la propreté des animaux, les coups de soleil, aucune différence n'ont été notées entre les deux lots. Il faut cependant noter que le suivi des génisses a été réalisé sur une période assez courte (3 mois).

2.3. MESURES COMPORTEMENTALES

2.3.1. Enregistrements en continu

Les génisses du lot SP se sont significativement plus déplacées que celles du lot P et ce quelle que soient les conditions thermiques (Figure 3). Cependant, les génisses des deux lots se sont plus déplacées pendant les périodes moins chaudes (THI<76) que pendant les périodes plus chaudes (THI>76) et se sont plus déplacées le jour que la nuit.

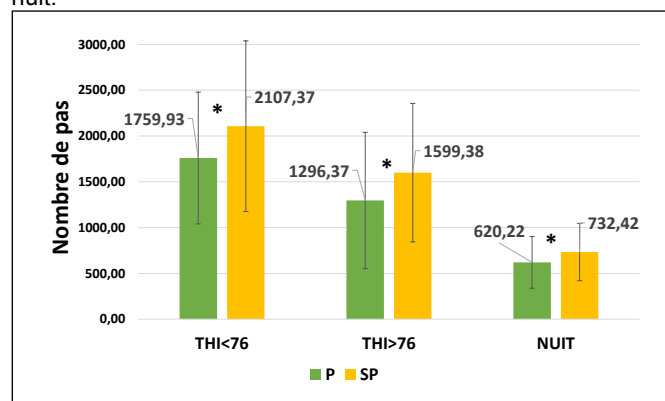


Figure 3 Nombre de pas réalisés en moyenne par jour par les génisses pour chaque lot (P = avec parasol et SP = sans parasol) à des périodes plus ou moins chaudes (THI<76 et THI>76) de la journée et la nuit (* indique une différence significative au seuil $\alpha = 5\%$)

Les génisses du lot P sont celles qui ont le plus pâture quelle que soit le THI (<76 ou >76) et la période du nyctémère (jour ou nuit), comme le montre la figure 4.

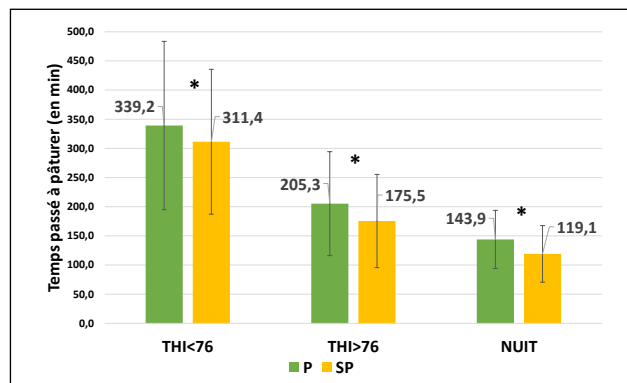


Figure 4 Temps passé à pâturer en moyenne par jour par les génisses pour chaque lot (P = avec parasol et SP = sans parasol) à des périodes plus ou moins chaudes (THI<76 et THI>76) de la journée et la nuit (* indique une différence significative au seuil $\alpha = 5\%$)

Concernant le nombre de changements de position, les génisses du lot SP en réalisent significativement davantage que les génisses du lot P (Figure 5) et ce, quelle que soit le THI (< ou > 76).

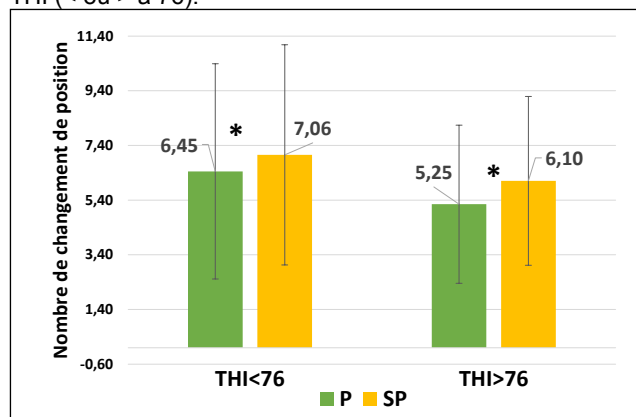


Figure 5 Nombre de changements de position réalisés (debout versus couché) en moyenne par jour par les génisses pour chaque lot (P = avec parasol et SP = sans parasol) à des périodes plus ou moins chaudes (THI<76 et THI>76) de la journée (* indique une différence significative au seuil $\alpha = 5\%$)

2.3.2. Observations ponctuelles

Ces observations nous ont permis de vérifier que les génisses du lot P pâturent significativement plus que celles du lot SP quand il fait très chaud (Figure 6). D'autre part, les génisses du lot SP ruminent significativement plus que celles du lot P au cours de ce jour très chaud.

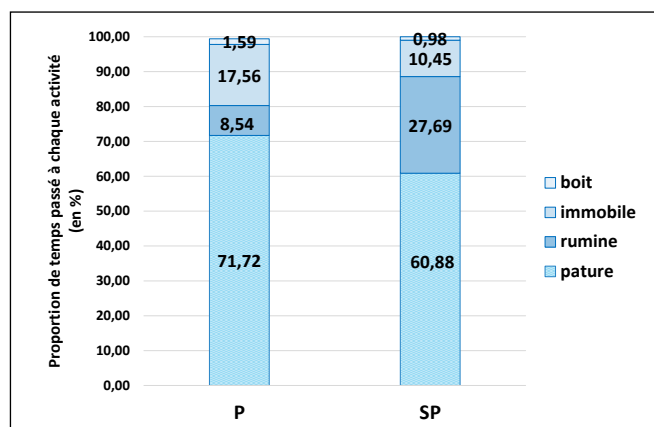


Figure 6 Répartition des activités des génisses lors d'un jour très chaud (THI>76) entre 12h et 17h pour les lots P et SP (* indique une différence significative au seuil $\alpha = 5\%$)

Ces observations directes ponctuelles ont également permis de noter la localisation des animaux sur les parcelles et, entre autre, sous les parasols pour le lot P (Figure 7). Nous pouvons ainsi noter que, plus le THI augmente et plus le nombre de génisses utilisant l'ombre des parasols augmente. Cependant, aucun comportement agonistique n'a été observé entre les génisses disposant de parasols, les animaux se répartissant sous différents parasols par lots de 2 ou 3 individus.

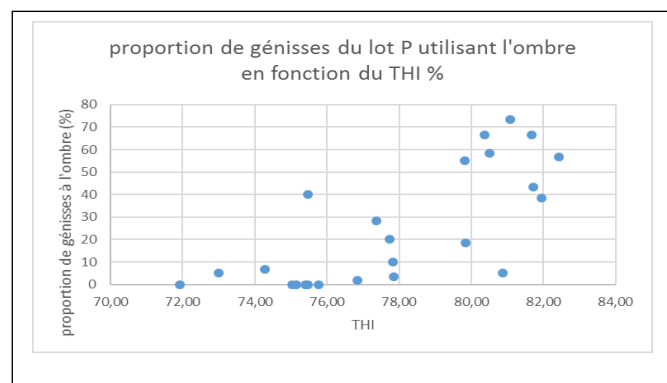


Figure 7 Proportion de génisses du lot avec parasol utilisant l'ombre en fonction de la chaleur (quand THI>76 = stress thermique)

3. DISCUSSION

Nous n'avons pas trouvé de différence significative entre le GMQ des génisses du lot P et celui des génisses du lot SP au cours de notre étude. Paciullo et al. (2011) ont trouvé un meilleur GMQ annuel pour des génisses laitières disposant de l'ombre des arbres que pour celles n'en disposant pas (prairie monoculture). Mais dans ce dernier cas, la qualité des ressources des deux systèmes herbagers n'était pas la même alors que dans notre étude, elle était similaire pour les deux lots. Cependant, même si les génisses du lot P ont pâture davantage que celles du lot SP, notre suivi n'a probablement pas été assez long pour pouvoir observer une réelle différence au niveau des performances de croissance. Une telle étude serait intéressante à mener avec des vaches laitières en production.

Concernant l'eau consommée, alors que nous pouvions nous attendre à une consommation en eau plus importante pour le lot SP que pour le lot P, nous observons plutôt l'inverse même si les différences ne sont pas significatives. Il faut noter que la référence à considérer pour la consommation d'eau pour des génisses au pâturage est celle de Boudon et al., (2013) qui indique qu'une génisse consomme 34,4 litres par jour quand elle est au pâturage et 47,6 litres par jour quand elle est au pâturage mais complétée avec du foin. Les résultats obtenus pour les deux lots sont plus élevés que cette référence quand les jours très chauds sont plus nombreux (période 1) et en accord avec cette référence quand les jours très chauds sont moins nombreux (période 2).

Les génisses du lot P ont consommé significativement plus d'herbe que celles du lot SP au cours de notre étude, résultat en accord avec celui de l'étude de Nienaber (1999), qui a montré que le stress thermique affecte directement l'ingestion alimentaire des bovins. Ces résultats sont également confortés par le temps passé à pâturer qui est significativement plus important pour les génisses du lot P que pour celles du lot SP et ce, quelle que soit la température (THI<76, THI>76 et nuit). Il faut noter que la diversité floristique et la qualité nutritionnelle des plantes présentes sur chaque parcelle ont été évaluées par un ingénieur de la Chambre d'Agriculture 44, spécialiste des systèmes herbagers. Concernant ces deux mesures, il n'a pas trouvé de différence entre les différentes parcelles pâturées par les lots P et SP.

Concernant le comportement des génisses enregistré en continu par les activimètres, nous avons pu noter que les animaux du lot SP font significativement plus de pas et changent plus souvent de position que les animaux du lot P et ce, quel que soit l'intervalle de THI. Des résultats similaires avaient été trouvés par Palacio et al. (2015). Il est à noter que les génisses du lot SP font plus de pas mais qu'elles ne passent pas pour autant plus de temps à pâturer, elles vont donc consommer de l'énergie en déplacement plutôt que d'en gagner en pâturant. Le fait que les animaux du lot SP passent plus de temps à marcher et changent plus souvent de position pourrait refléter chez eux un certain inconfort. Concernant le temps passé debout, si les génisses du lot P ont tendance à passer un peu plus de temps debout que celles du lot SP quand le THI est inférieur à 76, il n'y a quasiment plus de différences entre les deux lots quand le THI est supérieur à 76. Par contre, les deux lots sont plus debout quand le THI est inférieur à 76 que quand il est supérieur et ils pâturent également davantage quand il fait moins chaud. Il est à noter que les génisses du lot SP qui sont autant debout que celles de l'autre lot quand le THI est supérieur à 76, pâturent moins que ces dernières et se déplacent davantage. Cette stratégie leur permet peut-être de mieux réguler leur température quand il fait très chaud (elles se regroupaient alors debout, les unes à côté des autres, comme les moutons qui chaument).

Concernant le comportement des génisses au cours des journées d'observation, la répartition des activités conforte les résultats précédents sur le temps passé à pâturer : les génisses du lot P pâturent davantage que celles du lot SP quand le THI est supérieur à 76. En ce qui concerne le temps passé à ruminer, il est plus élevé pour les animaux du lot SP que pour ceux du lot P. Ce résultat est en contradiction avec ceux de Moretti et al. (2017) qui ont établi que le THI et le temps de rumination étaient négativement corrélés pour des vaches Prim'Holstein (plus le THI augmente, moins les vaches ruminent). Cependant, les génisses du lot SP semblent présenter un rythme d'activité différent de celles du lot P, pâturent davantage quand le THI est inférieur à 76 (donc plutôt le matin) et ruminent davantage aux heures les plus chaudes (THI>76). On aurait pu s'attendre à observer une adaptation inverse de leur comportement : pâture en fin de journée pour que la rumination intervienne aux heures les moins chaudes.

Nous retrouvons toutefois des résultats similaires aux nôtres dans la littérature : le pourcentage de temps passé à ruminer est supérieur pour des génisses placées dans une pâture sans ombre que pour les génisses placées dans une parcelle en agroforesterie (Lopes et al., 2016 ; Betancourt et al., 2005).

Enfin, nous avons pu noter que, plus le THI augmente et plus la proportion de génisses du lot P utilisant l'ombre des parasols augmente. Cela est en accord avec les études qui ont montré que lorsque la température de l'air et l'humidité relative ou les radiations solaires augmentent les vaches sont plus susceptibles de chercher de l'ombre (Atrian et Shakryar, 2012 ; Tucker et al., 2008 ; Widowski, 2001 ; Rossele et al., 2012). Selon Glaser (2008), l'utilisation de l'ombre par les bovins améliore leur confort thermique et facilite leur thermorégulation.

CONCLUSION

La présente étude a permis de mettre en évidence les effets positifs de l'ombre d'arbre intra parcellaires sur le comportement, la quantité d'herbe ingérée et le bien-être de génisses Prim'Holstein au pâturage pendant la saison chaude. Il est à noter que les animaux disposant d'abris au cours des heures les plus chaudes ont pâture davantage et ingéré plus d'herbe que celles qui ne disposaient pas d'abri. Ces dernières ont d'ailleurs présenté plus de changements de position et de déplacements sans pâturer, ces

comportements étant le signe d'un certain inconfort chez les animaux de ce lot.

Au vu des changements climatiques à venir, l'agroforesterie s'avère être une pratique bénéfique tant pour l'atténuation du changement que pour l'adaptation des systèmes, entre autres les systèmes d'élevage. Ainsi, l'association prairies, arbres, animaux pourrait donc apporter des solutions en imaginant de nouveaux systèmes productifs et adaptés aux nouvelles perspectives bioclimatiques.

Nous remercions le personnel de la ferme expérimentale de Derval et les personnes qui ont participé aux mesures.

Atrian, P., Shahryar H. A., 2012. Res. in Zoology. 2:31-37.

Betancourt K., Ibrahim M.; Villanueva C., Vargas B., 2005.

Agroforestería en las Américas, 10, 47-51

Boudon A., Khelil-Arfa H., Ménard J.L., Brunshwig P., 2013.

Productions Animales. 26 (3) :239-300

Bucklin R.A., Turner L.W., Beede D.K., Bray D.R., Hemken R.W., 1991. Applied Engineering in Agriculture. 7 (2) :241-247

Fagerholm N., Torralba M., Burgess P.J., Plieninger T., 2016.

Ecological Indicators. 62:47-65

Glaser F.D., 2008. thesis, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

Lemerle C., Goddard M.E., 1986. Tropical Animal Health and Production. 18 (4):232-242

Lopes L., Eckstein C., Pina D., Carnevali R., 2016. Tropical Animal Health and Production, 48(4), pp.755-761.

Mader T., Davis M. and Brown-Brandt T., 2006. Journal Animal Science, 84(3), p.712-719.

Moretti R., Biffani S., Chessa S., Bozzi R., 2017. Animal, pp.1-6.

Paciullo D., de Castro C., Gomide C., Maurício R., Pires M., Müller M., Xavier D., 2011. Livestock Science, 141(2-3), pp.166-172.

Nienaber J.A., Hahn G.L., Eigenberg R.A., 1999. International Journal of Biometeorology. 42 (4):183-188

Palacio S., Bergeron R., Lachance S. Vasseur E., 2015. Journal of Dairy Science, 98(9), pp.6085-6093.

Rossette L.; Permentier L.; Verbeke G.; Driessen B.; Geers R., 2012. Journal of Animal Science, 91, 943-949.

Sanders A.H., Shearer J.K., De Vries A., 2009. J. Dairy Sci. 92 (7):3165-3174

Schütz K. E., Rogers A. R., Poulouin Y. A., Cox N. R., Tucker C. B., 2010. J. Dairy Sci. 93:125-133.

Silva R.G., 1999. Rev. Bras. Zootec. 28 (6):1403-1411

Silva R.G., Morais D.A.E., Guilhermino M.M., 2007. R. Bras. Zootec. 36 (4):1192-1198

Silva R.G., Guilhermino M.M., Morais D.A.E., 2010. Int. J. Biometeorology. 54:5-11

Thom E.C., 1959. Weatherwise. 57-60

Tucker C., Rogers A., Schütz K., 2008. Applied Animal Behaviour Science, 109(2-4), pp.141-154.

Widowski T.M., 2001. In: Stowell, R.R., Bucklin, R., Bottcher, R.W., 2001. INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 6th. Louisville, Kentucky, USA.